



Acta Científica de la Sociedad Venezolana de Bioanalistas Especialistas

Volumen 21 - No. 1

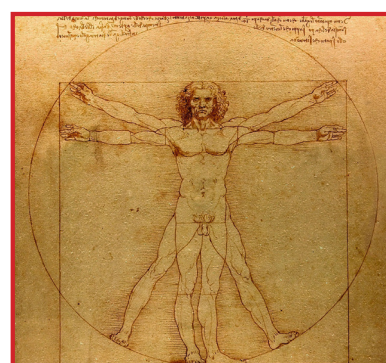
Año 2018

Organo Oficial de la SVBE

CONTENIDO

Editorial	1
ARTÍCULOS ORIGINALES:	
Desempeño de los laboratorios clínicos del Distrito Metropolitano de Caracas, en el informe de resultados del uroanálisis de acuerdo con los requisitos de la ISO, CLSI Y ECLM Celsy Hernández, Patricia Blanco, Antonieta Cammarano, M ^a Fátima Garcés, Jonattan Ramos.....	2
Biomarcadores de autorreactividad en niños pre-púberes obesos con/sin resistencia a la insulina. Josefa Villasmil, M ^a Fátima Garcés, Andrea Parra, Laura Noguera, Hilda Stekman, Ana López, Ingrid Soto de Sanabria.....	10
CASOS CLINICOS:	
SCEDOSPORIOSIS PULMONAR: A propósito de un caso Xiomara Moreno, Carolina Macero, Mizrachi Romea, Fortunato Chocrón.....	20
ARTÍCULOS DE REVISIÓN:	
Proteasas: Enzimas Versátiles Gabriela Romero B., Aura Palencia M	25
Información para Autores.....	33

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



Acta Científica de la Sociedad Venezolana de Bioanalistas Especialistas

Volumen 21. No. 1
Año 2018



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

2016-2017

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

MSc. Martha Herrera

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, MSc María Luisa Núñez.



Acta Científica de la Sociedad Venezolana de Bioanalistas Especialistas

CONTENIDO

Vol. 21 - No. 1

2018

Editorial 1

ARTÍCULOS ORIGINALES:

Desempeño de los laboratorios clínicos del Distrito Metropolitano de Caracas, en el informe de resultados del uroanálisis de acuerdo con los requisitos de la ISO, CLSI Y ECLM

Celsy Hernández, Patricia Blanco, Antonieta Cammarano, M^a Fátima Garcés, Jonattan Ramos..... 2

Biomarcadores de autorreactividad en niños pre-púberes obesos con/sin resistencia a la insulina.

Josefa Villasmil, M^a Fátima Garcés, Andrea Parra, Laura Noguera, Hilda Stekman, Ana López, Ingrid Soto de Sanabria..... 10

CASOS CLINICOS:

SCEDOSPORIOSIS PULMONAR: A propósito de un caso

Xiomara Moreno, Carolina Macero, Mizrachi Romea, Fortunato Chocrón..... 20

ARTÍCULOS DE REVISIÓN:

Proteasas: Enzimas Versátiles

Gabriela Romero B., Aura Palencia M 25

Información para Autores..... 33



Acta Científica de la Sociedad Venezolana de Bioanalistas Especialistas

CONTENTS

Vol. 21 - No. 1

2018

Editorial1

ORIGINAL ARTICLES:

Desempeño de los laboratorios clínicos del Distrito Metropolitano de Caracas, en el informe de resultados del uroanálisis de acuerdo con los requisitos de la ISO, CLSI Y ECLM

Celsy Hernández, Patricia Blanco, Antonieta Cammarano, M^a Fátima Garcés, Jonattan Ramos..... 2

Autoreactivity biomarkers in obese prepubescent children and/or with insulin resistance

Josefa Villasmil, M^a Fátima Garcés, Andrea Parra, Laura Noguera, Hilda Stekman, Ana López, Ingrid Soto de Sanabria..... 10

CLINIC CASE:

SCEDOSPORIOSIS PULMONARY: A case report

Xiomara Moreno, Carolina Macero, Mizrachi Romea, Fortunato Chocrón..... 20

REVIEW ARTICLE:

Proteases: Versatile Enzymes

Gabriela Romero B., Aura Palencia M 25

Information for Authors..... 33

EDITORIAL

Empezamos este año 2018 con entusiasmo invitando a todos los profesionales del área de salud a enviar sus artículos científicos para nutrir tan prestigiosa revista. Es para nosotros un privilegio seguir contando con esta importante revista científica de transcendencia nacional e internacional que reúne artículos de gran interés para el Bioanalista y para los profesionales del área de la salud. La Revista Acta Científica de la Sociedad Venezolana de Bioanalistas Especialistas es una publicación periódica de gran significado e importancia en la difusión de la productividad científica de los profesionales del Bioanálisis de todo el país.

En este nuevo volumen iniciamos la revista con un interesante trabajo en el que se valora el desempeño de los laboratorios clínicos del Distrito Metropolitano de Caracas, en el informe de resultados del uroanálisis de acuerdo con los requisitos y recomendaciones internacionales de la ISO, CLSI y ECLM. Seguimos con un interesante artículo en él que se evalúa la posible relación entre las alteraciones tiroideas y los desórdenes metabólicos de la glucosa y obesidad en niños prepúberes.

Continuamos este número presentando un caso clínico de un paciente con una lesión de aspecto tumoral en el pulmón izquierdo, estableciéndose diagnóstico presuntivo por anatomía patológica de micosis pulmonar y definitivo por cultivo micológico para el complejo *Scedosporium apiospermum*, el cual respondió satisfactoriamente al tratamiento.

Finalizamos este volumen con una actualización sobre las categorías generales de las proteasas de interés clínico y biotecnológico, así como las estrategias utilizadas actualmente para su caracterización.

La Revista de la Sociedad Venezolana de Bioanalistas Especialistas, continúa trabajando para llevarles a sus lectores artículos de gran interés y rigurosidad científica, a pesar de las dificultades económicas que atraviesa el país, porque creemos en Venezuela.

Nuestros más cordiales saludos y afectos.

Dra. María Fátima Garcés
Editora.

DESEMPEÑO DE LOS LABORATORIOS CLÍNICOS DEL DISTRITO METROPOLITANO DE CARACAS, EN EL INFORME DE RESULTADOS DEL UROANÁLISIS DE ACUERDO CON LOS REQUISITOS DE LA ISO, CLSI Y ECLM

Celsy Hernández¹, Patricia Blanco¹, Antonieta Cammarano¹, M^a Fátima Garcés¹, Jonattan Ramos².

¹Laboratorio de Investigaciones Básicas y Aplicadas, Escuela de Bioanálisis, Facultad de Medicina, Universidad Central de Venezuela.

²Escuela de Estadística. Universidad Central de Venezuela.

Recibido para publicación 17 abril 2018. Aceptado 30 abril 2018.

RESUMEN:

Introducción: En la actualidad, a pesar de los grandes avances en el conocimiento de la calidad en el laboratorio clínico y que las normas de la ISO, del Instituto de Estandarización Clínica y del Laboratorio (CLSI) y de la Confederación Europea de Laboratorios Médicos (ECLM); establecen los requisitos para la estandarización y el aseguramiento de la calidad en el análisis simple de orina, el uroanálisis y su informe de resultados continúan rezagados en materia de calidad, con respecto al resto de las áreas en los servicios del laboratorio clínico. Es por ello, que en el presente trabajo se propuso determinar el desempeño de los laboratorios clínicos del Distrito Metropolitano de Caracas, en el informe de resultados del uroanálisis de acuerdo con los requisitos de la "Norma FONDONORMA-ISO 15189. Laboratorios clínicos. Requisitos particulares para la calidad y la competencia", y las recomendaciones internacionales "Urinalysis and Collection, Transportation, and Preservation of Urine Specimens" de la CLSI y "European Urinalysis Guidelines" de la ECLM. **Objetivo:** Determinar el desempeño de los laboratorios clínicos del Distrito Metropolitano de Caracas, en el informe de resultados del uroanálisis de acuerdo con los requisitos y recomendaciones internacionales de la ISO, CLSI y ECLM. **Materiales y métodos:** La investigación estuvo limitada a una muestra probabilística y representativa correspondiente al 25% de los laboratorios clínicos registrados en el Distrito Metropolitano de Caracas. La muestra correspondió a 40 laboratorios clínicos del sector público (17%) y privado (83%), quienes suministraron 10 informes de resultados del uroanálisis con valores anormales para cada uno de los parámetros evaluados en el examen simple de orina. En cada informe se evaluó el correcto reporte de 27 datos e informaciones del preanálisis, 30 del análisis y 8 del postanálisis, para un total de 65 datos e informaciones evaluados. Los datos e informaciones correctamente reportados recibieron "1" punto mientras que los incorrectamente reportados recibieron "0" puntos. El nivel de desempeño se definió como "Insatisfactorio" igual o menor de 32 puntos ($\leq 50\%$ datos informados correctamente), "Cuestionable": entre 33 y 54 puntos ($\geq 51\%$ y $\leq 84\%$ datos informados correctamente), "Satisfactorio": igual o mayor a 55 puntos ($\geq 85\%$ y 100% datos informados correctamente). **Resultados y discusión:** De los 40 laboratorios clínicos participantes, 95% obtuvo un desempeño insatisfactorio y 5% un desempeño cuestionable, en relación al grado de cumplimiento de los 65 requisitos del informe de resultados del uroanálisis evaluados de acuerdo con las normas y recomendaciones de la ISO, CLSI y ECLM. **Conclusiones:** Este estudio determinó un desempeño insatisfactorio en el 95% de los laboratorios clínicos participantes, en relación al cumplimiento de 65 requisitos de preanálisis, análisis y postanálisis evaluados en el informe de resultados del uroanálisis de acuerdo a los requisitos de la ISO, CLSI y ECLM. Se considera que el bajo desempeño alcanzado por la mayoría de los laboratorios clínicos probablemente esté relacionado a la naturaleza del modelo de ensayo empleado para llevar a cabo el estudio, al área específica del laboratorio clínico que fue evaluada y a la técnica de muestreo incorporada para seleccionar los laboratorios clínicos participantes de la investigación.

Palabras Clave: desempeño, informe, resultados, uroanálisis, laboratorios clínicos.

"PERFORMANCE OF THE CLINICAL LABORATORIES IN CARACAS, METROPOLITAN DISTRICT, IN THE UROANALYSIS REPORT FOLLOWING THE REQUIREMENTS OF THE ISO, CLSI AND ECLM"

SUMMARY

Introduction: At present, despite the great advances in the knowledge of quality in the clinical laboratory and the standards of the ISO, the Institute for Clinical and Laboratory Standardization (CLSI) and the European Confederation of Medical Laboratories (ECLM); establish the requirements for standardization and quality assurance in the simple analysis of urine, uroanalysis and its report of results continue to lag behind in terms of quality, with respect to the rest of the areas in the clinical laboratory services. It is for this reason that in the present work it was proposed to determine the

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

performance of the clinical laboratories of the Metropolitan District of Caracas, in the results report of the uroanalysis in accordance with the requirements of “Norma FONDONORMA-ISO 15189. Clinical laboratories. Particular requirements for quality and competence”, and the international recommendations “Urinalysis and Collection, Transportation, and Preservation of Urine Specimens” of the CLSI and “European Urinalysis Guidelines” of the ECLM. **Objective:** To determine the performance of the clinical laboratories of the Metropolitan District of Caracas, in the results report of the uroanalysis in accordance with the requirements and international recommendations of the ISO, CLSI and ECLM. **Materials and methods:** The research was limited to a probabilistic and representative sample corresponding to 25% of the clinical laboratories registered in the Metropolitan District of Caracas. The sample corresponded to 40 clinical laboratories of the public sector (17%) and private (83%), who provided 10 reports of urinalysis results with abnormal values for each of the parameters evaluated in the simple urine test. In each report, the correct report of 27 data and information from the preanalysis, 30 from the analysis and 8 from the post-analysis was evaluated, for a total of 65 data and information evaluated. The data and information correctly reported received “1” point while the incorrectly reported received “0” points. The level of performance was defined as “Unsatisfactory” equal to or less than 32 points ($\leq 50\%$ data reported correctly), “Questionable”: between 33 and 54 points ($\geq 51\%$ and $\leq 84\%$ data reported correctly), “Satisfactory”: equal to or greater than 55 points ($\geq 85\%$ and 100% data reported correctly). **Results and discussion:** Of the 40 participating clinical laboratories, 95% obtained an unsatisfactory performance and 5% a questionable performance, in relation to the degree of compliance with the 65 requirements of the urinalysis results report evaluated in accordance with the norms and recommendations of the ISO, CLSI and ECLM. **Conclusions:** This study determined an unsatisfactory performance in 95% of the participating clinical laboratories, in relation to compliance with 65 preanalysis, analysis and post-analysis requirements evaluated in the urinalysis results report according to the requirements of ISO, CLSI and ECLM. It is considered that the low performance achieved by most clinical laboratories is probably related to the nature of the test model used to carry out the study, to the specific area of the clinical laboratory that was evaluated and to the sampling technique incorporated to select the clinical laboratories participating in the research.

Key words: performance, report, results, uroanalysis, clinical laboratories.

Introducción

El uroanálisis o examen simple de orina, es el análisis que mediante un procedimiento detallado abarca la evaluación de los aspectos característicos de este líquido biológico, con la finalidad de proporcionar información acerca de las alteraciones en el funcionalismo renal y genitourinario, así como de otro orden metabólico de forma rápida, temprana, costo efectiva y con escasa invasividad en el paciente (1,2). Al igual que cualquier otra prueba de laboratorio clínico, el uroanálisis debe llevarse a cabo de forma segura y bien controlada (3,4), bajo un sistema con procedimientos estandarizados y controlados que permitan prevenir errores sistémicos y minimizar las variaciones aleatorias, que afectan la confiabilidad de los resultados (5-8), y que pueden ocurrir desde que se ordena la prueba hasta que el informe de resultados es interpretado por el médico solicitante (9-11).

En la actualidad, a pesar de los grandes avances en el conocimiento de la calidad en el laboratorio clínico y que las normas y recomendaciones internacionales de la ISO, Organización Internacional de Estandarización (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*), establecen los requisitos para la estandarización y el aseguramiento de la calidad en el análisis simple de orina, el uroanálisis y su informe de resultados continúan tradicionalmente rezagados en materia de calidad, careciendo de confiabilidad en términos de veracidad y precisión, así como también de transferibilidad entre los laboratorios clínicos (12-31). Es por ello, que en el presente estudio se propuso determinar los errores presentes en el informe de resultados del uroanálisis de los laboratorios clínicos del Distrito Metropolitano de Caracas, de acuerdo con los requisitos de la Norma ISO 15.189 “Laboratorios Clínicos. Requisitos particulares para la Calidad y la Competencia” (32), y las recomendaciones internacionales “*Urinalysis and Collection, Transportation, and Preservation of Urine Specimens*” (33), del CLSI y “*European Urinalysis Guidelines*” (34), de la ECLM, con el objetivo

de promover la estandarización y alcanzar la transferibilidad de los resultados del uroanálisis entre los laboratorios clínicos en el Distrito Metropolitano de Caracas y nuestro país.

Materiales y Métodos

a. Tipo y nivel de la investigación

Este estudio incorporó una investigación de tipo descriptiva con un diseño de campo no experimental, que permitió identificar las deficiencias en el informe de resultados del examen simple de orina, de acuerdo a las normas y recomendaciones internacionales de la ISO, el CLSI y el ECLM, mediante el análisis e interpretación de datos recolectados directamente en los servicios de laboratorio clínico del Distrito Metropolitano de Caracas sin manipulación intencional de las variables. El proyecto de investigación se adscribió al Laboratorio de Investigaciones Básicas y Aplicadas de la Escuela de Bioanálisis de la Universidad Central de Venezuela (U.C.V.), fue avalado por el Comité de Bioética de la Escuela de Bioanálisis de la U.C.V. y financiado a través del programa de financiamiento para la investigación del Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico (CDCH), de la U.C.V.

b. Muestra

Se envió la documentación para la invitación a la participación voluntaria en el estudio a una muestra probabilística que incorporó el 25% de los laboratorios clínicos registrados en el Distrito Metropolitano de Caracas, considerando una distribución estratificada de afijación proporcional entre los estratos de laboratorios clínicos del sector público (17%) y privado (83%), pertenecientes tanto a servicios de atención de salud pública ambulatoria y hospitalaria, así como laboratorios privados particulares y ubicados en centros de atención clínica; con la intención de asegurar que todos los estratos de interés se encontraran representados aleatoria y proporcionalmente a la cantidad respectiva existente entre los distintos municipios que conforman el Distrito Metropolitano de Caracas. Para crear el marco de muestreo a efecto de la selección de 60 laboratorios clínicos, correspondiente al 25% de los registrados

en el Distrito Metropolitano de Caracas, se tomó en cuenta la lista de laboratorios clínicos registrados en el Colegio de Bioanalistas del Distrito Federal y el Estado Miranda (CBDFEM), así como las listas de laboratorios clínicos ambulatorios, de clínicas populares y hospitalarios del Ministerio del Poder Popular para la Salud (MPPPS) y el Instituto Venezolano de los Seguros Sociales (IVSS), ubicados en el Distrito Metropolitano de Caracas.

