

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA**

**ESTABLECIMIENTO DE VALORES DE REFERENCIA DE PROTEINAS
EN ORINA DE 12 HORAS EN NIÑOS SANOS, DE AMBOS SEXOS,
COMPRENDIDOS ENTRE LAS EDADES DE 3 A 12 AÑOS,
EN LA CABECERA DEL DEPARTAMENTO DE
SUCHITEPEQUEZ, MAZATENANGO.**

Informe de Tesis

Presentado por

LUIS ALEJANDRO LOPEZ HERNANDEZ

Para optar al título de

QUIMICO BILOGO

GUATEMALA, ENERO DE 1,997

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
Biblioteca Central

06
TUH

JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y
FARMACIA

DECANO	LIC. JORGE RODOLFO PEREZ FOLGAR
SECRETARIO	LIC. OSCAR FEDERICO NAVE HERRERA
VOCAL I	LIC. MIGUEL ANGEL HERRERA GALVEZ
VOCAL II	LIC. GERARDO LEONEL ARROYO CATALAN
VOCAL III	LIC. RODRIGO HERRERA SAN JOSE
VOCAL IV	BR. ANA MARIA RODAS CARDONA
VOCAL V	BR. HAYRO OSWALDO GARCIA GARCIA

DEDICO ESTA TESIS

- A: Dios, de quien proviene toda sabiduría y vida.
- A: La Universidad de San Carlos de Guatemala.
- A: La Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.
- A: Mis padres Luis Rolando y Gilda por todo su apoyo y por haberme guiado a la meta hoy alcanzada, con su amor y ejemplo.
- A: Mi hermano Erick Roberto con cariño y agradecimiento por toda su ayuda.
- A: Mi esposa María de los Angeles por brindarme su amor, apoyo incondicional y darme la inspiración necesaria para seguir adelante.
- A: Mis amigos con afecto.

AGRADECIMIENTOS

A: Licda. Ingrid Tabarini por su atinada asesoría, colaboración y paciencia.

A: Lic. Federico Nave por su asesoramiento estadístico.

A: Laboratorio Clínico López y Meneses por la ayuda brindada.

A: Las personas e instituciones que de alguna u otra manera colaboraron con la realización de éste trabajo.

INDICE

I. Resumen.....	1.
II. Introducción.....	3.
III. Antecedentes.....	4.
A. Definición de proteínas.....	4.
B. Clasificación de las proteínas.....	5.
C. Propiedades de las proteínas.....	8.
D. Proteinuria.....	10.
E. Edad y factores nutricionales.....	17.
F. Valores de referencia.....	24.
G. Métodos de análisis de proteínas en orina.....	27.
IV. Justificaciones.....	31.
V. Objetivos.....	32.
VI. Hipótesis.....	33.
VII. Materiales y métodos.....	34.
A. Universo.....	34.
B. Muestra.....	34.
C. Materiales.....	34.
D. Procedimiento.....	34.
E. Diseño experimental.....	38.
VIII. Resultados.....	40.
IX. Discusión de resultados.....	43.
X. Conclusiones.....	45.
XI. Recomendaciones.....	46.
XII. Referencias.....	47.
Anexos.....	52.

I. RESUMEN

En el presente estudio se determinaron los valores de referencia de proteínas en orina de 12 horas en 110 niños sanos comprendidos entre las edades de 3 a 12 años de edad. El estudio se llevó a cabo en el Municipio de Mazatenango (extensión de 356 kilómetros cuadrados, 38319 habitantes, 371.13 metros sobre el nivel del mar, clima cálido), cabecera del Departamento de Suchitepequez.

Debido a que en varios lugares (especialmente Hospitales Nacionales) se ha estado utilizando la muestra de orina de 12 horas para la determinación de proteínas, sin contar con valores de referencia, se realizó el presente estudio para determinar de una manera científica y adecuada dichos valores de referencia en el período comprendido entre las 7:00 a.m. y las 7:00 p.m..

La toma de muestra se realizó en aquellos niños que cumplieron con las siguientes características: 1- ser procedentes y radicar en Mazatenango, 2- estar entre los 3 y los 12 años de edad, 3- estar exentos de cualquier proceso patológico y 4- ser normales en cuanto a peso y talla según las tablas del National Center for Health Statistics (NCHS). Para recolectar la muestra les fueron proporcionados envases oscuros; así mismo los padres de familia y los maestros encargados de los niños recibieron las instrucciones pertinentes para una adecuada toma de muestra, la cual fué fijada en el período comprendido entre las 7:00 a.m. y las 7:00 p.m.

Se utilizó para la determinación de la concentración de proteínas en orina de 12 horas la técnica turbidimétrica de ácido tricloroacético al 12.5 por ciento con estandar de albúmina al 0.03 por ciento y leída en un espectrofotómetro a 420 nm.

