



Acta Científica de la Sociedad Venezolana de Bioanalistas Especialistas

Volumen 17 - No. 1

Año 2014

Organo Oficial de la SVBE

CONTENIDO

EDITORIAL

María Fátima Garcés..... 1

ARTÍCULOS ORIGINALES:

Evaluación de los criterios de confiabilidad para la determinación automatizada de glucosa: comparación de los métodos de glucosa oxidasa y hexoquinasa

Marcel Jesús Mejías Martínez; Adriana María Méndez Laya; Anyella Carolina Moreno..... 2

Estandarización de la fase preanalítica del uroanálisis, en el laboratorio clínico de rutina

Celsy Hernández, Hilda Stekman, M^a Fátima Garcés, Beatriz De La Torre..... 12

Triacilglicéridos Postprandiales: Importancia. ¿Cómo Medirlos?

M^a Fátima Garcés, Hilda Stekman, Yamil Adrián Guarín, Yenny Carrero, Celsy Hernández, Adriana Rivas, María Luisa Nuñez. 17

ARTÍCULOS DE REVISIÓN:

Biomarcadores de exposición y efecto al humo de tabaco ambiental.

Aura Palencia, Gabriela Romero, Maritza Vargas..... 27

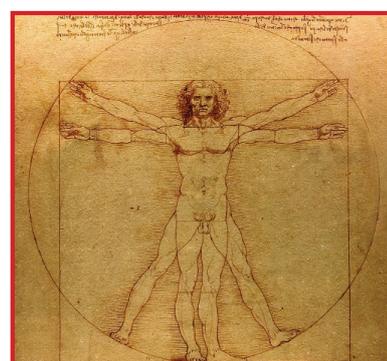
ARTÍCULOS DE HISTORIA:

Vida y obra de Rafael Rangel

Valmore Rodríguez 36

INFORMACIÓN PARA AUTORES..... 41

Revista arbitrada e indizada
LILACS (BIREME)
Depósito Legal 199202DF899
ISSN 1315-1746
Miembro ASEREME



Acta Científica de la Sociedad Venezolana de Bioanalistas Especialistas

Volumen 17. No 1.
Año 2014



Revista arbitrada e indizada dedicada a publicar los trabajos de los profesionales del Bioanálisis en investigación básica y aplicada.

Dirección: Av. Ppal c/c Alfredo Jahn y Alvarez Michaud.
Casa Colegio de Bioanalistas. Nro. 13-01. Urb. Los
Chorros. Zona Postal 1070. Caracas - Venezuela.

ISSN: 1315-1746

Depósito Legal: pp 199202DF899

Indizada

LILACS (BIREME)

MIEMBRO ASEREME

Publicación Semestral de la SVBE

2013-2014

Consejo Directivo

Editora

Dra. María Fátima Garcés

Gerencia Editorial

Dra. María Fátima Garcés

Gerencia Administrativa

MSc. Yacelli Bustamante

Sociedad Venezolana de Bioanalistas Especialistas (S.V.B.E.)

Junta Directiva

Presidenta

MSc. Yaniska Fránquiz

Dirección General

Dra. María Fátima Garcés

Dirección Científica

Esp. Shasbleidy Díaz

Dirección Administrativa

MSc. Yacelli Bustamante

Dirección de Proyectos y Divulgación Científica

Esp. Valmore Rodríguez

Comisión evaluadora de credenciales:

MSc. Yacelli Bustamante

Esp. Valmore Rodríguez

Comisión para otorgar unidades crédito

Lic. Josefina Guariguata

Esp. Shasbleidy Díaz

Comité de Redacción

Dra. Priva Zabner de Oziel, Esp. Noel Silva

Esp. Shasbleidy Díaz, Esp. Valmore Rodríguez

Dra. María Fátima Garcés, Lic. Giuseppe Ferrara,

Dra. Marlyn Vivenes, Lic. Celsy Hernández,

MSc Hilda Stekman.



Acta Científica de la Sociedad Venezolana de Bioanalistas Especialistas

CONTENIDO

Vol. 17 - No 1

2014

EDITORIAL

María Fátima Garcés..... 1

ARTÍCULOS ORIGINALES:

Evaluación de los criterios de confiabilidad para la determinación automatizada de glucosa: comparación de los métodos de glucosa oxidasa y hexoquinasa

Marcel Jesús Mejías Martínez; Adriana María Méndez Laya; Anyella Carolina Moreno..... 2

Estandarización de la fase preanalítica del uroanálisis, en el laboratorio clínico de rutina

Celsy Hernández, Hilda Stekman, M^a Fátima Garcés, Beatriz De La Torre..... 12

Triacilglicéridos Postprandiales: Importancia. ¿Cómo Medirlos?

M^a Fátima Garcés, Hilda Stekman, Yamil Adrián Guarín, Yenny Carrero, Celsy Hernández, Adriana Rivas, María Luisa Nuñez. 17

ARTÍCULOS DE REVISIÓN:

Biomarcadores de exposición y efecto al humo de tabaco ambiental.

Aura Palencia, Gabriela Romero, Maritza Vargas..... 27

ARTÍCULOS DE HISTORIA:

Vida y obra de Rafael Rangel

Valmore Rodríguez 36

INFORMACIÓN PARA AUTORES..... 41



Acta Científica de la Sociedad Venezolana de Bioanalistas Especialistas

CONTENTS

Vol. 17 - No 1

2014

EDITORIAL

María Fátima Garcés..... 1

ORIGINAL ARTICLES:

Evaluation criteria for determining reliability automated glucose: comparison of methods of glucose oxidase and hexokinase

Marcel Jesús Mejías Martínez; Adriana María Méndez Laya; Anyella Carolina Moreno..... 2

Preanalytical phase of uroanalysis standardization in clinical laboratory

Celsy Hernández, Hilda Stekman, M^a Fátima Garcés, Beatriz De La Torre..... 12

Postprandial Triglycerides: Importance. How To Measure Them?

M^a Fátima Garcés, Hilda Stekman, Yamil Adrián Guarín, Yenny Carrero, Celsy Hernández, Adriana Rivas, María Luisa Nuñez. 17

REVIEW ARTICLE:

Exposure and effect biomarkers to environmental tobacco smoke

Aura Palencia, Gabriela Romero, Maritza Vargas..... 27

HISTORY ARTICLE:

Life and work of Rafael Rangel

Valmore Rodríguez 36

INFORMATION FOR AUTHORS..... 41

EDITORIAL

En octubre de este año se realizó nuestro máximo evento científico, el XVI Congreso Venezolano de Bioanálisis 2014, en el Palacio de Convenciones de Maracaibo. Se hizo la entrega del volumen anterior de la Revista durante el desarrollo de este evento, en el que durante 4 días se actualizaron nuestros conocimientos y se compartió con colegas y amigos. Fue un reto, y se logró un espacio de intercambio de conocimientos para el mejoramiento de nuestro ejercicio profesional.

Con base a ello, el reto es constante para la Sociedad Venezolana de Bioanalistas Especialistas pues debemos mantener actualizado al gremio con otras actividades: cursos, talleres, jornadas además del Congreso. Cada día los requerimientos de los laboratorios clínicos son más exigentes, se disponen de nuevas herramientas diagnósticas imprescindibles en el manejo de las enfermedades, de contar con resultados confiables que ayuden favorablemente en la toma de decisiones, validar metodologías de diagnóstico, estandarizar sistemas de reporte, implementar sistemas de gestión de la calidad y contar con sistemas de evaluación objetiva de la competencia técnica como lo es la acreditación, de esta manera, demostrando el aporte del laboratorio en el diagnóstico, tratamiento, pronóstico y medición de riesgo.

Por ello es necesario destacar la importancia de nuestra publicación científica donde invitamos a todos los colegas y profesionales de la salud a publicar sus investigaciones y de esta manera divulgar sus contribuciones contribuyendo al acervo científico y así tener un profesional con conocimientos renovados, un profesional informado como lo requiere el mundo actual.

Dra. María Fátima Garcés
Editora.

EVALUACIÓN DE LOS CRITERIOS DE CONFIABILIDAD PARA LA DETERMINACIÓN AUTOMATIZADA DE GLUCOSA: COMPARACIÓN DE LOS MÉTODOS DE GLUCOSA OXIDASA Y HEXOQUINASA

Mejías Martínez, Marcel Jesús¹⁻²; Méndez Laya, Adriana María¹⁻³; Moreno, Anyella Carolina⁴.

¹Escuela de Bioanálisis, Universidad Central de Venezuela. ²Servicio de Bioanálisis Hospital José Gregorio Hernández IVSS. ³Servicio de Bioanálisis Maternidad "Herrera Vega" Complejo Hospitalario "Jose Ignacio Baldo". ⁴Banco de Sangre de Sanitas-Venezuela.

Recibido para publicación el 2 de mayo 2014. Aprobado para publicación el 15 de mayo 2014.

RESUMEN:

La finalidad del laboratorio clínico es generar análisis oportunos, confiables y relevantes para la toma de decisiones en beneficio del paciente, por lo que los métodos empleados deben estar perfectamente validados. Uno de los analitos más sensibles para el diagnóstico de la diabetes es la glucosa, los errores asociados a su medición pueden causar graves problemas a los pacientes, de allí la importancia de conocer el desempeño de los métodos analíticos que utilizamos de rutina para su valoración. En el presente estudio se evalúan los criterios de confiabilidad que describen la ejecución analítica, en condiciones de rutina, de los métodos de "Glucosa-Oxidasa" y "Glucosa-Hexoquinasa" distribuidos por Laboratorios Heiga para el autoanalizador de química sanguínea Konelab 20, valorando su utilización para la determinación de Glicemias en el entorno clínico. La evaluación de los criterios de confiabilidad fue realizada siguiendo un protocolo diseñado en base a las recomendaciones de la CLSI, SEQC y Westgard. Se evaluaron la veracidad, precisión, linealidad e interferencias. Los resultados obtenidos para ambas metodologías se contrastaron con las especificaciones de calidad analítica (CLIA, VB y Rilibäk). Se pudo verificar que los resultados emitidos por ambas metodologías son transferibles y pueden ser utilizados indistintamente para el reporte de glicemia en el entorno clínico. Los CV% alcanzados cumplen con los requerimientos propuestos por CLIA'88 y Rilibäk, no observándose desviaciones significativas en la veracidad de los métodos que afecten su relevancia médica. Se pudo demostrar que el método de Glucosa-Oxidasa tiene un desempeño analítico general superior al método de Glucosa-Hexoquinasa.

Palabras claves: Confiabilidad analítica, evaluación del desempeño, verificación, glucosa.

EVALUATION CRITERIA FOR DETERMINING RELIABILITY AUTOMATED GLUCOSE: COMPARISON OF METHODS OF GLUCOSE OXIDASE AND HEXOKINASE

SUMMARY

The purpose of the clinical laboratory is to generate timely, reliable and relevant to decision-making in patient benefit analysis, so that the methods used must be fully validated. One of the most sensitive analytes for the diagnosis of diabetes is glucose, the errors associated with its measurement can cause serious problems for patients hence the importance of knowing the performance of the analytical methods used routinely for evaluation. In the present study the reliability criteria that describe the analytical performance is evaluated, in a routine, methods "Glucose-Oxidase" and "Glucose-Hexokinase" "Laboratory Heiga distributed for blood chemistry autoanalyzer Konelab 20, evaluating its use for the determination of blood glucose in the clinical setting. Assessing reliability criteria was performed following a protocol designed based on the recommendations of the CLSI, SEQC and Westgard. The accuracy, precision, linearity and interferences were evaluated. The results for both methods were compared with analytical quality specifications (CLIA, VB and Rilibäk). It could be verified that the results issued by both methodologies are transferable and can be used interchangeably for reporting blood glucose in the clinical setting. The CV% achieved meet the requirements proposed by CLIA '88 and Rilibäk, observed no significant deviations in the accuracy of the methods that affect their medical relevance. It could be demonstrated that the glucose Oxidase method has a higher overall analytical performance of glucose-Hexokinase method.

Keywords: Analytical reliability, performance evaluation, verification, glucose.

Introducción

En la actualidad, los laboratorios de análisis clínicos ocupan un espacio de primera línea como apoyo a los servicios vinculados con la salud pública proporcionando datos valiosos que combinados con una historia clínica minuciosa y una exploración física completa, confirman un diagnóstico o proporcionan información útil sobre

el estado del paciente, su evolución y su respuesta al tratamiento (1,2). La finalidad del laboratorio clínico es la de generar análisis oportunos, confiables y relevantes para la toma de decisiones en beneficio del paciente. Para ello, los datos que se informan deben ser obtenidos con técnicas analíticas precisas y adecuadas para su fin. Los avances tecnológicos aplicados al laboratorio clínico

Solicitar copia a: Marcel Mejías. (e-mail: mejiamen@gmail.com)

en las últimas décadas han provocado el desarrollo progresivo de gran cantidad de equipos, reactivos e instrumentación analítica, que posteriormente ha sido automatizada desencadenando la mecanización creciente de la mayoría de los servicios de Bioanálisis. Esta realidad, unida a la velocidad creciente en la aparición de una gran variedad de pruebas diagnósticas, ha generado una serie de cambios en la organización que repercuten en su funcionamiento. Por todo esto, ahora más que nunca, debe existir el máximo compromiso ético y científico para la adquisición de material y tecnología de la mayor fiabilidad en base a los recursos disponibles (3). Este compromiso se traduce en la necesidad de evaluar los productos para garantizar la calidad de la instrumentación utilizada en los servicios de Bioanálisis.

La validación de las metodologías constituye un elemento fundamental en el aseguramiento de la calidad de los laboratorios clínicos (4-6). El Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI), define la validación como todas las acciones destinadas a probar que un determinado proceso, sistema, equipamiento o método trabaja de la manera esperada y logra los resultados propuestos (6). Validar un método analítico consiste en verificar y documentar su validez, esto es, su adecuación a unos determinados requisitos, previamente establecidos por el usuario para poder resolver un problema particular (4).

Los requisitos establecidos por el usuario son los que definen los criterios de calidad que debe poseer un método para garantizar la utilidad clínica de los resultados. En la norma ISO 15189-2012: Laboratorios clínicos – Requisitos particulares para la calidad y la competencia se especifica que los métodos empleados por el laboratorio deben estar perfectamente validados y que toda la información referida a su desempeño analítico debe estar debidamente registrada (7). En concordancia con esta exigencia, los laboratorios clínicos deben verificar el desempeño de todos los métodos implementados. En el proceso de verificación de métodos se obtienen datos del rendimiento del sistema de medición en las condiciones de trabajo del laboratorio, ya que toma en cuenta el intervalo de concentraciones y de matrices de las muestras que rutinariamente se procesan a fin de garantizar que los resultados emitidos serán confiables y se ajustarán perfectamente a los fines clínicos para los cuales fueron destinados (8). La verificación de los métodos utilizados dentro del laboratorio clínico incluye la evaluación de los criterios de confiabilidad analítica de las metodologías

en uso y contempla diversos parámetros, tales como: la veracidad, la precisión, la linealidad, y las reacciones inespecíficas del método (6, 9-13).

Además de verificar el desempeño de los métodos implementados, los laboratorios deberán validar para su uso clínico aquellos métodos desarrollados por el propio laboratorio, así como todos los procedimientos analíticos producto de la adaptación de un método disponible en la bibliografía para garantizar la calidad de sus resultados.

El objetivo final de la validación y la verificación es demostrar que el método utilizado por un laboratorio es adecuado para la aplicación en la que se propone implementar, así como también, demostrar que las modificaciones que pudieron haberse realizado no afectan su desempeño, ni la confiabilidad de los resultados por este entregado (13).

Los procedimientos en el manejo estadístico de los datos para el cálculo de estos criterios han ido evolucionando a través del tiempo (14) y son objeto de una acalorada discusión entre expertos en validación analítica a nivel mundial (15-19). La calidad analítica de los resultados se puede estimar a través de indicadores como el error aleatorio, el error sistemático y el error total (4, 6,13). Los límites de tolerancia para estos componentes de error o variación analítica han sido definidos mediante especificaciones numéricas que buscan asegurar la fiabilidad de la información sobre el estado de salud del paciente. Estas especificaciones analíticas, a cumplir para satisfacer las necesidades clínicas, se establecieron por consenso en la Conferencia Internacional de Estocolmo (4) aprobándose un modelo jerárquico con varios criterios. El primero, considera el efecto de la prestación analítica sobre cada situación clínica concreta y resulta todavía de escasa aplicación práctica y, el segundo, se basa en el efecto de las prestaciones analíticas sobre dos de las intenciones clínicas: Monitorización de pacientes individuales y diagnóstico de enfermedades con respecto a valores de referencia poblacionales. Para ambos casos se acordó que las especificaciones de calidad analítica deberían derivarse de los componentes de la “Variabilidad Biológica intra e interindividual” (19-20).

Uno de los analitos más sensibles para el diagnóstico y seguimiento de patologías como la diabetes y el síndrome metabólico es la glucosa, a la cual se le han establecido especificaciones de calidad analítica para la precisión, veracidad y error total máximo permitido (19-20). Las situaciones patológicas relacionadas con una glicemia anormal pueden ser causa de un riesgo vital y los errores

asociados a la medición han sido motivo de muerte, por lo que es esencial la caracterización de las posibles causas de error y de las medidas para evitarlas (20).

La Federación Internacional de Diabetes estimó en el año 2011 que la prevalencia ajustada de diabetes en latinoamérica era de 9.2% entre los adultos de 20 a 79 años y en Venezuela de 10,3%. De los 371 millones de adultos que viven con diabetes, 26 millones (7%) residen en nuestra región (21).

En la mayoría de los países latinoamericanos, la diabetes se encuentra entre las primeras cinco causas de mortalidad. Las causas más frecuentes de muerte entre las personas con diabetes son la cardiopatía isquémica y los accidentes cerebrovasculares. Además, la diabetes es la primera causa de ceguera, insuficiencia renal, amputaciones no debidas a traumas e incapacidad prematura y se encuentra entre las diez primeras causas de hospitalización y solicitud de atención médica (21), de allí la importancia y necesidad de contar con métodos precisos, veraces y oportunos para la determinación de Glucosa.

Los métodos para la determinación cuantitativa de glucosa se desarrollaron a partir del siglo XIX y principios del siglo XX basándose en las características reductoras de los carbohidratos (22). Las metodologías más frecuentemente utilizadas al principio del siglo pasado se desarrollaron a partir de una primera reacción de Cu^{++} a Cu^+ , seguida por la reducción de diferentes compuestos por el Cu^+ para generar productos que se medían por colorimetría, entre estos métodos se destacan los de Benedict, Folin y Wu, Nelson y Somogyi y el método de ferricianuro, los cuales han quedado en desuso por su falta de especificidad.

El desarrollo de sistemas analíticos automatizados y la necesidad de mejorar la especificidad en las determinaciones de glucosa impulsaron a la utilización de métodos enzimáticos. El método de la glucosa oxidasa fue uno de los primeros ensayos utilizados en autoanalizadores bioquímicos y continúa siendo el método de elección en muchos laboratorios clínicos por su bajo costo y facilidad de uso. En adición a este apareció el método de Hexoquinasa, el cual se basa en la fosforilación de la glucosa por la enzima Hexocinasa, formándose glucosa-6-fosfato; y en una reacción posterior catalizada por G6PD, la reducción de la coenzima NADP. La mayoría de los sistemas analíticos automatizados que actualmente se utilizan dentro del laboratorio clínico han adaptado estos dos métodos para la determinación de glucosa sérica, de allí la necesidad de evaluar los criterios de confiabilidad que describen

la ejecución analítica en condiciones de rutina de estos métodos analíticos.

En el presente estudio se evalúan y comparan los criterios de confiabilidad que describen la ejecución analítica, en condiciones de rutina, de los métodos de "Glucosa Oxidasa" y "Glucosa Hexoquinasa" distribuidos por Laboratorios Heiga para el autoanalizador de química sanguínea Konelab 20 (thermo Diagnostic) valorando su utilización de forma rutinaria en la evaluación de la Glicemia en el entorno clínico.

Materiales y Métodos

La evaluación de los criterios de confiabilidad fue realizada siguiendo un protocolo diseñado en base a las recomendaciones publicadas por el CLSI (23,24) las recomendaciones de la Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología molecular (SEQC) (10,11,25) y los estudios realizados por el experto internacional en Control de calidad y validación de métodos, PhD James O. Westgard (26,27,30,32). Se evaluó la precisión, veracidad, linealidad y magnitudes influyentes (interferencias) en condiciones de rutina, en la determinación de glucosa sérica por los métodos de "Glucosa Oxidasa" y "Glucosa Hexoquinasa". Los resultados obtenidos para ambas metodologías se contrastaron con las especificaciones de calidad analítica (CLIA, Variabilidad Biológica y Rilibäk Richtlinie).

Para la realización de las pruebas fueron utilizadas alícuotas y/o pools de sueros remanentes provenientes de pacientes atendidos en el Servicio de Bioanálisis del Hospital José Gregorio Hernández-IVSS, Caracas-Venezuela, las cuales fueron obtenidas a partir de la centrifugación a 4000 rpm por 15 minutos de muestras de sangre total recolectadas por punción venosa en tubos sin aditivos. Siguiendo lineamientos Bioéticos dichas muestras fueron tratadas según las recomendaciones recogidas en el anexo C, aparte C.9 de la norma CONVENIN-ISO 15189:2007 Laboratorios Clínicos - Requisitos particulares para la Calidad y la competencia) referente al uso de muestras de análisis para propósitos diferentes a los solicitados (30).

EVALUACIÓN DE LA IMPRECISIÓN.

A.1. IMPRECISIÓN INTRASERIAL (Condiciones de repetibilidad)

Para el cálculo de la imprecisión intraserial, se realizaron veinte (20) mediciones consecutivas en una misma serie analítica de tres (3) niveles de material control (SeronormTM Human 1-2 y PatonormTM low),

durante tres (3) días consecutivos para ambos métodos de determinación de Glicemia (29).

A.2. IMPRECISIÓN INTERSERIAL (Condiciones de precisión intermedia)

En el cálculo de la imprecisión interserial o intermedia (reproducibilidad), se realizó la determinación de glucosa por duplicado en tres (3) niveles de material control (Serorm™ Human 1-2 y Patonorm™ low) por veinte días consecutivos para cada metodología en estudio (29).

B. EVALUACIÓN DEL ERROR SISTEMÁTICO.

En el estudio de evaluación del error sistemático se determinaron aquellos componentes que pueden influir en la veracidad del método. Para ello fueron realizados estudios de linealidad, comparación de métodos, determinación de magnitudes influyentes (interferencias endógenas) y veracidad contra material de referencia (MRC).

B.1. LINEALIDAD

Para realizar la verificación de la linealidad de cada método se utilizó el protocolo EP6-A de la CLSI (6). Se preparó una mezcla con muestras de suero con elevada concentración de Glucosa (cerca a la dada por el fabricante como límite superior del rango reportable) y una con baja concentración. A partir de estas, se realizaron cuatro (4) diluciones con valores intermedios, para un total de 6 concentraciones, abarcando el rango dinámico reportado para ambos métodos; cada punto se valoró por triplicado (3,6,25,31). El orden de análisis fue aleatorio para evitar posibles efectos de arrastre. Se calculó la concentración teórica a partir de la fórmula:

$$\text{Concentración} = \frac{(C_1 V_1 + C_5 V_5)}{(V_1 + V_5)}$$

Las concentraciones empleadas incluyeron los niveles de decisión médica (45 mg/dl, 120 mg/dl y 180 mg/dl). Para realizar el análisis estadístico de los resultados se utilizó el método polinómico (b1, b2 y b3) para obtener los coeficientes bi, el error estándar de la pendiente (SE) y el resultado de la probabilidad (p 0,05) para determinar la significancia de los coeficientes de no linealidad b2 y b3. Si el valor de p es mayor a 0,05 el método se considera lineal en el intervalo estudiado.

B.2 CONCORDANCIA (Comparación de métodos)

Para la comparación de los métodos en estudio fueron analizadas alícuotas de sueros remanentes (n=121) distribuidas a lo largo del intervalo dinámico de la

prueba, procesadas simultáneamente y por duplicado para ambas metodologías, las cuales fueron previamente calibradas y controladas siguiendo las recomendaciones del fabricante.

Los resultados fueron analizados estadísticamente en el momento de su obtención con la finalidad de detectar valores aberrantes (criterio de Dixon y Massey). En el caso de ser detectado un valor aberrante, se reanalizaron las muestras para descartar la presencia de reacciones inespecíficas (matriz dependiente), que pudieran afectar uno o ambos métodos sesgando el valor de las diferencias encontradas (32). Esta evaluación permitió calcular el error sistemático o el sesgo existente entre el método bajo evaluación (Oxidasa) y el procedimiento analítico instaurado en el laboratorio (Hexoquinasa) (12, 26).