De los 60 laboratorios clínicos seleccionados, 10 no pudieron ser efectivamente invitados a participar en el estudio, debido a que no existen o se encuentran inoperantes al momento de entrega de la documentación para la invitación, y otros 10 efectivamente invitados, se negaron a participar voluntariamente en la investigación. Por ello, la investigación contó con 40 laboratorios clínicos que dieron su consentimiento informado para participar voluntariamente, de los cuales, 17% correspondieron al sector público y 83% al sector privado, siendo 47% privados particulares, 35% privados en clínicas privadas, 10% públicos en hospitales, 5% públicos en clínicas populares y 3% público ambulatorio. Así mismo, 64% se ubican en el municipio Libertador, 23% en el municipio Sucre, 10% en el municipio Baruta y 3% en el municipio Chacao.

c. Métodos e instrumentos de recolección, procesamiento y análisis de datos e información

Se procedió a evaluar para cada uno de los participantes, un total de 10 informes de resultados del uroanálisis que en su conjunto contuvieron al menos un (1) valor anormal para aspecto, color, olor, densidad, pH, proteínas, glucosa, hemoglobina, bilirrubina, urobilinógeno, nitritos, células epiteliales escamosas, células epiteliales transicionales, leucocitos, hematíes, bacterias, mucina, cilindros y cristales de las muestras parciales de orina. En cada uno de los informes suministrados se evaluó el correcto reporte de 27 datos e informaciones del preanálisis, 30 del análisis y 8 del postanálisis, para un total de 65 parámetros. Los datos e informaciones correctamente reportados recibieron "1" punto mientras que los datos e informaciones incorrectamente reportados recibieron "0" puntos. Los laboratorios clínicos que reportaron correctamente todos los datos e informaciones recibieron "65" puntos mientras

que los laboratorios clínicos que reportaron incorrectamente todos los datos e informaciones recibieron "0" puntos. El nivel de desempeño se definió como "Insatisfactorio" igual o menor de 32 puntos ($\leq 50\%$ datos informados correctamente), "Cuestionable": entre 33 y 54 puntos ($\geq 51\%$ y $\leq 84\%$ datos informados correctamente), "Satisfactorio": igual o mayor a 55 puntos ($\geq 85\%$ y 100% datos informados correctamente). Los datos recolectados a partir de la evaluación de los informes de resultados de los participantes, fueron procesados y analizados empleando el programa Microsoft Excel y métodos de estadística descriptiva de frecuencia porcentual.

Resultados y discusión

a. Evaluación de los informes de resultado

1. Datos de preanálisis

En relación a los datos e informaciones de preanálisis relativos al laboratorio clínico, solicitante, paciente y muestra, encontramos que 5% de los participantes no incluye el nombre del laboratorio clínico, 8% no incluye la fecha de recepción de la muestra por el laboratorio clínico, 13% no incluye el código de identificación asignado al paciente, 18% no incluye la edad del paciente, 30% no incluye la dirección física ni número telefónico del laboratorio clínico, 33% no incluye el sexo del paciente, 40% no incluye el número de Registro de Información Fiscal (RIF) ni el logo del laboratorio clínico, 40% no incluye la hora de recepción de la muestra por el laboratorio clínico, 48% no incluye el nombre del solicitante, 53% no incluye el número de cédula de identidad del paciente, 65% no incluye la dirección física ni el número de teléfono del paciente, 93% no incluye el número de FAX ni dirección de correo electrónico del laboratorio clínico, 98% no incluye la dirección de correo electrónico del paciente y 100% no incluye la dirección o ubicación del solicitante, el número de teléfono del solicitante, los requerimientos específicos del solicitante, la categoría de la solicitud (en relación a si es una prueba de rutina o de emergencia); la fecha de nacimiento del paciente, la fecha de recolección de la muestra, la hora de recolección de la muestra, el tipo de muestra (si es primera micción de la mañana o micción aleatoria); ni la técnica

empleada para la recolección de la muestra (si fue una recolección espontánea empleando técnica de chorro medio o una recolección asistida por cateterización de la uretra o punción suprapúbica).

2. Datos de análisis

En cuanto a los datos e informaciones de análisis encontramos que el 100% de los laboratorios clínicos no reporta las células epiteliales renales, 95% no reporta los elementos fúngicos ni parasitarios, 90% no reporta las células epiteliales transicionales, 80% no reporta el olor, 53% no reporta la esterasa leucocitaria, cristales ni cilindros; 13% no reporta el pH ni mucina, 10% no reporta el urobilinógeno, 5% no reporta la bilirrubina y 3% no reporta los nitritos ni las bacterias.

De igual manera el 75% de los laboratorios clínicos reporta incorrectamente el pH, el urobilinógeno, las células epiteliales escamosas y los hematíes, 68% la hemoglobina, 65% la glucosa y los leucocitos, 63% las proteínas y los cuerpos cetónicos, 60% la bilirrubina, 58% el color, 35% la mucina, 32% la esterasa leucocitaria, 30% los cristales, 25% los cilindros, 20% el olor, 15% el aspecto y los nitritos, 10% las células epiteliales transicionales y las bacterias, 5% los elementos fúngicos y parasitarios y 3% la densidad. Así mismo, se evidencia que el 100% de los laboratorios clínicos no indica el método para llevar a cabo el análisis físico-químico y forme de las muestras de orina mientras que entre un 75% y 95% de los casos no reportan valores de referencias para los parámetros químicos y formes, respectivamente.

3. Datos de postanálisis

En relación a los datos de postanálisis encontramos que el 3% de los laboratorios clínicos no incluye el nombre, la firma, número sanitario ni de colegiatura del Licenciado en Bioanálisis validador del informe de resultado, 13% no incluye el código de identificación asignado al paciente, 68% no incluye la fecha ni hora de entrega/envío del informe de resultados, 83% no incluye ningún ítem para sentar observaciones referidas al preanálisis y análisis de las muestras así como comentarios o recomendaciones del postanálisis; 98% no incluye el nombre del responsable de la entrega/envío del informe de resultados y 100% no especifica el formato de entrega/envío del informe de resultados (físico o electrónico).

b. Desempeño de los participantes

De los 40 laboratorios clínicos participantes y 65 requisitos del informe de resultados del uroanálisis evaluados; se obtuvo, 2 laboratorios clínicos con 33 puntos, 1 laboratorio clínico con 30 puntos, 13 laboratorios clínicos con 28 puntos, 2 laboratorios clínicos con 26 puntos, 1 laboratorio clínico con 25 puntos, 1 laboratorio clínico con 24 puntos, 4 laboratorios clínicos con 21 puntos, 4 laboratorios clínicos con 20 puntos, 4 laboratorios clínicos con 18 puntos, 2 laboratorios clínicos con 16 puntos, 1 laboratorio clínico con 10 puntos, 1 laboratorio clínico con 9 puntos y 1 laboratorio clínico con 8 puntos. De acuerdo a esto, de los 40 laboratorios clínicos participantes, 95% obtuvo un desempeño insatisfactorio y 5% un desempeño cuestionable. De los 38 participantes que obtuvieron un desempeño insatisfactorio, 81% correspondieron a laboratorios clínicos del sector privado y 19% al sector público, mientras que de los 2 participantes que obtuvieron un desempeño cuestionable, 1, es decir, 50%, corresponde a un privado particular y el otro, corresponde a un privado ubicado en clínica.

Estos resultados contrastan con los obtenidos en la mayoría de las investigaciones y programas que han evaluado externamente la calidad en nuestro país (35-39), en los que el porcentaje de participantes con desempeño insatisfactorio resultó menor, mientras que el porcentaje de participantes con desempeño satisfactorio resultó mayor. Se considera, que el contraste evidenciado en los resultados obtenidos es debido a tres razones principales, la primera de ellas está relacionada a la naturaleza del ensayo empleado para llevar a cabo la evaluación, la segunda al área específica del laboratorio clínico que ha sido evaluada y la tercera a la técnica de muestreo incorporada para seleccionar los laboratorios clínicos participantes.

En relación a lo primero, se entiende que la mayoría de las investigaciones y programas de evaluación de la calidad de los laboratorios clínicos desarrollados en el país (35-42), han empleado como ítem de ensayo un material organizado, de naturaleza similar a las muestras que rutinariamente se analizan en los laboratorios clínicos, que ha sido procesado por los participantes en forma consciente, sabiendo que se trata de una muestra para evaluar la exactitud de una o

algunas pocas mediciones analíticas de acuerdo a las expectativas previamente establecidas por la respectiva investigación. En el caso de este estudio, se ha evaluado el cumplimiento de 65 requisitos en el informe de resultados del uroanálisis, de acuerdo a las normas y recomendaciones de la ISO, CLSI y ECLM, con elevado y amplio nivel de exigencia. Por ello, se supone que a diferencia de la mayoría de los estudios y programas de evaluación externa de la calidad desarrollados en el país (35-42), se obtuvo un significativo mayor porcentaje de participantes con desempeño insatisfactorio y ningún participante con desempeño satisfactorio. Con respecto a lo segundo, la mayoría de las investigaciones y programas de evaluación externa de la calidad desarrollados en el país (35-42), han sido en las áreas de química sanguínea y hematología pero no en el área del uroanálisis. Se considera, al igual que lo referido por Hernández, C y col. (2015), que en la actualidad el uroanálisis se mantiene rezagado en materia de calidad preanalítica, analítica y postanalítica en relación al resto de las áreas en el laboratorio clínico (43), por lo que se piensa, es razonable que la mayoría de las investigaciones y programas de evaluación externa de la calidad desarrollados en el país (35-42), se haya obtenido una mayor proporción de laboratorios clínicos con desempeño satisfactorio y una menor proporción con desempeño cuestionable en relación a este estudio. Con respecto a la técnica de muestreo empleada, a diferencia de la mayoría de las investigaciones y programas de evaluación externa de la calidad desarrollados en el país (35-42); en este estudio se seleccionó una muestra probabilística que incorporó el 25% de los laboratorios clínicos públicos y privados registrados en el Distrito Metropolitano de Caracas, considerando una distribución estratificada de afijación proporcional entre los estratos de laboratorios clínicos del sector público (17%) y privado (83%), con la intención de asegurar que todos los estratos de interés se encontrará representados aleatoria y proporcionalmente entre los elementos que formaron parte de la muestra. Adicionalmente, la muestra consideró una distribución estratificada de afijación proporcional de los laboratorios clínicos entre los distintos municipios del Distrito Metropolitano de Caracas. En el Distrito Metropolitano de Caracas, la mayoría de las investigaciones y programas de evaluación

externa de la calidad desarrollados en el área de química sanguínea y hematología, contaron con una muestra no probabilística (no aleatoria) e intencional (por criterio), de menor tamaño que incluyó proporcionalmente el mismo número de laboratorios clínicos del sector privado y público (35-39). Se piensa, que es posible que la muestra poco representativa con la que contaron la mayoría de estas investigaciones, pudiera haber sobrestimado el desempeño de los participantes, mostrando un resultado poco objetivo en la distribución de resultados satisfactorios e insatisfactorios entre los laboratorios clínicos del sector público y privado.

Conclusión

Este estudio determinó un desempeño insatisfactorio en el 95% de los laboratorios clínicos participantes, en relación al cumplimiento de 65 requisitos de preanálisis, análisis y postanálisis evaluados en el informe de resultados del uroanálisis de acuerdo a los requisitos de la ISO, CLSI y ECLM. Se considera que el bajo desempeño alcanzado por la mayoría de los laboratorios clínicos probablemente esté relacionado a la naturaleza del modelo de ensayo empleado para llevar a cabo el estudio, al área específica del laboratorio clínico que fue evaluada y a la técnica de muestreo incorporada para seleccionar los laboratorios clínicos participantes de la investigación. En relación a lo primero, en esta investigación se determinó el cumplimiento de 65 requisitos en el informe de resultados del uroanálisis, de acuerdo a las normas y recomendaciones de la ISO, CLSI y ECLM, lo que representó una evaluación amplia con alto nivel de exigencia, que permitió evidenciar un elevado porcentaje de errores presentes en el informe de resultados del uroanálisis de los participantes. Con respecto a lo segundo, se considera que en la actualidad el uroanálisis se mantiene rezagado en materia de calidad en relación al resto de las áreas del laboratorio clínico, por lo que se piensa es razonable haber evidenciado una elevada frecuencia de errores conjuntamente con un bajo desempeño de los participantes en relación a la calidad del informe de resultados del uroanálisis. Y por último, en cuanto a la técnica de muestreo empleada, en este estudio se seleccionó una muestra probabilística representativa considerando una

distribución estratificada de afijación proporcional entre los estratos de laboratorios clínicos del sector público y privado, y los distintos municipios que conforman el Distrito Metropolitano de Caracas, lo que probablemente permitió una evaluación más objetiva de los laboratorios del Distrito Metropolitano de Caracas, que resultó en la obtención de un desempeño insatisfactorio en la gran mayoría casos.

Referencias

1. Kaplan A, Pesce A. Química Clínica. Técnicas de Laboratorio-Fisiopatología-Métodos de Análisis. 2da Ed. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana, 1990: 1011-1056.
2. Fiscbach T. Manual de Pruebas Diagnosticas. 5ª Edición. México: Editorial McGrawhill Interamericana, 1997:328-415.
3. Schumann B, Schweitzer C. Estudio de la orina. (Ed). Bernard J. En: Diagnóstico y tratamiento clínico por el laboratorio. España: Masson Salvat Médica; 1993: 399-430.
4. Bernard J, Traete G. Diagnóstico y tratamiento por el laboratorio. 9na Ed. España: Salvat; 1998: 471-477.
5. Dharán M. Control de Calidad en los Laboratorios Clínicos. Barcelona: Editorial Reverte, S. A., 1983:12.
6. Boquet E, Castillo M, Cáceres A, Dybkaer R, Escutia V, Franzini C, Jeffers D, Mazziotta D. Mejoría Continua de la Calidad. Guía para los Laboratorios Clínicos de América Latina. Confederación Latinoamericana de Bioquímica Clínica. México: Editorial Panamericana, 1996:314.
7. Gella J. Control de la Calidad en el Laboratorio Clínico. Barcelona: BioSystems S.A, 2005.
8. Curi S, Ariagno J, Chenlo P, Pugliese M, Sardi M, Repetto H, Mazziotta D, Blanco, A. Control de calidad externo en el estudio del semen. Acta Bioquím Clín Latinoam 2008; 42(2):183-187.
9. López A. Garantía de Calidad Hematológica. Trabajo de Ascenso para optar a la categoría de Asistente en el escalafón docente universitario. 1994. Escuela de Bioanálisis, Universidad Central de Venezuela, Caracas. 139p.
10. Fernández C. El aseguramiento de la calidad en el laboratorio clínico. Acta Bioquím Clín Latinoam 1999; 33(1):49- 67.
11. Díaz A. Aspectos del aseguramiento de la calidad en los laboratorios de Hemostasia. Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter 2002; 18(2):21-28.
12. Gadehol H. Quantitative estimation of urinary