Los resultados obtenidos fueron sometidos a las pruebas de Chi-cuadrado y Lilliefors para verificar si la distribución de datos se comporta de una manera normal o no.

Después de realizadas dichas pruebas se concluyó en que los resultados no se comportan de una manera normal por lo cual se procedió al calculo del intervalo de referencia por medio de los percentiles 5 y 95, con lo cual se obtuvo un rango de 0.002 a 0.099 g/12 horas, que corresponden a los límites inferior y superior de los valores de referencia de proteínas en orina de 12 horas en niños sanos de 3 a 12 años de edad.

De esta manera se observa que los valores obtenidos para niños normales de 3 a 12 años son distintos a los de proteínas de 24 horas de adultos dividido por dos, que corresponderían a 0.025 a 0.075 g/12 horas.

II. INTRODUCCION

La detección y cuantificación de proteínas es un parámetro de gran importancia para el diagnóstico de distintas enfermedades, tanto renales (glomerulonefritis, síndrome nefrótico) como no renales (trastornos hepáticos, alteraciones de las proteínas plasmáticas tales como la albúmina).

Sin embargo en la cuantificación de dichos parámetros se encuentran algunos problemas, principalmente cuando los pacientes son niños, ya que es difícil obtener una muestra de orina de 24 horas adecuada y correcta en dichos pacientes; otro problema muy importante es que en nuestro medio no encontramos "valores de referencia" correspondientes a proteínas en orina de 12 horas de niños.

El presente trabajo de investigación tuvo como principal objetivo establecer valores de referencia para proteínas en orina de 12 horas de niños comprendidos entre las edades de 3 a 12 años, y cuya muestra fué recolectada en el periodo comprendido de las 7:00 a.m. a las 7:00 p.m. Así mismo se pretendió reducir los inconvenientes que conlleva la recolección de una muestra de 24 horas.

La muestra constó de 97 orinas de 12 horas provenientes de 97 niños sanos de ambos sexos, residentes en la Cabecera del Departamento de Suchitepéquez, Mazatenango.

El método que se utilizó para la detección y cuantificación de las proteínas en orinas de 12 horas fué el método turbidimétrico de Acido Tricloroacético.



III. ANTECEDENTES

A. Definición de Proteínas

Las proteínas están entre los compuestos más importantes del organismo animal (1). Propiamente, la palabra proteína deriva del griego "proteicos", que significa "primero" (1).

Las proteínas son polímeros lineales de α -aminoácidos unidos covalentemente por medio del sistema de síntesis protéica de la célula, el enlace peptídico que une aminoácidos adyacentes durante la síntesis de proteínas es un fuerte enlace covalente, en el cual los átomos están acoplados porque comparten un electrón (2,3). El orden real, o secuencia de aminoácidos de una proteína, está predeterminado por el código genético dentro de la célula. La secuencia de información genética del ADN es transcripta al ARN mensajero, que es traducido en el citoplasma con formación de proteínas. La secuencia específica de los aminoácidos en la proteína se designa como "estructura primaria" (2).

La "estructura secundaria" de las proteínas corresponde a la conformación tridimensional de las cadenas polipeptídicas lineales, estas pueden ser de tres tipos: 1- α hélice, 2-cadena β plegada y 3-espiral dispuesta al azar (2). Cuando una cadena polipeptídica está en solución, es suficientemente flexible como para doblarse, permitiendo que las cadenas laterales interaccionen entre sí. Si bien la energía de interacción de cada grupo lateral es pequeña, la energía neta de todas estas interacciones es suficientemente alta como para estabilizar las proteínas en una disposición espacial

tridimensional compleja plegada, que se denomina "estructura terciaria". La estructura terciaria exclusiva de cada proteína, le confiere sus propiedades biológicas específicas (2).

Las cadenas polipeptídicas plegadas están organizadas a menudo como agregados, con polipéptidos idénticos o diferentes. El número o tipo específico de cadenas polipeptídicas determina las propiedades específicas de todo el complejo. La organización espacial de estas proteínas de múltiples cadenas se denomina "estructura cuaternaria". Habitualmente las propiedades biológicas de tales proteínas cuaternarias constituidas por subunidades es la suma de las propiedades de cada cadena aislada (2).

B. Clasificación de las Proteínas

Atendiendo a las propiedades físicas de las proteínas y a su composición química, las mismas se pueden dividir en dos grupos principales: simples y conjugadas (2).

B.1 Proteínas simples

Generalmente no asociadas con otras especies químicas (2).

B.1.1 Proteínas Globulares

Relativamente simétricas, solubles en agua o en soluciones salinas (2).