B.3. PRUEBA DE INTERFERENCIAS (Magnitudes influyentes)

En la evaluación de magnitudes influyentes (interferencias) se preparó un pools de suero (aproximadamente 50 ml) libre de hemólisis, lipemia o ictericia. Después de conformado el pool se cuantificó la concentración basal de glucosa (método oxidasa-peroxidasa y hexoquinasa). Para el estudio de interferencia se realizaron diluciones consecutivas de un preparado hemolizado (8 g/L) y un Standard de Bilirrubina (concentración 50 mg/dl). Se procesaron por triplicados 5 niveles de concentración del espécimen problema con interferente y 5 del espécimen control dentro de una misma serie analítica y con secuencia aleatoria (15 alícuotas en total para cada espécimen) para cada una de las magnitudes influyentes evaluadas (san-Hb y srm-Bilirrubina). Se consideró que existía interferencia estadísticamente significativa si el intervalo de confianza del valor de d, no incluía el cero

$$IC_{(99\%)} = d \pm 2,99 \left(\frac{2S^2}{15} \right)^{1/2}$$

Se consideró que existía interferencia analíticamente significativa si la interferencia superaba los límites de +/- 3s de la desviación estándar intraserial para la concentración estudiada, y la interferencia fue considerada clínicamente significativa si superaba el límite de la mitad del coeficiente de variación biológico intraindividual para la concentración del constituyente $LICS = [(Xc.CVi/2)]/100$ (12, 25, 32, 34, 35). Adicionalmente, se elaboró el Interferograma correspondientes a cada uno de los interferentes evaluados.

B.4.- VERACIDAD UTILIZANDO MATERIALES DE REFERENCIA

Para la determinación de la Veracidad se utilizó el protocolo propuesto en la norma EP15-A2 de la CLSI y las recomendaciones de la SEQC (34). Se empleó material de referencia de matriz humana con un valor asignado para la glucosa y su correspondiente valor de incertidumbre (Senonorm TM Human y Senonorm TM Human High) trazable al método de referencia ID-MS. El material fue preparado siguiendo las instrucciones del proveedor. Se realizaron mediciones por triplicado para cada metodología en 3 días consecutivos. Para cada serie se empleó un vial distinto de material control.

Se consideró que el método carecía de error sistemático si el valor absoluto era inferior o igual a su incertidumbre expandida (UES) con un valor de cobertura de 2 ($k=2$).

MANEJO ESTADÍSTICO

Los datos fueron introducidos en una base de datos Excel y el análisis estadístico se realizó utilizando el programa StatisPro TM versión 2.5 de la CLSI.

Resultados

EVALUACIÓN DE LA IMPRECISIÓN.

Los resultados de los coeficientes de variación intraserial e interserial de cada uno de los métodos evaluados, así como los límites de aceptabilidad para comprobar el

nivel de cumplimiento con las especificaciones analíticas se muestran en la tabla 1.

El método glucosa oxidasa exhibió la mejor precisión intra e interserial alcanzando y superando las metas planteadas por CLIA '88, Rilibäk Richtlinie y las especificaciones mínimas de aceptabilidad para variabilidad biológica, con excepción a la reproducibilidad en el Nivel II (75 mg/dl) donde la glucosa oxidasa alcanzó un CV% mayor al exigido en la metas mínimas de variabilidad biológica (4,6% vs 4,28%). El método de glucosa hexoquinasa, superó las metas planteadas por CLIA '88 y Rilibäk Richtlinie, pero sólo alcanzó las metas mínimas de desempeño por variabilidad biológica en repetibilidad en los niveles II y III y en reproducibilidad en el Nivel III.

B.EVALUACIÓN DEL ERROR SISTEMÁTICO.

B.1. LINEALIDAD

En la verificación de la linealidad de la srm-glucosa, al realizar la inspección visual de los resultados obtenidos por los métodos evaluados, se pudo observar un comportamiento lineal. En la Tabla 2 se resumen los resultados correspondientes a cada una de las concentraciones ensayadas y las ecuaciones de regresión polinómica del análisis estadísticos propuesto por la CLSI, acompañados de los valores de probabilidad ($p < 0,05$). En la figura 1 se muestran los gráficos de linealidad para ambos métodos (A y C) y las gráficas

TABLA 1. Coeficiente de Variación Intra e Interserial de los métodos Glucosa Hexoquinasa y Glucosa Oxidasa

	Imprecisión intraserial. CV(%) n=60		Imprecisión interserial CV(%) n=40	
	Glucosa Hexoquinasa	Glucosa Oxidasa	Glucosa Hexoquinasa	Glucosa Oxidasa
NIVEL I (30 mg/dl)	4,3	3,0	4,5	2,7
NIVEL II (75 mg/dl)	2,7	3,4	4,3	4,6
NIVEL III (180 mg/dl)	2,8	1,9	2,5	2,3

TABLA 2. Evaluación de la Linealidad para los métodos glucosa Hexoquinasa y glucosa Oxidasa

Métodos Evaluados	b0	b1	b2 *	SE*	p*	b3*	SE*	p*
Glucosa Hexoquinasa	-0,495	1,01	0,000357	0,0003372	0,3075	-4,44.10-7	3,763.10-7	0,2576
Glucosa Oxidasa	3,24	0,993	-0,000384	0,0002565	0,1563	3,59.10-7	2,978.10-7	0,2479

Nota: * Polinomio de tercer orden

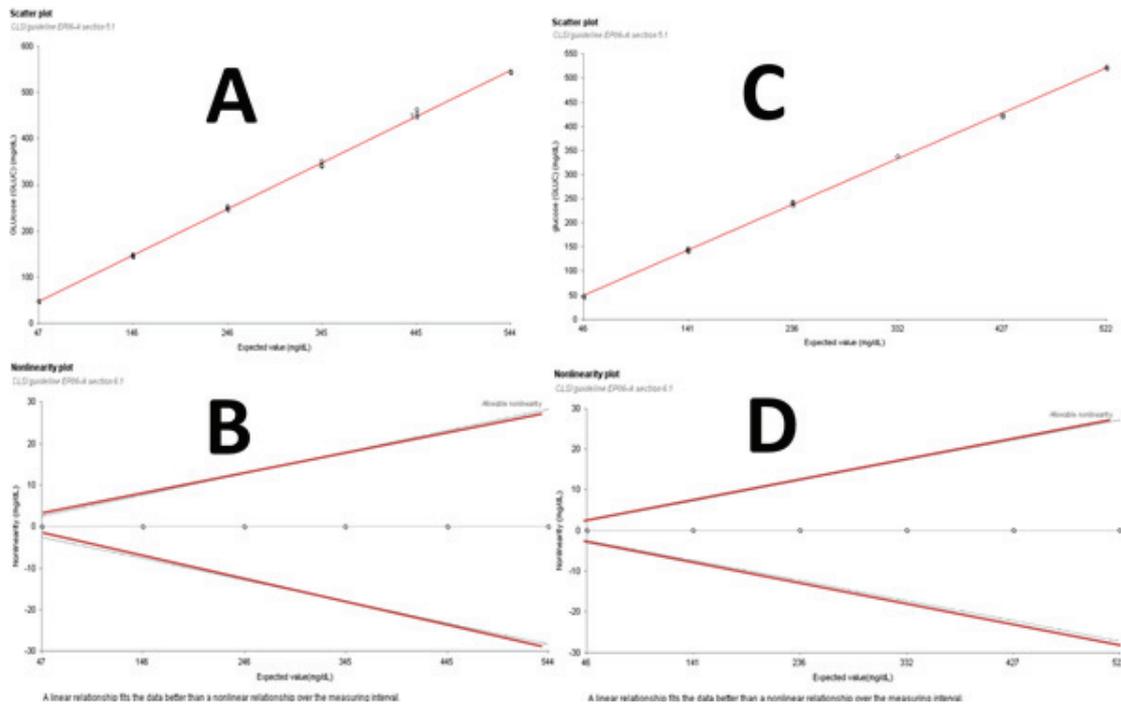


FIGURA 1. A.Gráfica de linealidad para glucosa Oxidasa. C.Gráfica de Linealidad para glucosa Hexoquinasa. B.Gráfica de NO linealidad relativa a la relevancia clínica para la glucosa Oxidasa. D.Gráfica de NO linealidad relativa a la relevancia Clínica para la glucosa Hexoquinasa.

de la No linealidad relativa a la relevancia clínica (B y D), evidenciando que ambos métodos presentan un comportamiento lineal dentro del rango evaluado y que la No linealidad presente no supera el valor de relevancia clínica establecido como el 50% del error total máximo permisible.

B.2. CONCORDANCIA (comparación de métodos)

En la figura 2 están representados los resultados de la regresión lineal de Passing Bablok, la cual reveló una pendiente de 1,01 con un intervalo de confianza de 95% que incluye a 1 (1,00 a 1,03), una ordenada en el origen de 0,53 con un intervalo de confianza que incluye a 0 (-0,97 a 2,00), $r: 1,00$ y un rango que va de 60 a 645 mg/dl. El análisis de Bland-Altman muestra una media de las diferencias de 1,5 mg/dl (IC95% 0,8 a 2,3) con una SD de las diferencias de 4,1 mg/dl.

Para la evaluación de los errores analíticos, en la Tabla 3 se presentan los resultados del sesgo (E%) calculado a través de la ecuación de la recta de regresión de Passing Bablok, en los diferentes niveles de decisión médica, confrontados con los requisitos de calidad analítica.

B.3. PRUEBA DE INTERFERENCIAS

Los datos obtenidos en el estudio de interferencias endógenas por san-hemoglobina y srm-Bilirrubina se

resumen en las tablas 4-5. Los resultados representan el comportamiento de la valoración de glucosa por ambos métodos frente a niveles ascendentes de la magnitud influyente en estudio. Se consideró la existencia de interferencia estadística, analítica y clínicamente significativa para cada uno de los niveles del interferente. Así mismo, en las figuras 3 y 4 se muestra la

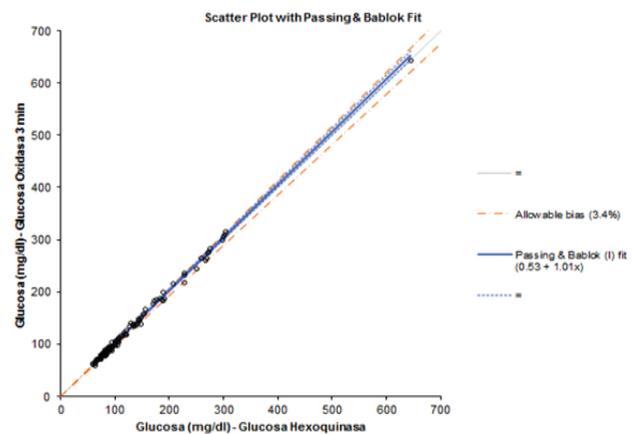


FIGURA 2. Recta de regresión Passing-Bablok de los resultados de Glucosa en suero obtenidos por los Métodos Glucosa Hexoquinasa y Glucosa Oxidasa.

TABLA 3. Sesgo entre los Métodos Evaluados con los Límites de Aceptabilidad

Nivel de decisión médica (mg/dl)	Yc	E%	CLIA* ET(%)	VB (E%)	Rilibäk Richtlinie (E%)
45	46	2,22	10	3,36	6
120	122	1,67			
180	182	1,11			

Yc: Valor de Glucosa Oxidasa calculado a través de la ecuación de regresión. *Los valores CLIA expresados en Error Total.

representación gráfica (interferograma) de las pruebas realizadas para ambos métodos.

El estudio de interferencia por hemólisis para el método de glucosa hexoquinasa indica que no existe interferencia estadística, analítica y clínica que afecte la determinación hasta un nivel de 12 g/L del interferente. El método de glucosa oxidasa muestra interferencia estadística y clínica a partir de niveles de hemólisis cercanos a los 12 g/L de Hemoglobina.

La influencia de la bilirrubina en la determinación de glicemia por el método de Glucosa Hexoquinasa fue clínicamente importante a partir de una concentración

TABLA 4. Interferencia endógena por san-Hemoglobina para los métodos Glucosa Hexoquinasa y Glucosa Oxidasa

MÉTODO	GLUCOSA HEXOQUINASA				GLUCOSA OXIDASA			
	S=6,1mg/dl	Xc=127mgdl	S=6,1mg/dl	Xc=127mgdl	S=4,1mg/dl	Xc=127mgdl	S=4,1mg/dl	Xc=127mgdl
CONCENTRACIÓN DEL INTERFERENTE Hemoglobina (g/L)	4,8	6,0	7,4	12,0	4,8	6,0	7,4	12,0
D	0,80	0,73	0,87	1,40	0,87	1,80	2,87	6,53
IC(99%)	± 6,66	± 6,66	± 6,66	± 6,66	± 4,48	± 4,48	± 4,48	± 4,48
SIGNIFICANCIA ESTADÍSTICA	No Significativo	No Significativo	No Significativo	No Significativo	No Significativo	No Significativo	No Significativo	Significativo
SIGNIFICANCIA ANALÍTICA	No Significativo	No Significativo	No Significativo	No Significativo	No Significativo	No Significativo	No Significativo	No Significativo
SIGNIFICANCIA CLÍNICA (LICS)	LIC>3,6 No Significativo	LIC>3,6 No Significativo	LIC >3,6 No Significativo	LIC <3,6 Significativo				

S= Desviación Estándar Intraserial Xc= Concentración del Constituyente.

$$IC_{(99\%)} = d \pm 2,99 \frac{(2S^2)^{(1/2)}}{15}$$

$$LICS = [(Xc \cdot CVi/2)] / 100$$

TABLA 5. Interferencia endógena por srm-Bilirrubina para los métodos Glucosa Hexoquinasa y Glucosa Oxidasa

MÉTODO	GLUCOSA HEXOQUINASA				GLUCOSA OXIDASA			
	S=6,1mg/dl	Xc=127mgdl	S=6,1mg/dl	Xc=127mgdl	S=4,1mg/dl	Xc=127mgdl	S=4,1mg/dl	Xc=127mgdl
CONCENTRACIÓN DEL INTERFERENTE Bilirrubina (g/L)	1,5	2,0	2,5	6,8	1,5	2,0	2,5	6,8
D	3,20	3,9	6,93	17,67	3,53	4,00	4,40	13,93
IC(99%)	± 6,66	± 6,66	± 6,66	± 6,66	± 4,48	± 4,48	± 4,48	± 4,48
SIGNIFICANCIA ESTADÍSTICA	No Significativo	No Significativo	Significativo	Significativo	No Significativo	No Significativo	No Significativo	Significativo
SIGNIFICANCIA ANALÍTICA	No Significativo	No Significativo	No Significativo	No Significativo	No Significativo	No Significativo	No Significativo	Significativo
SIGNIFICANCIA CLÍNICA (LICS)	LIC>3,6 No Significativo	LIC<3,6 Significativo	LIC <3,6 Significativo	LIC <3,6 Significativo	LIC >3,6 No Significativo	LIC <3,6 Significativo	LIC <3,6 Significativo	LIC <3,6 Significativo

S= Desviación Estándar Intraserial Xc= Concentración del Constituyente.

$$IC_{(99\%)} = d \pm 2,99 \frac{(2S^2)^{(1/2)}}{15}$$

$$LICS = [(Xc \cdot CVi/2)] / 100$$

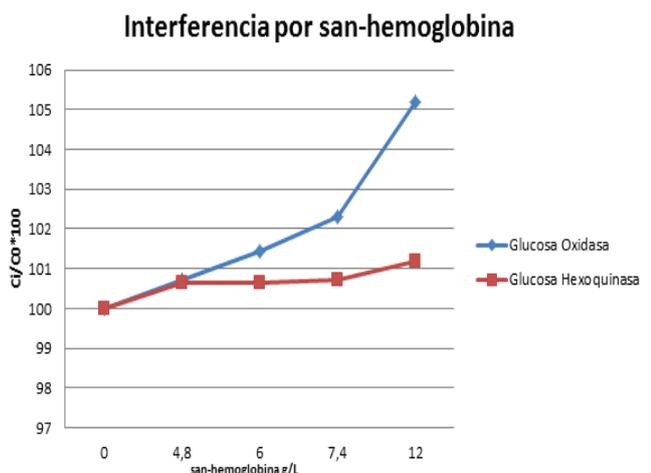


FIGURA 3. Interferograma por san-Hemoglobina para el Método Glucosa Hexoquinasa y Glucosa Oxidasa.

de 2 mg/dl de bilirrubina, a diferencia de lo observado en el método de glucosa oxidasa, en el cual la interferencia clínicamente significativa comienzan partir de 2,5 mg/dl.

B.4.- VERACIDAD UTILIZANDO MATERIALES DE REFERENCIA

Los resultados de la evaluación de la veracidad a través del uso de materiales de referencia evidencian que no existen diferencias significativas (IC 95%) entre las medias obtenidas por los métodos en estudio y la media asignada al material de referencia en cada uno de los niveles de concentración evaluados (Tabla 5).

Discusión

Dentro de los criterios utilizados en la actualidad para el diagnóstico y seguimiento de la Diabetes Mellitus, la determinación de la glicemia juega un papel clave (21). La medición por métodos fiables de la glucosa sérica resulta una herramienta clínica fundamental y de allí la importancia de la verificación del desempeño de los métodos que se utilizan para su valoración. En este

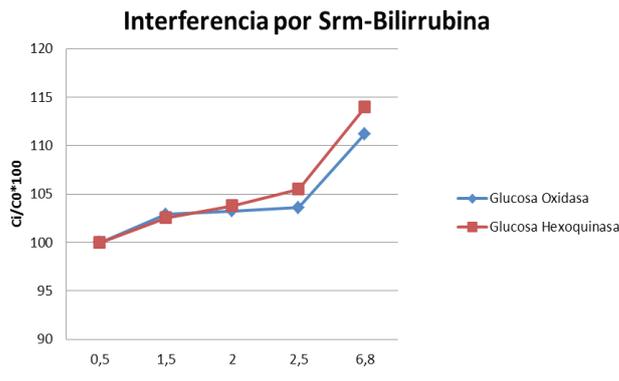


FIGURA 4. Interferograma por srm-Bilirrubina para el Método Glucosa Hexoquinasa y Glucosa Oxidasa

trabajo se evaluaron dos métodos analíticos utilizados dentro del Servicio de Bioanálisis del Hospital José Gregorio Hernández del IVSS-Caracas, Venezuela, estimando su desempeño in situ y analizando el impacto clínico que el uso de uno u otro método pudiese tener sobre la seguridad del paciente.

La confiabilidad de los métodos en estudio se determinó a través de un protocolo de verificación siguiendo las recomendaciones de organismos especializados en la materia, y que proporciona evidencia objetiva sobre la magnitud de los errores y su significancia clínica (8,11-16, 18, 25-28,30-35).

Los resultados obtenidos en el presente estudio evidenciaron que la imprecisión en condiciones de repetibilidad y de reproducibilidad, para ambas metodologías, cumple con los requerimientos de calidad propuestos por los estándares CLIA '88 y Rilibäk Richtlinie en todos los niveles de decisión clínica. No obstante, al comparar los resultados del CV% entre ambas metodologías, se observó que el método de Glucosa Oxidasa presentó un mejor desempeño.

El estudio de comparación de métodos con muestras de pacientes muestra la existencia de una diferencia

TABLA 5. Veracidad utilizando materiales de referencia para los métodos de Glucosa Hexoquinasa y Glucosa Oxidasa

Método	MRC	Media (mg/dl)	CV%	Intervalo de Verificación	Sesgo	Valor asignado (mg/dl)	U (mg/dl)
Glucosa Hexoquinasa	SH	76,7	3,3	60,0 a 88,0	2,7	74	6
	SHH	186,9	2,9	155,4 a 220,6	-1,1	188	14
Glucosa Oxidasa	SH	74,1	1,8	60,1 a 87,9	0,1	74	6
	SHH	187,2	1,6	155,6 a 220,4	-0,8	188	14

de medias de 1,5 mg/dl entre los métodos evaluados ($p < 0,0001$), la cual no es clínicamente significativa al contrastarla con las especificaciones de desempeño analítico. El análisis de regresión revela que los resultados obtenidos por ambos métodos son comparables o concordantes, no existiendo errores constantes ni proporcionales de importancia estadística ni clínica en todo el intervalo de concentración evaluado (60 a 645 mg/dl) al contrastar los sesgos obtenidos con las metas de calidad analítica (CLIA 88, Richtlinie y VB-min), por lo tanto, los resultados reportados a los pacientes por ambos métodos son transferibles y no comprometen las decisiones médicas. Sin embargo, se pudo observar que el sesgo se incrementa a medida que disminuyen los valores de Glucosa en suero.

Ambas metodologías mostraron un comportamiento lineal, lo cual es claramente verificable mediante la inspección visual de la representación gráfica de los valores obtenidos, además de los resultados del análisis de la regresión polinómica. Por otra parte en ninguno de los casos fue superado el "límite clínico de no linealidad" establecido como el 50% del error total máximo permitido según las especificaciones de calidad de variabilidad biológica (mínimas) (5,21%) (11).

Las interferencias endógenas evaluadas (Hemólisis e Ictericia) afectan de forma desigual a ambos métodos. Se encontró diferencia estadísticamente significativa ($IC_{99\%} = 6,53 \pm 4,48$) en la glucosa Oxidasa a una concentración de hemoglobina de 12 g/L. No se encontraron diferencias analíticamente significativas para ninguno de los dos métodos en las concentraciones del interferente estudiadas. Sin embargo, se observaron diferencias clínicamente importantes ($d: 6,53$) en el método glucosa Oxidasa cuando la concentración del interferente (Hb) alcanzó los 12 g/L. La interferencia analítica descrita a través de la regresión de Passing-Bablok fue positiva para ambos métodos (Hexoquinasa: $Conc.GHK = 126,09 + 0,15 * Interferente$ y Oxidasa: $GOX = 122,55 + 0,74 * Interferente$). El efecto de concentraciones crecientes de Bilirrubina en las determinaciones de Glucosa sérica es más evidente que lo observado en el caso de la hemoglobina. Los valores de glicemia reportados por ambos métodos se afectan de manera clínicamente significativa a partir de una concentración de bilirrubina de 2 mg/dl, siendo la prueba más influenciada la realizada a través del método glucosa Hexoquinasa.

La veracidad de los métodos de glucosa en suero fue verificada a través de la evaluación de material de referencia con valores trazables al método ID-MS, obteniéndose valores de sesgo superiores, aunque

no significativos, para la metodología de Glucosa Hexoquinasa.

Conclusiones

A través de este estudio se ha podido verificar que los resultados emitidos por ambas metodologías son transferibles y pueden ser utilizados indistintamente para el reporte de glicemia en el entorno clínico. Los CV% alcanzados cumplen con los requerimientos propuestos por CLIA '88 y Rilibäk Richtlinie y no se observan desviaciones significativas en la veracidad de los métodos que afecten su relevancia médica. Adicionalmente se pudo demostrar que el método de Glucosa Oxidasa tiene un desempeño analítico general superior al método de Glucosa Hexoquinasa.

Agradecimiento

Trabajo financiado con fondos del CDCH. Proyecto PI N-09006715.2007

Referencias

1. OPS/HSP/HSE-LAB. Sistemas de garantía de calidad, conceptos gerenciales para los laboratorios de salud pública. División de desarrollo de sistemas y servicios de salud. Washington D.C. 2002.
2. Terres-Speziale AM. Reingeniería de los Programas de calidad para integrar los procesos de control analítico y relevancia médica. *Rev.Mex.Patol.Clin* 2006;53(1):3-15.
3. Sociedad Española de Bioquímica Clínica Y Patología molecular. Comisión de instrumentación. Selección Y Evaluación De Sistemas Analíticos. España: Barcelona 1994.
4. Maroto S. Incertidumbre en métodos analíticos de rutina. Facultat de Química. universitat rovir i virgili. tesis doctoral 2002.
5. Westgard J.O., De Vos AJ., Hunt MR., Guan EF., Caney RN. y Garber CC. Concepts and practice in the evaluation of laboratory methods. Background and Approach. *Am J. Med Technol.* 1978;44:290-300.
6. Clinical and Laboratory Standards Institute. Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach; Approved Guideline. EP6-A 2003. (ISBN 1-56238-498-8). NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA
7. International Organization for Standardization. ISO-15189-2012. Medical laboratories Requirements for quality and competence.
8. Ricardo Guglielmone, Rafael de Elías, Oscar Kiener, César Collino, Silvia Barzón. Verificación de métodos en un laboratorio acreditado y planificación del control de calidad interno *Acta Bioquím Clín Latinoam* 2011;45(2):335-347
9. Lumsden J.H. Laboratory test method validation.