- sediment, with special regard to sources of error. *Brit Med J* 1964;1:1547-1549.
13. Winkel P, Statland B, Jorgenson J. Urine microscopy: an illdefined method examined by a multifactorial technique. *Clin Chem* 1974; 20:436-439.
 14. Kesson A, Talbott J, Gyory A. Microscopic examination of urine. *Lancet* 1978; ii:809-812.
 15. Deindorfer F, Gangwer J, Laird C, Ringold R. "The Yellow IRIS" urinalysis workstation—the first commercial application of "automated intelligent microscopy". *Clin Chem* 1985; 31:1491-1499.
 16. Roe C, Carlson D, Daigneault R, Statland BE. Evaluation of the Yellow IRIS. An automated method for urinalysis. *Am J Clin Pathol* 1986; 86:661-665.
 17. Carlson D, Statland B. Automated urinalysis. *Clin Lab Med* 1988; 8:449-461.
 18. Mahon C, Smith L. Standardization of the urine microscopic examination. *Clin Lab Sci* 1990; 3:328-332.
 19. Ben-Ezra J, Bork L, McPherson R. Evaluation of the Sysmex UF-100 automated urinalysis analyzer. *Clin Chem* 1998; 44(1):92-95 .
 20. Hannemann-Pohl K. Clinical benefits of the UF-100. In: *The Sysmex Urine Flow Cytometry Workshop*, Sysmex Europe. Hamburg, Germany: GMBH 1998: 56-59.
 21. Langlois M, Delanghe J, Steyaert S, Everaert K, De Buyzere M. Automated Flow Cytometry Compared with an Automated Dipstick Reader for Urinalysis. *Clin Chem* 1999; 45(1):118-122 .
 22. Ito K. Recent advances on routine urinalysis. *Rinsho Byori* 2000;48(9):823-828.
 23. Apeland T, Mestad O, Hetland O. Assessment of haematuria: automated urine flowmetry vs microscopy. *Nephrol Dial Transplant* 2001;16:1615-1629.
 24. Kouri T, Gyory A, Rowan M. ISLH Recommended Reference Procedure for the Enumeration of Particles in Urine. *Laboratory Hematology* 2003;9:58-63.
 25. Wah D, Wises P, Butch A. Analytic Performance of the iQ200 Automated Urine Microscopy Analyzer and Comparison With Manual Counts Using Fuchs-Rosenthal Cell Chambers. *Am J Clin Pathol* 2005;123:290-296.
 26. Lamchiaghase P, Preechaborisutkul K, Lomsomboon P, Srisuchart P, Tantiniti P, Khan-u-ra N, Preechaborisutkul B. Urine sediment examination: a comparison between the manual method and the iQ200 automated urine microscopy analyzer. *Clin Chim Acta* 2005;358(1-2):167-174.
 27. Jaiwang P, Eakwong P, Wiwanitkit V. Comparative study of direct test-cost between microscopy method and IQ200 automated urine microscopy analyzer. *Chula Med J* 2006;12(50):843-850.
 28. Jiménez C, Hernández A, Sánchez M, Cabrera A; Rivas E. Inconvenientes del método manual para la lectura del sedimento urinario. *Bioquímica* 2006; 31(Supl 1):110.
 29. Gómez G, Jiménez C, Vivar N, Sánchez M. Evaluación del control de calidad interno en el sistema automatizado UF-100, sistema Kova y método manual. *Bioquímica* 2007; 32:81.
 30. De Mária y Campos V. Control de Calidad en el Uroanálisis. *Bio Rad Control* 2008; 4(12):2-5.
 31. Gómez V, Jiménez C, Vivar N, Sánchez M. Comparación del citómetro UF-100i con el sistema Kova y el método convencional para el conteo de leucocitos y eritrocitos en orina. *Bioquímica* 2008; 2(33):51.
 32. FONDONORMA-ISO 15189:2007. Laboratorios Clínicos. Requisitos Particulares para la Calidad y la Competencia. ISO: Suiza, 2006. FONDONORMA: Caracas, 2007.
 33. CLSI GP16 A3. Routine Urinalysis and Collection, Transportation, and Preservation of Urine Specimens; Approved Guideline, GP16-A3. CLSI: Wayne, PA, 2009.
 34. European Confederation of Laboratory Medicine (ECLM). European Urinalysis Guidelines. *Scand J Clin Lab Invest* 2000; 60: 1 – 96.
 35. López A. Plataforma para el desarrollo de un programa de Evaluación externa de la Calidad en Hematología. Trabajo de Ascenso. 2001. Universidad Central de Venezuela, Caracas. 78p
 36. Gallardo, A, Márquez A, Pastore G, Fernández L. Experiencia en Intercomparación de Parámetros Hematológicos empleando sangre fresca. *Rev. Facultad de Medicina U.C.V.* 2007; 30(1):50-54.
 37. López A y Gallardo A. Programa de Evaluación Externa de la Calidad en Morfología Hemática. Diseño y Experiencia en Laboratorios clínicos Venezolanos. VITAE: Academia Biomédica Digital [serie en internet]. 2007; 32 [citado 28 de mayo 2018]. Disponible en: <http://www.vitae.ucv.ve/?module=articulo&n=998>
 38. Bustamante Y. Propuesta de Programa de Evaluación Externa de la Calidad para los Laboratorios Clínicos. Área: Química Clínica. Trabajo de Ascenso. 2010. Universidad Central de Venezuela, Caracas. 128p
 39. Díaz LV. Propuesta de Programa de Evaluación Externa de la Calidad en Hematología para la determinación de Hemoglobina en los Laboratorios Clínicos. Trabajo de investigación presentado como requisito parcial para obtener el título de Magíster en Sistemas de la Calidad. 2011. Universidad Católica Andrés Bello, Caracas. 118p.
 40. Guarache H, Rodríguez N. Evaluación externa de la calidad en Bioquímica Clínica en laboratorios clínicos de Cumaná-Sucre. *Revista de la Facultad de Farmacia* 2003; 45(1):30-35.

41. Rodríguez E, Ramírez C, Molina L, Rodríguez N, Buela L. Evaluación externa de la calidad en la determinación de ácido úrico en un grupo de laboratorios clínicos de Mérida-Venezuela. Mem Inst Investig Cienc.Salud 2006; 4(1):28-33.
42. Rodríguez N, Rodríguez E, Ramírez C; Molina L, Buela L, Lorente A. Evaluación Externa de la Calidad en la Determinación de Glucosa y Creatinina en Laboratorios Clínicos de Mérida. Revista de la Facultad de Farmacia 2006; 48(1):21-26.
43. Hernández C. Programa de evaluación del nivel de implementación de sistemas de aseguramiento de la calidad en uroanálisis, dirigido a los laboratorios clínicos del Distrito Metropolitano de Caracas. Trabajo de Ascenso. 2015. Universidad Central de Venezuela, Caracas. 378p.

BIOMARCADORES DE AUTORREACTIVIDAD EN NIÑOS PRE-PÚBERES OBESOS CON/SIN RESISTENCIA A LA INSULINA

Josefa Villasmil¹, M^a Fátima Garcés¹, Andrea Parra², Laura Noguera², Hilda Stekman¹, Ana López³, Ingrid Soto de Sanabria³.

¹Facultad de Medicina. Escuela de Bioanálisis, Laboratorio de Investigaciones Básicas y Aplicadas, Universidad Central de Venezuela, Caracas. ²Licenciada en Bioanálisis. Hospital de Niños "JM de los Ríos" ³Médico Pediatra. Hospital de Niños "JM de los Ríos"

Recibido para publicación xx de xx 2018 Aceptado xx de xx 2018.

RESUMEN:

Introducción: La diabetes se ha incrementado en niños en los últimos años, dando origen a una población de jóvenes diabéticos que llega a desarrollar otras enfermedades metabólicas en su vida adulta, como la obesidad, síndrome metabólico e incluso enfermedades de origen autoinmunitario. **Objetivo:** Determinar la prevalencia de autoanticuerpos y disfunción tiroidea en una cohorte de niños pre-púberes con obesidad y/o resistentes a insulina (RI). **Materiales y métodos:** Se incluyeron 150 niños pre-púberes con edades comprendidas entre 2-12 años provenientes del Servicio de Nutrición, Crecimiento y Desarrollo del Hospital "JM de Los Ríos". Se utilizaron técnicas ELISA e Inmunofluorescencia directa para determinación de anticuerpos. **Resultados:** El 32,2% de los niños obesos presentó alteración del metabolismo de carbohidratos. Se obtuvo 1% de reactividad para ANA en la población en estudio, 1% de reactividad para p-ANCA en niños obesos con RI. Se encontró anti-TPO positivo en 7,3%, 2,8% y 6,7% de niños obesos sin RI, obesos con RI y grupo control respectivamente; para anti-Tg se observó positividad en 9,1%, 37,1% y 16,7% de niños obesos sin RI, obesos con RI y grupo control respectivamente; para c-ANCA, ASMA, AMA e ICA no se encontró reactividad en ninguno de los grupos estudiados. **Conclusiones:** La obesidad grave es un factor de riesgo para el desarrollo de RI y alteraciones del metabolismo de carbohidratos. No se encontró asociación entre la resistencia a insulina, la obesidad y la presencia de autoanticuerpos asociados a enfermedades autoinmunes.

Palabras Clave: obesidad, resistencia a insulina, autoanticuerpos, alteración del metabolismo de carbohidratos.

AUTOREACTIVITY BIOMARKERS IN OBESE PREPUBESCENT CHILDREN AND/OR WITH INSULIN RESISTENCE

SUMMARY

Introduction: Diabetes in children has increased in recent years, raising the number of young diabetics people, whom also can develop other metabolic diseases in adulthood, such as obesity, metabolic syndrome and even autoimmune diseases. **Aim:** Determine the prevalence of autoantibodies and thyroid dysfunctions in a cohort of pre-pubertal obese and/or insulin resistant (IR) children. **Materials and methods:** 150 prepubertal children with ages between 2-12 years old from the Nutrition, Growth and Development "JM de Los Rios Hospital" were included. ELISA and direct immunofluorescence for antibody determination were used. **Results:** 32.2% of obese children had impaired metabolism of carbohydrates. 1% of the population that was studied had ANA positive. We observed 1% of positive p-ANCA in obese children with RI. We found 7.3% positive anti-TPO in obese children without IR, 2.8% in obese children with IR and 6.7% in the control group; for anti-Tg 9.1%, 37.1% and 16.7% in obese children without IR, obese with IR and control group respectively; was not found in any of the groups studied reactivity for c-ANCA, ASMA, AMA and ICA. **Conclusions:** Severe obesity is a risk factor for the development of IR and impaired carbohydrate metabolism. No association between insulin resistance, obesity and the presence of autoantibodies associated with autoimmune diseases.

Key words: obesity, insulin resistance, autoantibodies, impaired carbohydrate metabolism.

Introducción

La diabetes mellitus (DM) es una enfermedad caracterizada por hiperglicemia resultante de defectos en la secreción y/o la acción de la insulina

producida por las células beta de los islotes de Langerhans del páncreas endocrino (1).

En la DM tipo 1 (DM1) existe una deficiencia absoluta de insulina debido en la mayoría de los

Solicitar copia a: María Fatima Garcés Da Silva (e-mail: mariafatimagarcés@hotmail.com)

casos a una destrucción autoinmune de las células beta de los islotes pancreáticos. Por su parte, la diabetes tipo 2 (DM2) resulta de un defecto secretor de insulina progresivo causado por la resistencia a la insulina, esta se considera una enfermedad de origen metabólico. El proceso se caracteriza por un trastorno generalizado en el que la hiperglucemia es el factor bioquímico dominante. En su etiopatogenia, en la que mecanismos genéticos y ambientales son claves, hay que considerar un mecanismo dual: por un lado, un estado de resistencia insulínica sostenido derivado en la mayoría de los casos de la obesidad, y por otro, una insuficiencia secretora de las células beta pancreáticas. La resistencia a la insulina se define como la disminución de la capacidad de la insulina de ejercer sus efectos biológicos sobre tejidos diana (músculo esquelético, hígado y tejido adiposo), que conduce finalmente a una deficiente secreción de insulina por el páncreas (1-3).

Estudios realizados sugieren que la obesidad infantil cuando está presente después de los 3 años de edad y no ser controlada a tiempo, se ha asociado con mayor predisposición a desarrollar resistencia a la insulina relacionada con la obesidad y otras alteraciones metabólicas, tales como DM2 y enfermedad cardiovascular (4).

La obesidad es uno de los componentes más importantes del Síndrome Metabólico (SM), el cual consiste en la asociación de un conjunto de indicadores antropométricos, bioquímicos y fisiológicos (obesidad central, hipertensión arterial, resistencia a la insulina, hiperinsulinemia compensada, DM2, dislipidemia, hiperglicemia) (5,6).

El desarrollo de la RI y la DM2 está claramente vinculado a los desórdenes metabólicos, no obstante en la actualidad el estudio de estas patologías ha sido asociado a otras enfermedades autoinmunes como tiroiditis autoinmune o hipotiroidismo. La obesidad induce la producción de citoquinas inflamatorias e infiltración de células inmunes en el tejido adiposo, lo que crea un estado de inflamación crónica de bajo grado que parece estar relacionado con un amplio espectro de afecciones autoinmunes patológicas, incluida la diabetes tipo 1 (T1D), la tiroiditis de Hashimoto (HT), artritis reumatoide, esclerosis múltiple, psoriasis, lupus eritematoso sistémico y enfermedad inflamatoria intestinal (7,8).

La prevalencia de trastornos de la tiroides en niños y adolescentes con obesidad y DM2 no ha sido evaluada completamente. La incidencia de DM1 y DM2 ha demostrado un aumento en Venezuela y en todo el mundo. Generalmente, la mayoría de los casos de diabetes mellitus (DM) se clasifican como DM tipo 1 o DM tipo 2 en función de las características de su fisiopatología. Sin embargo, hay un aumento notable en la incidencia de una nueva expresión de la enfermedad en niños y adolescentes, con las características de una mezcla de los dos tipos de diabetes y se conoce como "diabetes doble". La resistencia a la insulina y la obesidad, junto con la presencia de marcadores de autoinmunidad pancreática, a saber, autoanticuerpos contra antígenos de células de islotes, son los que definen típicamente esta condición. Esta forma híbrida de diabetes parece estar aumentando y, por lo tanto, ha ganado gran interés y atención entre los investigadores sobre esta condición, que es poco clara (9,10).

De esta manera, la evaluación de marcadores serológicos de enfermedades autoinmunes como los anticuerpos antinucleares (ANA), se ha vuelto un estudio de gran importancia en una de las enfermedades con mayor aumento anual en el mundo, como lo es la diabetes en niños y adolescentes (11,12). Algunos investigadores refieren que los anticuerpos antinucleares (ANA) pueden detectarse en un pequeño porcentaje de niños sanos (13). Por otra parte, varios autores concuerdan en que 65% de las personas con anticuerpos anti-células de los islotes β del páncreas (ICA) positivos tienen mayor riesgo de desarrollar la DM1 dentro de los próximos 5 años y además estos anticuerpos poseen una prevalencia en pacientes sanos de 2-4% (11,13). El presente estudio tiene como propósito determinar la prevalencia de autoanticuerpos y disfunción tiroidea en una cohorte de niños pre-púberes con obesidad y/o resistencia a insulina (RI).

Materiales y métodos

El presente trabajo corresponde a un estudio descriptivo y correlacional de un grupo de niños pre-púberes con obesidad y resistencia a la insulina.

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 (14). Contó con la aprobación del Comité de Bioética de la institución y con el consentimiento informado de los padres o representantes de los niños del estudio.

Población de estudio: Para el estudio se incluyeron 150 niños mayores de 2 años y menores de 12 años pre-púberes (según criterios clínicos de Tanner). Los cuales fueron clasificados según parámetros antropométricos, bioquímicos e inmunológicos en: Grupo I: niños con obesidad exógena según el diagnóstico nutricional integral dado por signos clínicos, antropométricos y por la combinación de indicadores de dimensión corporal y de composición corporal sin resistencia a insulina; Grupo II: niños con obesidad y resistencia a insulina según los resultados obtenidos de glicemia e insulina en ayunas y aplicando el modelo de registro homeostático ($HOMA\ IR = \text{Insulina (mU/L)} \times \text{Glicemia (mmol/L)} / 22.5$, se considera RI si el $HOMA > 3,0$) y Grupo III (control): niños sanos normo-peso/talla sin alteración en parámetros bioquímicos e inmunológicos.

Criterios de inclusión: Niños con obesidad o sobrepeso, con resistencia a la insulina con maduración sexual Tanner I (pre-púberes): determinado por las características de glándula mamaria, vello axilar y pubiano en las niñas, y genitales, vello axilar y pubiano en los varones (15).

Criterios de exclusión: Niños desnutridos, con infecciones agudas o crónicas, evidencia de inmunodeficiencia primaria o secundaria.

Evaluación y diagnóstico nutricional antropométrico: Todos los niños fueron pesados y tallados siguiendo las técnicas de antropometría del Programa Internacional de Biología (16). Para la evaluación antropométrica del déficit nutricional se consideraron los siguientes índices: peso/edad, peso/talla y talla/edad. La ubicación de estas variables se realizó en los gráficos correspondientes a las tablas de la OMS, adaptadas para Venezuela por el Instituto Nacional de Nutrición (INN) (17).

Evaluación socioeconómica: Se estimó la condición socio económica de las familias de procedencia de los niños empleando el método Graffar-Méndez (18).

Recolección y procesamiento de muestras sanguíneas: A cada niño del protocolo con obesidad y niño sano, se le extrajo una muestra de 10 ml de sangre en ayuna (de 8 – 10 horas aproximadamente), luego se le suministró por vía oral una solución de carga glucosilada (Glicolab®) con una concentración de 75 mg para hacerle una segunda toma de muestra a las 2 horas, la cual corresponde la muestra postprandial. Las muestras sin anticoagulante fueron centrifugadas en un lapso no mayor de 30 minutos a 3000 xg en una centrífuga refrigerada a 4°C por 15 minutos y el suero obtenido fue preservado en congelación a -20°C hasta su procesamiento.

Determinaciones de laboratorio:

Perfil Bioquímico: Se determinó glucosa, colesterol y triglicéridos empleando un equipo automatizado marca DuPont Dimension XL (DuPont companies, New Town, Escocia). Electroforesis de colesterol en equipo automatizado de Helena Laboratories SAS-1 (Helena Laboratories, Texas, USA). Empleando inmunoensayo enzimático adsorbente (ELISA), se determinó Insulina (DRG International, Marburg, Alemania).