B.1.1.1 Albúmina

Proteína de mayor concentración en el suero (2,4). Debe su nombre a las técnicas antiguas de separación de las proteínas, en las cuales la albúmina permanecía soluble en solucio-

nes de agua pura (4).

La albúmina puede encontrarse en cantidades de 35 a 50 gramos por litro de plasma sanguíneo (4). Una de las funciones de la albúmina es el mantenimiento normal de la presión osmótica así como el transporte de ácidos grasos y otras sustancias como los lípidos (4).

B.1.1.2 Globulinas

Al igual que la albúmina, su nombre data desde las antiguas técnicas para separación de proteínas, por las cuales las globulinas permanecían disueltas en la presencia de sales (4). Con la aplicación de nuevas técnicas para la separación de proteínas como la electroforesis, se descubrió que existe una sola clase principal de albúmina y diferentes grupos de globulinas con diferente movilidad, que se denominaron alfa, beta y gama (4).

Sin duda alguna el grupo más importante de globulinas son las gama globulinas, conocidas también con el nombre de inmunoglobulinas, las cuales son un grupo notable de moléculas proteínicas efectoras de la rama humoral de la inmunidad; estas globulinas comparten entre sí muchas similitudes antigénicas, estructurales y biológicas pero al mismo tiempo poseen diferencias importantes en la secuencia primaria de aminoácidos que hacen que sus funciones de anticuerpo y su actividad biológica sean muy específicas en su papel de defensa corporal (5).

B.1.1.3 Histonas

Proteínas básicas, asociadas con ácidos nucleicos (2).

B.1.1.4 Protaminas

Proteínas fuertemente básicas, asociadas con ácidos nucleicos (2).

B.1.2 Proteínas Fibrosas

Proteínas asimétricas insolubles en agua o soluciones salinas diluidas. Muy resistentes a la mayoría de las enzimas proteolíticas (2).

B.1.2.1 Colágeno

Proteínas principales del tejido conectivo, con elevado contenido de hidroxiprolina (2).

B.1.2.2 Elastinas

Halladas en el tejido elástico como los tendones y arterias (2).

B.1.2.3 Queratinas

Proteínas principales de pelos, uñas, cuernos y otros tejidos animales (2).

B.2 Proteínas Conjugadas

Estas proteínas están combinadas con sustancias diferentes de los aminoácidos. Se consideran formadas por dos componentes: una proteína o apoproteína y un grupo no protéico o prostético. La capacidad de disociación de ambos componentes varía de uno a otro grupo (2).

B.2.1 Nucleoproteínas

Los grupos prostéticos son ácidos nucleicos (ADN o ARN) (2).

B.2.2 Mucoproteínas

En las cuales gran cantidad (más del 4 por ciento en

peso) de hidratos de carbono complejos están unidos covalentemente a la proteína (2).

B.2.3 Glucoproteínas

Contienen también residuos hidrocarbonados unidos covalentemente, pero generalmente en cantidad menor al 4 por ciento en peso (2).

B.2.4 Lipoproteínas

Contienen colesterol, triglicéridos y fosfolípidos asociados con proteínas muy insolubles en agua (2).

B.2.5 Metaloproteínas

Contienen metales fuertemente unidos a la proteína, ya sea como iones o como metales complejados, como en las flavoproteínas y hemoproteínas (2).

B.2.6 Fosfoproteínas

Contienen altas concentraciones de grupos fosfato, unidos covalentemente a la proteína (2).

C. Propiedades de las Proteínas

C.1 Propiedades Químicas

Están basadas en las sumas de las propiedades individuales de sus componentes, es decir los aminoácidos y grupos prostéticos (2).

C.2 Propiedades Físicas

Una de las más importantes características físicas de las proteínas es la carga neta de la molécula proteica, es decir, la suma de todas las cargas iónicas de los aminoácidos, hidratos de carbono y grupos prostéticos de la proteína. Dado que los diversos grupos químicos se ionizan a diferentes

pH, la carga neta de una proteína varía con el mismo. El pH en el cual la proteína no presenta una carga neta se denomina "pI" o "punto isoelectrico". Por ende, el pI de una proteína es el punto en el cual el número de grupos cargados positivamente es igual al número de grupos cargados negativamente. A un pH mayor que pI, la proteína estará cargada negativamente, en tanto que a un pH inferior al pI, estará cargada positivamente. A pH fisiológico, la mayoría de las proteínas presentan carga negativa. Esta característica constituye la base de numerosos procedimientos de cuantificación y separación de proteínas (2).