- International Society of Animal Clinical Biochemistry. Toulouse, France July 2000 [Plenary Lecture].
10. Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular SEQC. Validación metodológica y cálculo de incertidumbre. Aplicación práctica en el caso de elementos trazas Enero 2009.
 11. Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular SEQC. Recomendaciones para el estudio de la precisión de los procedimientos de medida en el laboratorio clínico. *Química Clínica* 2003;22(1):33-35.
 12. Westgard J.O. Precision and Accuracy: Concepts an assessment by method evaluation testing. *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences* 1981;13:282-330.
 13. Instituto de Salud Pública de Chile. Validación de métodos y determinación de la incertidumbre de la medición: "Aspectos generales sobre la validación de métodos" Santiago 2010.
 14. López Azorín F. La necesidad de mejores evaluaciones metodológicas y nuestra exigencia ante los criterios de aceptabilidad de los resultados. *Química Clínica* 2003;22(6):431-432. [carta al editor]
 15. Glick, M.R., Ryder K.W., Glick S.J. y Woods J. Unreliable Visual estimation of the incidence and amount of turbidity, hemolysis and icterus in serum from hospitalized patients. *Clin Chem* 1989;35(5):837-839.
 16. Marban, R.M y Pellerer, J.A. Metrología para no metrologos. Organización de Estados Americanos y Sistema Interamericano de Metrología. Segunda Edición 2002
 17. Linnet K. Necessary sample size for method comparison studies based on regression analysis. *Clin Chem* 1999;45(6):882-894.
 18. Peterson H., Ricos C, Stockl D. and Libeer JC. Proposed guidelines for the internal quality control of analytical results in the medicine laboratory. *Eur J. Clin Chem. Clin Biochem* 1996;34:383-999.
 19. Ricos C, Alvarez V, Cava F, García-Lario JV, Hernández A, Jiménez CV et al. Current databases on biologic variation: Pros Cons guid Progress. *Scand J. Clin Lab Invest* 1999;59:491-500.
 20. Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular. Comité Científico Comisión de Interferencias y Efectos de los Medicamentos. Detección de interferencias y otros errores en la medición de la glucemia en glucómetros portátiles Recomendación 2012.
 21. Asociación Latinoamericana de Diabetes. ALAD. Guías ALAD sobre el Diagnóstico, Control y Tratamiento de la Diabetes Mellitus Tipo 2 con Medicina Basada en Evidencia Edición 2013
 22. Salve M., Amich S, Prieto S y Casas A. Manual de Laboratorio Clínico Básico. Ediciones McGraw Hill 2002.
 23. Clinical and Laboratory Standard Institute. User verification of performance for precision and trueness; Approved Guideline – Second edition. CLSI Document EP15-A2. Clinical and Laboratory Standard Institute Pennsylvania USA 2005.
 24. Clinical and Laboratory Standard Institute. Interference testing in clinical chemistry; Approved Guideline – Second edition. CLSI Document EP7-A2. Clinical and Laboratory Standard Institute Pennsylvania USA 2005
 25. Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular. Actualización en la selección y evaluación de sistemas analíticos ISBN: 84-89975-48-5- febrero 2013.
 26. Westgard J.O and Burnett RW. Precision requirements for cost-effective operation of analytical processes. *Clin Chem* 1990;36:1629-1632.
 27. Westgard J.O. A method evaluation decision chart (medxchart) for judging method performance. *Clinical Laboratory Science*. 8(5) 277-283 sept/oct 1995
 28. Westgard, J. Method validation- the linearity or reportable range experiment 2000 [Documento en línea] Disponible en: <http://www.westgard.com/lesson26.htm>. [Consulta: 2004, Febrero 10]
 29. Westgard, J. y Quam, E. Method validation -the interference and recovery experiments (2000) [Documento en línea] Disponible en: <http://www.westgard.com/lesson27.htm>. [Consulta: 2004, Febrero 10]
 30. FONDONORMA. Covenin-ISO 15189:2007. Requisitos particulares para la calidad y competencia de laboratorios clínicos.
 31. National Committee for Clinical Laboratory Standards. NCCLS. Evaluation of Precision performance of clinical chemistry devices. Approved Guideline NCCLS Document EP5-A. NCCLS Pennsylvania USA 1999
 32. National Committee for Clinical Laboratory Standards. NCCLS. Method comparison and bias estimation using patient samples; Approved Guideline NCCLS Document EP9-A. NCCLS Pennsylvania USA 1995
 33. Glick M., Ryder K. y Jackson S. Graphical comparisons of interference in clinical chemistry instrumentation. *Clin. Chem*. 32(3) 470-475 1986
 34. Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular Comité Científico. Recomendaciones para el estudio de la veracidad de los procedimientos de medida en el laboratorio clínico mediante la utilización de materiales de referencia. 2010.

ESTANDARIZACIÓN DE LA FASE PREANALÍTICA DEL UROANÁLISIS, EN EL LABORATORIO CLÍNICO DE RUTINA

Celsy Hernández; Hilda Stekman; M^a Fátima Garcés; Beatriz De La Torre.

Laboratorio de Investigaciones Básicas y Aplicadas, Escuela de Bioanálisis, Facultad de Medicina, Universidad Central de Venezuela.

Recibido para publicación 12 de mayo 2014. Aprobado para publicación 12 de junio 2014.

RESUMEN:

Introducción: De acuerdo con diversos autores, hasta un 84% de los errores del laboratorio clínico ocurren en la fase preanalítica. Debido a la relevancia que posee la información clínica que proporciona el uroanálisis y el impacto negativo que generan los errores preanalíticos en la confiabilidad de sus resultados, nos propusimos estandarizar la fase preanalítica del uroanálisis, de acuerdo a las normas y recomendaciones de la Organización Internacional de Estandarización (ISO), el Instituto de Estandarización Clínica y del Laboratorio (CLSI) y la Confederación Europea de Laboratorios Médicos (ECLM). **Objetivos:** Estandarizar la fase preanalítica del uroanálisis realizado en el laboratorio clínico de rutina, de acuerdo con los requisitos de la ISO y las recomendaciones del CLSI y ECLM. **Materiales y Métodos:** Investigación descriptiva documental desarrollada en el Laboratorio de Investigaciones Básicas y Aplicadas de la Universidad Central de Venezuela, que consideró estandarizar las variables que determinan la calidad de la fase preanalítica del uroanálisis, de acuerdo a las normas FONDONORMA-ISO 15.189, COVENIN-ISO TR 10013, CLSI GP16 A3 y "European Urinalysis Guidelines". **Resultados y Discusión:** La preparación del paciente, recolección por técnica de chorro medio, identificación primaria y traslado de muestras de orina parcial para el uroanálisis, fueron estandarizadas mediante el diseño y la elaboración de unas instrucciones gráficas y escritas para la recolección y el traslado de las muestras de orina parcial para el uroanálisis, de acuerdo con las normas y recomendaciones de la ISO, el CLSI y el ECLM. **Conclusiones:** El uroanálisis es un análisis clínico estandarizable en su fase pre-analítica. La estandarización de la fase preanalítica del uroanálisis, implica diseñar y elaborar instrucciones de trabajo que documenten los procedimientos propios del preanálisis, de acuerdo con los requisitos de la ISO y las recomendaciones del CLSI y el ECLM.

Palabras Clave: Uroanálisis, fase preanalítica, estandarización, calidad, laboratorio clínico.

PREANALYTICAL PHASE OF UROANALYSIS STANDARDIZATION IN CLINICAL LABORATORY

SUMMARY

Introduction: According to several authors, up to 84% of clinical laboratory mistakes occur in the preanalytical phase. Due to the importance that has the clinical information provided by the urinalysis and the negative impact generated by preanalytical errors in reliability results, we proposed to standardize the preanalytical phase of urinalysis, according to the rules and recommendations of the International Standardization Organization (ISO), the Clinical and Laboratory Standardization Institute (CLSI) and the European Confederation of Laboratory Medicine (ECLM). **Aims:** Standardize the preanalytical phase of urinalysis performed in the routine clinical laboratory, in accordance with the requirements of ISO and CLSI recommendations and ECLM. **Materials and Methods:** Descriptive documentary research performed at the Basic and Applied Research Laboratory at the Central University of Venezuela, we considered standardize the variables that determine the quality of the preanalytical phase of urinalysis, according to FONDONORMA-ISO 15,189, COVENIN-ISO TR 10013 standards, CLSI GP16 A3 and "European Urinalysis Guidelines". **Results and Discussion:** Patient preparation, midstream urine collection, identification and transport of the partial urine samples for urinalysis, were standardized by designing and developing a graphical and written instructions for collection and transport of partial urine samples for urinalysis, according to the rules and recommendations of the ISO, the CLSI and ECLM. **Conclusions:** Urinalysis is clinical analysis that can be standardize in its pre-analytical phase. The standardization of the preanalytical phase of urinalysis, involves designing and developing work instructions that document the procedures, according to the requirements of ISO and CLSI recommendations and ECLM.

Key words: Urinalysis, preanalytical phase, standardization, quality, clinical laboratory.

Introducción

El uroanálisis es el análisis de la orina que mediante un procedimiento detallado abarca la evaluación de los aspectos característicos de este líquido biológico, con la finalidad de proporcionar información clínica

acerca del funcionalismo renal y genitourinario, así como de otro orden metabólico de forma rápida, temprana, costo efectiva y con escasa invasibilidad en el paciente. Al igual que el resto de los procesos llevados a cabo en el laboratorio clínico, el uroanálisis consta

Solicitar copia a: Celsy Hernández (e-mail: celsyhernandez@gmail.com)

de una fase preanalítica, analítica y postanalítica (1). La fase preanalítica es aquella que comienza en orden cronológico, desde la solicitud del clínico e incluye la solicitud para el análisis, preparación del paciente, recolección de la muestra, identificación de la muestra, transporte al y dentro del laboratorio, y finaliza cuando el procedimiento analítico comienza (2). De acuerdo con diversos autores, hasta un 84% de los errores del laboratorio clínico ocurren en la fase preanalítica (3). Debido a la relevancia que posee la información clínica que proporciona el examen simple de orina y el impacto negativo que generan los errores preanalíticos en la confiabilidad de sus resultados, nos propusimos estandarizar la fase preanalítica del uroanálisis realizado en el laboratorio clínico de rutina, de acuerdo a las normas y recomendaciones internacionales de la Organización Internacional de Estandarización ISO (del inglés, *International Organization for Standardization*), el Instituto de Estandarización Clínica y del Laboratorio, CLSI (del inglés, *Clinical and Laboratory Standards Institute*) y la Confederación Europea de Laboratorios Médicos, ECLM (del inglés, *European Confederation of Laboratory of Medicine*).

Materiales y Métodos

La estandarización de la fase preanalítica del uroanálisis realizado en el laboratorio clínico de rutina incorporó una investigación descriptiva documental realizada en el Laboratorio de Investigaciones Básicas y Aplicadas de la Escuela de Bioanálisis de la Universidad Central de Venezuela, que consideró estandarizar las variables que determinan la calidad de la fase preanalítica del uroanálisis, a través del diseño y elaboración de unas instrucciones gráficas y escritas para los procedimientos de preparación del paciente, recolección de la muestra de orina parcial por técnica de chorro medio, identificación primaria y traslado de las muestras de orina parcial para el uroanálisis realizado en el laboratorio clínico de rutina, siguiendo las normas y recomendaciones internacionales de la ISO, CLSI y el ECLM, específicamente las normas FONDONORMA-ISO 15.189 "*Laboratorios Clínicos. Requisitos particulares para la Calidad y la Competencia*" (2) y COVENIN-ISO TR 10013 "*Directrices para la documentación de los sistemas de gestión de la calidad*" (4); y las recomendaciones internacionales CLSI GP16 "*Urinalysis and Collection, Transportation, and Preservation of Urine Specimens*" (5) y "*European Urinalysis Guidelines*" del ECLM (6).

Resultados

La preparación del paciente, la recolección por técnica

de chorro medio, la identificación primaria y el traslado de muestras de orina parcial para el uroanálisis realizado en el laboratorio clínico de rutina, fueron estandarizadas mediante el diseño y la elaboración de unas instrucciones gráficas y escritas para la recolección y el traslado de las muestras de orina parcial para el uroanálisis, de acuerdo con las normas y recomendaciones de la ISO, el CLSI y el ECLM (Ver Figura N°1).

Las instrucciones para la recolección y el traslado de las muestras de orina parcial para el uroanálisis fueron elaboradas a fin de cumplir con los requisitos 5.4.2 y 5.4.3 de la ISO 15189, referidos a que el laboratorio debe documentar y poner a disposición de los responsables de la recolección de las muestras biológicas, las instrucciones específicas para la preparación del paciente antes de la recolección, la recolección apropiada de la muestra con descripción del envase de recolección, el tiempo especial para la recolección, el tipo y la cantidad de muestra a ser recolectada así como el manejo de muestras recolectadas en relación a su identificación primaria y cualquier necesidad de manejo especial entre el tiempo de recolección y el tiempo de recepción por el laboratorio en cuanto a requisitos de transporte, temperatura y tiempo de entrega (2). Adicionalmente, estas instrucciones fueron diseñadas siguiendo lo establecido en el apartado 5.5.3 de la norma ISO 15189, 8.3.2 de la guía "*Urinalysis and Collection, Transportation, and Preservation of Urine Specimens*" de la CLSI y 3.2 y 9.1.2.11 y 10.3 de la guía "*European Urinalysis Guidelines*" del ECLM, en los cuales se especifica que dichas instrucciones deben ser claras y precisas, escritas en un idioma comúnmente entendible para el paciente y acompañadas de ilustraciones para incrementar la uniformidad en el procedimiento de recolección de las muestras y la correcta interpretación de los resultados del uroanálisis (2,5,6). Las instrucciones para la recolección y el transporte de las muestras de orina parcial para el uroanálisis elaborados en el presente trabajo, refieren al igual que el apartado 3.2, 8.3.1 y 8.4.2 de la guía "*Urinalysis and Collection, Transportation, and Preservation of Urine Specimens*" y 4.1 de la guía "*European Urinalysis Guidelines*", que la muestra preferida para el uroanálisis es la primera micción de la mañana, recolectada por micción espontánea después de un periodo de ayuno y sueño de 8 horas, a través de la técnica de chorro medio, debido a que es una muestra concentrada, libre de la influencia de la dieta y la actividad física así como de contaminación con otros fluidos corporales y flora bacteriana, capaz de revelar eficientemente las anomalías microscópicas urinarias (5,6).

INSTRUCCIONES PARA LA RECOLECCIÓN Y TRASLADO DE LA MUESTRA DE ORINA PARCIAL PARA EL UROANÁLISIS

- La muestra de orina parcial debe ser recolectada luego de un período de sueño y ayuno de al menos 8 horas, por lo que se recomienda tomar la muestra de orina durante la primera micción de la mañana, inmediatamente después de levantarse, antes de desayunar y realizar alguna actividad física.
- La higiene de las manos y el área urogenital justo antes de la recolección de las muestras de orina parcial, es de vital importancia para evitar la contaminación y obtener muestras óptimas para el Uroanálisis.
- El envase empleado para la recolección de las muestras de orina es el “Urolab”, un dispositivo desechable, no reusable, de material plástico transparente, con capacidad de 100 ml y una apertura superior de 5 cm de diámetro con tapa hermética removible; que al momento de la recolección debe encontrarse limpio, seco, inerte y libre de interferentes.
- Los envases empleados para la recolección de orinas parciales deben ser identificados por los pacientes una vez recolectada la muestra. Para la identificación debe colocarse con lápiz indeleble el nombre completo (nombres y apellidos), el número de cédula de identidad (si posee sino colocar la fecha de nacimiento), la fecha y hora de recolección de la muestra, en el cuerpo del envase.
- El traslado de las muestras de orina debe realizarse de forma inmediata al laboratorio a una temperatura de $\pm 20^{\circ}\text{C}$ (temperatura ambiente). Si el tiempo de traslado es mayor de una (1) hora, debe mantenerse a una temperatura de $\pm 4^{\circ}\text{C}$ (temperatura de refrigeración).

Pasos a seguir para la toma de muestra:

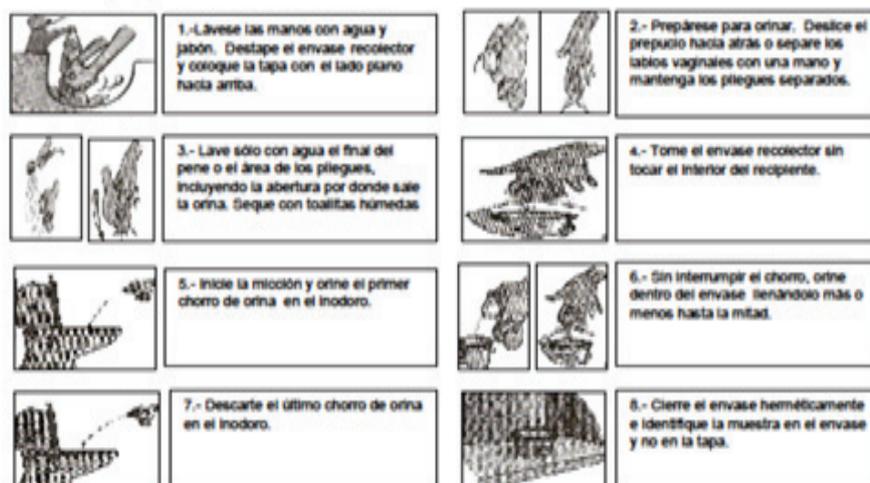


Figura 1. Instrucciones para la recolección y traslado de la muestra de orina parcial para el uroanálisis, de acuerdo con las normas y recomendaciones de la ISO, CLSI y ECLM.

Fuente: Elaboración propia.

De igual forma, en éstas instrucciones se indica que el envase empleado para la recolección de muestras de orinas en pacientes adultos debe ser el “Urolab”, el cual es un dispositivo translúcido, desechable, no reusable, limpio, seco, inerte, libre de interferentes, con capacidad de más de 50 ml, una abertura superior de 4 a 5 cm de diámetro y una tapa de cierre hermético removible, tal y como se recomienda en el apartado 8.6.1 y 8.6.2 de la guía “Urinalysis and Collection, Transportation, and Preservation of Urine Specimens” y 4.2.1 de la guía

“European Urinalysis Guidelines”, referidos a los envases recolectores de las muestras de orina parcial para el uroanálisis (5,6).

En las instrucciones diseñadas y elaboradas se establece que el paciente debe recolectar la muestra de orina parcial implementando la técnica de chorro medio y llenando el envase recolector hasta más o menos la mitad. El volumen promedio que puede contener un recolector comercial “Urolab” varía entre 70 y 100 ml, por lo que el llenado del envase hasta más o menos la mitad permite

que el paciente recolecte aproximadamente entre 35 y 50 ml de orina. De acuerdo con el apartado 3.2. de la guía "Urinalysis and Collection, Transportation, and Preservation of Urine Specimens" y 4.2.2. de la guía "European Urinalysis Guidelines", para llevar a cabo el uroanálisis se prefiere un volumen de muestra de orina parcial de 50 ml, sin embargo, se acepta que el mínimo volumen de orina requerido para realizar el análisis físico-químico y forme de las muestras de orina parcial es 12 ml (5,6).

En lo relativo a la preparación previa de los pacientes, las instrucciones orientan hacia una necesaria higiene de las manos y el área urogenital justo antes de la recolección de las muestras de orina parcial, a fin de evitar la contaminación por flora bacteriana y otros fluidos corporales, tal y como se indica en los apartados 8.3.2 de la guía "Urinalysis and Collection, Transportation, and Preservation of Urine Specimens" y 4.1 de la guía "European Urinalysis Guidelines" (5,6). Cabe destacar que al igual que en las instrucciones diseñadas y elaboradas en el presente trabajo de investigación, en su apartado 4.1, la guía "European Urinalysis Guidelines" recomienda la higiene del área urogenital sólo con agua a fin de reducir en un 20% los falsos negativos obtenidos en los cultivos de las muestras patológicas que hayan sido tomadas en el mismo momento de la recolección de las muestras de orina parcial para el uroanálisis, ya que los jabones y antisépticos no son recomendables debido a que afectan la viabilidad bacteriana (6,7,8,9).

En relación a la identificación de la muestra, las instrucciones diseñadas y elaboradas reflejan lo dictado en los apartados 3.1 8.6.4 y 8.6.6 de la guía "Urinalysis and Collection, Transportation, and Preservation of Urine Specimens" y 4.2.3. de la guía "European Urinalysis Guidelines", en referencia a que el envase recolector de la muestra debe ser identificado inicialmente por el paciente en el cuerpo y la tapa del envase con sus datos completos así como con la fecha y hora de recolección mediante el uso de etiquetas o lápiz indeleble resistente a la humedad y refrigeración (5,6).

En lo que respecta al manejo especial entre el tiempo de recolección y el tiempo de recepción por el laboratorio referido específicamente a requisitos de transporte, temperatura y tiempo de entrega, las instrucciones diseñadas y elaboradas en este estudio indican al igual que los apartados 2.1.6, 8.7.1 y 8.7.2 de la guía "Urinalysis and Collection, Transportation, and Preservation of Urine Specimens" y 4.3 de la guía "European Urinalysis Guidelines", que el traslado de las muestras de orina debe realizarse de forma inmediata al laboratorio a una temperatura de ± 20 °C, sin embargo, si el tiempo

de traslado es mayor a una (1) hora, debe mantenerse a una temperatura de ± 4 °C (5,6). De acuerdo con las recomendaciones internacionales de la CLSI y ECLM, en la práctica diaria para el análisis físico-químico del uroanálisis, las muestras de orina deben trasladarse inmediatamente al laboratorio o de lo contrario refrigerarse y protegerse de la luz hasta un máximo de 24 horas. En el caso del análisis de los elementos formes, la muestra debe ser refrigerada si no puede ser examinada antes de dos (2) horas luego de la recolección, por un máximo de cuatro (4) horas, para evitar la aparición de cambios en la cantidad, calidad y morfología de los elementos formes urinarios (5,6). Es importante destacar que en cuanto a la conservación de la muestra de orina para el análisis de los elementos formes, algunos autores sostienen que los parámetros que más se deterioran luego de las dos (2) horas de recolección a temperatura ambiente son los cilindros y hematíes, los cuales se mantienen estables hasta un máximo de cuatro (4) horas a temperatura de refrigeración (40), sin embargo, el resto de los elementos formes se conservan aceptablemente a temperatura ambiente durante más de 24 horas (7,10).

Conclusiones

El uroanálisis es un análisis clínico estandarizable en su fase pre-analítica, de acuerdo con los requisitos de ISO, el CLSI y el ECLM. La estandarización de la fase preanalítica del uroanálisis, implica diseñar y elaborar instrucciones de trabajo que documenten los procedimientos propios del preanálisis, de acuerdo con los requisitos de la ISO y las recomendaciones del CLSI y el ECLM.

Referencias

1. King Strasinger S, Schaub Di Lorenzo M. Análisis de Orina y de los Líquidos Corporales. Quinta Edición. España: Editorial Panamericana; 2010:34,66-67,120-122.
2. FONDONORMA-ISO 15189:2007. Laboratorios Clínicos. Requisitos Particulares para la Calidad y la Competencia. ISO: Suiza, 2006. FONDONORMA: Caracas, 2007.
3. Ventura S, Chueca P, Rojo I, Castaño J. Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular, Comisión de Interferencias y Efectos de los Medicamentos. Errores relacionados con el laboratorio clínico. Química Clínica 2007;26(1)23-28.
4. COVENIN-ISO TR 10013:2002. Directrices para la documentación de los sistemas de gestión de la calidad. COVENIN: Caracas, 2002.
5. CLSI GP16 A3. Routine Urinalysis and Collection, Transportation, and Preservation of Urine Specimens;

- Approved Guideline, GP16-A3. CLSI: Wayne, PA, 2009.
6. European Confederation of Laboratory Medicine (ECLM). European Urinalysis Guidelines. Scand J Clin Lab Invest 2000;60:1-96.
 7. Ruiz G, Caballero L, Chafer M, Franquelo R, Frau C, García P, Granizo V, Jiménez J, Relea P, Santa María A. El Laboratorio Clínico: Preanalítica de las Muestras de Orina. España: Asociación Castellano-Manchega de Análisis Clínicos. 2007 [Fecha de acceso 30 de Mayo de 2012]; Disponible en: http://www.labcam.es/v1/component?option=com_docman/task,cat_view/gid,24/Itemid,26/
 8. Norden CW, Kass EH. Bacteriuria of pregnancy ± a critical appraisal. Ann Rev Med 1968;19:431-501.
 9. Roberts AP, Robinson IE, Beard RW. Some factors affecting bacterial colony counts in urinary infection. Br Med J 1967;1:400-403.
 10. Kourl T, Vuotari L, Pohjavaara S, Laippala P. Preservation of urine for flowcytometric and visual microscopic testing. Clin Chem 2002;48:900-905. [llanimal/education/complete-urinalysis-faq.pdf](http://www.clinchem.com/education/complete-urinalysis-faq.pdf)

TRIACILGLICÉRIDOS POSTPRANDIALES: IMPORTANCIA. ¿CÓMO MEDIRLOS?