Autoanticuerpos: Se determinaron, anticuerpos anti células de los islotes (ICA, *islet cell antibody test system*, NOVA Lite®); anticuerpos anti-citoplasma de neutrófilos perinucleares (p-ANCA) y citoplásmicos (C-ANCA), SCIMEDX ANCA IFA *Immunofluorescence Assay for the detection of anti-neutrophil cytoplasmic antibodies in human serum*); (anticuerpos anti-nucleares (ANA), anticuerpos anti-mitocondriales (AMA), anticuerpos anti-músculo liso (ASMA) y anticuerpos anti-célula parietal gástrica (ACPG). Todas estas determinaciones se realizaron por el método de inmunofluorescencia indirecta (IFI), empleando como sustratos antigénicos, células Hep-2 y triple sustrato de hígado/riñón/estómago de rata, siguiendo los protocolos de la casa comercial NOVA Lite®. Los resultados se observaron con el microscopio de fluorescencia (DAS Mikroskop LEICA DM LS). La determinación de los anticuerpos: Anti-TPO, Anti-Tg, T3 y T4 se realizaron con estuches comerciales por la técnica de ELISA.

Análisis estadístico: Los datos descriptivos de la muestra y los totales de cada grupo, se analizaron mediante estadística descriptiva y diferencial. Los mismos se tabularon y/o graficaron mostrando los valores

promedio (\bar{X}) más o menos una desviación estándar ($\bar{X}+1DS$). Las comparaciones de $\bar{X}+1DS$ se realizaron empleando la prueba estadística ANOVA. Se considerará como significativo un $p < 0,05$.

Resultados

Características generales de la población en estudio

En el estudio se incluyeron 150 niños, agrupados en 61 niñas y 89 niños, con edades comprendidas entre 2-12 años, siendo 6 años la edad promedio.

Parámetros bioquímicos y endocrinos evaluados en niños obesos con/sin resistencia a la insulina.

La tabla 1 muestra que los niños obesos con y sin RI presentan valores de insulina basal e índice HOMA significativamente incrementados con respecto a los

Tabla 1. Parámetros bioquímicos y endocrinos evaluados en niños obesos con/sin resistencia a la insulina.

Determinaciones	Obesos n = 55	Obesos con RI n = 35	Controles n = 60
Glicemia basal (mg/dl)	85,16 ± 10,12	96,11 ± 17,20	88,89 ± 6,80
Glicemia PP (mg/dl)	91,57 ± 18,01	92,91 ± 23,20	ND
Insulina basal	8,00 ± 2,73**	19,82 ± 10,62**	5,97 ± 2,53
Insulina PP	27,09 ± 20,64	49,74 ± 30,42	ND
HOMA	1,67 ± 0,55*	4,64 ± 2,43**	1,36 ± 0,61
Colesterol total (mg/dL)	157,47 ± 33,14**	182,03 ± 37,67**	137,02 ± 22,27
HDL-C (mg/dL)	35,62 ± 12,80**	35,28 ± 9,22**	45,57 ± 9,98
LDL-C (mg/dL)	102,46 ± 27,60**	119,07 ± 33,90**	82,70 ± 16,87
VLDL-C (mg/dL)	19,00 ± 11,38**	25,11 ± 11,61**	12,43 ± 5,17
Triglicéridos (mg/dL)	77,61 ± 41,16	111,37 ± 53,50**	62,31 ± 26,01

Abreviatura: ND: no determinado.

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

** $p < 0,001$ con respecto al grupo control

encontrados en los niños control, por su parte no se obtuvo diferencia significativa con respecto a la glicemia basal en los niños estudiados.

En relación al perfil lipídico, se puede observar que las concentraciones de colesterol total, LDL-c y VLDL-c, están significativamente incrementadas en ambos grupos de niños obesos en comparación con el grupo control. Mientras que la concentración de triglicéridos, está significativamente elevada solo en el grupo de niños obesos con RI ($111,37 \pm 53,50$ mg/dL) con respecto al grupo de niños control ($62,31 \pm 26,01$ mg/dL). Lo contrario sucede con la concentración de HDL-c la cual se encuentra disminuida estadística y significativamente en ambos grupos de niños con obesidad, comparada con el grupo control.

Con respecto a las concentraciones de T3T y T4T mostradas en la tabla 2, se observó que la concentración de T3T y T4T se encontraron disminuidas en ambos grupos de niños obesos con respecto al grupo control, sin embargo esta diferencia fue significativa solo para la concentración de T4T.

Tabla 2. Parámetros endocrinos evaluados en la población en estudio.

Determinaciones	Obesos n = 55	Obesos con RI n = 35	Controles n = 60
T3T (ng/mL)	1,24 ± 0,56	1,29 ± 0,63	1,43 ± 0,49
T4T (ng/mL)	131,18 ± 37,37*	125,25 ± 26,89*	140,55 ± 22,05

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

Autocuerpos órgano específicos evaluados en niños obesos con/sin resistencia a la insulina.

La tabla 3 muestra los resultados de los anticuerpos órgano específicos evaluados; anti-TPO y anti-Tg asociados a la tiroides e ICA relacionado con las células beta de los islotes pancreáticos. Se puede apreciar que la reactividad de anticuerpos anti-TPO en la población estudiada fue de 7,3% en niños obesos sin RI; 2,8% en niños obesos con RI y 6,7% en niños control. Se encontró diferencia

Tabla 3. Autoanticuerpos órgano específicos evaluados en niños obesos con/sin resistencia a la insulina.

Autoanticuerpos	Obesos n = 55		Obesos con RI n = 35		Controles n = 60	
	+	-	+	-	+	-
Anti-peroxidasa tiroidea (Anti-TPO)	4 (7,3%)	51 (92,7%)	1 (2,8%)	34 (97,2%)	4 (6,7%)	56 (93,3%)
Anti-tiroglobulina (Anti-Tg)	5 (9,1%)	50 (90,9%)	13 (37,1%)	22 (62,9%)	10 (16,7%)	50 (83,3%)
Anti-células de islote pancreático (ICA)	0 (0%)	55 (100%)	0 (0%)	35 (100%)	0 (0%)	60 (100%)

estadísticamente significativa, con respecto a los anticuerpos anti-Tg, donde se observó positividad en 37,1% de los niños obesos con RI con un RR=2,23 IC 95% (1,09 – 4,54) al compararla con los otros dos grupos estudiados. Al evaluar los anticuerpos ICA no se obtuvo resultados positivos en ninguno de los grupos estudiados.

Autoanticuerpos evaluados en niños obesos con/sin resistencia a la insulina.

En la tabla 4 se muestran los resultados para los anticuerpos anti-nucleares (ANA), anti-citoplasma de

neutrófilos (p-ANCA y c-ANCA), anti-músculo liso (ASMA), anti-mitocondriales (AMA) y anti-célula parietal gástrica (ACPG) en la población estudiada. Se encontró reactividad positiva del 1% para los ANA en los niños obesos con y sin RI y 5% en los niños control y para los APCA la reactividad fue de 2,86%, 3,64%, y 10% para el grupo de obesos con RI, sin RI y grupo control respectivamente. Con respecto a los p-ANCA solo se encontró resultado positivo en 1% de los niños obesos con RI, mientras que en los otros grupos no se obtuvo ningún resultado positivo. Por su parte los c-ANCA, ASMA y AMA resultaron negativos en los 3 grupos de niños estudiados.

Tabla 4. Autoanticuerpos evaluados en niños obesos con/sin resistencia a la insulina.

Autoanticuerpos	Obesos n = 55		Obesos con RI n = 35		Controles n = 60	
	+	-	+	-	+	-
Antinucleares (ANA)	1 (1%)	54 (99%)	1 (1%)	34 (99%)	3 (5%)	57 (95%)
Anti-citoplasma de neutrófilos perinuclear (p-ANCA)	0 (0%)	55 (100%)	1 (1%)	34 (99%)	0 (0%)	60 (100%)
Anti-citoplasma de neutrófilos citoplasmático (c-ANCA)						
Anti-musculo liso (ASMA)	0 (0%)	55 (100%)	0 (0%)	35 (100%)	0 (0%)	60 (100%)
Anti-Mitocondriales (AMA)						
Anti-célula parietal gástrica (ACPG)	2(3,64%)	53(96,36%)	1(2,86%)	34(97,14%)	6(10%)	54(90%)

Discusión

La obesidad es un factor de riesgo crítico para el desarrollo de resistencia a la insulina y la grasa corporal total es importante en el desarrollo de la misma en los niños (19,20). El índice HOMA, es uno de los indicadores más importantes empleados para la determinación de la resistencia a la insulina en los individuos obesos. Numerosos estudios han establecidos diferentes puntos de corte para el índice HOMA en niños pre-púberes y niños post-púberes (19-22). Por otra parte, la American Diabetes Association (ADA), introduce una clasificación de los niveles de glucosa debido principalmente a las alteraciones en el metabolismo de los carbohidratos que son observadas frecuentemente en los individuos obesos (23).

En el presente estudio, se observaron valores más elevados de glicemia basal y post-prandial en el grupo de niños obesos resistentes a insulina, sin embargo, estos resultados no fueron estadísticamente significativos al compararlos con los niños del grupo control. Por otra parte, se encontró 3,6% (niños obesos) y 22,9% (niños obesos RI) con glucosa alterada en ayunas (GAA) y 5,7% de niños obesos con RI con intolerancia a la glucosa (IG). Los pacientes con GAA y/o IG se les conoce como estados previos de prediabetes y tienen un mayor riesgo al desarrollo de la DM2 y el resto de alteraciones metabólicas asociadas a la obesidad. Este porcentaje es inferior al reportado en un estudio efectuado en USA en una población multiétnica (25% de los individuos con IG en función del grupo étnico de procedencia y un 4% con DM2) (24) y similar al hallado en una amplia muestra de niños y adolescentes obesos de nacionalidad italiana, que arrojó una prevalencia de IG del 4,5% y de DM2 del 0,14% (25). En otro estudio, Da Silva y col. en Brasil, observaron una menor prevalencia de GAA (1,7%) y no observaron niños con IG (26).

Los resultados de insulina basal en los niños obesos con y sin RI, mostraron diferencia significativa con respecto al grupo control, observándose que en el grupo de obesos resistentes a la insulina se obtuvo un valor promedio más alto de esta hormona en ayunas encontrándose un 80% de estos niños con hiperinsulinismo (27). De los pacientes diagnosticados con RI 17,1% presentaban sobrepeso, 2,9% obesidad leve, 31,4% obesidad moderada y 48,6% obesidad grave, lo cual indica a la obesidad

grave como un factor contribuyente a la resistencia a la insulina. Las células adiposas producen adipocinas que son liberadas hacia el torrente sanguíneo. Al menos dos de estas adipocinas, el factor de necrosis tumoral alfa (TNF α) y resistina, tienen la capacidad de interferir sobre la acción de la insulina en otros tejidos (7, 28).

Los niños obesos con/sin RI presentan un desbalance en el metabolismo de lípidos encontrándose valores de colesterol total, VLDL-c, LDL-c aumentados con respecto al grupo control. Por su parte, los niños obesos con RI presentan además niveles elevados de triglicéridos, los cuales se correlacionan con el hiperinsulinismo observado en estos niños. Por el contrario el valor de la fracción HDL-c se vio significativamente disminuida con respecto al grupo control en ambos grupos en estudio. Estas alteraciones en la dinámica lipídica suelen estar relacionadas a desordenes metabólicos como la RI y la obesidad.

Estas alteraciones en el metabolismo de carbohidratos y lípidos del niño con obesidad obligan a realizar una evaluación integral del paciente, con el fin de evaluar la posible etiología de su obesidad. El perfil tiroideo es uno de los exámenes auxiliares más importantes en la actualidad, debido a que la ganancia de peso ponderal podría relacionarse con un mal funcionamiento tiroideo.

Todos los niños del estudio presentaron niveles de hormonas tiroideas dentro de los valores de referencia para las mismas. Con respecto a los valores de T3T no se observaron resultados diferentes entre ambos grupos de niños con obesidad, y no hubo diferencia significativa con respecto al grupo control. Para T4T se observó, en el grupo de niños control, una media mayor significativamente que en los dos grupos de niños obesos sin RI y con RI.

La disminución de valores de T3T y T4T en los grupos de niños obesos con y sin RI, podría ser una señal de disminución o interrupción de la síntesis y metabolismo de estas hormonas, causada por la hiperglicemia, hiperinsulinemia y señales de inflamación presentes en la población en estudio, tomando en consideración que una de las funciones de las hormonas tiroideas es el aumento de la glucogenólisis y gluconeogénesis (29), siempre y cuando el organismo así lo demande. Bajo un ambiente hiperglicémico habría que evaluar si la

síntesis de estas hormonas se ve disminuida con el fin de compensar el exceso de glucosa, disminuyendo así dos procesos que más bien exacerbarían la hiperglicemia ya presente en el individuo RI.

En este estudio, la inmunoreactividad de TPO fue baja en todos los grupos de participantes investigados. En contraste, Marzullo y col. (30) mostraron un 23% de positividad para la inmunoreactividad de TPO en una cohorte de pacientes obesos, que es superior a la frecuencia reportada en el presente estudio (6%), no encontrándose diferencia significativa con respecto a la positividad en el grupo control. Glastras y col reportaron 7,8% de niños con DM1 con anti-TPO positivo y describen que de esos 46,2% desarrollaron enfermedad tiroidea en 13 años, lo que hace importante el seguimiento de estos niños en el tiempo (31).

Con respecto a los resultados de positividad para los anti-Tg, se encontró en el grupo de niños obesos con RI una positividad de 37,1% con un RR=2,23 IC 95% (1,09 – 4,54) al compararla con los otros dos grupos estudiados. Por lo general los anti-Tg son positivos en conjunto con una elevación de anti-TPO, colaborando al diagnóstico de una enfermedad autoinmune tiroidea. En este estudio solo 2 niños obesos (1 niño obeso sin RI y 1 niño obeso con RI) tienen positivos ambos anticuerpos. La alta positividad de anti-Tg hallada en los niños obesos con RI, podría sugerir la presencia de algún trastorno de la función tiroidea o el inicio de una reacción inflamatoria intratiroidea que pudiera progresar a una enfermedad autoinmune tiroidea, por lo que se debe realizar un seguimiento de la población en estudio para observar si se genera un incremento en los autoanticuerpos tiroideos.

Existe una clara asociación entre la presencia de títulos elevados de anti-TPO y anti-Tg en sangre con la destrucción tisular de la tiroides que se origina durante la reacción inflamatoria autoinmune. No se sabe con certeza si estos autoanticuerpos son causa o consecuencia de la enfermedad (32).

Varios investigadores han reportado que tanto anti-TPO como anti-Tg pueden encontrarse en determinaciones analíticas de población “normal” con actividad tiroidea normal (entre 10 y 12%). En este estudio la presencia de anticuerpos antitiroideos positivos (anti-TPO y anti-Tg) en los 150 niños evaluados fue de 22,7% superior a la reportada por otros investigadores en la población general de 12%

y de 12,7% reportada por Briceño y col en niños venezolanos con DM1 (33).

Los autoanticuerpos de tipo sistémico sirven como un despistaje de EA (34). En nuestro estudio se evaluaron 5 autoanticuerpos de este tipo, los ANA, ANCA, ASMA, AMA y ACPG, sin embargo, no se encontró una reactividad significativa en estos anticuerpos.

Al evaluar individualmente cada uno de estos autoanticuerpos se obtuvo que los ANA resultaron positivos en 1% de los pacientes obesos con y sin RI, mientras que en el grupo control la positividad fue de un 5%. Este hallazgo no posee significancia clínica ya que se ha reportado la presencia de estos anticuerpos en hasta un 20% de personas sanas y hasta un 10% de niños sanos (35,36). Aun cuando se ha encontrado en población sana es importante hacer un seguimiento a estos pacientes para poder descartar la asociación temprana con una EA (37).

Con respecto a los ANCA se evaluaron 2 patrones, p-ANCA y c-ANCA. En el primero se encontró positividad en 1% de los niños obesos con RI, en el grupo de obesos y grupo control no se encontró reactividad. Mientras que en el caso de c-ANCA no se encontró reactividad en ninguno de los grupos estudiados. Por su parte, para los autoanticuerpos ASMA y AMA no se encontró ningún resultado positivo en la población analizada.

En este estudio se encontró la presencia de anticuerpos anti-célula parietal gástrica ACPG en 3,64% de los niños obesos sin RI, 2,86% de los obesos con RI y 10% de los niños controles. Este resultado se muestra interesante aun cuando no fue significativo. Los ACPG son autoanticuerpos dirigidos específicamente contra la enzima ATPasa H+/K+ de las células parietales gástricas, se asocian principalmente con la anemia perniciosa (AP) y la gastritis crónica autoinmune (GCA), aunque también se relacionado con algunas endocrinopatías autoinmunes como la tiroiditis autoinmune, DM1, enfermedad de Addison, hipoparatiroidismo primario y enfermedad de Graves, entre otras (38).