Otra importante característica física es la capacidad que poseen las proteínas hidrosolubles halladas en los líquidos orgánicos, las cuales pueden volverse insolubles en presencia de una amplia variedad de agentes desnaturizantes o precipitantes que incluyen solventes orgánicos (acetona, acetonitrilo, etc.), metales pesados (ácido tungstico), ciertas sales (hidróxido de cinc y sulfato de amonio) y ácidos fuertes (ácido sulfosalicílico, ácido tricloroacético y ácidos minerales). La capacidad de precipitar proteínas fuera de la solución mediante el uso de una o más sustancias constituye la base de algunos análisis clínicos de rutina. El análisis turbidimétrico de líquido cefalorraquídeo y la detección de proteínas en la orina son los ejemplos más comunes (2).

C.3 Propiedades Biológicas

Todas las proteínas cumplen alguna función fisiológica o

biológica, las cuales incluyen transporte de moléculas pequeñas, receptores, catalíticos; funciones estructurales, función nutricional (fuentes de calorías y aminoácidos), regulación de la presión oncótica, defensa del hospedero contra antígenos extraños, función de hormonas, sistema de coagulación, entre otras (2,6).

Como puede verse las proteínas cumplen muchas funciones metabólicas, por lo cual cualquier desorden en el metabolismo de las mismas puede causar daños al estado de salud de la persona (como en el caso de que se elevan las lipoproteínas de baja densidad, las cuáles son factor de riesgo para enfermedad coronaria)(7).

D. Proteinuria

Proteinuria se define como la presencia de proteínas en la orina y es uno de los principales parámetros utilizados en el diagnóstico de enfermedades renales (2,8,9,10). Así por ejemplo la proteinuria junto con la hematuria son los principales hallazgos que se encuentran en la Glomerulonefritis membranoproliferativa (10).

La utilidad de la evaluación de proteinuria radica en que aún cuando los cambios patológicos a nivel del riñon son mínimos, estos pueden ser puestos de manifiesto con la sola detección de proteinuria; ésto es muy importante en el síndrome nefrótico donde inicialmente se producen cambios mínimos, pero que son capaces de producir proteinuria (11). También es de gran utilidad para detectar la nefropatía diabética (principal causa de mortalidad en diabéticos)(12).

Para establecer el diagnóstico de enfermedades renales la detección de proteinuria suele asociarse con otro tipo de exámenes de laboratorio como lo son la cuantificación de nitrógeno de urea y creatinina (12,13). Sin embargo es necesario mencionar que estos parámetros pueden ser utilizados para establecer otro tipo de información; así por ejemplo el nitrógeno de urea y la creatinina son importantes en el establecimiento de la severidad del daño producido por algún tipo de trauma (13). Así también la medición de 3 metilhistidina asociada con la creatinina en orina de 24 horas, puede ser utilizada como ayuda para la determinación de daño muscular no traumático (ya que la 3 metilhistidina está asociada con el catabolismo de proteínas musculares), con la desventaja de que la creatinina se ve afectada por traumas e infecciones (14). También puede utilizarse la proteinuria para monitorear pacientes que han sido sometidos a transplante renal (15). Otro tipo de enfermedades que pueden ser monitoreadas por medio de la detección de proteínas en orina son aquellas de origen inmunológico, por ejemplo la nefropatía debida a IgA, que puede afectar a niños (16). También se ha demostrado que puede existir en niños, cierta relación entre infecciones del tracto urinario y fallo renal, comprobándose la disminución en la actividad glomerular (aumentando la cantidad de proteínas excretadas en la orina), para lo cual puede utilizarse la medición de proteínas en orina (17).

En condiciones normales, las proteínas se encuentran en

orina en cantidades muy bajas, encontrándose valores máximos de 150 mg/24 horas ó 10 mg/dl (0.150 g/24 horas ó 0.010 g/dl), dependiendo del volumen urinario (18,19,20).

La composición normal de proteína urinaria incluye cerca de 40 por ciento de albúmina, 40 por ciento de proteínas tisulares que se originan de tejidos renales y urogenitales de otro tipo, 15 por ciento de inmunoglobulinas y sus fragmentos, y 5 por ciento de otras proteínas plasmáticas (19).

Los individuos sanos pueden superar los niveles normales después de realizar ejercicios o en casos de deshidratación. Dichá proteinuria, llamada proteinuria del ejercicio, es común encontrarla en corredores de maratón y en los boxeadores. Se acompaña de una elevación de las catecolaminas y puede llevar asociadas hemoglobinuria, hematuria o incluso mioglobinuria (18,21).