M^a Fátima Garcés, Hilda Stekman, Yamil Adrián Guarín, Yenny Carrero, Celsy Hernández,
Adriana Rivas, María Luisa Nuñez.

Laboratorio de Investigaciones Básicas y Aplicadas, Escuela de Bioanálisis, Facultad de Medicina, Universidad Central de Venezuela.
Recibido para publicación el 5 de junio 2014. Aprobado para publicación el 20 de julio 2014.

RESUMEN:

Introducción: La concentración de triacilglicéridos (TG) en ayunas y postprandial varían considerablemente entre los individuos. Comúnmente los niveles de TG en sangre son determinados en estado preprandial pese a que el período postprandial constituye el estado metabólico habitual en el que se encuentra el ser humano a lo largo del día. **Objetivo:** Establecer los valores de referencia de TG postprandiales con una comida estándar establecida en nuestro laboratorio y establecer la posible asociación entre las alteraciones de la cinética del metabolismo postprandial de TG con las alteraciones de los parámetros aterogénicos. **Metodología:** Se estudiaron 156 individuos aparentemente sanos los cuales se clasificaron según sus resultados de TG postprandiales, en 123 con tolerancia normal a las grasas y 33 con intolerancia a las grasas. A cada individuo se le realizó una extracción de sangre basal y postprandial 2H y 4H después de comer aproximadamente 24gr de grasa (equivalente a una empanada de queso y café). Se tomó muestras para el estudio de niveles de TG (basal y postprandial), colesterol total y sus fracciones y fibrinógeno. **Resultados:** Los individuos con intolerancia a las grasas presentaron niveles de TG superiores a los de los individuos con tolerancia normal en ayunas (121,94±28,66 mg/dL vs 92,78±27,90 mg/dL) y postprandiales 2H (175,46±30,62mg/dL vs 106,88±29,54mg/dL) y 4H (173,79±49,98 mg/dL vs 102,39±28,03mg/dL) con $p < 0,001$. Los valores de referencia obtenidos fueron: triacilglicéridos postprandiales después de 2 horas, arrojaron un límite inferior de referencia de 49 mg/dL (IC:42 -56 mg/dL) y un límite superior de referencia de 165 mg/dL (IC:157 - 172 mg/dL), mientras que para los TG postprandiales después de 4 horas, se obtuvo un límite inferior de referencia de 47mg/dL (IC:40-55 mg/dL) y límite superior de referencia 157 mg/dL (IC:150-164mg/dL). El establecimiento del intervalo de referencia para TG postprandiales con una dieta estándar es importante, ya que permite comparar los valores de TG postcarga y predecir el riesgo cardiovascular de los individuos con niveles elevados de los mismos, los cuales en ayunas poseen niveles de TG normales. Los individuos con intolerancia a las grasas presentan un riesgo relativo (RR) elevado para los índices aterogénicos Col/HDL, LDL/HDL y TG/HDL demostrando que existe una asociación entre hipertrigliceridemia y otros marcadores lipídicos de riesgo ateroesclerótico. **Conclusión:** La hipertriacilgliceridemia postprandial tiene un papel importante en la aterosclerosis debido a las alteraciones encontradas en los índices aterogénicos (Col/HDL, LDL/HDL y TG/HDL) por lo que debe emplearse como prueba en el laboratorio para estimar riesgo ateroesclerótico.

Palabras claves: Hipertriacilgliceridemia postprandial, aterosclerosis, riesgo cardiovascular, índices aterogénicos.

POSTPRANDIAL TRIGLYCERIDES: IMPORTANCE. HOW TO MEASURE THEM?

SUMMARY

Introduction: The fasting and postprandial triglycerides (TG) concentration varies considerably between individuals. Commonly TG levels are determined preprandial state, although the post-prandial period is the usual metabolic state which the individual is throughout the day. **Aim:** To determine reference values for postprandial TG with a standard meal established in our laboratory and also to determine the possible association between changes in the kinetics of postprandial TG metabolism and atherogenic parameters. **Methodology:** 156 apparently healthy individuals were classified according to their postprandial TG results in 123 normal fat tolerance and 33 abnormal fat tolerance or intolerant. We performed a basal and postprandial blood extraction to each individual, 2H and 4H after eating about 24gr fat (equivalent to a cheese patty and coffee). Samples to study TG levels (basal and postprandial), total cholesterol and fractions and fibrinogen were taken. **Results:** Individuals with abnormal fat tolerance had TG levels higher than those individuals with normal fasting tolerance (121,94±28,66 mg/dL vs 92,78±27,90 mg/dL) and postprandial 2H (175,46±30,62mg/dL vs 106,88±29,54mg/dL) and 4H (173,79±49,98 mg/dL vs 102,39±28,03mg/dL) with $p < 0.001$. The reference values obtained were: after 2 hours postprandial triacylglycerol 49 mg/dL as lower reference limit (CI:42-56 mg/dL) and as upper reference limit 165 mg/dL (CI:157-172 mg/dL), while after 4 hours the lower reference limit was 47 mg/dL (CI:40-55 mg/dL) and for the upper reference limit was 157 mg/dL (CI:150-164 mg/dL). The establishment of the post-prandial TG reference interval with a standard diet is important because it allows comparing the values of TG afterload and predicts cardiovascular risk in individuals with high levels of TG, which during fasting are normal. Individuals with fat intolerance have a high relative risk (RR) for atherogenic indexes Chol/HDL, LDL/HDL and TG/HDL, showing an association between hypertriglyceridemia and other lipid markers of atherosclerotic risk. **Conclusion:** Postprandial hypertriglyceridemia has an important role in atherosclerosis due to the changes found in atherogenic indexes (Chol/HDL, LDL/HDL and TG/HDL) therefore determine postprandial triglycerides should be used as a test in clinical laboratory to estimate atherosclerotic risk.

Keywords: Postprandial hypertriglyceridemia, atherosclerosis, cardiovascular risk, atherogenic index.

Introducción

Según la OMS las Enfermedades Cardiovasculares (ECV) son la primera causa de muerte a nivel mundial.

Existen factores de riesgo que influyen en el desarrollo de las ECV, algunos modificables como: obesidad, tabaquismo, consumo excesivo de bebidas alcohólicas,

Solicitar copia a: Ma. Fátima Garcés (e-mail: mariafatimagarcés@hotmail.com)

sedentarismo, mala alimentación, dislipidemias, estrés; y otros no modificables como la edad, sexo, antecedentes familiares (1).

Estos trastornos, especialmente la enfermedad coronaria o cardiopatía isquémica, también producen una sustancial morbilidad y discapacidad, y son una de las principales causas del elevado costo de los sistemas de salud. La arterioesclerosis, es el sustrato anatómico de la enfermedad cardiovascular y se define como una enfermedad multifactorial crónica de tipo inflamatorio, en la cual mecanismos inmunológicos interactúan con factores metabólicos de riesgo para iniciar, propagar y activar lesiones del árbol arterial. La característica más resaltante es el engrosamiento de la pared arterial, debido a una acumulación de lípidos y tejido conectivo en proporción variable y la concomitante reducción en el diámetro del lumen vascular (2-4).

En Venezuela, México, Argentina y Brasil, la hipertriacilgliceridemia (Triacilglicéridos (TG) superiores a 150 mg/dL en sangre) se ubica entre los cinco principales factores de riesgo de ECV, junto con la obesidad y la hipertensión arterial (HTA) (5). La relación entre esta y la ECV se encuentra aún en discusión. Recientemente, se ha propuesto que los remanentes de quilomicrones (QM) y las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL siglas del inglés very low density lipoprotein) presentes en el suero postprandial de los individuos, podrían jugar un papel en el desarrollo de la aterosclerosis, indicando así que medir los niveles de TG sin estar en ayunas puede ser más efectivo para evaluar estos riesgos (6).

Comúnmente los niveles de TG en sangre son determinados en estado preprandial pese a que el período postprandial constituye el estado metabólico habitual en el que se encuentra el ser humano a lo largo del día (3). En pacientes cardiopatas y con intolerancia a las grasas los niveles de TG postprandiales tienden a estar por encima del intervalo de referencia, de esta manera un aumento en los niveles de TG postprandiales predicen mejor el riesgo de enfermedad cardiovascular que los medidos en estados de ayuno, independientemente de otros factores de riesgo cardiovascular (7).

Debido a que se ha determinado que niveles elevados de TG pueden estar involucrados en el proceso aterosclerótico, en éste trabajo nos hemos propuesto como objetivo determinar si el aumento de los niveles de TG postprandiales está asociado a otros marcadores de riesgo de aterosclerosis y así evaluar la posible asociación entre la hipertriacilgliceridemia postprandial y otros marcadores lipídicos de riesgo aterosclerótico,

así como, establecer los valores de referencia de TG postprandiales con una comida estándar establecida en nuestro laboratorio.

Materiales y Métodos

Población de estudio

La población estudiada estuvo constituida por ciento cincuenta y seis (156) individuos aparentemente sanos, adultos, con edades comprendidas entre 19 y 50 años, que aceptaron participar en el estudio, todos residentes actuales de la Gran Caracas que asistieron al Laboratorio de Investigaciones Básicas y Aplicadas.

Criterios de inclusión: a) Individuos aparentemente sanos, normopeso; b) Consentimiento informado escrito firmado, (donde se explican los beneficios y riesgos de su participación en la investigación).

Criterios de Exclusión: Individuos que presenten dislipidemias, sobrepeso u obesidad, diabetes, hipertensión arterial, tabaquismo, alcoholismo, cardiopatía congénita, enfermedades inmunológicas, infecciones agudas o crónicas (menos de seis meses).

Normas de bioética

El protocolo del estudio se realizó bajo las normas de ética establecidas por la Organización Mundial de la Salud (OMS) para trabajos de investigación en humanos y la declaración de *Helsinki* ratificada por la "29th World Medical Assembly", Tokio 1995, contó con la aprobación del Comité de Ética del Hospital Universitario de Caracas (HUC) y contó con el consentimiento informado de los participantes en el estudio.

Obtención de las muestras

A cada participante se le extrajo una muestra de 10 mL de sangre, en ayunas (14 horas aproximadamente). La muestra fue extraída por punción venosa, previa asepsia de la región anterior del brazo, y tomando las medidas y consideraciones necesarias para evitar el éxtasis venoso y hemólisis, las muestras fueron repartidas en un tubo con anticoagulante EDTA y un tubo sin anticoagulante. Posteriormente, se les suministró un desayuno que consistió en una (1) empanada con una carga de 20 gr de grasa y un café con leche con una carga de 4 gr de grasa (para un total de 24 gr de grasas) y bajo la misma técnica se tomaron 10mL de sangre a las 2 horas y 10mL de sangre a las 4 horas posterior a la ingesta de este alimento. Las muestras fueron centrifugadas, en un lapso no mayor de 30 minutos, a 3.000 g por 15 min, en una centrífuga refrigerada a 4°C. El suero y el plasma fueron almacenados en alícuotas, a -70°C, hasta el análisis respectivo.

Determinaciones de laboratorio

Se determinó glucosa, colesterol y triglicéridos en el equipo automatizado Modular Analytics de Roche Diagnostics. La electroforesis de colesterol se realizó en el equipo automatizado de Helena Laboratories SAS-1. Las concentraciones de ApoA1 y ApoB se determinaron usando un ensayo de Inmunodifusión radial, empleando un kit comercial (LTA Apolipoproteína A1 y B RID). La concentración plasmática de fibrinógeno se determinó mediante el equipo automatizado Amelung Amax 190 (Siemens). Empleando inmunoensayo enzimático adsorbente (ELISA), se determinó Insulina (DRG International, Marburg, Alemania).

Análisis estadístico.

Los datos bioquímicos fueron procesados mediante el software estadístico SPSS versión 17, y se analizaron siguiendo los procedimientos estadísticos recomendados por la Federación Internacional de Química Clínica (8). En primer lugar se realizó un análisis de estadística descriptiva con un intervalo de confianza del 95%, se verificó el cumplimiento de los supuestos estadísticos normalidad mediante la prueba estadística de Kolmogorov-Smirnov (9) y de igualdad de varianzas a través del método de Levene. Por otro lado, con el fin de determinar si existen diferencias significativas en el nivel promedio de las variables bioquímicas analizadas entre los grupos tolerantes (control) e intolerantes a las grasas, se realizó la Prueba t de student para muestras independientes.

Los intervalos de referencia se calcularon mediante el método paramétrico recomendado por la IFCC (8), siendo este el más apropiado cuando los datos siguen una distribución normal o Gaussiana.

Valores de referencia

Los valores de referencia se calcularon considerando el 95% central de la distribución, usando como límites inferior y superior del valor de referencia los percentiles 2.5 y 97.5, respectivamente. El algoritmo de cálculo de valores de referencia respeta lo recomendado por el protocolo NCCLS C28-A2, donde se recomienda un tamaño muestral mínimo de 120 sujetos por grupo de partición (10).

Resultados

Se estudiaron 156 individuos, de los cuales 42 (27%) son hombres y 114 (73%) son mujeres. Los individuos fueron clasificados según sus niveles de TG postprandiales en: 1) Grupo con tolerancia normal a las grasas (grupo control n=123), 2) grupo con intolerancia a las grasas (n=33),

como puede observarse en la figura 1. Presentando como edad media el grupo control 31 ± 12 años y 36 ± 15 años el grupo con intolerancia a las grasas.

Para la mayoría de las variables bioquímicas, se cumplió

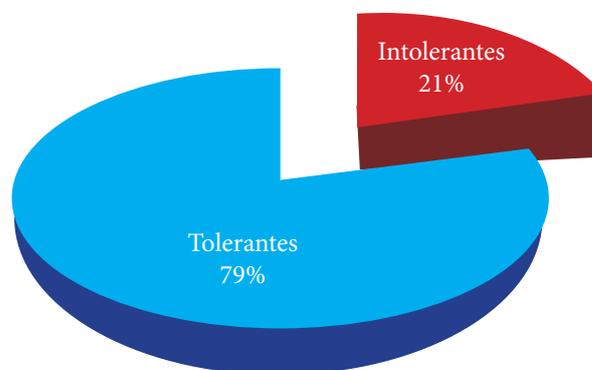


FIGURA 1. Distribución de la muestra por grupos, dependiendo sus niveles de TG postprandiales: Grupo con tolerancia normal a las grasas (control) y grupo con intolerancia a las grasas.

el supuesto de normalidad, excepto para las variables Apo A1 y Apo B, comprobándose su ajuste a la distribución normal mediante el test de Kolmogorov - Smirov, con un nivel crítico correspondiente al 0,05 de significación. Se realizó una transformación logarítmica de los datos para las apolipoproteínas ApoA1 y Apo B, logrando de esta manera su ajuste a la distribución normal.

Una vez comprobada la normalidad de las variables bioquímicas, se procedió al análisis de los estadísticos descriptivos. En la tabla 1, se muestran la media aritmética (\bar{x}) como valor de tendencia central y la desviación estándar (s) estimados con un intervalo de confianza del 95%.

Bajo la hipótesis de normalidad e igualdad varianza, la comparación de ambos grupos mediante la prueba t de student con una región de aceptación $\alpha=0,05$, donde se encontró el estadístico de contraste según el modelo t con un intervalo de confianza del 95% para muestras independientes (tabla 1), permitió observar que la comparación entre los promedios de colesterol total, Apo A-1 en log y fibrinógeno no presentaron diferencias significativas, arrojando un valor de $p>0,05$.

La comparación t de los promedios de Glucosa, LDL-c y VLDL-c, arrojó un valor de $p<0,05$, siendo estos parámetros significativamente superiores en el grupo intolerantes a las grasas respecto al grupo control. De la misma manera, la evidencia estadística, determinó

que los promedios de HDL-c, son significativamente diferentes entre ambos grupos, siendo mayor el promedio en el grupo control y menor en el grupo intolerante a las grasas ($p < 0,05$). En cuanto al promedio de la Apo B en log, resultó ser muy significativamente superior en el grupo intolerantes a las grasas respecto al grupo control con un valor de $p < 0,01$.

Con respecto a los TG basales y postprandiales a las 2 y 4 horas, se aprecia que los valores promedios son significativamente más elevados en el grupo con intolerancia a las grasas que en el grupo con tolerancia normal ($p < 0,001$). Para establecer la respectiva agrupación de los sujetos, se tomó en cuenta que los valores resultaron ser a las 2 y 4 horas superiores al intervalo de referencia, de la misma manera ocurrió con el aumento en los niveles de TG 2 h postcarga de más de un 30% de sus valores basales.

En la tabla 2 se presentan los intervalos de referencia para los TG postprandiales donde pueden observarse dichos valores a las 2 y 4 horas determinados en los 123 individuos del grupo con tolerancia normal a las grasas. Estos intervalos fueron determinados en los individuos

del grupo con tolerancia normal, los cuales son los que presentan un aumento menor al 30% en sus valores después de la ingesta de la comida estándar para este estudio. En la tabla 2, se aprecia que los valores de referencia obtenidos para cada fractil usando el método paramétrico para TG postprandiales después de 2 horas mg/dL, arrojaron un límite inferior de referencia de 49 (IC: 42 – 56 mg/dL) y un límite superior de referencia de 165 (157 – 172) mg/dL, mientras que para los TG postprandiales después 4 horas mg/dL, se obtuvo un límite inferior de referencia de 47 (IC: 40-55 mg/dL) y para el límite superior de referencia de 157 (IC: 150-164 mg/dL).

En la figura 2 se observa el comportamiento de los TG en ayunas y postprandiales (2h y 4h) en los grupos en estudio. La cinética de los TG para el grupo de los controles comienza con una media basal inferior a los 100 mg/dL a diferencia del grupo intolerante que presenta valores por encima de 120 mg/dL, mientras que a las 2 horas de la ingesta de la carga estándar se obtiene un valor máximo para ambos grupos siendo mucho mayor el aumento para los intolerantes, los cuales sobrepasan el intervalo de referencia y no disminuyen por debajo de este a las 4 horas.

TABLA 1. Estadísticos descriptivos de los parámetros bioquímicos estudiados sobre los grupos Tolerantes e Intolerantes a las grasas.

Parámetros	Grupo Tolerante a las Grasas			Grupo Intolerante a las Grasas			VR	p
	N	\bar{x}	s	N	\bar{x}	s		
Glucosa (mg/dL)	115	88,21	8,9	32	92,5	9,6	70-100	0,018*
Colesterol (mg/dL)	123	182,80	40,6	33	192,3	34,16	0 – 200	0,221
HDL-C (mg/dL)	116	51,92	17,24	31	40,70	14,31	40,00-60,00	0,001**
VLDL-C (mg/dL)	116	19,33	6,44	31	23,58	7,06	15,00 - 44,00	0,002**
LDL-C (mg/dL)	116	109,83	32,13	31	122,74	29,5	0,00 - 159,00	0,045*
Apo A1 (mg/dL)	108	log 2,35	log 0,109	33	log 2,32	log 0,106	102 - 215	0,229
Apo B (mg/dL)	111	log 1,99	log 0,107	33	log 2,06	log 0,133	60-145	0,003**
TG Ayuna (mg/dL)	123	92,78	27,90	33	121,94	28,66	30 – 150	0,000***
TG postprandiales. 2 horas (mg/dL)	123	106,88	29,54	33	175,46	30,62		0,000***
TG postprandiales. 4 horas (mg/dL)	123	102,39	28,03	33	173,79	49,98		0,000***
Fibrinógeno (mg/dL)	111	231,16	76,98	31	252,48	58,11	180 – 350	0,155

N= Número de muestras, \bar{x} = Media aritmética, s = Desviación estándar, VR= Valor de referencia del fabricante, p = Test de student con un nivel de significación $\alpha = 0,05$.

TABLA 2. Intervalo de Referencia (95%) con Intervalo de Confianza (0,90) para los Fractiles 0,025 y 0,975.

Parámetros	Fractil p =0,025	Fractil p=0,975
TG postprandiales 2 horas mg/dL	49 (42-56)	165 (157-172)
TG postprandiales 4 horas mg/dL	47 (40-55)	157 (150-164)

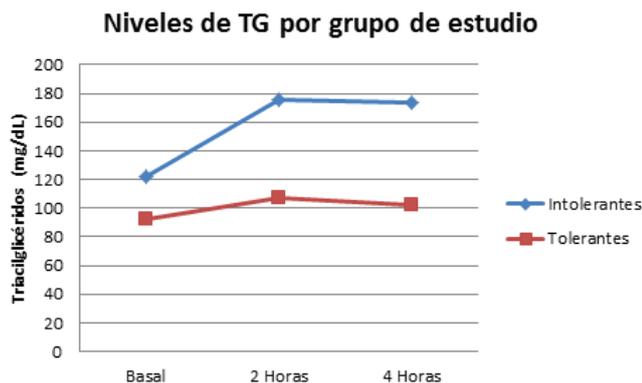


FIGURA 2. Comportamiento de los TG por grupo de estudio.

Además en esta figura puede apreciarse la diferencia significativa de los valores de TG en ayunas y en estado postprandial que hay entre ambos grupos de individuos. La relación ApoA1/ApoB y LDL/ApoB de los individuos en estudio se expresa en la figura 3. En esta figura se evidencia que la relación LDL/ApoB del grupo de los intolerantes está disminuida significativamente con respecto al grupo con tolerancia normal con un $p < 0,05$. Los valores del índice de Castelli y la relación LDL/HDL obtenidos por grupo de individuos se pueden observar en la figura 4.

En este se evidencia un aumento estadísticamente significativo de la relación ColT/HDL y LDL/HDL en el

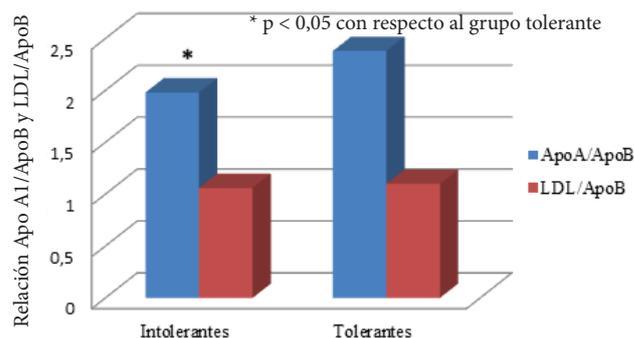


FIGURA 3. Relación ApoA/ApoB y LDL/ApoB de los individuos en estudio.

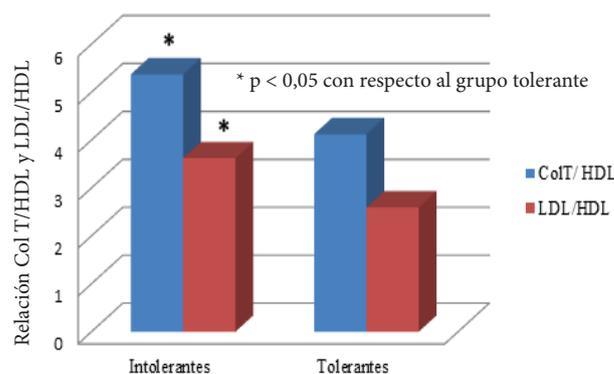


FIGURA 4. Índice de Castelli y relación LDL/HDL por grupo de estudio.

grupo intolerante con respecto al grupo con tolerancia normal ($p < 0,05$).