La presencia de anticuerpos ICA está asociada con un progresivo deterioro en la función de las células β y se consideran marcadores serológicos de la DM1. Esos anticuerpos aparecen años antes de presentarse la enfermedad, por lo que son usados como marcadores pronósticos o de riesgo y su hallazgo es de gran importancia, ya que su detección en esta etapa pre-

clínica como biomarcadores, es útil para implementar medidas preventivas (39).

El primer autoanticuerpo en aparecer durante la pre-diabetes en especial en niños es el anticuerpo anti-insulina (IAA) y el hallazgo de más de uno de estos autoanticuerpos aumenta el riesgo de desarrollar DM1 (39,40).

Aun cuando en este estudio la detección de los anticuerpos contra los islotes ICA, resultó negativa para todos los grupos evaluados, es conveniente hacer un seguimiento a través del tiempo, ya que si el estado proinflamatorio que se ha descrito para los pacientes obesos persiste, podría inducir la producción de autoanticuerpos que reaccionen, por ejemplo, contra ciertas estructuras tisulares como los islotes de las células beta del páncreas, para desencadenar a futuro DM1. La detección de este tipo de anticuerpos en población susceptible, favorece el diagnóstico temprano de la enfermedad o incluso evidenciar un estado subclínico que permitiría a su vez un tratamiento de forma preventiva.

Conclusiones

La obesidad grave es un factor que contribuye con la aparición de GAA e IG la cual puede estar acompañada de hiperinsulinismo y RI. Además, la obesidad está asociada a alteraciones en el perfil lipídico (aumento de colesterol total y triglicéridos y disminución del HDL-c) que en conjunto están asociadas a la susceptibilidad de desarrollar SM por lo que hace necesario realizar seguimiento y tratamiento oportuno a estos niños para prevenir enfermedades crónicas transmisibles como la DM2, hipertensión y enfermedades cardiovasculares a edades tempranas. Aunado a esto la positividad encontrada de anticuerpos anti-Tg en el grupo de niños obesos con RI resulta importante mantener bajo alerta, debido a que la presencia de estos autoanticuerpos podría sugerir la presencia de algún trastorno de la función tiroidea o el inicio de una reacción inflamatoria intratiroidea que pudiera progresar a una enfermedad autoinmune tiroidea.

Recomendaciones

Continuar estos estudios en la población infantil con obesidad y/o RI a fin de establecer un diagnóstico precoz de enfermedades metabólicas como la DM2

o síndrome metabólico, además de trastornos de la función tiroidea o enfermedad autoinmune tiroidea a fin de implementar las medidas terapéuticas oportunas.

Referencias bibliográficas

1. American Diabetes Association. Standards of medical care—2013. *Diabetes Care*. 2013; 36: S11-S66. doi: 10.2337/dc13-S011
2. Blancas G, Almanza JC, López R, Alarcon F, García R, Cruz M. La obesidad como un proceso inflamatorio. *Bol Med Hosp Infant Mex* 2010; 67:88-97.
3. Zeitler P, Fu J, Tandon N, Nadeau K, Urakami T, Barrett T *et al*. Type 2 diabetes in the child and adolescent. *Pediatric Diabetes* 2014; 15 (Suppl. 20): 26-46. doi.org/10.1111/pedi.12179
4. Chwartz MS, Chadha A. Type 2 diabetes mellitus in childhood: obesity and insulin resistance. *JAOA* 2008; 108(9): 518-524. [citado 4 de febrero 2018]. Disponible en: <https://jaoa.org/article.aspx?articleid=2093727>
5. Garcés, MF, Mee-Lien Fung, Rivero ME, Stekman H, Hernández C, López A y col. Polimorfismo GLY972ARG del gen sustrato de receptor de insulina 1 en pre-púberes con riesgo cardiometabólico. *Arch Venez Puer Ped* 2015;78(1):18-26. [citado 10 de febrero 2018]. Disponible en: http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06492015000100005&lng=es&nrm=iso.
6. Macías-Tomei C, Maulino N, L. Machado. Obesidad y Síndrome Metabólico. En: L. Machado, I. Espinoza, R. Santiago (eds.). *Nutrición Pediátrica*. Sociedad Venezolana de Puericultura y Pediatría. Editorial Médica Panamericana. Caracas, 2009, pp. 241-272.
7. Cao H. Adipocytokines in obesity and metabolic disease. *J Endocrinol* 2014; 220 (2): T47-59. doi.org/10.1530/JOE-13-0339
8. Tsai S, Clemente-Casares X, Revelo X, Winer S, Winer D. ¿Are Obesity-Related Insulin Resistance and Type 2 Diabetes Autoimmune Diseases? *Diabetes* 2015; 64:1886-1897. doi.org/10.2337/db14-1488
9. Pozzilli P, Guglielmi C. Double diabetes: a mixture of type 1 and type 2 diabetes in youth. *Endocr Dev* 2009;14:151-166. doi: 10.1159/000207484.
10. Sang-Youl R, Young-Seol K. Double Diabetes. *Korean Diabetes J* 2009;33:1-8. doi.org/10.4093/kdj.2009.33.1.1
11. Ortiz F. Revision. Enfermedades autoinmunes y autoinmuneidad fisiológica: el reconocimiento de la propia identidad. *Alergol Inmunol Clin* 2000; 15:5-12. [citado 11 de febrero 2018]. Disponible en: <https://>

- www.yumpu.com/es/document/read/18740931/enfermedades-autoinmunes-y-autoinmunidad-fisiologica
12. Oporto A, Sosa L, García C, Sanchez L. Identificación de anticuerpos contra islotes de páncreas por inmunofluorescencia indirecta como marcador pronóstico de diabetes. *Vis Cient* 2007; 1(2):3-9. [citado 14 de febrero 2018]. Disponible en: http://www.revistasbolivianas.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2222-43612009000100002&lng=es&nrn=iso
 13. Falorni A, Brozzetti A. Diabetes. Related antibodies in adult diabetic patients. *Best Pract Res Clinl Endocrinol Metab* 2005; 19 (1): 119-133. doi.org/doi:10.1016/j.beem.2004.11.010
 14. "The World Medical Association Ethics Unit. Declaration of Helsinki. [citado 21 enero 2018]. Disponible en: <http://www.wma.net/e/ethicsunit>.
 15. Izaguirre de Espinoza I, López de Blanco M. Evaluación del crecimiento y la maduración física. En: *Nutrición Pediátrica*. 1ª.ed. Editorial Médica Panamericana. Caracas, 2009 p.10.
 16. Cusminsky M, Lejarraga H, Mercer R, Martell M., Fescina R. Evaluación del Crecimiento del Niño. Manual de Crecimiento y Desarrollo del niño Organización Panamericana de Salud. OMS Washington DC 1993:23-52.
 17. Espinoza I. Guía práctica para la evaluación antropométrica del crecimiento, maduración y estado nutricional del niño y el adolescente. Evaluación del Crecimiento. *Arch Ven Puer Ped* 2004;67(supl 1):S3-S52.
 18. Méndez H, de Méndez M. Estratificación Social y Biología Humana. Método Graffar modificado para Venezuela. *Arch Ven Puer Ped* 1986; 49(4):93-104.
 19. Weiss R. Insulin sensitivity and secretion: swaying the pendulum. *J Pediatr* 2006; 148:3-4.
 20. Goran M, Ball G, Cruz M. Obesity and risk of type 2 diabetes and cardiovascular disease in children and adolescents. *JCEM* 2003; 88 (4): 1417-1427. doi.org/10.1210/jc.2002-021442.
 21. Tresaco B, Bueno G, Pineda I, Moreno L, Garagorri J, Bueno M. Homeostatic model assessment (HOMA) index cutt-of values to identify the metabolic syndrome in children. *J Physiol Biochem* 2005;61:381-388. doi.org/10.1007/BF03167055.
 22. Barja S, Arnaiz P, Dominguez A, Villaroel L, Cassis B, Castillo O, *et al.* Insulinemia e índice HOMA en niños y adolescentes chilenos. *Rev Med Chile* 2011; 139: 1435-1443. doi.org/10.4067/S0034-9887201100110000.
 23. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes 2018. *Diabetes Care* 2018; 41(Suppl 1): S13-S27. doi.org/10.2337/dc18-S002.
 24. Sinha R, Fisch G, Teague B, Tamborlane W, Banyas B, Allen K, *et al.* Prevalence of impaired glucose tolerance among children and adolescents with marked obesity. *N Engl J Med* 2002;346(11):802-810. doi.org/10.1056/NEJMoa012578.
 25. Invitti C, Guzzaloni G, Gilardini L, Morabito F, Viberti G. Prevalence and concomitants of glucose intolerance in European obese children and adolescents. *Diabetes Care*. 2003;26(1):118-124. doi.org/10.2337/diacare.26.1.118.
 26. Da Silva RC, Miranda WL, Chacra AR, Dib SA. Insulin resistance, β -cell function, and glucose tolerance in brazilian adolescents with obesity or risk factors for type 2 diabetes mellitus. *J Diabetes Complications* 2007;21(2):84-92. doi.org/10.1016/j.jdiacomp.2005.11.006.
 27. Villalobos J, Gáffaro L, García M, Maulino N, Merino G, Pérez M, *et al.* Respuesta de insulina a la carga oral de glucosa en niños y adolescentes con sobrepeso y obesidad. *Rev Venez Endocrin Metab* 2011; 9(9):12-19.
 28. Poynten A, Chisholm D. RESISTENCIA A LA INSULINA: El puente entre diabetes y enfermedades cardiovasculares. *Diabetes Voice* 2001; 46(2):41-43.
 29. Longhi S y Radetti G. Thyroid function and obesity. *J Clin Res Pediatr Endocrinol* 2013;5(1):40-44. doi.org/10.4274/jcrpe.856.
 30. Marzullo P, Minocci A, Tagliaferri MA, Guzzaloni G, Di Blasio A, De Medici C, *et al.* Investigations of thyroid hormones and antibodies in obesity: leptin levels are associated with thyroid autoimmunity independent of bioanthropometric, hormonal, and weight-related determinants. *J Clin Endocrinol Metab*. 2010;95(8):3965-3972. doi.org/10.1210/jc.2009-2798.
 31. Glastras S, Craig M, Verge C, Chan A, Cusumano J, Donaghue K. The role of autoimmunity at diagnosis of type 1 diabetes in the development of thyroid and celiac disease and microvascular complications. *Diabetes Care*. 2005; 28 (9): 2170-2175. doi.org/10.2337/diacare.28.9.2170
 32. Galofré J, Davies T. Utilidad clínica de los anticuerpos antitiroideos. *Rev Med Univ Navarra* 2008; 52(2):3-8.
 33. Briceño Y, Paoli M, Maulino N, Gaffaro L, Marcano H, Perez M. Dislipidemia y disfunción tiroidea en niños y adolescentes con diabetes mellitus tipo 1: Relación con el control metabólico e índice de masa corporal. *Rev Venez Endocrin Metab* 2009; 7(3):23-28.
 34. Cabiedes J, Nuñez C. Anticuerpos antinucleares.

- Reumatol Clin 2009; 6 (4): 224-230. doi: 10.1016/j.reuma.2009.10.004.
35. Pisetsky D. Antinuclear antibodies in healthy people: the tip of autoimmunity's iceberg? *Arthritis Res Ther* 2011; 13(109):1-2. doi.org/10.1186/ar3282.
36. Alvarez C, Inocencio J. Pruebas reumáticas en pediatría. Interpretación y limitaciones. *Pediatría práctica de bolsilo*. 2009; 2(3):1-3.
37. Fritzler M. The antinuclear antibody test. Last or lasting gasp. *Arthritis Rheum* 2011;63(1):19-22. doi.org/10.1002/art.30078.
38. Sánchez P, Martín MJ, Porres JC. La mucosa gástrica como estructura diana de agresiones proinflamatorias persistentes: modelos patogénicos de gastritis crónica. *Gastroenterol Hepatol* 2009;32(4):294-306. doi:10.1016/j.gastrohep.2008.05.004.
39. Acosta D, Conget I, Fajardo C, Gómez F, González JM, Dídac M, *et al.* Prediabetes y diabetes tipo 1 de reciente diagnóstico Edita Mayo. Madrid, 2006, pp. 85-110.
40. Winter W, Schatz D. Autoimmune markers in diabetes. *Clin Chem* 2011; 57(2):168-175. doi.org/10.1373/clinchem.2010.148205.

SCEDOSPORIOSIS PULMONAR: A PROPÓSITO DE UN CASO

Xiomara Moreno¹, Carolina Macero¹, Mizrachi Romea², Fortunato Chocrón³.

¹Departamento de Microbiología del Instituto Médico la Floresta. ²Departamento de Microbiología de Hospital de Clínicas Caracas. ³Cirujano de Tórax Instituto Médico la Floresta.

Recibido para publicación 30 Abril 2018. Aprobado para publicación 30 Mayo 2018.

RESUMEN:

Las infecciones respiratorias pulmonares invasoras causadas por *Scedosporium* spp, ocupan el segundo lugar después de *Aspergillus* spp., las manifestaciones en pacientes inmunocompetentes son ocasionales. Se presenta caso de un paciente masculino de 44 años con una lesión de aspecto tumoral en el pulmón izquierdo, estableciéndose diagnóstico presuntivo por anatomía patológica de micosis pulmonar y definitivo por cultivo micológico para el complejo *Scedosporium apiospermum*, al paciente le fue practicado procedimiento quirúrgico y tratamiento con Itraconazol obteniendo una recuperación exitosa.

Palabras claves: Scedosporiosis, complejo *Scedosporium apiospermum*, infección pulmonar, Itraconazol.

SCEDOSPORIOSIS PULMONARY: A CASE REPORT

SUMMARY

Invasive pulmonary respiratory infections caused by *Scedosporium* spp, occupy second place after *Aspergillus* spp. The manifestations in immunocompetent patients are occasional. We present a case of a 44-year-old male patient with a tumor-like lesion in the left lung, establishing a presumptive diagnosis by pathological anatomy of pulmonary mycoses and definitive mycological culture for the complex *Scedosporium apiospermum*, the patient was given surgical procedure and treatment with Itraconazole obtaining a successful recovery.

Keywords: Scedosporiosis, *Scedosporium apiospermum*, lung infection, Itraconazol.

Introducción

La scedosporiosis es causada por el hongo *Scedosporium*. *Scedosporium prolificans* y *Scedosporium apiospermum* han sido las únicas especies reconocidas del género *Scedosporium* causantes de infección en el humano. Estudios moleculares han demostrado que *S. apiospermum* es realmente un complejo compuesto de ocho especies: *Scedosporium boydii* (teleomorfo *Pseudallescheria boydii*), *Scedosporium apiospermum* (teleomorfo *Pseudallescheria apiosperma*), *Pseudallescheria ellipsoidea*, *Pseudallescheria angusta*, *Pseudallescheria fusioidea*, *Pseudallescheria minutispora*, *Scedosporium dehoogi* y *Scedosporium aurantiacum* (1). Estas especies de hongos se encuentran habitualmente en el ambiente, suelos agropecuarios y de jardín, alcantarillados, estanques sedimentados; también pueden utilizar gas y compuestos aromáticos como fuente de carbono impulsando la contaminación

industrial, por tanto, la inhalación de conidias y el contacto con aguas residuales suelen ser las vías de exposición más habituales. (2-3).

El complejo *S. apiospermum* puede pasar a ser patógeno dependiendo del tipo de paciente afectado y la puerta de entrada; puede presentarse bajo cuatro formas clínicas: a) Micetoma; b) infección oportunista, c) infección no oportunista, y d) síndrome de asfixia por inmersión (1,3-4). Se describe caso con afectación pulmonar causada por el complejo *Scedosporium apiospermum* en un paciente inmunocompetente.

Caso clínico

Paciente masculino de 44 años de edad del interior del país, asiste a consulta ambulatoria en centro médico privado de la capital en el 2006 por presentar tos con expectoración blanquecina de

Solicitar copia a: Xiomara Moreno (e-mail: x.morenoc@hotmail.com)

más de tres meses de evolución, aparte de esto presenta buenas condiciones generales de salud. Niega antecedentes alcohólicos y tabáquicos. Su oficio transcurre en ambientes refrigerados, cavas y neveras con temperaturas menores a 0°C, y almacenamiento de productos pasteurizados. En la radiografía de tórax indicada se evidenció una lesión de aspecto tumoral en el lóbulo inferior del pulmón izquierdo de aproximadamente 5 cm, sin adenopatías mediastinales. Los exámenes de laboratorio para ese momento reportaron: leucocitos 10.000 céls/ μ L, neutrófilos 75%, linfocitos 23%, monocitos 2%, hemoglobina 14.3 g/dL, hematocrito 45%, conteo de plaquetas 320.000 $\text{cél}/\mu\text{L}$ y PCR 5 mg/dl (VN < 0.5 mg/dl).