La proteinuria puede aparecer también, en ausencia de enfermedad de las vías urinarias en pacientes con hemorragia o depleción salina y en las enfermedades febriles. Todas ellas pueden provocar deshidratación e isquemia renal relativa (18). Otro grupo de enfermedades donde puede ser de alguna importancia la evaluación de proteinuria son las enfermedades mentales, ya que para monitorear el tratamiento que se dá a estas personas (principalmente epilépticos) se utilizan varios parámetros como albúmina y proteínas totales, los cuales pueden alterarse si existe alguna pérdida de las mismas (como en el caso de la proteinuria)(22).

D.1 Mecanismos

Existen diversos mecanismos por los cuales puede producirse la proteinuria y estos son:

D.1.1 Concentración elevada en plasma de proteínas normales o anormales, se debe a la pérdida de hemoglobina, mioglobina o inmunoglobulinas por la orina y en principio no se asocia con enfermedad glomerular o tubular pero puede dar lugar a una alteración renal (proteinuria "por rebosamiento", como la lisozimuria en la leucemia mielomonocítica o la proteinuria de Bence Jones en el mieloma múltiple) (18,19,21).

D.1.2 Aumento de la secreción celular tubular (proteinuria de Tamm Horsfall)(19,21).

D.1.3 Disminución de la reabsorción tubular de las proteínas normales filtradas (19,21).

D.1.4 Aumento de las proteínas filtradas producido por una alteración de la permeabilidad capilar glomerular (19,21).

D.2 Clasificación

Existen varias formas de clasificar la proteinuria, dependiendo del aspecto que se tome de referencia para dicha clasificación. A continuación se presentarán las más importantes.

D.2.1 Constante

Si está presente mientras el paciente está acostado y durante la deambulacion de pie y tranquila (21).

D.2.2 Ortostática

Cuando está presente sólo en la posición de pie (21).

D.2.3 Intermitente

Si la proteinuria aparece y desaparece (21).

D.2.4 Persistente

Si la proteinuria se encuentra en todas las muestras de orina examinadas (21).

La significación exacta de la proteinuria intermitente u ortostática no está clara. La mayoría de los pacientes no muestran deterioro de la función renal, y en alrededor del 50 por ciento de ellos la proteinuria cesa después de algunos años. La presencia de una proteinuria constante o persistente es más seria. Aunque el curso es anodino en ausencia de otros indicadores de enfermedad renal como hematuria microscópica, la mayoría de los pacientes siguen mostrando proteinuria durante muchos años; pueden llegar a desarrollar un sedimento urinario anormal e hipertensión, y unos pocos progresan hasta la insuficiencia renal. Cuando la proteinuria es constante y persistente, las mediciones cuantitativas de la excreción de proteína son útiles para el diagnóstico y para seguir el progreso clínico del paciente. Estas se llevan a cabo midiendo la proteína total evacuada en un intervalo de tiempo conocido, en general 24 horas; normalmente se excretan hasta 150 mg/24 h (0.150 g/24 h)(21).

Las proteinurias también pueden clasificarse de acuerdo a la cantidad de proteínas excretadas en 24 horas; de ésta manera encontramos tres tipos principales:

D.2.5 Proteinuria intensa

Mayor de 4 g/24 h (20,23). La pérdida intensa de proteínas acompaña de forma característica el síndrome nefrótico (8,20,23,24). Este se asocia a enfermedades renales

primitivas, incluidas las idiopáticas y a enfermedades sistémicas con afectación renal (8). Entre sus causas transitorias o mecánicas se encuentran la insuficiencia cardíaca congestiva grave, la pericarditis constrictiva y la trombosis de la vena renal. Esta última puede ser también una consecuencia del síndrome, debido a la pérdida de los factores de la anticoagulación por la orina y a la elevación del fibrinógeno sérico. Una causa frecuente de proteinuria intensa es el síndrome nefrótico con mínimos cambios (también conocido como "sin lesión", "idiopático")(20,23). El síndrome nefrótico presenta una proteinuria masiva, con pérdida diaria de 4 gramos o más de proteínas, edema generalizado, hipoalbuminemia, hiperlipemia e hiperlipiduria (20,23). La proteinuria existente en el Síndrome Nefrótico se debe a que el fenómeno inicial de la enfermedad es una alteración en la pared capilar del glomérulo, lo que provoca mayor permeabilidad a las proteínas plasmáticas (8,20,23). Es importante mencionar que cualquier aumento de permeabilidad en la membrana basal glomerular, dependiente de alteraciones estructurales o fisicoquímicas, permite que las proteínas escapen del plasma hacia el filtrado glomerular (8,23). Esta es una enfermedad que responde a los corticoides y suele aparecer en niños pequeños. En los adultos, una causa muy frecuente de proteinuria intensa es la diabetes (23,25). En Africa la malaria constituye una etiología frecuente del síndrome nefrótico de la infancia. También son causas de proteinuria intensa la glomerulonefritis aguda rápidamente