En la tabla 3 se presentan los valores de Riesgos Relativos (RR) por grupo en estudio. Donde se muestran la cantidad de individuos que presentan la relación colesterol Total/HDL mayor o menor que 5 y la relación LDL/HDL mayor o menor que 3,6. Se observa que el grupo con intolerancia a las grasas tiene 2,82 veces mayor riesgo a tener una relación

TABLA 3. Riesgo Relativo (RR) para los grupos en estudio

	Tolerancia normal n=116	Intolerancia a las grasas n=31	RR (IC 95%)	p
Rel Col/HDL > 5	17	13	2,82 (1,43-5,16)	0,002*
Rel Col/HDL < 5	99	18	0,67 (0,46-0,90)	
Rel LDL/HDL > 3,6	12	9	2,46 (1,15-4,49)	0,002*
Rel LDL/HDL < 3,6	104	22	0,69 (0,43-0,96)	

* $p < 0,05$ con respecto al grupo control

TABLA 4. Riesgo Relativo (RR) para los grupos en estudio

BASAL	Tolerancia normal n=123	Intolerancia a las grasas n=33	RR (IC 95%)	p
Rel Tg/HDL > 3	18	16	3,38 (1,80-6,07)	0,001*
Rel Tg/HDL < 3	105	17	0,61 (0,43-0,82)	
PP 2H	Tolerancia normal n=123	Intolerancia a las grasas n=33	RR (IC 95%)	p
Rel Tg/HDL > 3	22	27	9,83 (4,32-24,99)	0,001*
Rel Tg/HDL < 3	101	6	0,48 (0,39-0,62)	
PP 4H	Tolerancia normal n=123	Intolerancia a las grasas n=33	RR (IC 95%)	p
Rel Tg/HDL > 3	18	25	8,21 (3,98-18,02)	0,001*
Rel Tg/HDL < 3	105	8	0,45 (0,34-0,61)	

* p < 0,05 con respecto al grupo control

Col/HDL > 5 con respecto al grupo de tolerancia normal; similar sucede con el índice LDL/HDL en el que el grupo con intolerancia a las grasas tiene 2,46 veces más riesgo que el grupo de tolerancia normal de tener una relación mayor de 3,6.

La tabla 4 muestra los valores de Riesgos Relativos para la relación Tg/HDL en ayunas, 2h y 4h postprandial, en el cual se empleó como punto de corte 3. Se observó que el riesgo relativo aumento en los individuos con intolerancia a las grasas a las 2h y 4h después de la comida presentando un RR de 3,38 en ayunas, 9,83 a las 2h y 8,21 a las 4h con respecto a los individuos con tolerancia normal.

Discusión

La prevención de las enfermedades cardiovasculares y metabólicas representa actualmente una de las prioridades del sistema de salud. Si bien la aterosclerosis es de origen multifactorial, las alteraciones del metabolismo lipoproteico son el principal factor y representan alrededor del 50% del riesgo atribuible poblacional para el desarrollo de la enfermedad cardiovascular (11).

Hace 35 años Zilvermit propuso la hipótesis que el desarrollo de aterosclerosis es resultado de un fenómeno postprandial y observó que la acumulación de lípidos en las arterias no era solo resultado de una concentración elevada de LDL en el plasma, sino también consecuencia de un proceso normal de absorción y transporte de lípidos (12). Desde entonces, el metabolismo de las lipoproteínas postprandiales ha recibido una gran atención y se ha observado que la tolerancia a la grasa de

la dieta está determinada por numerosos factores, tales como la edad, el sexo, la obesidad, la distribución de la grasa corporal, la dieta, la actividad física y la diabetes tipo 2.

Dado que la mayor parte del día nos encontramos en estados postprandial, la medición de los triacilglicéridos postprandiales sería la valoración real del metabolismo lipídico, y sus efectos aterogénicos. En recientes estudios (13,14), al igual que en el presente trabajo, los triacilglicéridos postprandiales son iguales o mejores predictores de riesgo cardiovascular que los niveles en ayuno y pueden suministrar un dato adicional en individuos sin dislipidemia en ayunas.

Las alteraciones en el metabolismo de los TG se comienzan a expresar, en sujetos normolipémicos con factores de riesgo cardiovascular, con un retardo en su aclaramiento y se pone de manifiesto mediante una carga estandarizada de grasa (13).

El estilo de vida que lleva la sociedad actual hace que nuestro organismo pase la mayor parte del día en estado postprandial y curiosamente, la mayoría de los factores de riesgo cardiovascular estudiados en el laboratorio clínico como son los TG y colesterol, son valorados en sujetos que se encuentran en estado de ayuno. Sin embargo, todavía no contamos con un instrumento clínico estandarizado que sirva de herramienta para valorar la lipemia postprandial. A nivel internacional varios autores han propuesto numerosos métodos, desde cargas estandarizadas de grasa en función del área de superficie corporal hasta dietas con diversas porciones de alimentos comunes ricos en grasas, carbohidratos y proteínas, esto aunado a una amplia heterogeneidad con

respecto a la respuesta de cada individuo ha demostrado así la innegable necesidad de estandarizar una prueba que permita evaluar los lípidos postprandiales, ya que al igual que en este estudio otros han demostrado la relación que hay entre estos niveles y el riesgo de padecer ECV (14).

Es por esto, que en este trabajo estandarizamos un desayuno común para el venezolano, el cual consiste en una empanada de queso y un café con leche, el cual representa 24 gr de grasa. Nosotros establecimos como punto de corte de intolerancia a las grasas, aquellos individuos que presentaron más de un 30% de aumento en los niveles de TG 2 horas después de comer, encontrando que de 156 individuos normolipémicos y normopeso evaluados, el 21% presentó intolerancia a las grasas según los criterios establecidos por este estudio (Figura 1).

El establecimiento del intervalo de referencia para TG postprandiales es importante, ya que permite comparar los valores de los individuos con un rango de TG postcarga y así estimar el riesgo de los mismos junto a otras pruebas. Estos intervalos fueron determinados en los individuos del grupo con tolerancia normal, los cuales son los que presentan un aumento menor al 30% en sus valores después de la ingesta de la comida estándar para este estudio.

La tabla 1, muestra que a pesar que los niveles de colesterol en ambos grupos fueron similares, los individuos con intolerancia a las grasas presentaron valores disminuidos de HDL-c y valores aumentados de apoB, LDL-c y VLDL-c, con respecto al grupo con tolerancia normal, todos estos parámetros clasificados como factores de riesgo cardiovascular (15,16).

Durante el día, la mayoría de los individuos se encuentran en estado postprandial, y el hecho de presentar intolerancia a las grasas y mantener valores de TG por encima del intervalo de referencia con respecto al grupo con tolerancia normal, como se observa en la figura 3 en este estudio, predispone a padecer un mayor riesgo de ECV, debido a que estos factores juegan un papel crucial en el desarrollo de la aterosclerosis (17).

En algunos sujetos se produce un aumento de los triacilglicéridos totales y de las lipoproteínas ricas en triacilglicéridos de origen intestinal y hepático tras la ingesta de alimentos ricos en grasa. La hiperlipemia postprandial tiene relevancia clínica por su relación con el síndrome metabólico y la resistencia a la insulina, ya que genera un incremento del estrés oxidativo, inflamación y disfunción vascular, además está asociada con el riesgo de enfermedad cardiovascular (18).

Lo anteriormente expuesto puede explicarse debido a que el tamaño de las LDL esta inversamente relacionado a los niveles de TG en sangre. Cuando se hallan valores elevados de TG en sangre, habrá una mayor transferencia neta de estos desde los quilomicrones y las VLDL hacia las LDL; por lo que se sintetizan VLDL más grandes que pueden ser lentamente catabolizadas y formar más LDL pequeñas y densas; esto puede ser determinado a través de la relación LDL/Apo B, ya que por cada partícula de LDL, se halla una apo B y al encontrarse este índice disminuido, indica que el valor de Apo B es mayor que la cantidad de LDL, lo que se puede traducir como la existencia de moléculas de LDL más pequeñas. Todo esto coexiste a su vez, con bajos niveles de HDL, que también puede ser evidenciado con el índice Apo A-1/Apo B, que explica que la HDL esta disminuida con respecto a la LDL. En la figura 2, se expresan estos índices para los individuos en estudio, en el que se observa que los individuos con intolerancia a las grasas presentan menor cantidad de HDL debido a que el índice Apo A-1/Apo B esta disminuido en este grupo, sin embargo, el índice LDL/Apo B fue similar en ambos grupos.

El índice Apo A1/Apo B refleja el equilibrio entre dos procesos diametralmente opuestos: a) el transporte de colesterol a los tejidos periféricos con la consiguiente internalización arterial del colesterol, y b) el transporte reverso de colesterol hacia el hígado (19). Cuanto mayor es el cociente Apo B/Apo A1, mayor es la cantidad de colesterol de las lipoproteínas aterogénicas que circulará por el compartimento plasmático y será susceptible de inducir disfunción endotelial y de desencadenar o acelerar el proceso de la aterogénesis. Por el contrario, cuanto menor es el cociente Apo B/Apo A1, menor será la agresión vascular del colesterol plasmático, y mayor y más eficaz será el transporte reverso de colesterol, así como de otros efectos beneficiosos, y en definitiva menor será el riesgo de enfermedad cardiovascular.

Cuando el índice de Castelli se encuentra $< 5,0$ indica que la concentración de HDL es suficiente para cumplir adecuadamente el transporte del colesterol hacia el hígado, mientras que cuando esta relación está por encima de los valores mencionados indica que ese colesterol no puede ser removido completamente y podría depositarse en la pared de los vasos sanguíneos en forma de LDL. Lo que indicaría para los resultados obtenidos en este estudio como se observa en la figura 4, que los individuos intolerantes presentan mayor riesgo de presentar aterosclerosis al tener valores significativamente mayores que el grupo con tolerancia

normal. Es importante resaltar que el riesgo relativo para éste índice de los sujetos intolerantes fue 2,82 veces más susceptibilidad a desarrollar enfermedad cardiovascular que el grupo tolerante como se puede observar en la tabla 3, lo cual es muy importante ya que estos individuos son aparentemente sanos.

Además, en esta misma gráfica se expresa otro índice aterogénico la relación LDL/HDL, cuando este índice se encuentra $< 3,6$ indica que el equilibrio está desplazado hacia la lipoproteína antiaterogénica, por lo tanto, ofrece un menor riesgo a desarrollar aterosclerosis. Al analizar el grupo de intolerantes, existe un desbalance entre el colesterol transportado por las lipoproteínas aterogénicas y las lipoproteínas antiaterogénicas o protectoras. Esto se debe a que existe un incremento en el componente aterogénico contenido en el numerador, y una disminución del componente antiaterogénico contenido en el denominador. Por lo que, el exceso de colesterol que no puede ser removido eficientemente por las HDL se estaría depositado en la íntima de la pared arterial, contribuyendo así a la formación del ateroma (7). Con respecto al riesgo relativo para éste índice, los sujetos intolerantes tienen 2,46 veces más susceptibilidad a desarrollar enfermedad cardiovascular que el grupo tolerante. Este RR es similar al obtenido con el índice de Castelli, demostrando que ambos índices predicen de igual forma el riesgo de ECV en los individuos, como es afirmado por Paglione y col. (20).

El cociente TG/HDL-C fue propuesto por McLaughlin y col., (21) para identificar de forma rápida y sencilla a los individuos sanos con resistencia a la insulina (RI) y riesgo elevado para desarrollar enfermedad cardiovascular. Otros autores como Reaven (22) o Chávez González y col. (23), consideran también a este cociente como un buen indicador de riesgo de enfermedad cardiovascular y RI. Boizel y col., utiliza en pacientes diabéticos, el punto de corte 3 para distinguir a los que presentan partículas LDL-c pequeñas y densas (24).

En el estudio de Barter y col., en un grupo de pacientes obesos, el aumento de la concentración de TG y la disminución de la concentración de HDL-c permitió la identificación de pacientes con trastornos metabólicos generalizados, mientras que los participantes obesos con niveles normales de lípidos presentaron niveles normales de glucosa, sensibilidad a la insulina, marcadores inflamatorios, y presión arterial, por lo tanto, se clasificaron como pacientes con un bajo riesgo para el desarrollo de la diabetes y las enfermedades cardiovasculares, a pesar de ser obesos (25).

Por su parte, Yunke y col., encontraron que la relación TG/HDL-c es predictivo de la severidad de la EC y que también podría contribuir a predecir los incidentes cardiovasculares a largo plazo de los pacientes con EC (26). En un reciente meta-análisis de cohortes de Asia y el Pacífico (27), la relación TG/HDL-c demostró ser un fuerte predictor de mortalidad por cualquier causa en las mujeres asiáticas. Bittner y col. también demostró que la relación TG/HDL-c estaba estrechamente relacionada con todas las causas de mortalidad en las mujeres (28).

La asociación entre la relación TG/HDL-c y la severidad de la EC está probablemente relacionado con el fenotipo de las partículas de LDL (es decir, niveles elevados de partículas de LDL pequeñas densas) (29). Las partículas de LDL fenotipo B, o las partículas de LDL pequeñas densas, penetran en la pared arterial y se depositan bajo el endotelio vascular más fácilmente que las partículas de LDL más grandes. Además, estas partículas de LDL pequeñas densas parecen ser más susceptibles a la oxidación, lo que aumenta aún más su aterogenicidad (30). Por lo tanto, altos niveles de TG, bajos niveles de HDL-C, y su relación podrían ser indicadores indirectos de la proporción relativa de las LDL circulantes pequeñas densas, y así proporcionar una predicción de que el tamaño de las partículas lipídicas está relacionado con el riesgo coronario (31, 32).

La idea de la aterogenicidad de los triacilglicéridos y su relación inversa con el HDL-c, queda suficientemente detallada en el trabajo desarrollado por los investigadores del estudio REGICOR. En el mismo, las concentraciones de triglicéridos séricos contribuyeron a explicar entre un 11% y un 15% de la variabilidad del HDL-c, mientras que en los datos aportados por el estudio poblacional de Framingham en EEUU, los valores de triglicéridos fueron determinantes de un 22% a un 29% de la variabilidad del colesterol HDL (33).

En nuestro estudio encontramos que los individuos con intolerancia a las grasas tienen 3,38 veces más riesgo de padecer aterosclerosis que los sujetos con tolerancia normal a las grasas y que este riesgo aumenta en la etapa postprandial (2h postcarga) a 9,83. Esto quiere decir, que en la etapa postprandial aparece un 33,33% de nuevos individuos con riesgo a padecer aterosclerosis que en ayunas no se observaba tal riesgo. El uso simultáneo de los triacilglicéridos y del HDL-c en este cociente refleja las interacciones complejas del metabolismo lipoproteico en su globalidad, y puede ser útil en la predicción de la aterogeneidad del plasma, lo que hace que este índice sea un mejor instrumento para valorar el

riesgo cardiovascular.

Conclusiones

Los valores de TG postprandiales son un importante marcador para predecir posible riesgo a desarrollar aterosclerosis; la hipertrigliceridemia posprandial tiene un papel importante en la aterosclerosis por lo que debe emplearse como prueba en el laboratorio para estimar dicho riesgo en individuos sin riesgo aparente.

Agradecimientos

El proyecto fue parcialmente financiado por la Coordinación de Investigación, Medicina, UCV. Agradecemos al Laboratorio de Producción y Control de Calidad, Corpodiagnóstica C.A., a Grupo Evo-Lab C.A. y a los participantes del estudio.

Referencias

1. WHO. World Heart Report: Report of the Director General. WHO, Geneva. 1997.
2. Berliner J. and Heincke J. The role of oxidized lipoproteins in atherogenesis. *Free Radic. Biol. Med* 1996;20:707-727.
3. Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. *Nature* 1993;362:801-809.
4. Ross R. Atherosclerosis is an inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999;340:115-26.
5. Pérez C, Maceira J, Rodríguez A, Herrera L. Caracterización de los pacientes con enfermedad cerebrovascular. *Revista Vinculando* Enero 2010.
6. Nordestgaard B, Benn M, Schnohr P, Tybjaerg-Hansen A. Nonfasting Triglycerides and Risk of Myocardial Infarction, Ischemic Heart Disease, and Death in Men and Women. *Jama* 2007;298:299-308.
7. M^a Fatima Garcés, Hilda Stekman, Afdokia Bisarini, Ramón Briceño, Adriana Rivas, Sinay Palma, Mónica Zavala, Francisco Hernández. Triglicéridos postprandiales y su relación con la enfermedad cardiovascular. *Act Cient Soc Venez Bioanal Espec* 2009;12(1)111-121.
8. Solberg, H.E. Approved Recommendation on the Theory of Reference Values Part 5. Statical Treatment of Collected Reference Values Determination of Reference Limits. *J.Clin.Chem.Clin.Biochem.* 1987; 25:645-656.
9. Lilliefors, H. W. On the Kolmogorov-Smirnov test for normality with mean and variance unknown. *J. Amer. Statist. Ass.* 1967;62: 399-402.
10. NCCLS. How to define and determine intervals in the clinical. 2nd ed. NCCLS document C28A2, 2000.
11. Yusuf S, Hawken S, Öunpuu S, Dans T, Avezum A, Lanan F, et al. Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): case-control study. *Lancet* 2004;364:937-952.
12. Zilversmit DB; Atherogenesis: a postprandial phenomenon. *Circulation* 1979;60:473-485.
13. Groot PH, Van Stiphout WA, Krauss XH, Jansen H, Van Tol A, Van Ramshorst E, et al. Postprandial lipoprotein metabolism in normolipidemic men with and without coronary artery disease. *Arterioscler Thromb* 1991;11:653-662.
14. Dunning, A. M., P. Talmud, And S. E. Humphries. Errors in the polymerase chain reaction. *Nucleic Acids Res* 1988;16:10393.
15. A.C.I. Boullart et al. Serum triglycerides and risk of cardiovascular disease *Biochimica et Biophysica Acta* 2012;1821:867-875
16. K.K. Berneis, R.M. Krauss, Metabolic origins and clinical significance of LDL heterogeneity, *J. Lipid Res* 2002;43:1363-1379.
17. Wittwer CT, Garling DJ, Rapid cycle DNA amplification: time and temperature optimization. *Biotechniques* 1991;10(1):76-83.
18. Cardona F, Tinahones F. Relación entre la lipemia posprandial y la aterosclerosis. De la práctica a la clínica. *Nutrición Clínica en Medicina* 2008;Vol II(1):1-11
19. Thompson A, Danesh J. Associations between apolipoprotein B, apolipoprotein AI, the apolipoprotein B/AI ratio and coronary heart disease: a literature-based meta-analysis of prospective studies. *J Intern Med* 2006;259:481-492.
20. Paglione AM, Juárez, Peñalva H, Schreier L, López G, Val A. "Enfermedad coronaria: nuevos parámetros bioquímicos. Utilidad de las apolipoproteínas A1 y B." *Acta Bioq Clin Latioam* 1984;28:469-478.
21. McLaughlin T, Reaven G, Abbasi F, Lamendola C, Sad M, Waters D, et al. Is there a simple way to identify insulin-resistant individuals at increased risk of cardiovascular disease? *Am J Cardiol* 2005; 96(3):399-404.
22. Reaven G. Metabolic Syndrome: pathophysiology and implications for management of cardiovascular disease. *Circulation* 2002;106(3):286-288.
23. Gonzalez-Chavez A, Simental LE, Elizondo S. Relacion triglicéridos/colesterol HDL elevada y resistencia a la insulina. *Cir* 2011;79:126-131.
24. Boizel R, Benhamou PY, Lardy B, Laporte F, Foulon T, Halimi S. Ratio of triglycerides to HDL cholesterol is an indicator of LDL particle size in patients with type 2 diabetes and normal HDL cholesterol levels. *Diabetes Care* 2000;23(11):1679-85.
25. Barter P, Mcpherson R, Song K, Kesäniemi YA, Mahley R, Waeber G, et al. FERUM insulin and inflammatory markers in overweight individuals with and without dyslipidemia. *J Clin Endocrinol Metab* 2007;92:2041-2045.

26. Yunke Z, Guoping L, Zhenyue C. Triglyceride-to-HDL cholesterol ratio. Predictive value for CHD severity and new-onset heart failure. *Herz* 2014;39(1):105-10.
27. Sone H, Tanaka S, Tanaka S, Iimuro S, Ishibashi S, Oikawa S, et al. Comparison of various lipid variables as predictors of coronary heart disease in Japanese men and women with type 2 diabetes: subanalysis of the Japan diabetes complications study. *Diabetes Care* 2012;35(5):1150-1157.
28. Bittner V, Johnson BD, Zineh I, Rogers WJ, Vido D, Marroquin OC, et al. The TG/HDL cholesterol ratio predicts all cause mortality in women with suspected myocardial ischemia a report from the Women's Ischemia Syndrome Evaluation (WISE). *Am Heart* 2009;157(3):548-555
29. Krauss RM, Blanche PJ. Detection and quantitation of LDL subfractions. *Curr Opin Lipidol* 1992; 3:377-383.
30. Anber V, Griffin BA, McConnell M, Packard CJ, Shepherd J. Influence of plasma lipid and LDL-subfraction profile on the interaction between low density lipoprotein with human arterial wall proteoglycans. *Atherosclerosis* 1996;24:261-271.
31. Hanak V, Munoz J, Teague J, Stanley A Jr, Bittner V. Accuracy of the triglyceride to high-density lipoprotein cholesterol ratio for prediction of the low-density lipoprotein phenotype B. *Am J Cardiol* 2004;94:219-222.
32. Ballantyne CM, Olsson AG, Cook TJ et al Influence of low high-density lipoprotein cholesterol and elevated triglyceride on coronary heart disease events and response to simvastatin therapy in 4S. *Circulation* 2001;104:3046-3051.
33. Michelotto de Oliveira M, Martins Fagundes R, Machado Moreira E, Santos de Morae E, Tales de Carvalho T. Relación de Indicadores Antropométricos con Factores de Riesgo para Enfermedad Cardiovascular. *Arq Bras Cardiol* 2010;94(4):462-469.

BIOMARCADORES DE EXPOSICIÓN Y EFECTO AL HUMO DE TABACO AMBIENTAL

Aura Palencia^{1,2}, Gabriela Romero^{1,3}, Maritza Vargas¹.

¹Unidad de Investigación en Toxicología Molecular (UTM), Escuela de Bioanálisis, Sede Carabobo, Universidad de Carabobo.

²Departamento de Investigación y Desarrollo Profesional. Escuela de Bioanálisis. Sede Carabobo. Universidad de Carabobo.

³Departamento de Ciencias Básicas. Escuela de Bioanálisis, Sede Carabobo. Universidad de Carabobo.

Recibido para publicación el 15 de junio 2014. Aprobado para publicación el 30 de junio 2014.

RESUMEN:

El tabaquismo representa un grave problema de salud pública, distintas investigaciones han demostrado que el potencial de contaminación del humo de tabaco en el domicilio es más importante que el grado de contaminación atmosférica urbana, debido a esto se ha impulsado la búsqueda de biomarcadores que permitan evaluar dicha exposición especialmente en poblaciones susceptibles. En este artículo se aborda la evidencia científica sobre la utilidad de los biomarcadores de exposición y efecto, para suministrar criterios que permitan seleccionar aquellos que identifiquen el riesgo de exposición al humo de tabaco y valoren los cambios bioquímicos o fisiológicos asociados a la misma. Conclusiones: el monitoreo biológico ofrece resultados objetivos a través del uso combinado de biomarcadores de exposición y efecto, en tanto que se apliquen métodos sensibles para su determinación que pongan en evidencia una disminución de la exposición, permitiendo una evaluación real de riesgo que conlleve a la aplicación de iniciativas por ambientes libres de humo de tabaco.

Palabras claves: Humo de tabaco, biomarcadores, cotinina, 1-hidroxipireno, tioéteres, aductos.

EXPOSURE AND EFFECT BIOMARKERS TO ENVIRONMENTAL TOBACCO SMOKE

SUMMARY

Smoking is a serious public health problem, different research have shown that the potential for contamination tobacco smoke at home is more important than the degree of urban air pollution, because this has prompted the search for biomarkers to evaluate such exposure especially in susceptible populations. In this paper is approached the scientific evidence on the usefulness of biomarkers of exposure and effect to provide criteria to select those that identify the risk of exposure to tobacco smoke and appreciate the biochemical or physiological changes associated with it. Conclusions: The biological monitoring provides objective results through the combined use of biomarkers of exposure and effect, while sensitive methods for its determination that demonstrate a decrease in exposure are applied, allow a realistic assessment of risk associated to the implementation of initiatives for environmental tobacco smoke free.

Keywords: Environmental tobacco smoke, biomarkers, cotinine, 1-hydroxypyrene, thioethers, adducts.

Introducción

El hábito tabáquico es una de las adicciones más extendidas en el mundo, siendo la primera causa de muerte prevenible (1). A nivel mundial representa un problema de salud pública, para el año 2000 se estimó que el 12 por ciento de las muertes ocurridas ese año fue a causa del cigarrillo, y que aproximadamente la mitad de éstas sucedieron en fumadores en etapa laboral activa (2). El consumo directo o indirecto de tabaco y en especial el de cigarrillos, constituye el factor causal de diferentes tipos de cáncer: Pulmón, cavidad oral, laringe, esófago, vejiga y riñones (3), además de ser agravante de diversas patologías respiratorias y metabólicas (4-12). La magnitud de estos efectos se ha infravalorado en niños y adolescentes debido a que el conocimiento de la prevalencia se basa en cuestionarios autoadministrados (4).