Previo consentimiento, se le realizó una biopsia transtorácica izquierda guiada por tomografía. Fueron obtenidas varias muestras del área afectada, enviándose al laboratorio de microbiología y anatomopatología. Se indicó su alta. El reporte microbiológico para bacterias fue negativo a las 72h de incubación, coloración de Giemsa y KOH al 20% no se observaron estructuras fúngicas y coloración de Ziehl Neelsen no se observaron bacilos ácido resistentes. Pendiente resultados definitivos de los cultivos de hongo y micobacterias a los 30 y 60 días respectivamente. Anatomía patológica informó mediante coloración de hematoxilina eosina con aumento 400X, una reacción granulomatosa profunda, con granulomas tuberculoides poco sugestivos, escasa corona linfocitaria y células gigantes. A pesar de la escasa orientación de anatomía patológica para el diagnóstico de tuberculosis, el paciente es referido a la unidad sanitaria para tratamiento anti-tuberculoso con isoniacida, rifampicina y pirazinamida por tres meses; el etambutol no fue administrado debido a que no había diagnóstico certero de tuberculosis pulmonar activa.

El paciente regresa a la consulta antes de los tres meses, con mayor expectoración mucopurulenta, tos frecuente y fiebre; al examen físico presentó moderado murmullo pulmonar, crepitaciones y sibilancias respiratorias difusas abundantes. El control radiológico simple de tórax y tomografía axial computarizada se observó persistencia y aumento de la lesión, con característica sólida de aspecto tumoral y discreto derrame pleural. Resultados de laboratorio para ese momento

fueron: leucocitos 18.000 céls/ μ L, neutrófilos 87%, linfocitos 7%, monocitos 6%, hemoglobina 14.8 g/dL, hematocrito 47%, conteo de plaquetas 308.000 $\text{cél}/\mu\text{L}$, VSG 78 mm 1 hora, PCR 22 mg/dl (VN < 0.5 mg/dl), VDRL no reactivo, VIH (elisa) negativo y serología para hongos (Histoplasma, Paracoccidioides, Coccidioides y Aspergillus) negativa. Los cultivos pendientes para hongos y micobacterias de la biopsia transtorácica izquierda guiada por tomografía fueron negativos a la fecha.

El caso fue discutido nuevamente y se practicó toracotomía y lobectomía izquierda. Se encontró un proceso inflamatorio, paquipleuritis adhesiva que ingresa en el pulmón a predominio del lóbulo inferior encarcelado. Le fue separado el pulmón, y efectuado una lobectomía inferior y decorticación pleuropulmonar (pleurectomía), se encontraron lesiones quísticas con un líquido muy denso de color marrón oscuro, esta muestra fue enviada al laboratorio de microbiología y anatomopatología. Se colocaron drenajes torácicos, el paciente fue llevado a la unidad de cuidados intensivos por 48 horas evolucionando satisfactoriamente, indicándosele antibióticos por profilaxis (ciprofloxacina y piperazilina/tazobactam). Posteriormente el paciente fue enviado a cuidados mínimos e indicada su alta su alta a las 72h.

Los reportes microbiológicos informaron cultivo bacteriano negativo a las 72h. Examen directo con KOH al 20% positivo con presencia de hifas hialinas tabicadas. Coloración de Ziehl Neelsen negativa. Los resultados histológicos mediante la coloración de hematoxilina eosina con aumento de 400X reportaron: neumonitis intersticial crónica con marcada fibrosis y hemorragia reciente; pleuritis crónica granulomatosa con extensa hemorragia, fibrosis y proliferación vascular sugestiva a una micosis pulmonar. Se indicó tratamiento con itraconazol de 200 mg dos veces al día por 6 meses, se omitió la terapia antituberculosa. Para el control establecido posterior a los tres meses se encontró que el paciente tenía escasa expectoración, no tenía tos ni fiebre y la radiografía simple y la tomografía axial computarizada reflejó normalidad, solo se apreciaron los cambios de la post lobectomía inferior izquierda. Se dejó el tratamiento hasta cumplir los seis meses sin presentar recaída. El resultado del cultivo para micobacterias de la segunda muestra fue reportado negativo.

Estudio micológico

1 era. Muestra. Biopsia de pulmón, examen directo con KOH al 20% y coloración de giemsa no se observaron estructuras fúngicas; se sembró en medios de agar sabouraud dextrosa, agar mycosel y agar BHI a 25° C. Esta muestra fue observada semanalmente por un mes, donde no hubo crecimiento de ningún hongo patógeno a los 30 días incubación.

2 da. Muestra. Líquido denso de color marrón oscuro, al examen directo con KOH al 20% y coloración de giemsa se observaron hifas hialinas, tabicadas, algunas con ángulos de 45° y escasas blastoconidias en forma de lágrima Figura 1. Fue sembrada en medios de agar sabouraud dextrosa, agar mycosel, agar BHI y agar papa dextrosa (PDA) e incubadas a 25°C. Al cabo de 15 días hubo crecimiento de colonias algodonosas de color blanquecino a gris claro, Figura 2; a partir

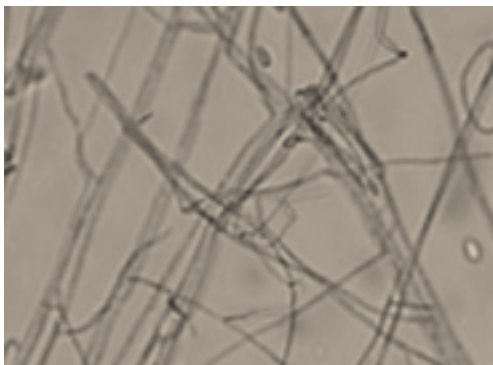


Figura 1. Hifas hialinas tabicadas y blastoconidias ovaladas provenientes de la muestra # 2 (líquido denso) examen al fresco con KOH al 20%.



Figura 2. Colonia filamentosa ligeramente algodonosa de color blanquecino a gris claro con crecimiento de 15 días en agar sabouraud dextrosa.

del PDA se realizó examen directo con azul de cotton observándose hifas hialinas tabicadas con abundantes conidios en solitario redondeados en los extremos con una base truncada que nacen de un conidióforo corto que a su vez nacen del conglomerado de hifas descritas, siendo esta descripción compatible con el complejo *S. apiospermum*, Figura 3.

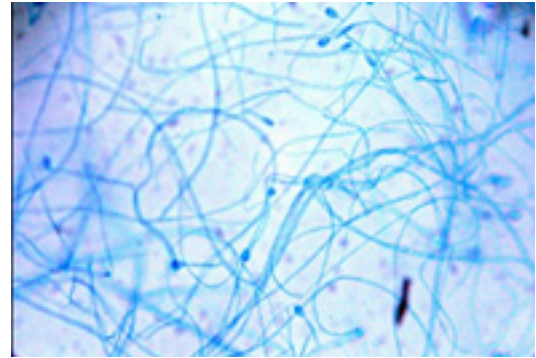


Figura 3. Examen directo de la colonia proveniente del PDA con azul de Cotton, se observan hifas hialinas tabicadas y conidios en solitario redondeados, compatibles con el complejo *S. apiospermum*.

Discusión

La scedosporiosis es la segunda afección por hongos filamentosos después de la aspergilosis en infecciones del tracto respiratorio inferior (5-6). El complejo *Scedosporium apiospermum* se encuentra universalmente distribuido y existe una variedad de infecciones descritas para este hongo, donde se destacan las infecciones pulmonares invasoras en pacientes inmunocomprometidos (7), mientras que en pacientes inmunocompetentes las infecciones pulmonares invasoras son poco frecuentes (3), como en el presente caso. Tekavec y col., (8) reportaron un caso de un trabajador de limpieza de aguas termales en cuyo fondo existía dicho hongo. También un paciente inmunocompetente con una herida perforada en el pecho presentó neumonía por el complejo *S. apiospermum* (9). Otro autor señala que la exposición ocupacional al polvo puede ser una fuente causal de neumonía, y también sugiere el consumo de tabáquicos (10), hábito que no tenía el paciente en el presente caso y su lugar de trabajo se desarrollaba en zonas de humedad y frío.

La mayoría de los pacientes presentan síntomas

respiratorios asociados a tos, expectoración purulenta, pérdida de peso, fatiga, disnea e insuficiencia respiratoria, y se describe que la mayoría de los casos con scedosporiosis han coexistido con trastornos pulmonares preexistentes como tuberculosis, sarcoidosis, trasplante de pulmón, artritis, bronquitis crónica, neumonía bacteriana o fibrosis quística (4,11). En el presente caso se descartó infección bacteriana; inicialmente hubo sospecha de tuberculosis que fue descartada por coloraciones y dos cultivos para micobacterias provenientes de muestras diferentes del área pulmonar; pero existía una neumonitis crónica descrita en el segundo informe anatomopatológico donde involucraba un agente microbiológico a investigar. El paciente de este caso no tenía una enfermedad subyacente, pero sí una predisposición por el ambiente de trabajo.

En las infecciones pulmonares invasoras y no invasoras por especies de *Scedosporium* existen casos reportados con ausencia del hongo en las secciones del tejido pulmonar o material purulento necrotizante con cultivos positivos (6), situación diferente al caso presentado donde se observó en la segunda muestra el hongo tanto en el examen directo como su crecimiento en cultivo.

Histopatológicamente la scedopsoriosis es idéntica a una aspergilosis, por ello realizar el cultivo es de importancia microbiológica para identificar el agente causal, y hacer discriminación con hongos frecuentes como *Aspergillus* spp., y orientar el tratamiento (9). En el presente caso por las condiciones estables y la función pulmonar que tenía el paciente se planteó el tratamiento quirúrgico con fines curativos, ya que en otro tipo de pacientes con un compromiso y deterioro pulmonar basal no es recomendado pues se asocia a una alta mortalidad y morbilidad de 7-23% (6,12-13). Un estudio en Australia demostró que el complejo *S. apiospermum* representó un 6% como causante de infecciones pulmonares invasivas respecto a *S. prolificans* con 46% (14). Por tanto, cultivo positivo de una biopsia, material aspirado o removido de un lugar estéril debe ser considerado significativo.

En cuanto a tratamiento el complejo *S. apiospermum* parece ser más susceptible a los antifúngicos de uso sistémico que *S. prolificans*. Hasta los momentos se considera al voriconazol como el antifúngico de elección para la scedosporiosis, observándose una

concentración mínima inhibitoria de 0.125 a 2 µg/ml, pero la mayoría de los estudios *in vitro* para el complejo *S. apiospermum* son sensible a miconazol, ketoconazol, itraconazol y posaconazol (15); también se observa buena respuesta a terbinafina (16), caso contrario a anfotericina B donde algunas especies del complejo *Scedosporium* no responden a este antifúngico (4); pero en la mayoría de casos clínicos registrados en la literatura cada uno tiene diferentes enfoques terapéuticos, por lo que sería de gran utilidad realizar estudios de sensibilidad a pesar de que no hayan protocolos estandarizados para este tipo de hongo y tener mayor orientación terapéutica (15). Por otra parte, para los hongos miceliales no existe una correlación *in vitro* versus *in vivo*, ya que la prueba de sensibilidad *in vitro* para estos hongos tiene un valor predictivo bajo respecto a la respuesta clínica (17); en este estudio no se realizó la sensibilidad. A pesar de que itraconazol puede presentar fracasos terapéuticos debido a la absorción errática, indicaciones empíricas del antifúngico y el tiempo de duración del mismo (5), se debe discutir y analizar cada caso en particular. En el presente caso itraconazol fue el tratamiento y la dosificación más acertada para la completa resolución de la enfermedad en este paciente.

Podemos concluir de este caso clínico que el cultivo es necesario para identificar el microorganismo patógeno, en este caso el complejo *S. apiopermum*, ya que es la única manera de diferenciarlo de las especies de *Aspergillus*. La resección pulmonar es el primer paso al tratamiento de elección en este caso, seguido del antifúngico adecuado, que va a permitir la eliminación del agente infeccioso. El reporte de este caso se retoma debido a lo inusual en personas inmunocompetentes donde la presencia de neumonías atípicas nos abre un panorama en la búsqueda de este tipo de agentes etiológicos como causantes de infección pulmonar. En la revisión realizada de la literatura en Venezuela no se encontró hasta los momentos algún caso reportado de este hongo en este tipo de pacientes.

Referencias

1. Pemán J, Salavert M. Enfermedad fúngica invasora por *Scedosporium*, *Fusarium* y *Mucor*. Rev Iberoam Micol 2014; 31(4): 242-248. doi: 10.1016/j.riam.2014.05.002

2. Kaltseis J, Rainer J, De Hoog G.S. Ecology of *Pseudallescheria* and *Scedosporium* species in human-dominated and natural environments and their distribution in clinical samples. *Med Mycol* 2009; 47:398-405. doi: 10.1080/13693780802585317.
3. Cortez K, Roilides E, Quiroz-Tellez F, Meletiadiis J, Antachopoulos Ch, Knudsen T, *et al.* Infections Caused by *Scedosporium* spp. *Clin Microb Rev* 2008;21(1):157-197. doi: 10.1128/CMR.00039-07.
4. Guarro J, Serda A, Horr e R, Rodríguez-Tudela J, Cuenca-Estrella M, Berenguer J, *et al.* *Scedosporium apiospermum*: changing clinical spectrum of a therapy-refractory opportunist. *Med Mycol* 2006;44:295-327. doi:10.1080/13693780600752507
5. Cruz R, Barros M, Reyes M. Infección pulmonar no invasora por *Scedosporium apiospermum*. *Rev Chil Infectol* 2015;32(4):472-475. doi.org/10.4067/S0716-10182015000500018
6. Kantarcioglu AS, De Hoog GS, Guarro J. Clinical characteristics and epidemiology of pulmonary pseudallescheriasis. *Rev Iberoam Micol* 2012;29(1):1-13. doi:10.1016/j.riam.2011.04.002
7. Torres H. Infecciones en inmunocomprometidos: Infecciones fúngicas emergentes. *Antib e Inf* 2002; 11(2):49-54.
8. Tekavec J, Mlinaric-Missoni E, Babic-Vazic V. Pulmonary tuberculosis associated with invasive pseudallescheriasis. *Chest* 1997;111:508. doi:10.1378/chest.111.2.508
9. Seale J, Hudson J. Successful medical treatment of pulmonary petriellidiosis. *South Med J* 1985;78:473-476.
10. Bousley P. Isolation de *Allescheriabydii* form pleural fluid. *J Clin Microbiol* 1977;5:244.
11. Al Refai M, Duhamel C, Le Rochais J, Icard P. Lung scedosporiosis: a differential diagnosis of *aspergillus*. *Eur J Cardiothirac Surg* 2002;21:938-939.
12. Tong J, Valentine E, Durrance J, Wilson G, Fischer D. Pulmonary infection with *Allescheria boydii*; report of a fatal case. *Am RevTuberc* 1958;78:604-609.
13. Torales M, Martínez F, Bagattini JC. Aspergiloma pulmonar bilateral. *Arch Med Interna* 2010;32:53-56.
14. Cooley L, Spelman D, Thursky K, Slavin M. Infection with *Scedosporium apiopermum* and *S. prolificans*, Australia. *Emerg Infect Dis* 2007;13(8):1170-1177. doi: 10.3201/eid1308.060576
15. Sol  Amparo. Infección diseminada por *Scedosporium apiospermum* en un receptor de trasplante pulmonar unilateral. *Rev Iberoam Micol* 2011;28(3):139-142. doi:10.1016/j.riam.2011.06.007
16. Verweij P, Cox N, Meis J. Oral terbinafina for treatment of pulmonary *Pseudoallescheria boydii* infection refractory to itraconazol therapy. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1997;16:26-28.
17. Kobayashi GS, Spiteer DE. Testing of organisms for susceptibility to triazoles: is it justified? *Eur J Clin Microbiol* 1989;8:387-389

PROTEASAS: ENZIMAS VERSÁTILES

Gabriela Romero B.¹, Aura Palencia M.¹.

¹Unidad de Investigación en Toxicología Molecular, Módulo 5, Escuela de Bioanálisis, Facultad de Ciencias de la Salud. Universidad de Carabobo, Venezuela. C.P. 2005

Recibido para publicación 15 Mayo 2018 . Aprobado para publicación 15 Junio 2018.

RESUMEN:

Las proteasas, también llamadas peptidasas, son enzimas que participan en el catabolismo de proteínas, hidrolizando enlaces peptídicos. La amplia distribución de estas enzimas entre plantas, animales y microorganismos demuestra que son necesarias para los seres vivos, desempeñando un rol fundamental en procesos biológicos muy diversos. Además del rol fisiológico que juegan dentro del metabolismo de los seres vivos, los avances tecnológicos proponen nuevas aplicaciones que van desde su uso en procesos industriales, pasando por la biorremediación, hasta los estudios en proteómica, en los que se han identificado moléculas blanco de importancia para diagnóstico y terapéutica. Se presenta un breve resumen de las categorías generales de las proteasas de interés clínico y biotecnológico, así como las estrategias utilizadas actualmente para su caracterización.