progresiva y la glomerulonefritis crónica. En estos casos, a la proteinuria y lipiduria se unen con frecuencia eritrocitos, pudiendo verse cilindros hemáticos. El sedimento está a veces "telescopado" (presenta todo tipo de células y cilindros) en la nefritis lúpica o en las reacciones de hipersensibilidad. Otras causas de proteinuria intensa son la hipertensión maligna, la toxemia del embarazo, la intoxicación por metales pesados (oro, mercurio), los fármacos (penicilamina), las neoplasias en general, la amiloidosis (primaria, secundaria y del mieloma múltiple), la anemia falciforme y el rechazo del transplante renal (18). También puede haber proteinuria intensa o masiva, cuando ésta es de larga evolución o en extremo intensa, en estos casos la albúmina sérica tiende a agotarse, dando por resultado hipoalbuminemia y una relación inversa albúmina-globulina (20,23).

D.2.6 Proteinuria moderada

1 a 3 g/24 horas. La proteinuria moderada aparece en un gran número de enfermedades renales, sobre todo glomerulares, incluidas las antes señaladas, y la nefrosclerosis, la pielonefritis, el mieloma múltiple y distintas nefropatías tóxicas como la nefritis por radiación. En la pielonefritis aguda aparecen leucocitos y cilindros formados por éstos y por células tubulares. En la nefrosclerosis y en algunas enfermedades tubulares se encuentran hematíes (8,18).

D.2.7 Proteinuria mínima

menor de 1 g/24 horas. La proteinuria mínima puede

aparecer en la pielonefritis crónica, en la que suele ser intermitente, y en las fases relativamente inactivas de las enfermedades glomerulares, así como en la nefrosclerosis, en la nefritis intersticial crónica, en algunas enfermedades congénitas como el riñón poliquístico, en la enfermedad quística medular y en las afecciones tubulares. El sedimento urinario suele ser normal, pero en la nefritis intersticial se encuentran hematíes, leucocitos y células tubulares; sin embargo, también puede mostrar cambios significativos con una proteinuria de "indicios". Igualmente se encuentra proteinuria mínima en las proteinurias posturales benignas y en la proteinuria transitoria (18).

La proteinuria es a su vez causante de otros desordenes, como lo son el edema generalizado (que incluso puede llegar a agravarse hasta ser una anasarca) y la hiperlipiduria que es un reflejo de la hiperlipoproteinemia y de la mayor permeabilidad de la membrana basal glomerular (23).

E. Edad y Factores Nutricionales

Para establecer los valores de referencia primero es necesario hacer algunas consideraciones, como el grupo en el cual se hará la determinación y otros factores que servirán para descartar y/o aceptar las muestras.

E.1 Establecimiento de la edad

Desde el momento del nacimiento hasta llegar a la etapa adulta de la vida pueden hacerse ciertas divisiones atendiendo a la edad de las persona.

De esta forma encontramos que desde el momento del parto

hasta los 2 años de edad los individuos son considerados o llamados neonatos; a partir de los 3 años hasta los 12 años son considerados niños (infantes); a partir de los 13 años entran en la etapa de la pubertad, donde reciben el nombre de adolescentes para luego a los 19 años entrar en la etapa adulta (26).

E.2 Valoración del crecimiento y del desarrollo físicos

El National Center for Health Statistics (NCHS) ha realizado un amplio estudio de las características del crecimiento de los niños estadounidenses. Los niños estudiados representan una muestra de diferentes grupos étnicos y económicos; por tanto, los datos incluyen algunas diferencias genéticas, étnicas y socioeconómicas. En consecuencia, es mejor considerar los datos y las tablas realizadas por el NCHS como referencias y no como representativos de un grupo concreto de niños (26).

La utilidad de las tablas realizadas por el NCHS es relativamente duradera; ya que están relativamente actualizadas, reflejan la situación de los niños generalmente bien alimentados cuya salud es buena y porque parecen recoger la tendencia asintótica secular del aumento de estatura que se ha venido comprobando a lo largo de varios siglos (26).

Las tablas del NCHS no presentan datos sobre la relación de la distribución de la estatura y el peso según edades así como la distribución de relaciones entre el peso y la estatura con independencia de la edad. Estas últimas pueden ser especialmente útiles si se combinan con las que relacionan

la estatura y la edad. Por ejemplo, los niños con una estatura baja para su edad y que tienen un peso aceptable para su estatura pueden haber sufrido anteriormente trastornos nutricionales o del crecimiento, mientras que si tanto la estatura para la edad como el peso para la estatura son muy bajos, se puede sospechar que siguen persistiendo esos trastornos nutricionales o del crecimiento. Por el contrario, los niños con estatura normal para su edad y un peso notablemente bajo para su estatura pueden tener problemas nutricionales o de crecimiento relativamente agudos o una constitución física especial. Se debe someter a estudio a todos los niños con un peso situado por debajo del percentil 5 o por encima del percentil 95 para su estatura real (26).