En el año 2009, la Oficina Nacional Antidrogas (ONA) de Venezuela realizó a través del Observatorio Nacional Antidrogas el Estudio Nacional de Drogas en Población Escolar (ENaDPE) (13) para conocer la magnitud y características del consumo de drogas lícitas e ilícitas en estudiantes de educación básica, media y diversificada en ciudades de más de 20.000 habitantes, con el propósito de definir políticas asertivas que alcancen un nivel de precisión acorde con la descripción de la problemática. En este informe la prevalencia de vida para el cigarrillo se ubica en 13,2 % incrementándose la incidencia en el género masculino. Asimismo se diferencia la prevalencia de año (5,4%) y de mes (3,3%). Con respecto a la edad de inicio del hábito se refiere el rango entre 9 y 11 años de edad.

Según el reporte más reciente de la Organización Mundial de la Salud (OMS) publicado en el año 2012, para el año

Solicitar copia a: Aura Palencia (e-mail: adpalencia@uc.edu.ve)

2004 en la República Bolivariana de Venezuela existía 11% de riesgo atribuible de mortalidad por tabaco en adultos (3). A partir de marzo del 2011, nuestro país se sumó a las iniciativas internacionales de prohibir la contaminación por el humo de tabaco ambiental (HTA) en espacios públicos (14), en concordancia con el artículo 8 de la Ley aprobatoria del convenio Marco de la OMS para el control del tabaco (15). Sin embargo, el alcance de esta legislación es limitada pues las personas pueden fumar en sus hogares o automóviles convirtiendo a los niños en la población más vulnerable a este contaminante.

Lo antes expuesto, denota la necesidad de establecer la prevalencia real del tabaquismo activo y pasivo, pues este conocimiento en la mayoría de los casos se ha obtenido a través de cuestionarios auto-administrados sobre los que existe cierta controversia en cuanto a su fiabilidad (16,17), al presuponer que en muchas ocasiones las respuestas pueden estar falseadas, llegando a ocultar o exagerar datos sobre las características reales del hábito común (18). Este panorama ha impulsado a nivel mundial diversos estudios destinados a establecer la condición de fumador, la exposición al humo de tabaco ambiental (HTA) y los efectos de manera objetiva a través de la medición de biomarcadores.

Biomarcadores

Según Arango (19), los biomarcadores son aquellas alteraciones moleculares, bioquímicas o celulares, mensurables por métodos biológicos, de los distintos elementos orgánicos (tejidos, células o fluidos) y que se pueden utilizar en las investigaciones epidemiológicas como indicadores de posibles enfermedades. En el área de toxicología, pueden clasificarse en biomarcadores de exposición, efecto y susceptibilidad. Los de exposición, pueden ser usados para confirmar y evaluar la exposición de individuos o poblaciones a una sustancia particular, proporcionando un vínculo entre la exposición externa y la dosis interna; mientras que los de efecto pueden ser usados para documentar alteraciones preclínicas o efectos adversos para la salud, suscitados por exposición externa y absorción de un químico. Además el vínculo de biomarcadores entre efecto y exposición contribuye a la definición de la relación dosis respuesta. Los de susceptibilidad pueden dilucidar el grado de respuesta a la exposición manifestado por el individuo (3). La especificidad del marcador biológico es una de las principales características a considerar, además de ser fácilmente detectable usando métodos analíticos reproducibles y sensibles (20,21).

Humo de Tabaco

El humo de tabaco es una mezcla compleja de gases y partículas que contiene más de 4.000 sustancias químicas formando un aerosol (22), clasificado por la Agencia de Protección Ambiental Americana como un carcinógeno tipo A (23). El humo de tabaco ambiental (HTA) también conocido como humo de segunda mano (HSM) o humo ajeno, es generado por la combustión de cigarrillos y el humo exhalado por los fumadores, el cual puede permanecer suspendido en el aire hasta 2 horas y media (24). La concentración de algunos componentes en el humo de la corriente principal y de la corriente secundaria varía debido a que en ésta última la combustión se produce con menor presencia de oxígeno y a menor temperatura lo que genera mayores productos de desecho, se ha demostrado que la corriente secundaria es más nociva por su alto contenido de monóxido de carbono, nitrosaminas, acroleína, y metales pesados (cadmio y plomo) (25).

Recientemente se ha introducido el término de humo de tercera mano (HTM), el cual se refiere a los contaminantes residuales generados por el humo de tabaco que se adhieren a las superficies y partículas de polvo una vez que se ha dejado de fumar (26). Dichas superficies constituyen reservorios permanentes de compuestos tóxicos tales como la nicotina, formaldehído, HAPs, cresoles, fenoles y nitrosaminas específicas del tabaco. La exposición al HTA se origina por la inhalación del HSM, mientras que la exposición al HTM implica la inhalación, la ingestión y captación dérmica de estos contaminantes presentes en las fases particulada y gaseosa (27). Algunos estudios han señalado que la piel es uno de los tejidos más expuestos al HTA, ya que la epidermis y sus apéndices cuentan con células madres que son afectadas por estos contaminantes (28).

Los biomarcadores específicos para exposición a HTA son la nicotina y sus metabolitos, así como los metabolitos de 4-(metilnitrosamino)-1-(3-piridil)-1-butanona (NNK), mientras que los inespecíficos comprenden 1-hidroxipireno, tiocianatos, carboxihemoglobina (29), monóxido de Carbono (30), ácidos fenilmercaptúrico y trans,trans-muconico (31), cabe resaltar que los inespecíficos presentan alta correlación con la exposición lo que permite que complementen el monitoreo biológico (32).

En la tabla 1 se presenta un resumen de estos marcadores biológicos y se desarrollarán a continuación los de mayor utilidad en estudios clínicos y epidemiológicos.

TABLA 1. Biomarcadores de exposición y efecto al humo de tabaco ambiental.

BIOMARCADOR	MATRIZ BIOLÓGICA	MÉTODO ANALÍTICO	PUNTO DE CORTE	POBLACIÓN DE ESTUDIO	AUTOR
EXPOSICIÓN INESPECÍFICOS					
Monóxido de Carbono (CO)	Aire exhalado	Cooximetría	≤ 6 ppm No fumadores ≤ 4,7 %	141 adultos no fumadores, 92 fumadores	Giraldo et al, 2001
Carboxihemoglobina (COHb)	Sangre	Cooximetría	No fumadores ≤ 31,6 µmol.L-1	187 fumadores y 181 no fumadores	Pojer et al, 1984
Tiocianato	Suero	Colorimétrico (Reacción de Konig)	No fumadores ≤ 5,4 µmol.µg-1 creat.	120 Adultos Fumadores, 128 No fumadores y no expuestos	Grijalba et al, 2001
Orina	Orina	HPLC-FD	No fumadores ≤ 0,26 µmol. mol-1 creat.	Benchmark Guideline for exposure	Jongeneelen F. 2001
1-Hidroxipireno (1-OHP)	Orina	Espectrofotometría UV	No Fumadores 3,8 a 6,05 mmol SH.mol-1 creat	occupational	Van Welle et al. 1992
EXPOSICIÓN ESPECÍFICOS					
Nicotina	Pelo	CG-MS	≤ 2,77 ng.mg-1 No Fumador	77 adultos no expuestos, 105 fumadores pasivos, 107 fumadores activos	Kim et al, 2014
Cotina	Suero	HPLC-MS	3,08 ng.mL-1	3078 adultos fumadores y 13078 No fumadores	Benowitz et al, 2009
Orina	Orina	CG-FID	≤ 10 ng.mL-1 No fumadores, no exp.	52 hombres y 93 mujeres	Vaccino et al, 2006
Saliva	Saliva	CG	13 ng.mL-1	359 fumadores y 261 no fumadores	Heegard et al, 2007
Orina	Orina	CG-MS/MS	Embarazadas no fum. ≤ 2,89 ng.mL-1	77 adultos no expuestos, 105 fumadores pasivos, 107 fumadores activos	Kim et al, 2014
Pelo	Pelo	CG-MS/MS	No fumador	36 madres	Eliopoulos et al, 1994
Orina	Orina	CG-IE/MS	≤ 0,2 ng.mg-1 Niños no expuestos y embarazadas. ≤ 0,8 ng.mg-1	fumadoras y sus hijos, 26 madres no fumadoras y sus hijos	Vardavas et al, 2013
4-(metilnitrosamino)-1-(3-piridil)-1-butanol NNAL	Orina	HPLC-API-MS/MS	No embarazadas y no exp. 299 pg.mL-1 media geométrica en Fumadores	117 embarazadas no fumadoras expuestas 1373 sujetos fumadores	Xia et al, 2011
EFEECTO INESPECÍFICOS					
Aductos ADN-HAPs	Semen	Inmunofluorescencia indirecta	FITC	433 Hombres infértiles	Ji et al, 2013
Aductos BPDE-ADN	Sangre	HPLC-FD	< 50 ng/d	41 individuos fumadores	Lodovici et al, 2004
EFEECTO ESPECÍFICOS					
N-(2-hidroxietyl)-valina	Sangre	CG-MS	1 pg.g-1Hb	100 niños de 3 a 13 años	Bono et al, 2005
4-hidroxi-1-(3-piridil)1-butanona	Tejido pulmonar	CG-MS	≤ 6 fmol.mg-1 ADN	Muestras postmortem	Foiles et al, 1992
Sangre	Sangre	CG-IE/MS	19,8±7,8 fmol.g-1Hb	47 fumadores (21 con CA de pulmón)	Atwoodi, 2003

HPLC: cromatografía líquida de alta resolución, MS: espectrometría de masas, CG: cromatografía de gases, FD: detector ionización a la llama, FITC: detector de fluorescencia, UV: detector ultravioleta, API: Ionización a presión atmosférica, IE: Ionización de electrones, ppm: parte por millón, CA: cáncer, Hb: hemoglobina, creat: creatinina, FITC: Fluoresceína Isotiocianato

Nicotina

Es un alcaloide (amina terciaria) y el principal compuesto orgánico semivolátil (SCOVs) del tabaco (33-34). La absorción de la nicotina puede llevarse a cabo en los plexos sublinguales y mucosa bucal, pulmón y piel. Una vez que atraviesa la membrana alveolo-capilar llega al cerebro en 10 segundos, representando esto una de sus propiedades adictivas al unirse a los receptores colinérgicos nicotínicos (35). Tiene una vida media de 2 a 3 horas (36), metabolizándose en hígado principalmente originando diversos metabolitos, tales como cotinina, trans-3-hidroxi-cotinina, nicotine-N-glucuronido, cotinine-N-glucuronido, trans-3'-hidroxi-cotinina-O-glucuronido, nornicotina, norcotinina, nicotine-N'-oxido, cotinine-N'-oxido (37). Aunque la nicotina se puede medir en fluidos corporales (saliva, plasma, orina) (38), y es ideal para establecer el tabaquismo activo, su corta vida media es una desventaja prefiriéndose sus metabolitos para la evaluación de la exposición involuntaria al HTA, e incluso se ha referido que la nicotina en cabello (39) sería mejor indicador para la exposición crónica.

Cotinina

Es el principal metabolito no psicoactivo de la nicotina. Aparece en sangre a los pocos minutos de fumar y posee una semivida intermedia (16-18 horas) que es mayor en niños que en adultos (40). La cotinina persiste en el organismo unos 4 días desde que la persona deja de fumar, considerándose mejor que la propia nicotina para medir exposición tanto activa como involuntaria al tabaco. Es uno de los mejores marcadores y, aunque generalmente se mide en sangre, por ser los niveles más estables, también puede determinarse en orina, saliva e incluso pelo (41-42). Una desventaja potencial de los análisis en suero contra los realizados en orina es su menor sensibilidad, ya que las concentraciones de cotinina en orina suelen ser cuatro a seis veces mayor que en el suero. Sin embargo, como el suero no requiere ajuste de las diferencias de hidratación entre los individuos, proporciona una medición matricial más uniforme que la orina (43). La muestra de sangre es invasiva, por lo que la medición de cotinina en orina y saliva (44-45) representan matrices de elección.

La cotinina urinaria se ha determinado mediante cromatografía líquida de alta resolución con detector UV (HPLC-UV) (46-47), cromatografía de gases acoplada a detector de masas (48), cromatografía gas-líquido con detector de ionización de llama (CGL-FID), para este método los fumadores activos presentaron

un rango de 255,4 -1050 ng.mL⁻¹, mientras que los no fumadores valores entre 15,8 y 38,4 ng.mL⁻¹(49). Empleando el método de inmunoensayo en fumadores activos, exfumadores y no fumadores se han reportado puntos de corte de 500 ng.mL⁻¹, 100 ng.mL⁻¹ y <50 ng.mL⁻¹ respectivamente (50). Asimismo, el índice Cotinina/Creatinina ha sido utilizado para determinar la prevalencia del tabaquismo pasivo (47,51), al respecto se evaluaron 150 niños (2 a 12 años) con infecciones del tracto respiratorio y 150 niños sanos (grupo control), señalando un punto de corte de 30ng.mg⁻¹ creatinina para establecer la exposición (52).

1-Hidroxipireno

Es el metabolito urinario del pireno, hidrocarburo aromático policíclico (HAPs) no cancerígeno, considerado el mejor indicador biológico de exposición a mezclas de estos compuestos (53-55). De gran uso en el ámbito ocupacional (56-57), diversos estudios han asociado positivamente los niveles de 1-hidroxipireno con el hábito tabáquico (56,58) y particularmente en niños expuestos a HSM y HTM por hábitos de padres y familiares que fuman en el hogar o en los sitios donde permanecen los niños (59-61), relacionando igualmente altos niveles del biomarcador en madres embarazadas con bajos indicadores biométricos en recién nacidos (62).

Jongeneelen en el 2001, propuso valores del biomarcador, hasta 0,24 y 0,76 $\mu\text{mol.mol}^{-1}$ de creatinina en no fumadores y fumadores respectivamente en individuos no expuestos ocupacionalmente (56). Por otro lado, Wilhelm et al. (63), plantean valores límite de referencia para exposición ambiental a HAP en la población alemana con edades entre 3 y 69 años: 0,0022 $\mu\text{mol.L}^{-1}$ (0,157 $\mu\text{mol.mol}^{-1}$ de creatinina). Respecto a los métodos para la medición de 1-OHP, la separación cromatográfica, previa purificación de la muestra en cartuchos de extracción, ha sido sugerida como método de elección. La cromatografía líquida de alta eficiencia con detector de fluorescencia, desde que fue propuesto por Jongeneelen en 1985, ha sido objeto de numerosas modificaciones relacionadas con cambios en la extracción en fase sólida, a fin de concentrar la muestra y cambios en la fase móvil, para acortar el tiempo de retención sin alterar la reproducibilidad, alta sensibilidad y confiabilidad del método.

Tioéteres

Son compuestos excretados por la orina o bilis como conjugados de glutatión y de cisteína, ácidos premercaptúricos y mercaptúricos, siendo su

TABLA 2. Valores de 1-hidroxipireno y Tioéteres urinarios según hábito tabáquico.

Hábito tabáquico	Tioéteres (mmol SH/molcreatinina) Mediana (rangos)	1OHP (μ mol /molcreatinina) Mediana (rangos)
Si (15)	15,17 (0,98 – 48,92)*	0,48 (0,022-0,60)
No (15)	6,61 (1,09-16,62)	0,32 (0,03-1,53)

U de Mann-Whitney * $p < 0,05$

determinación utilizada como biomarcador inespecífico a la exposición a compuestos electrofílicos (64-65). La determinación de tioéteres urinarios ha sido utilizada como un indicador de exposición a agentes potencialmente alquilantes, diversos estudios han señalado la utilidad de este biomarcador como un ensayo de screening a la exposición del humo del tabaco (66), y en consecuencia puede contribuir con el desarrollo de medidas o programas que aborden el tabaquismo como problema de salud pública (67-68).

Particularmente en la Unidad de Investigación en Toxicología Molecular de la Universidad de Carabobo se desarrollan actualmente estudios tendientes a establecer puntos de corte para tioéteres, cotinina y 1-OHP, a fin de manejar valores de referencia para la población venezolana. En este sentido, se ha evaluado la excreción de tioéteres urinarios en trabajadores de una institución de educación superior ubicada en el municipio Naguanagua considerando el hábito tabáquico (69), observándose valores más elevados en los fumadores, coincidiendo con los resultados de otros autores (64-66). Asimismo, en un grupo de 30 trabajadores de establecimientos de comida del municipio Naguanagua, con promedio de edad de 37 años, en su mayoría del género masculino (86%), se evaluaron los biomarcadores 1-hidroxipireno y tioéteres urinarios. Los resultados se muestran en la tabla 2.

De este estudio, que está preparándose para su publicación, es importante resaltar que los valores promedio de cada uno de los biomarcadores están más elevados en los trabajadores que fuman, no obstante, estas diferencias no tienen significancia estadística para el 1-hidroxipireno. Vanio et al. (70), así como Feng et al. (71) encontraron elevada excreción de tioéteres en individuos con hábito tabáquico. Estos autores refieren que ambos biomarcadores pueden ser utilizados para diferenciar entre fumadores y personas que han dejado el hábito tabáquico. En este sentido Kawamoto et al. (55), refieren que el 1-hidroxipireno es un biomarcador

más sensible para evaluar la exposición a hidrocarburos aromáticos policíclicos.

Aductos

Son considerados marcadores de dosis efectiva pues indican la cantidad de sustancia que actuó sobre un sitio biológico (53), son el resultado de reacciones generadas a través del metabolismo al interactuar los compuestos electrofílicos con el ácido desoxirribonucleico (ADN), produciéndose lesiones premutagénicas, que en muchos casos se fijan y producen mutaciones puntuales, tales como sustituciones de bases, transiciones y transversiones. Existen evidencias de que las nitrosaminas presentes en el HTA son carcinogénicas, entre ellas se encuentran la N-nitrosornicotina (NNN), N-nitrosoanabasina (NAB), N-nitrosoanabatina (NAT) y 4-(metilnitrosamino)-1-(3-piridil)-1-butanona también conocida como nitrosaminoketona (NNK), esta última ha sido asociada con el cáncer de pulmón (72,73) y sus metabolitos pueden determinarse en orina como indicador de exposición. Asimismo, estas nitrosaminas son capaces de formar aductos de ADN y de Hemoglobina que son indicadores específicos de la dosis interna de dichos xenobióticos (12, 74,75).

Por su parte, los HAPs compuestos electrofílicos también presentes en el HTA pueden reaccionar con los sitios nucleofílicos de molécula biológicas como ADN, ARN, Albumina y Hemoglobina, formando macromoléculas que pueden ser consideradas precursoras del proceso de carcinogénesis química, tales como Benzo(a)pyrenediolepoxide (76-79). Los métodos para la medición de aductos varían desde RIA, inmunofluorescencia, HPLC acoplada a detector de fluorescencia, y Cromatografía de Gases acoplada a detector de masa (CG-MS) resultando éste ultimo de elección por su sensibilidad (74-79).

Conclusiones

La tendencia a no declarar el status de fumador parece estar incrementándose debido a la decreciente aceptabilidad

de fumar en la sociedad, esto se hace más evidente cuando dicha información es destinada a investigaciones sobre exposición al humo de tabaco ambiental en la población infantil, adolescentes y embarazadas, por tanto es probable que exista un infra-registro de los datos de prevalencia en estos grupos etarios a nivel mundial. Aun cuando deben ser tomadas en cuenta las implicaciones bioéticas relacionadas con la información aportada por estos estudios, la OMS considera que no hay niveles seguros de exposición al humo del tabaco por lo que es necesario e imprescindible disponer de técnicas analíticas que permitan cuantificarla, pues en muchos casos la percepción que tienen los sujetos de la exposición no se corresponde con la realidad. El monitoreo biológico permite diferenciar fumadores de no fumadores, así como expuestos de no expuestos, según se confirma a través de los resultados reportados en numerosas investigaciones a nivel internacional. Cabe resaltar que la capacidad diagnóstica se incrementa con el uso combinado de los biomarcadores, ya que permite una definición más precisa de la relación dosis respuesta.

Referencias

- Peto R, López A, Boreham J, Thun M, Heath C. Mortality from smoking in developed countries 1950-2000. Indirect estimates from national vital statistics. *Am J Epidemiol* 1996;143(3):529-530.
- Ezzatti M, López AD. Estimates of global mortality attributable to smoking in 2000. *Lancet* 2003;362(9387):847-852.
- Organización Mundial de la Salud [Internet]. WHO Global Report: Mortality attributable to tobacco. [consultado 26 Mayo 2014] disponible en: http://www.who.int/ftct/text_download/es/index.html
- Pérez-Trullen A, Bartolomé C, Barrueco M, Herrero I, Jiménez C. Nuevas perspectivas en el diagnóstico y evolución del consumo de tabaco: marcadores de exposición. *Prevención del tabaquismo* 2006;8(4):164-173.
- Supervía A, Enjuanes A, Vila J, Mellibovsky L, Nogués X, Díez-Pérez A. Efecto del tabaquismo sobre los valores séricos de leptina y su relación con las hormonas esteroideas y la densidad mineral ósea. *Med Clin (Barc)* 2007;127(17):645-647.
- Medrano J, Cerrato E, Boix R, Delgado-Rodríguez M. Factores de riesgo cardiovascular en la población española: Meta-análisis de estudios transversales. *Med Clin* 2005;124(16):606-612
- Fernández BJ, Sanz BV, Garrido MP, López SE. Riesgo cardiovascular: evaluación del tabaquismo y revisión en atención primaria del tratamiento y orientación sanitaria. *Atención Primaria*. 2011;43(11):595-603.
- Kohler E, Sollich V, Schuster R, Thal W. Passive Smoke Exposure in infants and children with respiratory tract diseases. *Human Experiment Toxicol* 1999;18(4):212-217.
- Jurado D, Muñoz C, Luna J, Fernández M. Environmental tobacco smoke exposure in children: parental perception of smokiness at home and other factors associated with urinary cotinine in preschool children. *J Exp Anal Environ Epidemiol*. 2004;14:330-336.
- Boyaci H, Etiler N, Duman C, Basyigit I, Pala A. Environmental tobacco smoke exposure in school children: Parent report and urine cotinine measures. *Pediatr Inter* 2006;48:382-389.
- Goldaracena CA, Raffo AC, Piaggio OL, Ríos JH, Gómez JM, Córscico F, et al. Presencia de cotinina en niños expuestos al HTA. *Acta toxicol Argent* 2007;15:71.
- Bono R, Vicenti M, Schiliro T. Cotinine and N-(2-hydroxyethyl) valine as markers of passive exposure to tobacco smoke in children. *J Exp Anal Environ Epidemiol* 2005;15:66-73.
- Estudio Nacional de Drogas en Población Escolar (ENaDPE). Oficina Nacional Antidrogas, 2009. Disponible en la Página web www.ona.gob.ve
- Gaceta oficial de la República Bolivariana de Venezuela. Número 39.627, fecha 2 de marzo 2011. Resolución 030.
- Resolución WHA56.1 Convenio Marco de la OMS para el control del tabaco. 21 de mayo 2003. [consultado 2 de febrero 2014] disponible en: www.paho.org/Spanish/DD/PUB/sa56r1.pdf
- Kehl D, Thyrian JR, Lüdemann J, Nauck P, Ulrich J. A descriptive analysis of relations between parents self-reported smoking behavior and infants daily exposure to environmental tobacco smoke. *BMC Public Health* 2010; 10,424 doi:10.1186/1471-2458-10-424. Disponible en: <http://www.biomedcentral.com/1471-2458/10/424>
- Puebla S, Buñuel J. Los cuestionarios autocumplimentados tienden a producir una infradeclaración del consumo de tabaco en adolescentes. *Evidencias en pediatría* 2008; 4(4): 78-79. Disponible en http://www.aepp.org/evidpediat/numeros/vol4/2008_numero_4/2008_
- López M, Neubot M. La medición de la nicotina como marcador aéreo del humo ambiental del tabaco. *Gac Sanit* 2003;17(3):15-22.
- Arango S. Biomarcadores para la evaluación de riesgo en la salud humana. *Rev Fac Nac Salud Pública* 2012;30(1):75-82.
- Apelberg BJ, Hepp L, Avila-Tang E, Gundel L, Hammond SK, Hovell MF, et al. Environmental monitoring of secondhand smoke exposure. *Tob Control* May 2013; 22(3):147-155.
- Organización Mundial de la Salud. Biomarkers in risk assessment: Validity and Validation. *Environmental Health Criteria* 2001; 222. Disponible en: www.inchem.org
- Bello S, Michalland S, Soto M, Contreras C, Salinas J.