Palabras claves: Proteasas, enzimas, diagnóstico, biotecnología, peptidasas.

PROTEASES: VERSATILE ENZYMES

SUMMARY

Proteases, also called peptidases, are enzymes that participate in protein catabolism, hydrolyzing peptide bonds. The wide distribution of these enzymes among plants, animals and microorganisms demonstrates that they are necessary for living beings, playing a fundamental role in very diverse biological processes. In addition to physiological role they play in metabolism of living beings, technological advances propose new applications that range from their use in industrial processes, through bioremediation, to studies in proteomics, in which white molecules of importance have been identified for diagnosis and therapy. A brief summary of general categories of proteases of clinical and biotechnological interest is presented, as well as the strategies currently used for their characterization.

Keywords: Proteases, enzymes, diagnosis, biotechnology, peptidases.

Introducción

El término enzima fue acuñado por Wilhelm Kühne en 1876, quien trabajaba con una molécula de gran importancia en el proceso digestivo de la albúmina. Hoy en día sabemos que la molécula con la que trabajaba este investigador es la tripsina, enzima proteasa, responsable de la ruptura de otras proteínas mediante hidrólisis (1). Es en la década de 1930 cuando John H. Northrop y Moses Kunitz aíslan y caracterizan enzimáticamente la tripsina, definiendo sus precursores e identificando sus inhibidores (2).

Las proteasas son enzimas que participan en el catabolismo de proteínas, hidrolizando enlaces peptídicos. Aproximadamente el dos por ciento del genoma humano codifica para compuestos con actividad proteolítica (3). Además de su papel en procesos metabólicos, que incluyen desarrollo embrionario, diferenciación (4), respuesta inmune,

apoptosis (5), entre otros, muchas proteasas son utilizadas en aplicaciones biotecnológicas a nivel industrial (6). En términos evolutivos estas moléculas constituyen probablemente una de las más antiguas familias de enzimas. Casi todos los organismos, incluyendo virus, tiene al menos una peptidasa (7). Estas enzimas producen el desensamblaje de moléculas proteicas para crear un pool de aminoácidos libres necesario para la síntesis de nuevas proteínas.

Las proteasas regulan el destino, la localización y la actividad de muchas proteínas, modulan las interacciones proteína-proteína, crean nuevas moléculas bioactivas, contribuyen al procesamiento de la información celular y generan, traducen y amplifican señales moleculares (8). Debido a la irreversibilidad de la actividad proteolítica, ésta se encuentra estrictamente controlada a diferentes niveles para prevenir una activación inadecuada.

Solicitar copia a: Gabriela Romero(e-mail: gaby32004@yahoo.com)

La regulación se da a nivel de transcripción o a nivel proteico, es decir sobre la misma proteasa, ya sea que ésta deba activarse por estar expresada en forma de zimógeno (precursor inactivo o proenzima), o porque se unen a ella otras moléculas que actúen de moduladores de actividad, cofactores o inhibidores (9). Fallas en la regulación pueden ocasionar proteólisis inadecuada como la que se observa en procesos patológicos como el cáncer, algunas enfermedades cardiovasculares, inflamatorias (10), neurodegenerativas, bacterianas, virales y parasitarias (11).

Las enzimas proteasas también cobran relevancia en el diagnóstico: la utilización del activador del plasminógeno y de su inhibidor PAI 1 que están entre los marcadores de diagnóstico y pronóstico del cáncer de mama (12) y de enfermedades cardiovasculares (13); igualmente el Antígeno Prostático Específico (PSA), enzima proteasa utilizada como marcador para el diagnóstico del cáncer de próstata (14).

Algunas proteasas son específicas para la escisión del enlace peptídico en una proteína específica, como el caso de la enzima convertidora de la angiotensina, sin embargo, muchas proteasas son relativamente inespecíficas y algunas son francamente promiscuas, actuando sobre múltiples sustratos de manera indiscriminada, tal es la descripción que se hace de la Proteinasa K, considerada una serina-proteasa de amplio espectro producida por un hongo *Tritirachium álbum*, de uso en técnicas de biología molecular (15).

Clasificación

El Comité de Nomenclatura de la Unión Internacional de Bioquímica y Biología Molecular

las ha nombrado según la reacción que catalizan, identificándolas de manera general como hidrolasas (Grupo 3), subgrupo 4, que hidrolizan enlaces peptídicos. Las proteasas fueron clasificadas inicialmente como endopeptidasas y exopeptidasas según la ubicación del enlace peptídico de interés en la molécula sustrato. Además, las exopeptidasas están divididas en: aminopeptidasa, si actúa en el extremo amino terminal de la cadena y carboxipeptidasa si lo hacen sobre el enlace peptídico del extremo C-terminal. Sin embargo, la información disponible en cuanto a estructura y mecanismos de acción ha hecho posible un nuevo esquema de clasificación, que considera la estructura terciaria y los sitios catalíticos, agrupándolas en clanes y estos divididos en familias (<http://www.merops.sanger.ac.uk>) (Tabla 1) (16).

Cada clan provee información acerca de la estructura catalítica de la enzima y toma su nombre del aminoácido principal o metal presente en el sitio activo:

Aspártico peptidasa (A): Son proteasas ácidas (E.C.3.4.23), específicamente endopeptidasas, que se caracterizan por una secuencia conservada de aspártico -glicina- treonina en su sitio activo. Se encuentran distribuidas en una amplia variedad de microorganismos, donde desempeñan funciones importantes en la nutrición y la patogenia, además de poseer otras características, como alta actividad catalítica y estabilidad en pH ácido, lo que las vuelve atractivas para su uso en industrias como la alimentaria, específicamente en la industria láctea (17). Por otro lado, en el área farmacológica, se ha identificado y caracterizado peptidasas aspárticas en *T. cruzi* que pueden ser utilizadas como moléculas blanco para el diseño de fármacos que inhiban la acción de enzimas

Tabla 1. Sistema MEROPS de clasificación de proteasas.

Nivel	Descripción
Peptidasas	Las peptidasas se distinguen entre sí por diferencias en la actividad enzimática, por la estructura y por el origen genético
Familia	Una familia incluye a todas las peptidasas que presentan homología de su secuencia aminoacídica, particularmente en la región de la molécula responsable de la actividad enzimática
Clan	Un clan es un conjunto de familias en las que todas las peptidasas han evolucionado a partir de un único ancestro. Las familias en el mismo clan tienen en común que las peptidasas que las integran exhiben tipos de plegamiento similar

que están relacionadas con la transformación de tripomastigotes en amastigotes y el desarrollo intracelular de amastigotes del parásito (18).

Cisteína peptidasa (C): llamadas también tiol-proteasas (E.C. 3.4.22), están presentes en procariotas y eucariotas. Su actividad depende de una diada catalítica cisteína-histidina cuyo orden difiere entre familias, siendo las más importantes: la papaína (EC 3.4.22.2), las calpaínas (EC 3.4.22.52/53), la clostripaína (E.C 3.4.22.8) y la interleukina β 1 convertasa o de las caspasas (EC 3.4.22.36), estudiadas por su relación con la muerte celular programada o apoptosis (19,20).

Se sabe que existen cisteína-proteasas responsables de muchos procesos bioquímicos que ocurren en los organismos vivos. Por otro lado, también están implicadas en el desarrollo y la progresión de varias enfermedades basadas en el recambio anormal de proteínas. En este orden de ideas, las calpaínas son enzimas dependientes del calcio que determinan el destino de las proteínas a través de la actividad proteolítica regulada. No solo participan en la modulación de la memoria, sino que se consideran clave para la patogénesis de la enfermedad de Alzheimer (EA) de aquí que la identificación y caracterización de estas enzimas cobre particular importancia, así como el estudio de sus inhibidores en la búsqueda de la terapéutica para frenar el avance de la enfermedad. En este sentido, Hasanbasic y col., explican que la inhibición de la calpaína también mejora la memoria de trabajo espacial y la memoria de miedo asociativa debido a la restauración de los niveles normales de fosforilación del factor de transcripción CREB (21).

Métalo peptidasa (M): son hidrolasas (EC 3.4.24) en las que se requiere una molécula de agua activada por uno o dos cationes metálicos para hacer el ataque nucleofílico sobre el enlace peptídico. De manera general el catión es divalente, frecuentemente zinc, aunque en algunos casos, el zinc puede ser reemplazado por otro metal como cobalto o níquel sin pérdida de la actividad. Están presentes en organismos superiores y su función es degradar proteínas de la matriz extracelular. También se relacionan con la activación de factores de crecimiento y con adhesinas. Se han observado cinco tipos: colagenasas, gelatinasas, estromelisin, metaloproteasas de membrana (MT-MMP) y otras MMP. Las enzimas de esta familia formadas por un solo catión presentan un centro catalítico conservado formado por dos residuos histidina que se unen al catión y un residuo glutamato. Las metalo-peptidasas con

un solo ion metálico catalítico pueden ser exo o endopeptidasas mientras que todas las metalo-peptidasas con iones metálicos co-catalíticos son exopeptidasas. Actualmente en la base de datos MEROPS se encuentran registrados 16 clanes y más de 60 familias (22).

En referencia a estas enzimas, cobra importancia médica las presentes en el veneno de serpientes, se sabe que aproximadamente el 30% del contenido del veneno de los vipéridos son metaloproteasas, por lo que estas enzimas estarían fuertemente ligadas al proceso de envenenamiento, en particular al efecto hemorrágico, así como a la degradación de proteínas tisulares y plasmáticas (23). Estas proteínas no sólo son de utilidad para la investigación del envenenamiento sino como herramientas en el análisis de procesos biológicos diversos como la agregación plaquetaria y la apoptosis.

Serina peptidasa (S): Las peptidasas serínicas (EC 3.4.21) se caracterizan por la presencia de un residuo de serina en el sitio activo, que actúa como nucleófilo sobre el enlace peptídico que será escindido. Están presentes en virus, bacterias y en eucariotas y cumplen roles vitales en los organismos. Son activas generalmente en pH alcalino o neutro (7.0 - 11.0) y no requieren de activadores, aunque algunas proenzimas son activadas por iones calcio (16). Su estructura primaria de 4 clanes sugiere que los mismos tienen ancestros distintos y que evolucionaron originando el resto de serina - proteasas. El mecanismo de acción es común usando una triada catalítica (serina-nucleófilo; aspartato-electrófilo; histidina-base). Es inhibida irreversiblemente por fenil metil sulfonil (PNSF) y diisopropil fluorofosfato (DFP). Realizan funciones significativas en una amplia gama de procesos biológicos, como el metabolismo de proteínas intra y extracelulares, la digestión, la coagulación de la sangre, la regulación del desarrollo y la fertilización. Por ejemplo, se han identificado varias serina-proteasas en helmintos parásitos que tienen roles importantes en el desarrollo y la nutrición de los parásitos, la invasión de tejidos y células del huésped, la anticoagulación, entre otros. La caracterización molecular y bioquímica de las serina-proteasas derivadas de estos parásitos es, por tanto, fundamental para la comprensión de la interacción helminto-huésped y el control exitoso de las infecciones por helmintos (24).

Glutámico proteasas (G): Han sido aisladas principalmente de hongos y la familia G1 contiene actualmente peptidasas de cinco especies de *Ascomycota*. Se caracterizan por presentar

estructura terciaria con diada catalítica formada por residuos glutamina y glutamato que activan el agua como nucleófilo y estabilizan el intermediario tetraédrico (25).

Peptidasa de tipo desconocido (U): son enzimas peptidasas agrupadas sin considerar el mecanismo catalítico (EC 3.4.99), se conoce su secuencia de aminoácidos y se han denominado “U” de unclassified. Además, se les asigna un número arbitrario como por ejemplo la familia U32 para peptidasas de *Geobacillus thermoleovorans* (26), U28 que contiene la dipeptidasa E de *E. coli*, así como otras nomenclaturas, como en el caso de la colagenasa HpPrtC de *H. Pylori*, y que se han relacionado con la patogenicidad o factores de virulencia de estos microorganismos (27).

Degradoma

Los avances en el estudio del genoma han permitido identificar proteasas en animales, plantas, hongos y bacterias, aplicando el término degradoma al conjunto de proteasas expresadas en un momento específico por una célula, tejido u organismo (28) y degradómica al estudio de todas las vías y reacciones en las que las proteasas participan a través de un conjunto de técnicas específicamente destinadas a caracterizar el degradoma para alimentar bases de datos que permitan el acceso libre a la información (29).

Usos

Para fines industriales las proteasas se han clasificado en tres grandes grupos según el pH óptimo para su función: neutras, cuya fuente principal son las plantas; acídicas, provenientes de hongos (25) y alcalino-proteasas aisladas a partir de microorganismos (30). Esta clasificación es importante por la naturaleza del producto y el proceso industrial que involucre el uso de la enzima, igualmente se han considerado mejoras en la resistencia a altas temperaturas propias de los procesos industriales.

Farmacéuticos: Las funciones esenciales de las proteasas en el comportamiento celular, supervivencia y muerte de todos los organismos, las alteraciones en los sistemas proteolíticos subyacen en múltiples patologías, como el cáncer, los trastornos neurodegenerativos y las enfermedades inflamatorias y cardiovasculares. Por consiguiente, muchas proteasas son un foco principal de atención para la industria farmacéutica como objetivos potenciales de fármacos o como biomarcadores de diagnóstico

y pronóstico. Se ha reportado actividad sérica de exoproteasas que permitirían predecir tipos de cáncer (31). Así mismo conocer con precisión el mecanismo de activación de una proteasa puede proveer el potencial mecanismo por el que podría ser modulada artificialmente (32).

Detergentes: El uso de enzimas para mejorar el rendimiento de los detergentes ha sido implementado desde los años 60, para disminuir el consumo de agua, reemplazar el uso de ingredientes sintéticos y disminuir el consumo de energía. Recientemente se ha probado la eficacia de proteasas de origen animal y microbiano para mejorar la eficiencia de marcas comerciales de detergentes (33,34), destacando además la ventaja de utilizar productos de desecho de la industria de la goma como sustrato para favorecer el crecimiento bacteriano (35).

Alimentos: la elaboración de alimentos implica el control de aspectos relacionados con el valor nutricional y el contenido proteico. Esto incluye digestibilidad, modificaciones en textura, y sabor, beneficios a la salud tales como capacidad antioxidante y reducción de compuestos alergénicos. Muchos de estos procesos son desarrollados a través del uso de proteasas específicas. La hidrólisis de proteínas se ha utilizado para modificar propiedades funcionales de proteínas en los alimentos, por ejemplo, solubilidad, gelificación, emulsificación, entre otros. La proteólisis, además de disminuir el peso molecular también incrementa el número de grupos ionizables y puede exponer grupos hidrofóbicos, lo que cambia las interacciones físicas o químicas (36).

Otro aspecto relevante es el relacionado con alérgenos alimentarios. Las alergias alimentarias son definidas como respuestas inmunológicas adversas a la ingesta de algún alimento. Los alérgenos alimentarios son generalmente proteínas y la porción de proteína reconocida por la IgE (mediador de la respuesta inmune) es llamada epítope, que puede ser lineal o secuencial dependiendo de la estructura primaria de la proteína. Para “romper” el epítope se utilizan proteasas y en algunas ocasiones un tratamiento térmico (37).

Obtención

Las fuentes principales para la obtención de proteasas de uso industrial son hongos, levaduras, bacterias y plantas según las características y uso que se requieran. Cepas de *Bacillus subtilis*,

B. amyloliquifaciens, *B. lichiniformis* son utilizadas para la obtención de proteasas alcalinas. Otras cepas de especies como *Staphylococcus*, *Flavobacterium*, *Serratia*, *Alcaligenes*, *Vibrio*, *Brevibacterium*, *Pseudomonas* y *Halobacterium* también son reconocidas por producir proteasas de uso industrial (38)

En los hongos, *Aspergillus* es el grupo predominante para la producción de proteasas, sin embargo, estudios con cepas de *Ophiostoma*, *Myxococcus*, *Penicillium*, *Rhizopus* y *Neurospora*, han demostrado que se obtienen enzimas con buen rendimiento (39). La naturaleza de algunos procesos industriales requiere enzimas “mejoradas” que puedan hacer su actividad en rangos extremos de pH y temperatura, de allí que se haya implementado la producción de proteasas recombinantes.