La exploración física, junto con la revisión de sus antecedentes clínicos, sus hábitos alimenticios, las pautas de crecimiento de su familia y sus circunstancias psicosociales, nos permitirá saber si hay que realizar estudios más especializados (26).

E.3 Trastornos de la nutrición

E.3.1 Malnutrición

En todo el mundo, la malnutrición es una de las principales causas de morbilidad y mortalidad infantil (26).

La malnutrición puede deberse a una ingesta impropia e inadecuada o a una absorción inadecuada de los alimentos. La ingesta puede verse limitada por un suministro insuficiente, malos hábitos dietéticos, caprichos alimenticios y determinados factores emocionales. Algunas anomalías metabólicas

pueden también causar malnutrición. Las necesidades nutritivas aumentan durante el estrés y la enfermedad y durante la administración de antibióticos o de catabolizantes o anabolizantes. La malnutrición puede ser aguda o crónica, reversible o irreversible (26).

E.3.1.1 Marasmo (atrofia infantil, inanición, atrepsia)

La malnutrición grave es frecuente en las zonas con escasez de alimentos, mal conocimiento de las técnicas alimenticias o poca higiene (26).

El cuadro clínico del marasmo es el resultado de una ingesta calórica insuficiente por una dieta escasa, una mala técnica alimenticia (como en el caso de que existan malas relaciones maternofiliales), anomalías metabólicas o malformaciones congénitas. Un trastorno grave que afecte cualquier órgano puede causar malnutrición (26).

En el marasmo inicialmente el niño deja de ganar peso y luego empieza a perderlo, hasta llegar a un estado de emaciación, con pérdida de la turgencia de la piel (que adquiere un aspecto arrugado) y desaparición de la grasa lexa subcutánea. El tejido adiposo de las mejillas es el último en desaparecer y el niño presenta una cara relativamente normal durante algún tiempo antes de consumirse y marchitarse. El abdomen puede estar distendido o plano y llegar a verse las marcas de los intestinos. Se atrofian los músculos, con la consiguiente hipotonía. Puede aparecer edema. La temperatura suele ser inferior a lo normal, el pulso es lento y el metabolismo basal tiende a disminuir. Al principio, el niño

puede encontrarse irritable, pero después se halla apático y pierde el apetito. Suele estar estriñido, aunque puede aparecer la denominada diarrea de inanición (deposiciones escasas y frecuentes con contenido mucoso) (26).

E.3.1.2 Malnutrición protéica (MPC, malnutrición protéico-calórica, Kwashiorkor)

Al estar creciendo, el niño debe recibir suficiente nitrógeno en la dieta para mantener un balance nitrogenado positivo, mientras que los adultos sólo tienen que mantener el equilibrio nitrogenado (26).

Aunque la deficiencia de calorías y de otros nutrientes complica el cuadro clínico y bioquímico, los principales síntomas de la malnutrición protéica se deben al aporte insuficiente de proteínas de alto valor biológico, ya que las proteínas son sustancias muy importantes en el desarrollo de los individuos por estar directamente relacionadas con las necesidades energéticas del organismo así como con el peso y la talla corporales (27,28,29). También puede estar alterada su absorción (como ocurre en las diarreas crónicas) o aumentada su pérdida por proteinuria (nefrosis), infección, hemorragias, quemaduras o fallar la síntesis protéica (como ocurre en las hepatopatías crónicas)(26). La severidad de la desnutrición también depende de otros factores, por ejemplo se encuentra una marcada correlación entre la deficiencia en ácidos grasos esenciales (especialmente el ácido linoleico y alfa linolenico) y el grado de desnutrición (30).

Cualquiera que sea el caso es necesario dar una terapia

adecuada ya que está comprobado que la deficiencia en proteínas causa retardo en el crecimiento y en el desarrollo de los niños (31).

El Kwashiorkor es un síndrome secundario a una carencia grave de proteínas y una ingesta calórica insuficiente. Es la forma de malnutrición más grave y frecuente hoy en el mundo, sobre todo en los países en vías de desarrollo (26).

Kwashiorkor significa "niño destronado", es decir niño que ya no mama; puede ponerse de manifiesto desde los primeros meses hasta la edad de 5 años, normalmente tras destetar al niño. Aunque con el tratamiento se acelera el aumento de estatura y peso, estos niños nunca llegan a alcanzar a los niños bien nutridos (26).