- Efectos de la exposición al humo de tabaco ambiental en no fumadores. *Rev Chil Enf Respir* 2005;21(3):179-192.
23. Environmental Agency Protection [Internet]. Washington, DC: Six Principal Pollutants. [citado 15 Enero 2014] disponible en: <http://www.epa.gov/airtrends/sixpoll.html>.
 24. Narkowicz S, Polkowska Z, Namienisk J. Analysis of markers of exposure to constituents of Environmental Tobacco Smoke (ETS). *Crit Rev Anal Chem* 2012;42:16-37.
 25. Banegas JR, Estapé J, González-Enriquez J, López V, Pardell H, Salvador T, et al. Exposición involuntaria al humo ambiental de tabaco: Revisión actualizada y posibilidades de actuación. *Semergen* 1998;25(8):702-711.
 26. Ferrante G, Simoni M, Cibella F, Ferrara F, Liotta G, Malizia V. Third-hand smoke exposure and health hazards in children. *Monaldi Arch Chest Dis* 2013;79(1):38-43.
 27. Matt G, Quintana P, Destailats H, Gundel L, Sleiman M, Singer B. Third-hand tobacco smoke: Emerging evidence and arguments for a multidisciplinary research agenda. *Env Health Persp* 2011;119(9):1218-1226.
 28. Kolanko E, Czka P. Skin and dermal appendages stem cells exposure to tobacco smoke. *Przegl Lek* 2013;70(10):858-864.
 29. Pojer R, Whitfield JB, Poulos V, Eckhard IF, Richmond R, Hensley WJ, et al. Carboxyhemoglobin, cotinine, and thiocyanate assay compared for distinguishing smokers from non-smokers. *Clin Chem* 1984;30:1377-1380.
 30. Giraldo H, Arenas MC, Porras I, Dueñas R. Niveles de monóxido de carbono en aire espirado de fumadores activos y pasivos y no fumadores a la altura de Bogotá (2540mts). *Rev Colomb Neumonol* 2001;13:26-31.
 31. Wang J, Liang Q, Mendes P, Sarkar M. Is 24h nicotine equivalents a surrogate for smoke exposure based on its relationship with other biomarkers of exposure? *Biomarkers* 2011;16(2):144-154.
 32. Scherer G. Carboxyhemoglobin and thiocyanate as biomarkers of exposure to carbon monoxide and hydrogen cyanide in tobacco smoke. *Exp Toxicol Pathol* 2006;58(2-3):101-124
 33. Singer BC, Coleman BK, Destailas H, Lunden MM, Hodgson AT, Weschler CJ, et al. Indoor secondary pollutants from cleaning products and freshener use in the presence of ozone. *Atmosf environ* 2006; 40:6696-6710.
 34. Weschler CJ, Nazaroff WW. SVOC exposure indoors: fresh look at dermal pathways. *Indoor Air* 2012;22(5):356-377.
 35. Rosenthal D, Weitzman M, Benowitz N. Nicotine Addiction: Mechanisms and Consequences. *Intern J of Mental Health* 2011;40(1):22-38.
 36. Benowitz N, Hukkanen J, Jacob P. Nicotine chemistry, metabolism, kinetics and biomarkers. *Handbook of Experimental Pharmacology* [serial online]. 2009;(192):29-60.
 37. Piller M, Gilch G, Scherer G, Scherer M. Simple, fast and sensitive LC-MS/MS analysis for the simultaneous quantification of nicotine and 10 of its major metabolites. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2014;951-952:7-15.
 38. Benowitz NL, Bernert JT, Caraballo RS, Holiday DB, Wang J. Optimal serum cotinine levels for distinguishing cigarette smokers and nonsmokers with different racial/ethnic groups in the United States between 1999 and 2004. *Am J Epidemiol* 2009;169:236-248.
 39. Tzatzarakis MN, Vardavas CI, Terzi I, Kavalakis M, Kokkinakis M, Liesivuori J, Tsatsakis AM. Hair nicotine/cotinine concentrations as a method of monitoring exposure to tobacco smoke among infants and adults. *Hum Exp Toxicol* 2012;31(3):258-65.
 40. Benowitz NI, Jacob P, Ahijevych K, Hall S, Le Houezec J. Biochemical verification of tobacco use and cessation. *Nicotine Tobacco Res* 2002;4:149-159.
 41. Grijalba A, Uriarte F, Logroño J, Rivero A, García M. Tiocianato en suero y orina y cotinina en orina como marcadores bioquímicos de tabaquismo. *Quim Clin.* 2001;20(6):419-424.
 42. Eliopoulos C, Klein J, Phan MK, Knie B, Greenwald M, Chitayat D, Koren G. Hair concentrations of nicotine and cotinine in women and their newborn infants. *JAMA* 1994;271(8):621-623.
 43. Thompson SG, Barlow RD, Wald NJ, Van Vunakis H. How should urinary cotinine concentrations be adjusted for urinary creatinine concentration? *Clinica Chimica Acta* 1990;187(15):289-295.
 44. Martínez-Sánchez J, Fu M, Ariza C, López MJ, Saltó E, Pascual JA, et al. Punto de corte óptimo de la concentración de cotinina en saliva para discriminar entre fumadores y no fumadores en la población adulta de Barcelona. *Gac Sanit* 2009; 23 (6). Disponible en http://scielo.isciii.es/scielo.php?pid=S021391112009000600003&script=sci_arttxt
 45. Kim S, Apelberg BJ, Avila-Tang E, Hepp L, Yun D, Samet JM, Breyse PN. Utility and cutoff value of hair nicotine as a biomarker of long-term tobacco smoke exposure, compared to salivary cotinine. *Int J Environ Res Public Health* 2014;11(8):8368-8382.
 46. Lopez C, Sassone M, Rodriguez G. Quantification of Cotinine in Plasma and Urine by HPLC-UV Detection. *J of Liq Chrom Rel Techn* 2004;27(15):2371-2379.
 47. Zielinska-Danch W, Wardas W, Sobczack A, Szoltysek-Boldys I. Estimación de urinary cotinine cut-off points distinguishing non-smokers, passive and active smokers. *Biomarkers* 2007;12(5):484-496.
 48. Hegaard HK, Kjaergaard H, Møller LF, Wachmann H, Ottesen B. Determination of a saliva cotinine cut-off to distinguish pregnant smokers from pregnant non-

- smokers. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2007;86(4):401-406.
49. Vacchino M, Velurtas S, Salinas G, Garcialoredo H. Determinación de cotinina y exposición a tabaco. *Acta Bioquím Clín Latinoam* 2006;40(002):181-185.
 50. Barceló B, Ruiz O, Puiguriguier J, Castanyer B. Comisión toxicovigilancia, servicios de análisis clínicos y urgencias. Hospital Son Dureta. Palma de Mayorca. XVI congreso español de toxicología. *Revista toxicología* 2005;22(002):142-145.
 51. Keskinoglu PP, Cimrin DD, Aksakoglu G. The impact of passive smoking on the development of lower respiratory tract infections in children. *J Trop Pediatr* 2007; 53(5) :319-324.
 52. Keskinoglu P, Cimrin D, Aksakoglu G. Relationship between cotinine, lower respiratory tract infection, and eosinophilic cationic protein in children. *Eur J Pediatr Int* 2007;166:455-459.
 53. Mastandrea C, Chichizola C, Ludueña B, Sánchez H, Álvarez H, Gutiérrez A. Hidrocarburos aromáticos policíclicos. Riesgo para la salud y marcadores biológicos. *Acta Bioquim Clin Latinoam* 2005;39(1):27-36.
 54. Toriba A, Hayakawa K. Biomarkers of exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons and related compounds. *J Health Sci* 2007;53(6):631-638.
 55. Kawamoto T, Yang M, Kim Y-D. Effects of lifestyle on urinary 1-hidroxypyrene concentration. *J Occup Health* 2007;49:183-189.
 56. Jongeneelen F. Benchmark guideline for urinary 1-hidroxypyrene as biomarker of occupational exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons. *Ann Occup Hyg* 2001;45(1):3-13.
 57. Choosong T, Phakthongsuk P, Tekasakul S, Tekasakul P. Urinary 1-hidroxypyrene levels in workers exposed to polycyclic aromatic hydrocarbon from rubber wood burning. *Saf Health Work* 2014;5:86-90.
 58. Lee KH, Byeon SH. The biological monitoring of urinary 1-hidroxypyrene by PAH exposure among smokers. *Int J Environ Res* 2010;4(3):439-442.
 59. Freire C, Abril A, Fernández MF, Ramos R, Estarlich M, Manrique A, et al. Urinary 1-hidroxypyrene and PAH exposure in 4-year old spanish children. *Sci Total Environ* 2008;407:1562-1569.
 60. Mucha A, Hryhorczuk D, Serdyuk A, Nakonechny J, Zvinchuk A, Erdal S, et al. Urinary 1-hidroxypyrene as a biomarker of PAH exposure in 3-year old ukrainian children. *Environ health Perspect* 2006;114(4):603-609.
 61. Tsai HT, Wu MT, Hauser R, Rodrigues E, Ho CK, Liu CL, et al. Exposure to environmental tobacco smoke and urinary 1-hidroxypyrene levels in preschool children. *Kaohsiung J Med Sci.* 2003;19(3):97-104.
 62. Polanska K, Hanke W, Sobala W, Brzezniccki S, Ligocka D. Exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons and newborn biometric indicators. *Int J Occup Med Environ Health* 2010;23(4):339-346.
 63. Wilhelm M, Hardt J, Schulz C, Angerer J. New reference value and the background exposure to the PAH metabolites 1-hidroxypyrene and 1- and 2-naphthol in urine of the general population in Germany: Basis for validation of human biomonitoring data in environmental medicine. *Int J Hyg Env Health* 2008;211(3-4):447-453.
 64. Ghosh S, Bhatnagar V, Doctor P, Shah M, Amin R, Kulkarni P, et al. Cotinine, thioether, and glucuronide excretion among active and passive bidi smokers in India. *Arch Environ Health* 2003;58(6):368-372.
 65. Leif A, Vitauts I. Influence of diet and other factors on urinary levels of thioethers. *Occup Environ Health* 1988;61:123-130
 66. Sinues B, Izquierdo M, Pérez J. Chromosome and urinary thioethers in smokers. *Mutat Res* 1990;24(2):289-293.
 67. Patel J, Shukla Sh, Patel H, Kothari K, Shah P, Prabhudas S, et al. Utility of Urinary Biomarkers in Oral Cancer. *Asian Pacific J Cancer Prev* 2007;8:229-235.
 68. Scherer G, Urban M, Hagedorn HW, et al. Determination of methyl-, 2-hidroxietil- and 2-cianoetilmercapturic acids as biomarkers of exposure to alkylating agents in cigarette smoke. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2010;878:2520-2528.
 69. Álvarez C, Blanco C, Rivero E, Palencia A, Romero G. Hábito tabáquico y tioéteres urinarios en personal de la Escuela de Bioanálisis, Valencia 2010. *Avances en Ciencias de la Salud.* 2012;1(2):27-31. Disponible en: servicio.bc.uc.edu.ve/fcs/avances/vol1n2/art5.pdf
 70. Vainio H, Savolainen H, Kilpikari I. Urinary thioether of employees of a chemical plant. *Brit J Ind Med* 1978;35:232-234.
 71. Feng S, Roethig H, Liang Q. Evaluation of urinary 1-hidroxypyrene, S-phenylmercapturic acid, Trans, trans-muconic acid, 3-metiladenine, 3-etiladenine, 8-hidroxio-2'-deoxyguanosine and thioeters as biomarkers of exposure to cigarette smoke. *Biomarkers* 2006;11(1):28-52.
 72. Xia Y, Bernert J, Jain R, Ashley D, Pirkle J. Tobacco-specific nitrosamine 4-(metilnitrosamino)-1-(3-piridil)-1-butanol (NNAL) in smokers in the United States: NHANES 2007-2008. *Biomarkers: Biochemical Indicators of Exposure, Response, and Susceptibility to Chemicals* [serial on the Internet]. (2011, Mar), [citado enero, 2014];16(2):112-119.
 73. Vardavas C, Fthenou E, Patelarou E, Bagkeris E, Murphy S, Kogevinas M, et al. Exposure to different sources of second-hand smoke during pregnancy and its effect on urinary cotinine and tobacco-specific nitrosamine (NNAL) concentrations. *Tobacco Control* [serial on the Internet]. 2013;22(3):194-200.

74. Foiles P, Murphy Sh, Peterson L, Carmella S, Hecht S. DNA and hemoglobin adducts as markers of metabolic activation of tobacco-specific carcinogens. *Cancer Res.* 1992;52:2698s-2701s.
75. Atawodi S. Tobacco-specific nitrosamines, hemoglobin adducts and exposure to environmental tobacco smoke. *Biokemistri* 2003;15(2):44-49.
76. Ludovici M, Luceri C, Guglielmi F, Bacci Ch, Akpan V, Fonnesi ML, et al. Benzo (a)pyrenediolepoxide (BPDE)DNA adduct levels in leukocytes of smokes in relation to polymorphins of CYP1A1, GSTM1, GSTP1, GSTT1 and mEH. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2004;13(8):1342-1348
77. Ji G, Yan L, Wu Sh, Liu J, Wang L, Zhang Sh, Shi L, Gu A. Bulky DNA adducts in human sperm associated with semen parameters and sperm DNA fragmentation in infertile men: a cross-sectional study. *Environ Health* 2013;12:82. Disponible en www.ehjournal.net/content/12/1/82
78. Alexandrov K, Rojas M, Rolando Ch. DNA Damage by benzo(a)pyrene in human cells is increased by cigarette smoke and decreased by a filter containing Rosemary extract, which lowers free radicals. *Cancer Res* 2006;66(24):11938-11945.
79. Yeowell-O'Connell K, Rothman N, Waidyanatha S, Smith M, Hayes R, Li G, Bechtold W, Dosemecci M, Zhang L, et al. Protein adducts of 1,4-benzoquinone and benzene oxide among smokers and nonsmokers exposed to benzene in China. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2001;10:831-833.

VIDA Y OBRA DE RAFAEL RANGEL (1877-1909)

Valmore Rodríguez

Microlab, c.a.

Recibido para publicación el 15 de junio 2014. Aprobado para publicación el 15 de julio 2014.

"Algunas veces pecamos de una PASIVIDAD HOMICIDA, que nos impide actuar de forma adecuada, según los buenos principios, según la norma de vida, según el deber ser y procuramos y participamos en daños irreparable, no solo a un ser, como también a la región geográfica que lo envuelve".

Valmore Rodríguez.

RESUMEN:

Rafael Rangel, nació el 25 de abril de 1877 en Betijoque, estado Trujillo y como dato importante, ese mismo día, llega el cuerpo del Dr José María Vargas al Panteón Nacional, muy curioso, así se llamaría el hospital donde Rafael Rangel se desarrollaría como profesional. Siendo estudiante de Medicina, carrera que no culmina, por estar su vida enmarcada en una tragedia, la cual se desempeña en un ámbito político-social, pasa a ser el mejor investigador de principios del siglo XX, destacando además la creación del ambiente del primer laboratorio clínico en Venezuela, patrón que fue copiado por toda América completa, confiriéndole la denominación del PADRE DEL BIOANALISIS EN VENEZUELA, celebrándose cada año en la fecha que recuerda su nacimiento.

Palabras claves: Rafael Rangel, investigador, padre del Bioanálisis.

LIFE AND WORK OF RAFAEL RANGEL

SUMMARY

Rafael Rangel, was born on April 25th 1877 in Betijoque state Trujillo and a major figure in the day, the body of Dr José María Vargas reaches the national pantheon, very curious as well be called the hospital where Rafael Rangel develop as a professional. He was a medical student, but due to the tragedy of his life, he did not end medicine. Rafael Rangel becomes the best researcher of early twentieth century, highlighting the creation of the first clinical laboratory in Venezuela, a pattern that was copied by all Latin America, all this gave him the name of the FATHER OF BIONALISIS IN VENEZUELA, celebrated each year the date of his birth.

Keywords: Rafael Rangel, researcher, father of Bionalisis.

Introducción

Rafael Rangel, nace en Betijoque, estado Trujillo, el 25 de Abril de 1877, y como dato importante, ese mismo día, llega el cuerpo del Dr. José María Vargas al panteón nacional, muy curioso, así se llamaría el hospital donde Rafael Rangel se desarrollaría como profesional. Su Padre: Eusebio Rangel, de profesión comerciante y su verdadera madre se llamaba Teresa Estrada, esta murió aparentemente de una eclampsia, cuya suposición se hace por la sintomatología que expresaba la misma mujer que lo crio y le dio su apellido, María Trinidad Jiménez, quien se casaría con Eusebio y tendrían 3 hijos; María, José Eusebio y José. María fallece de Fiebre amarilla en un momento donde era imposible el diagnóstico de la enfermedad, siendo esto motivo de inspiración para Rafael Rangel, su medio hermano, para estudiar Medicina y especializarse en Microbiología.

Estudios

Su primaria la realiza en su pueblo natal, Betijoque y por no existir liceos, debió viajar e instalarse en Maracaibo, hasta finalizar la secundaria, lugar donde



Rafael Ángel Terán Barroeta. Relatos del Cronista De Tucutucu, Trujillo. 2009. Disponible en: <http://elcronista-detucutucu.blogspot.com/2009/08/el-sabio-rafael-rangel.html>. [consultado en: abril 2014].

dejo grandes amigos y buenos recuerdos. Hizo lo imposible por inscribirse en la carrera de Medicina, que tanto se anunciaba como muy difícil de poder lograr una plaza, pero su insistencia logro su lugar como alumno regular de la prestigiosa Universidad Central de Venezuela, comenzó un 21 de septiembre de 1896 y

Solicitar copia a: Valmore Rodríguez (e-mail: valmoremicrolab@hotmail.com)

tuvo como profesores destacados a: Luis Razetti, a quien fuera su gran admirador, y en el transcurso de la lectura entenderán por que, el Dr. Adolfo Frydesberg a quien Rangel consideraba como su docente más académico, el Dr. José Gregorio Hernández, quien fuera determinante en su vida profesional y de forma "muy negativa", y el Dr. Santos Dominici, protector por excelencia de Rangel.

Al segundo año de la carrera, el bachiller Rangel abandona sus estudios, muchas incógnitas aun pareciera que hay al respecto, se escriben muchas cosas, una segura Tuberculosis, para la que debió hacer una cuarentena en Betijoque. Pues no realmente fue un acontecimiento político que desencadenó una serie de hechos determinantes en la vida de este joven hombre, al cual le debemos nuestra carrera del Bioanálisis.

Pero antes de abandonar sus estudios, dejó grandes avances a la ciencia médica, con tan solo 2 años de carrera, bastó para abrir en la mente de este joven estudiante, la curiosidad acertada y hacer conclusiones importantes, que se podría decir en plena actuación médico-investigativa. Y destacamos las más importantes:

- 6 de Noviembre de 1891, comienza a trabajar en la 1° cátedra de Bacteriología de América, fundada por el Dr. José Gregorio Hernández.
- 1899, preparaduría de Fisiología.

Publicaciones importantes:

1. 1901. Estudios sobre el SNC.
2. Corpúsculos de Nissl.
3. Estudios sobre Anemias.
4. Dirige 16 tesis en Medicina (Epidemiología-Medicina Experimental).
5. Describe por vez primera el *Aedes aegypti* y el *Culex pipiens*, vectores del virus de la FIEBRE AMARILLA.
6. Determina microbiológicamente: Anquilostomiasis, Paludismo, *Bilharzia*.
7. Anemias de los mineros, por deficiencia de hierro.
8. Anquilostoma duodenalis, fue descubierto por Rangel, pero su inocencia le impidió la publicación de lo que había visto, sus dibujos expresaban perfectamente lo que después el investigador norteamericano decretó como el *Necator americanus*, inocencia y humildad de Rangel.
9. Realizó estudios sobre la Peste Boba o derrengadera, producida por el *Tripanozoma equinum*.
10. Diagnostica el GRITO DE LAS CABRAS o FIEBRE DE TEXAS, su etiología, la *Babesia bigemina*, en el matadero de Caracas.

Entonces, podríamos decir que trabajando en condiciones precarias pero de forma perfecta, una hazaña, digno de seguir, llama mucho la atención la fijación de ciertos puntos importantes dentro de la epidemiología, a ser resueltos por lo que muchos llamaban, UN SIMPLE BACHILLER, sin contar los alcances futuros que llevaron estos estudios.

Con el afán de la creación del laboratorio, Rangel, quien permanece la mayor parte de su tiempo en él, se contamina de Tuberculosis, es tratado adecuadamente y mientras cumplía su cuarentena, decide abandonar la carrera de medicina y dedicarse al laboratorio clínico y su adecuado desarrollo.

Acontecimiento Político

Ya para el año 1899, estaba Cipriano Castro, comandando el país, un militar, de buenas ideas y las que no tenía, consultaba, para lograr un beneficio para el país, proporcionaba lo necesario para invertir en el país en novedades, de hecho se le conoce como "El Restaurador de Venezuela", a quien le debe tanto la ciencia, y sobre esto, cabe destacar que por sugerencia del Dr. Santos Dominici, se funda en el año 1901, el primer laboratorio clínico de Venezuela, en el hospital Vargas de Caracas, bajo la tutela del Bachiller Rangel, donde el presidente Castro, se comunica de forma breve con Rangel y le dice: "*usted tiene la tarea de equiparlo y organizarlo...*"

Allí no solo Rangel, actúa como analista clínico, también lo hace como docente para la escuela de medicina y hace investigación.

Rangel era un profesor diferente para la época, utilizaba una metodología propia que llevaba al mayor entendimiento de situaciones inimaginables para los que no podían ver de forma clara el fundamento de las pruebas de laboratorio que se realizaban, esto provocaba cierta presión en los estudiantes y Rangel para tranquilizarlos les decía:

"Veréis que esos métodos no son tan complicados, ni tan difíciles como se quiere suponer, veréis que los más útiles son sencillísimos, lo que se necesita es que los apliquéis vosotros mismos y a ellos debéis habituarlos como lo hacéis para el examen clínico del enfermo".

Aquí Rangel destacaba los siguientes aspectos:

ESTIMULO.

ESPERANZA.

ETICA.

Control de calidad interno.

Donde si los tomamos en cuenta y los agrupamos, entraríamos en razón que Rangel hace creación de

la carrera del Bioanálisis, sin darse cuenta el mismo inclusive. Cabe destacar que Rangel crea nuestra carrera no solo en Venezuela, sino más bien en América entera, situación que fue copiada por otros países en el paso del tiempo. Crea un profesional con una formación que permitiría abarcar para la época, diferentes rubros del laboratorio clínico, siendo aún en la actualidad, los más importantes, por la frecuencia de sus práctica, como, lo son la Microbiología, la Hematología, la Bioquímica y la Inmunología.

Había un discípulo, Espino, que lo describía perfectamente en una frase:

“De amable severidad y fecundo aislamiento”

“Modestia exagerada que lo llevaba a subestimarse”

Aspectos Personales

Podríamos destacar:

- Muy reservado.
- No se mezclaba con sus compañeros.
- Pobrísimos? Pues no era muy pobre, solo que por ser hijo solamente de Eusebio, no quería aceptar la ayuda que según Rangel no le pertenecía, el decía que era de sus hermanos y no quería incomodar, incluso, llegó al extremo de dormir en una puerta de madera sostenida por sacos de cemento, cuidado del bedel Lira.
- Tímido? No como se piensa, tenía gusto por el baile, y se inscribió en la escuela de baile de la universidad y bailaba con una escoba para no tropezar con los pies de las damas.
- Amable.
- Cordial.
- Comprensivo

Se unió a Ana Luisa Romero, quien contaba con 17 años para el momento y tuvieron dos hijos: Ezequiel y Consuelo

Comienzo de la tragedia

En el año 1907 Muere Consuelo, su hija, de Paludismo, Rangel participo en el diagnóstico, eso lo entristeció muchísimo y para comienzos del 1908 se encuentra con el Preludio de la PESTE BUBÓNICA, enfermedad que azotaba desde hace meses a Europa, sobre todo a Italia y Francia, donde ya muchos muertas había por este mal.