Proteasas Recombinantes

El uso de proteínas recombinantes ha revolucionado la biotecnología, debido a la posibilidad de producirla en cantidades suficientes a fin de poder analizarla y encontrar aplicaciones para la industria. Entre los microorganismos de uso más frecuente para la producción de proteínas recombinantes se encuentra *E. coli*. (40). La ventaja de usar *E. coli* como organismo huésped es que ha sido ampliamente estudiada y su genoma es conocido. Además, es un microorganismo de crecimiento rápido en medios de cultivo sin requerimientos especiales o costosos (41). Los aspectos más importantes para la producción de proteínas recombinantes son: eficiencia transcripcional y traduccional, estabilidad del vector de expresión y de los ácidos ribonucleicos (ARN) transcritos, estabilidad de las moléculas ante el ambiente proteolítico del hospedero y la localización y plegamiento de la proteína (40). También es necesario hacer un estudio con diferentes cepas del organismo huésped y seleccionar la más adecuada para la expresión de la proteína recombinante deseada. Un caso relevante de producción de proteasas de interés farmacológico lo constituye la estreptopaina, una cisteína proteasa secretada por *S. pyogenes* que es crítica para la infectividad total del huésped debido a su capacidad para escindir las proteínas del huésped (plasminógeno, fibrinógeno), péptidos antimicrobianos y anticuerpos. Esta proteasa también se conoce como SpeB (exotoxina pirogénica

estreptocócica B) porque inicialmente se creía que tenía actividad superantigénica, sin embargo, ahora se conoce que la actividad originalmente detectada era causada por contaminación o co-purificación con superantígenos y por lo tanto, la producción recombinante en un sistema de *E. coli* y la purificación por cromatografía de afinidad resultó una opción para obtener una proteína pura y activa (42)

Métodos Para Caracterización

El método más directo para verificar la actividad proteasa es monitorear la hidrólisis de un sustrato. Para esto los péptidos deben ser aislados e identificados por lo que se han utilizado métodos como electroforesis y zimografía en 1 y 2-D para evidenciar la aparición y características de los fragmentos (43). Sin embargo, la actividad proteolítica puede ser indirectamente monitoreada usando sondas sustrato que contienen una región parecida al sustrato y que permitirían evitar el proceso de separación de los péptidos. Las sondas son diseñadas de manera específica y pueden estar acopladas a fluoróforos que se activan cuando se produce la ruptura en la región específica del sustrato (44).

Una visión más amplia de los métodos de estudio se plantea a través de enfoques de la degradómica (tabla 2).

Consideraciones Finales

El Proyecto Genoma ha proporcionado una visión amplia y en los últimos años más detallada de la composición y características del degradoma, información que ha sido utilizada para mejorar la calidad de vida del ser humano. Sin embargo, queda mucha información por procesar, enzimas por clasificar y caracterizar, definición de sus sustratos, entre otras cosas, investigación que ya se realiza a través del uso de bioinformática, minimizando así el impacto que dichas investigaciones pudieran tener sobre el ambiente. Los procesos evolutivos y de adaptación implican la expresión de nuevos genes y por tanto la aparición de nuevas enzimas, producto principalmente del exposoma. Los avances en degradómica y los distintos enfoques contribuirán a enriquecer bases de datos con información acerca de estas moléculas, relacionadas con el comportamiento celular, supervivencia y muerte de todos los organismos vivos.

Tabla 2. Enfoques de la degradómica

Técnica	Nivel de Análisis	Objetivo	Limitaciones
DNA microarrays chips	Transcriptoma	ARN mensajero	El nivel de expresión no está relacionado con la abundancia de proteínas.
Protease específico protein chips	Proteoma	Proteína-proteasas	Abundancia no refleja necesariamente la actividad
Proteasa-activity chips	Proteoma	Proteasa activa	Actividad no necesariamente indica el sustrato escindido. Medida de niveles absolutos sin considerar el recambio de la proteasa
Sustrato chips	Proteoma	Sustrato	No identifica las proteasas activas. El sustrato puede no tener la correcta conformación biológica tridimensional
Espectrometría de masas bidimensional en tandem	Proteoma	Sustrato Proteasa	Fragmentos de bajo peso y fragmentos con punto isoelectrico extremo no son resueltos en geles bidimensionales. Proteínas de membrana como receptores y adhesinas son difíciles de estudiar por esta técnica
Perfil electroforético basado en inhibidores	Proteoma	Proteasa activa	Faltan sondas específicas para todas las proteasas. Es un método desnaturizante
CL-MS basada en inhibidores o anticuerpos	Proteoma	Proteasa activa	No cuantitativo
Proteómica química	Proteoma	Proteasa activa	Pequeñas cantidades de proteasas activas pueden no ser inhibidas. Problemas de toxicidad. Procesos relacionados con las proteasas pueden ser inhibidos

Adaptado de López y Overall, 2002.

Referencias

- Ferrer-Ríos MG, Moreno-Carranza B. Los grandes apellidos de la Biotecnología. Fundación General. Encuentros Multidisciplinares 2014; 47:1-10.
- Kunitz M, Northrup JH. Crystalline chymotrypsin and chymotrypsinogen. I. Isolation, crystallization, and general properties of a new proteolytic enzyme and its precursor. *J Gen Physiol* 1935; 18:433-458. doi: 10.1085/jgp.18.4.433.
- Rawlings N, Barret A, Bateman A. MEROPS: the database of proteolytic enzymes, their substrates and inhibitors. *Nucleic Acids Res* 2012; 40. doi:10.1093/nar/gkr987
- Tummers B, Green DR. Caspase-8: regulating life and death. *Immunol Rev* 2017; 277(1):76-89. doi:10.1111/imr.12541
- Li P, Zhou L, Zhao T, Liu X, Zhang P, Liu Y, *et al.* Caspase-9: structure, mechanisms and clinical application. *Oncotarget*. 2017; 8(14):23996-24008. doi:10.18632/oncotarget.15098
- García-Olivera A, Vega-Gala A, Rosales-Rodríguez J, León-Acosta P. Estreptoquinasa recombinante e Infarto agudo del Miocardio. Progaleno [revista en Internet]. 2019; 2(1):[aprox. 15 p.]. [citado 2 Noviembre 2018]. Disponible en: <http://revprogaleno.sld.cu/index.php/progaleno/article/view/72>
- Salvesen GS, Hempel A, Coll NS. Protease signaling in animal and plant regulated cell death. *FEBS J* 2016; 283:2577-2598. doi: 10.1111/febs.13616.
- López C, Bond J. Proteases: Multifunctional Enzymes in Life and Disease. *J Biol Chem* 2008; 283(45):30433-

30437. doi: 10.1074/jbc.R800035200
9. Lorenzo J. El degradoma y sus inhibidores como dianas terapéuticas. *Rev SEBBM* 2014. doi.org/10.18567/sebbmdiv_RPC.2014.04.1
 10. De Bruyn M, Vandooren J, Ugarte-Berzal E, Arijs I, Vermeire S, Opdenakker G. The molecular biology of matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases in inflammatory bowel diseases. *Crit Rev Biochem Mol Biol* 2016; 51(5):295-358. doi: 10.1080/10409238.2016.1199535.
 11. Cascales M, Álvarez A. Metaloproteinasas, matriz extracelular y cáncer. *An R Acad Nac Farm* 2010; 76(1): 59-84. [citado 2 Noviembre 2018] Disponible en: <http://www.analesranf.com/index.php/aranf/article/viewFile/1076/1082>
 12. Espinoza M, Rojas S, Leal U, Nadales M, Martínez F, Nicita G. Moléculas de adhesión endotelial (ICAM-1) e inhibidor del activador del plasminógeno (PAI-1). *Salus* 2014;18(1). [citado 2 Noviembre 2018]. Disponible en: http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1316-71382014000100005
 13. Kirchhof P, Benussi S, Kotecha D, Ahlsson A, Atar D, Casadei B, *et al.* Guía ESC 2016 sobre el diagnóstico y tratamiento de la fibrilación auricular, desarrollada en colaboración con la EACTS. *Rev Esp Cardiol* 2017;70(1):e1-e84. doi: 10.1016/j.recesp.2016.11.014.
 14. Kirby R. The role of PSA in detection and management of prostate cancer. *Practitioner* 2016; 260(1792):17-21.
 15. Truong LV, Paulsen BS, Bac VH. A novel serine protease from *Pseuderanthemum latifolium* B. Hansen: Characterization and fibrinolytic activities. *Nat Prod Res* 2019; 1-7. doi: 10.1080/14786419.2019.1656626
 16. Barrett AJ, Woessner JF, Rawlings ND, eds. *Handbook of proteolytic enzymes*. 2nd edition. Vol. 1. Elsevier, 2004, 984p. doi.org/10.1016/C2009-0-03628-9.
 17. Mandujano-González V, Villa-Tanaca L, Anducho-Reyes MA, Mercado-Flores Y. Secreted fungal aspartic proteases: A review. *Rev Ibero Micol* 2016; 33(2):76-82. doi:10.1016/j.riam.2015.10.003
 18. Sangenito LS, Gonçalves DS, Seabra SH, d' Avila-Levy CM, Santos ALS, Branquinha MH. HIV aspartic peptidase inhibitors are effective drugs against the trypanostigote form of the human pathogen *Trypanosoma cruzi*. *Int J Antimicrob Agents* 2016; 48(4):440-444. doi:10.1016/j.ijantimicag.2016.06.024
 19. Coll NS, Smidler A, Puigvert M, Popa C, Valls M, Dangl JL. The plant metacaspase AtMC1 in pathogen-triggered programmed cell death and aging: functional linkage with autophagy. *Cell Death Differ* 2014;21(9):1399-1408. doi: 10.1038/cdd.2014.50
 20. Escamez S, Tuominen H. Programmes of cell death and autolysis in tracheary elements: when a suicidal cell arranges its own corpse removal. *J Experiment Bot* 2014; 65(5):1313-1321. doi: 10.1093/jxb/eru057.
 21. Hasanbasic S, Jahic A, Karahmet E, Sejranic A, Prnjavorac B. The role of cysteine protease in Alzheimer disease. *Mater sociomed* 2016;28(3):235-238. doi: 10.5455/msm.2016.28.235-238.
 22. Cerdá-Costa N, Gomis-Rüth FX. Architecture and function of metallopeptidase catalytic domains. *Protein Sci* 2014;23:123-144. doi: 10.1002/pro.2400
 23. Bellido C, Lazo F, Ortiz C, Rodríguez E, Yarlequé A. Purificación y caracterización de una hemorragina de alto peso molecular presente en el veneno de la serpiente *Bothrops Pictus*. *Rev Soc Quím Perú* 2016;82(2):142-151. [citado 25 Octubre 2018]. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rsqp/v82n2/a05v82n2.pdf>
 24. Yang Y, Wen Yj, Cai YN, Vallée I, Boireau P, Liu MY, *et al.* Serine proteases of parasitic helminths. *Korean J Parasitol* 2015;53(1):1-11. doi: 10.3347/kjp.2015.53.1.1.
 25. Sims A, Dunn-Coleman NS, Robson GD, Oliver SG. Glutamic protease distribution is limited to filamentous fungi. *FEMS Microbiol Lett* 2004; 239(1): 95-101. doi.org/10.1016/j.femsle.2004.08.023
 26. Jasilionis A, Kaupinis A, Ger M, Valius M, Chitavichius D, Kuisiene N. Gene expression and activity analysis of the first thermophilic U32 peptidase. *Cent Eur J Biol* 2012;7(4):587-595. doi.org/10.2478/s11535-012-0047-y
 27. Zhao H, Ji X, Chen X, Li J, Zhang Y, Du Z, Li, B. Functional study of gene hp0169 in *Helicobacter pylori* pathogenesis. *Microb Patho* 2017;104:225-231. doi: 10.1016/j.micpath.2017.01.039.
 28. López C, Overall C. Protease degradomics: a new challenge for proteomics. *Nature Rev Mol Cell Biol* 2002;3:509-519 doi:10.1038/nrm858.
 29. Pérez J, Español Y, Velasco G, Quesada V. The Degradome database: expanding roles of mammalian proteases in life and disease. *Nucleic Acid Res* 2016; 44:D351-D355 doi: 10.1093/nar/gkv1201
 30. Sharma KM, Kumar R, Panwar S, Kumar A. Microbial alkaline proteases: Optimization of production parameters and their properties. *J Gen Eng Biotechnol* 2017; 15(1):115-126. doi: 10.1016/j.jgeb.2017.02.001.
 31. Li Q, Yi L, Marek P, Iverson BL. Commercial proteases: Present and future. *FEBS Lett* 2013; 17; 587(8):1155-1163. doi: 10.1016/j.febslet.2012.12.019.
 32. Villanueva J, Shaffer D, Philip J, Chaparro C, Erdjument H *et al.* Differential exoproteases activities confer tumor -specific serum peptidome patterns.

- J Clin Investig 2006;116:271-284. doi: 10.1172/JCI26022.
33. Yang P, Wang M, Li L, Wu H, He C, Yao Q. Designs, synthesis and biological evaluation of potent azadipeptide nitrile inhibitors and activity-based probes as promising anti-*Trypanosoma brucei* agents. Chem Eur J 2012;18:6528-6541. <https://doi.org/10.1002/chem.201103322>.
 34. Salazar J, Correa L, Rodríguez V, Osuna I. Estabilidad en detergentes, solventes polares y sales de proteasas alcalinas extraídas de desechos de procesamiento de sierra (*Scomberomorus sierra*). Rev Cs Nat Agrop 2015; 2(2): 263-271. [citado 2 Noviembre 2018]. Disponible en: https://www.ecorfan.org/bolivia/researchjournals/Ciencias_Naturales_y_Agropecuarias/vol2num2/Ciencias%20Naturales%20y%20Agropecuarias%20Vol%202%20Num%202%20Final_19.pdf
 35. Mardina V, Yusof F. Purification and Characterization of Surfactant-Stable Protease from *Bacillus Licheniformis*: A Potential Additive for Laundry Detergent. IJBR 2016;7(2):634-643.
 36. Tavano O. Protein hydrolysis using proteases: An important tool for food biotechnology. J Mol Catal B – Enzym 2013;(90):1-11.
 37. Sathe S, Sharma G. Effects of food processing on food allergens. Mol Nutr Food Res 2009;53(8):970-978. doi: 10.1002/mnfr.200800194.
 38. Gupta R, Chauhan B, Ramnani P, Singh R. Bacterial alkaline proteases: Recent trends and industrial applications. In: Microbial Diversity: Current Perspectives and potential applications, Satyanarayana T and Johri BN, eds., IK International Pvt. Ltd., New Delhi, 2005; 769-789.
 39. Rosano G, Ceccarelli E. Recombinant protein expression in *Escherichia coli*: advances and challenges. Front Microbiol 2014;5:1-17. doi: 10.3389/fmicb.2014.00172.
 40. García J, Santana Z, Zumalacárregui L, Quintana M, González D, Furrázola G, et al. Estrategias de obtención de proteínas recombinantes en *Escherichia coli*. Vaccimonitor 2013;22(2):30-39. [citado 2 Noviembre 2018]. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/vac/v22n2/vac06213.pdf>
 41. Choi JH, Keum KC, Lee SY. Production of recombinant proteins by high cell density culture of *Escherichia coli*. Chem Eng Sci 2006;61:876-885.
 42. Lane MD, Seelig B. Highly efficient recombinant production and purification of streptococcal cysteine protease streptopain with increased enzymatic activity. Protein Express Purif 2016;121:66-72. doi:10.1016/j.pep.2016.01.002
 43. Wilkesman J and Schroder H. Analysis of serine proteases from marine sponges by 2-D zymography. Electrophoresis 2007;28:429-436.
 44. Sanman L, Bogyo M. Activity-based profiling of proteases. Annu Rev Biochem 2014;83:249-273. doi: 10.1146/annurev-biochem-060713-035352.

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 seleccionaron 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



Acta Científica

de la Sociedad Venezolana de Bioanalistas Especialistas

CONTENTS

Vol. 21 - No. 1

2018

Editorial	1
ORIGINAL ARTICLES:	
Desempeño de los laboratorios clínicos del Distrito Metropolitano de Caracas, en el informe de resultados del uroanálisis de acuerdo con los requisitos de la ISO, CLSI Y ECLM Celsy Hernández, Patricia Blanco, Antonieta Cammarano, M ^a Fátima Garcés, Jonattan Ramos.....	2
Biomarcadores de autorreactividad en niños pre-púberes obesos con/sin resistencia a la insulina. Josefa Villasmil, M ^a Fátima Garcés, Andrea Parra, Laura Noguera, Hilda Stekman, Ana López, Ingrid Soto de Sanabria.....	10
CLINIC CASE:	
SCEDOSPORIOSIS PULMONAR: A propósito de un caso Xiomara Moreno, Carolina Macero, Mizrachí Romea, Fortunato Chocrón.....	20
REVIEW ARTICLE:	
Proteasas: Enzimas Versátiles Gabriela Romero B., Aura Palencia M	25
Information for Authors	33

Diseño y diagramación: Ana María Reyes, digivi@gmail.com

Impresión: Operagrafica Publicidad, c.a., operapublicidad@gmail.com

Soporte Web: Nexus Radical, Altamar Pérez, aperez@estudiopro.com