Los Hechos

A la Guaira arriba una embarcación procedente de Europa y llega una información vía telegrama de muchas muertes ocurridas en la embarcación, ya se sospechaba de la posibilidad de Peste Bubónica, donde

el Dr. Rosendo Gómez Peraza, hace el examen físico de los pacientes, anunciado de forma de alerta la alta posibilidad de tratarse de la enfermedad y Rangel es llamado para hacer el diagnóstico microbiológico y solucionar el problema, y este último, decide tomar muestras de pus de los bubones, para la realización de frotis, inoculación en animales y siembre en cultivos.

Anuncia de un bacilo gran negativo, el cual no crece en agar sangre, y por la presión para el momento Rangel da una “mala información” al presidente Castro: Sr. presidente, no hay peste bubónica en Venezuela, era la información que todo el país quería escuchar, el temor era extremo, tanto así que el Diario el Constitucional escribe: Rangel es llamado HÉROE del momento. Siempre de forma histórica sucede esto en relación a las enfermedades infecciosas.

Pero Rangel, no se conformó y dejó las placas más tiempo y a temperatura ambiente, no las descarto y días más tarde, la sorpresa, la aparición de unas colonias de un bacilo gram negativo que correspondería según confirmación de los centros de Microbiología de Europa del patógeno *Yersinia pestis*, de tal manera que nuestro Rafael Rangel, aísla por vez primera el agente etiológico de la epidemia fatal más importante de la época, que comenzaba en el viejo continente. Lo importante del punto de vista científico es el hecho que la *Yersinia pestis*, como todas las *Yersinias sp*, crecen de forma óptima a temperatura ambiente, aspecto que todos los microbiólogos adoptamos en el momento de querer investigarlas, por supuesto, esto optimiza su estudio y acelera el diagnóstico para mejor solución del problema existente.

Entonces, días más tarde Rangel anuncia al presidente Castro: CON MUCHA DISCRECIÓN, LAMENTO DECIRLE QUE HAY PESTE BUBONICA EN EL PAÍS...

Rangel está ahora a la cabecera de la lucha, tenía que tomar decisiones y lo hizo tomando en cuenta aspectos epidemiológicos, estas acciones fueron las siguientes:

- Vacunar con sueros profilácticos.
- Desinfección de los cuartos de los enfermos.
- Quemar la ropa y casas de enfermos.
- Extirpación de ganglios como medida curativa.
- Castro por sugerencia de Rangel, cierra el puerto de la Guaira.

Rafael Rangel, procuró la FINALIZACION DE LA PESTE, esto hizo que Castro, sintiera gran admiración por este científico, que le dió acciones equivalentes al ministro de salud, responsabilizó a Rangel de la salud

del venezolano, entonces, porque algunos científicos dicen que la práctica del Bioanálisis es para clínica? En lo absoluto, en el laboratorio clínico se hace el diagnóstico de muchas enfermedades, y ese diagnóstico es propio y único del laboratorio clínico.

Debido a esta situación, nació además una amistad muy especial entre Rangel y Castro, que se caracterizó por la admiración, el respeto y la confianza, al mismo tiempo nace el mal pensamiento del Dr. José Gregorio Hernández, sobre el bachiller Rangel, como el mismo lo llamaba, realmente nunca aceptó que el intelecto de Rangel, sobrepasara los límites al de su inadecuado docente.

Pero destacando lo positivo, la buena voluntad, profundizando sobre la naciente amistad de Rangel y Castro que se puede evidenciar en sus telegramas del año 1908, y tomados textualmente expresan lo siguiente algunos de ellos:

“No tengo palabras para manifestar al Restaurador de Venezuela, toda mi gratitud, por la alta confianza depositada en mi durante estos tiempos de lucha contra la epidemia que nos azota, por mi parte tengo que confesarle, no he tenido otro lema que Castro, sus palabras han fortalecido mi espíritu, no acostumbrado a estas luchas y sus enseñanzas me servirán de poderoso recurso en el porvenir”.

“El demasiado fanatismo que profeso por ud., no solo desde ahora sino desde hace muchos años, ha sido causa para que yo no oyera otra voz que la suya, no atendería otro objeto que el cumplimiento de sus ordenes y la destrucción del mal”

“Había intentado ir a Caracas a hablar con ud, personalmente, pero me abstuve por razones de profilaxis”

“Suplícole, general que guíe mis pasos en este asunto, con la entera confianza que soy un amigo leal y desinteresado de ud.”

En estos telegramas, Rangel firma su amigo o su adicto amigo.

Cipriano Castro, se enferma ese mismo año de una insuficiencia renal y viaja a Madrid y París, para ser tratado, encargando a su compadre y amigo la presidencia de la república, el General Juan Vicente Gómez, el cual de forma traicionera se apodera del cargo y establece una dictadura que duro casi 26 años.

Ataque a Rangel

En estos momentos, cambia la situación política del país, que influye de manera negativa sobre la vida de Rafael Rangel, Castro exilado y el Dr. José Gregorio Hernández, se convierte en aliado de J.V. Gómez, procurando el

Dr. Hernández, la eliminación de todos los beneficios dados a Rangel, no solo en la organización del estado de salud del venezolano, sino también en los estudios futuros que este pretendía hacer en París, en el instituto Pasteur, la beca asignada a Rangel, fue eliminada, situación realmente repetible de forma lamentable en la actualidad entre autoridades de la salud, pareciera que la querencia de procurar el bien, produce escozor sobre ciertas personas, que algunas veces logran interrumpir buenas acciones, estableciéndose una lucha entre poderes, EL DEL CONOCIMIENTO Y LA RAZÓN, EN CONTRA AL POLÍTICO INTERESADO EN OCULTAR SITUACIONES QUE SI SE SOLUCIONARÍAN SERÍA DE ALTO BENEFICIO AL PAÍS.

Todo esto perturbo la vida de Rafael Rangel y el buen funcionamiento del laboratorio, creando en el estados de ánimos anormales, donde además de ser excluido en esta nueva época socio-política de Venezuela por ser de tez morena, se llega a un extremo de la perturbación y el cuerpo de Rafael Rangel comandado por una mente enferma, toma la decisión de suicidarse con Cianuro de Potasio, después de una clase de Micología a los estudiantes de medicina, el 20 de Agosto de 1909.

En los corredores del hospital Vargas, se oye un alto grito de dolor, aparentemente: Toledo Trujillo, José Ángel Rivas, Salmerón Olivares y Domingo Luciani, corren y encuentran el cuerpo tendido de Rangel, todavía con su bata puesta, con el brazo doblado hacia su cuerpo.

Existen controversias en la investigación de quien lo asiste, se ha escrito sobre Domingo Luciani, quien según la fecha estaría en París, intentando hacer estudios de medicina, como muchos jóvenes, que emigraron a otros países en tiempos de dictadura, donde la posibilidad del estudio y el desarrollo profesional se ven limitados y aparentemente es Luis Razetti, quien pregunta a Rangel, que has tomado? Este le dice CIANURO DE POTASIO, y la inevitable muerte fue inmediata.

Es válido destacar, que el Dr. Razetti, siempre vio en Rangel, un potencial muy alto, siempre hacia sobre el comentarios extraordinarios que lo exaltaban y estaba además muy pendiente de la situación que lo envolvía, El Dr. Luis Razetti, veía que la aplicación de la práctica médica debía tomar un cambio, y a su vez copiar modelos ya existentes en Europa y los Estados Unidos, y en eso se dedicó, procurando alcances maravillosos que le conllevaron a llamarlo EL MODERNIZADOR DE LA MEDICINA VENEZOLANA.

“Así acaba la vida del mejor investigador y tal vez único de principios del siglo XX”, s olo con sus ideas basadas en

estudios anteriores, logró adaptar la investigación a las necesidades de la Venezuela de la época, que de forma EXTRAORDINARIA, son aplicadas en la actualidad, entonces me pregunto: Que tenía este joven hombre, que su intelecto sobrepasaba los límites de ese tiempo? Como logró Rangel, ser tan proyectista de forma positiva para la práctica médica, sin llegar culminar sus estudios?

Análisis

El suicidio de Rangel, nos obliga a reflexionar, ya que su vida se marca en un sello de tragedia.

- La relación entre la sociedad venezolana y el hombre de ciencia.
- Sobre el efecto de la política, cuando se inmiscuye en los que hacen investigación.
- Sobre los obstáculos que la investigación, encontrados entre nosotros, "ALGUNOS DE LOS CUALES HEMOS HEREDADO".

En el sepelio: como pareciera costumbre de nuestra cultura venezolana, los comentarios no faltaron, muchos a destiempo, pero si muy acertados, algunas veces pecamos de una PASIVIDAD HOMICIDA, que nos impide actuar de forma adecuada, según los buenos principios, según la norma de vida, según el deber ser y procuramos y participamos en daños irreparable, no solo a un ser, como también a la región geográfica que lo envuelve:

- Era amado de sus maestros y de sus compañeros y la sociedad lo respetaba porque su conducta le hizo acreedor del respeto social.
- EL UNIVERSAL: Razetti: Lo vi subir hasta obtener el aplauso de los más altos.

"El suicidio de un ser excepcional como Rafael Rangel, causa escándalo y provoca en la sociedad un complejo de culpabilidad"

"Los que viven alejados de los centros científicos y sin información, no tienen derecho con asegurar cuando tratamos un asunto que está al corriente de los últimos acontecimientos"

Como siempre comento entre mis familiares y amigos importantes, CADA QUIÉN SE MANEJA DE ACUERDO A LA INFORMACIÓN QUE TIENE, Y SI ESA INFORMACIÓN ES INADECUADA, EL PRODUCTO DE SU USO ES NEFASTA.

El suicidio de Rangel, puede interpretarse también, como un "castigo inconsciente" contra una sociedad que según él, lo perseguía.

Homenaje

Sus restos descansan en el panteón nacional y el INSTITUTO NACIONAL DE HIGIENE, lleva su

nombre, según decreto n° 2104 del 29 de Marzo de 1977. Gaceta oficial n° 31211 por el presidente Carlos Andrés Pérez.

Sería importante averiguar, donde descansan los restos de todas aquellas personas que participaron en la destrucción mental del investigador más importante de Venezuela, que participaron además en el no aprovechamiento de este ser maravilloso, que seguramente el diamante que nos dejó brillaría mas sin duda, pero no se lo permitieron, pero igual lo amamos, lo consideramos, lo respetamos y lo exaltamos llamándolo, EL PADRE DEL BIOANÁLISIS.

Quiero terminar mi escrito con una frase del Dr. Marcel Roche, muy acertada además en estos tiempos, que dice lo siguiente:

"Definitivamente el país debe ser orientado por pensadores, científicos, creadores en general, sin consideración de su origen, de la fortuna y otras circunstancias externas y accidentales. Rangel y los hombres como él, constituyen la verdadera élite."

Muchas gracias por leer sobre un ser que realmente admiro y a quién le debo mi acción profesional, considero que no está muerto, por lo menos en mi está vivo y por siempre.

AGRADECIDO DE DIOS POR SER BIOANALISTA, FELICIDADES A MIS COLEGAS DE BUENA VOLUNTAD, MIS RESPETOS Y CONSIDERACIONES...

Referencias

- Roche, M. Rafael Rangel: ciencia política en la Venezuela de principios de siglo. Caracas: Monte Ávila Editores; 1976.
- Beaujón, Oscar. Rafael Rangel en el Panteón Nacional. Caracas: Academia Nacional de Medicina; 1979. Rafael Rangel: Un sabio que perdió Venezuela.
- Méndez León, Sixto. Rafael Rangel: Un sabio que perdió Venezuela. Trujillo: Publicaciones de la Dirección de Educación, 1959.
- Archila R. Formación universitaria de Rafael Rangel. Gaceta Médica de Caracas, 1959.
- Espino JM. Aspectos humanos de Rafael Rangel. Gaceta Médica de Caracas, 1959.
- Beaujón, Oscar. Rafael Rangel en el Hospital Vargas. Gaceta Médica de Caracas LXVIII N° 7-9 julio-septiembre; 1959.
- CARDOZO, M. Reivindicación de la irresponsabilidad en Rafael Rangel por su suicidio. Caracas; 1957 (Conferencia pronunciada el 20 de agosto). Folleto impreso.
- Rangel R. La Anquilostomiasis en Venezuela. Rev Inst Hig "Rafael Rangel" 2006;37:29-31.
- Beaujón, Oscar. Vigencia de Rafael Rangel. Conferencia dictada por el Dr. Oscar Beaujón en el Teatro de la Biblioteca Nacional. Caracas, 25 de Abril de 1962, para celebrar el nacimiento de Rafael Rangel. Caracas: Editorial Grafos, 1962.

INFORMACION PARA LOS AUTORES

Acta Científica de la Sociedad Venezolana de Bioanalistas Especialistas, publica artículos originales, revisiones, cartas al editor y comunicaciones breves relacionadas con biología humana, bioanálisis y áreas afines, que contribuyan al avance de la investigación y difusión científica.

Envío del Trabajo

El autor debe enviar un original del artículo, con una carta de presentación firmada por todos los autores como constancia escrita que han contribuido en el diseño, ejecución, análisis e interpretación de los datos, redacción del artículo y, en la revisión crítica del contenido del artículo original a ser publicado. Debe dejar constancia que el trabajo no ha sido publicado ni enviado a otra revista. También indicar el orden de los autores y el autor de correspondencia con su dirección y correo electrónico. Los autores cuando presentan el manuscrito, deben revelar todas las entidades financieras y las relaciones personales que puedan haber influido en el trabajo, es decir deben declarar explícitamente si existen o no conflicto de intereses.

La revista utiliza en forma preferencial el sistema electrónico, por lo tanto debe acompañar el envío de un CD, en "Word for Windows", en cuya etiqueta se indique el nombre del autor principal.

Sistema de Arbitraje

Todos los artículos originales pasan por un proceso de arbitraje externo, realizado por tres árbitros con experticia en el tema específico. Las revisiones igualmente son evaluadas por especialistas. La decisión se tomará de acuerdo a la opinión de los árbitros aprobada por el Comité Editorial. La autoría del artículo y el arbitraje, son del dominio exclusivo del Comité Editorial. Los autores recibirán la opinión de los árbitros con las recomendaciones por parte del Comité en cuanto a modificaciones de forma y redacción. Las respuestas deben enviarse en un lapso prudencial, con una carta donde el autor señale las modificaciones realizadas y argumente aquellas que no considera adecuadas.

Normas Editoriales

Todas las partes del manuscrito deben estar escritas a doble espacio. Cada sección comenzará en página nueva, todas numeradas, con la siguiente secuencia: página del título, nombre completo de los autores (sin títulos profesionales), dirección de la(s) institución(es) donde fue realizado, y señalar con números consecutivos la que corresponde a cada autor.

Los artículos originales deben guardar la siguiente estructura:

Título en español e inglés (corto, no más de 15 palabras, 75 caracteres), Titulillo en español Resumen y Palabras Clave en español e inglés), Introducción, Metodología, Resultados, Discusión, Agradecimientos, Referencias, Cuadros e Ilustraciones. Cada sección debe comenzar en hoja aparte, así como también los cuadros e Ilustraciones con sus respectivos pies o epígrafe.

Resumen debe establecer los objetivos del estudio, los procedimientos básicos (selección, métodos de observación y análisis) los hallazgos más importantes, proporcionar datos específicos y, significación estadística y las conclusiones principales sobre la base de los resultados del estudio.

No debe contener referencias ni siglas que no estén identificadas. El límite máximo son 250 palabras y no debe ser estructurado.

Al final del resumen deben estar 3 a 10 palabras clave, que incluyan descriptores en inglés, de la lista del "Medical Subject Headings (MeSH) y en español de la lista de "descriptores en Ciencias de la Salud" (DECS).

Introducción expresa el propósito del artículo, los antecedentes internacionales y nacionales, mediante referencias actualizadas. En el último párrafo de la introducción debe aparecer en forma clara y precisa el objetivo del estudio.

Metodología describa claramente como se eleccionaron los sujetos que participaron en el estudio, edad, sexo y otras características importantes. En los manuscritos de revisión se incluirá una sección en la que se describan los métodos utilizados para localizar, seleccionar o extraer los datos.

Los estudios con humanos deben dejar constancia escrita de la aprobación por parte del Comité de Ética de la institución donde se realizó la investigación, así como el consentimiento de los individuos que participaron y, evitar en todo momento que puedan ser identificados, tener especial cuidado con las fotografías. Cuando se trate de experimentos con animales, mencione si se cumplieron las normas de la institución acerca del cuidado y uso de animales en el laboratorio.

Describa los métodos estadísticos con detalle suficiente para que puedan verificarse los resultados. Defina los términos, las abreviaturas y los símbolos estadísticos. Cuando sea posible, cuantifique los resultados y preséntelos con indicadores apropiados de medición de error o incertidumbre (como intervalos de confianza).

Resultados. Presente los resultados en el texto, cuadros, ilustraciones y figuras en una secuencia lógica. No repita en el texto la información que contienen los cuadros y figuras, sólo destaque lo más importante. Utilice en esta sección el tiempo pretérito.

Discusión. Destaque los aspectos nuevos e importantes del estudio y las conclusiones que se derivan de los resultados. Cuidese de no repetir la información ya presentada en las secciones anteriores. Relacione las observaciones con la de otros estudios internacionales y nacionales, incorporando en la discusión el análisis de las referencias bibliográficas actualizada relacionadas con el estudio. Establezca el nexo entre las conclusiones y los objetivos del estudio, y cierre la discusión con la conclusión más importante del estudio o con la propuesta de nuevas hipótesis, cuando estén justificadas.

Las Revisiones pueden ser solicitadas por el Editor preferentemente a especialistas sobre un tema de importancia científica en la actualidad, pero también se aceptan revisiones de autores, las cuales seguirán el proceso de arbitraje externo. En la revista también se publican reportes cortos de hallazgos de interés para el ámbito de la revista, así como casos clínicos cuya ocurrencia sea un verdadero hallazgo.

Las cartas al editor, por lo general están referidos a comentarios de artículos recientes publicados en la revista y su extensión no debe ser mayor a dos páginas.

Cuadros. Cada cuadro debe escribirse a doble espacio, sin líneas verticales ni horizontales internas y en hoja aparte. Numérelos consecutivamente con números arábigos y asigne un título breve en minúscula. Cada columna llevará un encabezamiento corto o abreviado. En las notas al pie se explicarán todas las abreviaturas no usuales empleadas en el cuadro. Si incluye datos publicados o inéditos o de otra fuente, obtenga la autorización

para reproducirlos y conceda el reconocimiento al autor. No incluya más de 5 cuadros, máximo de 5 columnas y 8 filas.

Ilustraciones (Figuras) Las figuras deben estar dibujadas en forma profesional (archivos electrónicos de las figuras en formato JPEG o GIF). Se numeran en forma consecutiva con números arábigos. Las fotografías deben ser en blanco y negro, con buen contraste, en papel satinado con las siguientes medidas 127x173 mm, sin exceder 203x 254 mm. Ubicar una por página, título breve y una leyenda que facilite la comprensión del contenido.

Agradecimientos Aparecen al final del texto, allí se incluyen las colaboraciones que deben ser reconocidos pero que no justifican la autoría, ayuda técnica, apoyo financiero y material y las relaciones que puedan suscitar conflicto de intereses.

Referencias Las referencias bibliográficas dan el soporte científico al estudio realizado, por lo tanto deben ser recientes, preferiblemente de los últimos cinco años. Las referencias internacionales y nacionales constituyen antecedentes del estudio que se está publicando, de esta manera, también reconocemos la labor de los investigadores venezolanos que han aportado al tema en estudio. Numere las referencias consecutivamente siguiendo el orden como se mencionan por primera vez en el texto. Cite cuidadosamente en el texto, cuadros y figuras todas las referencias con un número entre paréntesis. Cuide que la escritura reproduzca fielmente el artículo original y vigile la escritura en inglés, para evitar cometer errores al transcribir la información.

Las referencias bibliográficas en Acta Científica de la Sociedad Venezolana de Bioanalistas Especialistas, siguen el estilo de las normas de Vancouver. (<http://www.icmje.org>). Abrevie los títulos de las revistas de acuerdo con el estilo del Index Medicus y consulte la lista de revistas indizadas en (<http://www.nlm.nih.gov>). No se aceptan como referencias resúmenes. Los artículos aceptados pero que todavía no se han publicado, se indican como "en prensa", con la información de la revista donde fue aceptado.

Ejemplos de referencias:

Artículos de revista

Enumere los primeros seis autores y añada la expresión "et al"

1. Artículo de revista ordinario

Bremer AA, Byrd RS, Auinger P. Racial trends in sugar sweetened beverage consumption among US adolescents: 1988-2004. *Int J Adolesc Med Health* 2011; 23(3):279-86.

Libros

2. Individuos como autor:

Casademunt J. Sobrepeso y obesidad infantil. Barcelona: Editorial Océano; 2005.

3. Editores como autor:

Alemán M, Bernabeu-Mestre JB, editores. *Bioética y Nutrición*. Alicante. Universidad de Alicante: Editorial Agua Clara; 2010.

4. Capítulo de libro:

López de Blanco M, Landaeta-Jiménez M. Los estudios de crecimiento y desarrollo físico en Venezuela. En: Fano V, Del Pino M, Cano S, compiladores.

Ensayo sobre crecimiento y desarrollo presentado al Dr. Horacio Lejarraga por sus colegas y discípulos. Buenos Aires: Paidós; 2011. p. 431-454

Material electrónico

5. Artículo de revista en Internet:

Vázquez de la Torre MJ, Vázquez Castellanos JL, Crocker Sagastume R. Hipertensión arterial en niños escolares con sobrepeso y obesidad. *Respyn [Serie en Internet]* 2011 Jul-Sep [citada 5 nov 2011]; 12(3): [6 pantallas]. Se consigue en: URL: http://www.respyn.uanl.mx/xii/3/articulos/Hipertension_arterial.htm.

Para otros ejemplos de formato de referencias bibliográficas, los autores deberían consultar la página web: http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html. Para cualquier otro tipo de información se sugiere consultar: Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals: Writing and Editing for Biomedical Publication Updated April 2010. <http://www.icmje.org>.

Antes de enviar el artículo, revise cuidadosamente las instrucciones a los autores y verifique si el artículo cumple con los requisitos editoriales de la revista Acta Científica de la Sociedad Venezolana de Bioanalistas Especialistas.

Artículo de revisión:

El artículo de revisión facilita la actualización y revisión de un aspecto científico, realizado por especialistas en el tema: ofrece al lector interesado una información condensada sobre un tema, realiza interpretaciones y adelanta explicaciones en tópicos específicos relacionados al área del Bioanálisis.

El número máximo de autores es cuatro. El artículo requiere de, al menos, 40 referencias con prioridad de los últimos cinco (5) años. En caso de que esto no sea posible, deben especificarse las razones (tópicos muy poco frecuentes o muy poco investigados previamente). El texto deberá expresar con claridad las ideas a ser desarrolladas, y tratará de transmitir un mensaje útil para la comprensión del tema central del artículo de revisión.

Las secciones básicas del artículo de revisión son: página inicial, resumen, (en español y en inglés), introducción, texto, referencias bibliográficas. El cuerpo de las revisiones es libre, aunque es conveniente subdividirlo en secciones.

El autor o los autores de un artículo de revisión deben plasmar su interpretación crítica de los resultados de la revisión bibliográfica con claridad y precisión, y dejar siempre la inquietud sobre aquellos tópicos del tema que requieren una mayor o más profunda investigación. La extensión de los artículos de revisión no debe ser mayor de 6000 palabras, excluyendo las referencias.



Acta Científica

de la Sociedad Venezolana
de Bioanalistas Especialistas

CONTENTS

Vol. 17 - No 1

2014

EDITORIAL

María Fátima Garcés..... 1

ORIGINAL ARTICLES:

Evaluation criteria for determining reliability automated glucose: comparison of methods of glucose oxidase and hexokinase

Marcel Jesús Mejías Martínez; Adriana María Méndez Laya; Anyella Carolina Moreno..... 2

Preanalytical phase of uroanalysis standardization in clinical laboratory

Celsy Hernández, Hilda Stekman, M^a Fátima Garcés, Beatriz De La Torre..... 12

Postprandial Triglycerides: Importance. How To Measure Them?

M^a Fátima Garcés, Hilda Stekman, Yamil Adrián Guarín, Yenny Carrero, Celsy Hernández, Adriana Rivas, María Luisa Nuñez. 17

REVIEW ARTICLE:

Exposure and effect biomarkers to environmental tobacco smoke

Aura Palencia, Gabriela Romero, Maritza Vargas..... 27

HISTORY ARTICLE:

Life and work of Rafael Rangel

Valmore Rodríguez 36

INFORMATION FOR AUTHORS..... 41