Las primeras manifestaciones clínicas de la malnutrición protéica son vagas: letargo, apatía o irritabilidad. Más adelante aparecen la falta de crecimiento, la pérdida de vigor y de tejido muscular, mayor susceptibilidad a las infecciones y edema (26).

E.3.1.3 Malnutrición en niños mayores

La malnutrición en niños mayores puede ser continuación de la subalimentación iniciada anteriormente, o puede deberse a factores que surgen más tarde. En general, las causas son las mismas que las de la malnutrición en los lactantes (26).

La malnutrición no causa obligatoriamente una disminución del peso. Las manifestaciones más frecuentes son la fatiga, la lasitud, la inquietud y la irritabilidad. Los padres suelen interpretar erróneamente la inquietud y la

hiperactividad como signos de plenitud de energía. También son frecuentes la anorexia, los trastornos digestivos fácilmente provocables y el estreñimiento, y en niños mayores se puede llegar a encontrar la diarrea mucosa típica de la inanición (26).

E.3.2 Exceso de proteínas

La ingesta excesiva (especialmente si no se acompaña de agua suficiente) puede provocar la aparición de signos de deshidratación: la fiebre protéica. Los signos del exceso de proteínas son raros, pero los prematuros alimentados con una dieta rica en ellas parecen tener una mayor morbilidad. Los niños marásmicos alimentados con éstas dietas pueden presentar hiperamonemia durante la fase de recuperación; también se ha observado intoxicación protéica en niños con hepatopatías. Algunas dietas de adelgazamiento con alto contenido protéico pueden también provocar una intoxicación protéica (26).

E.3.3 Obesidad

No existe un límite exacto entre la nutrición adecuada y la nutrición excesiva; en la práctica, el diagnóstico se basa en el aspecto del niño y no en un exceso de peso arbitrario. La obesidad o nutrición excesiva es una acumulación excesiva y generalizada de grasa en los tejidos subcutáneos y en otras zonas, que se puede cuantificar midiendo el grosor del pliegue cutáneo con los instrumentos apropiados (26).

Al igual que los estados de desnutrición, la obesidad puede llevar a ciertos trastornos del metabolismo, tales como hiperlipidemia, diabetes e hipertensión (32).

vista (2).

Con el fin de establecer si una serie de resultados de laboratorio se comportan de manera normal (gausiana), existen varias técnicas estadísticas, de las cuales una alternativa simple y efectiva es graficar los datos en papel normal de probabilidad (2). También puede utilizarse el cálculo del percentil 50 (2,34). Otras pruebas estadísticas de normalidad pueden ser utilizadas, tales como la prueba del "ji cuadrado" de buena adaptabilidad y una prueba no paramétrica de "Kolmogorov-Smirnov" (K-S) de distribución acumulativa (2).

La prueba de ji cuadrado toma en cuenta la frecuencia observada para el grupo, la frecuencia esperada en el grupo y el total de grupos. Si las frecuencias observadas están en exacta coincidencia con la distribución teórica, ji cuadrado será 0 (2).

La prueba de Kolmogorov-Smirnov (K-S) puede utilizarse también para determinar si el nivel de distribución de datos observado es compatible con cierto tipo particular de distribución como la curva normal (2).

También debe agregarse que para el cálculo de valores de referencia, dichos valores pueden ser reportados de dos maneras: a- múltiplos de la mediana (rango de referencia entre 0.5 y 2.0 múltiplos de la mediana); b- Media \pm desviación estándar (rango de referencia hasta \pm 2 desviaciones estándar)(35). Es adecuado mencionar que ésto puede realizarse en el caso en que la distribución de los resultados es normal

(se comporta de forma gaussiana)(36).

En el caso de que la distribución de resultados no sea normal (no se comporta de forma gaussiana), los límites clínicos puede ser establecidos a través de un método no paramétrico tal como el que utiliza a los percentiles 2.5 y 97.5, ya que en éste tipo de método estadístico no importa que tipo de distribución tenga la variable (36). Debido a que algunos autores han mostrado desacuerdo en el uso del modelo gaussiano, es recomendable utilizar un método no paramétrico como el anterior en el que no importa el tipo de distribución que adopte la variable (37). En el caso de que la distribución sea normal también puede ser utilizado un método no paramétrico como el del Percentil Estimado, el cual ha mostrado ser muy eficiente en cualquiera de los dos tipos de distribución (38).

Sin duda alguna uno de los mayores problemas si no el más importante en el establecimiento de valores de referencia es determinar que número de muestras debe ser utilizado. Para poder establecer dicho número es necesario que el laboratorista plantee a un estadístico los siguientes puntos: 1- el tamaño del error aceptable para el laboratorio, 2- la frecuencia de varios otros errores, 3- una diferencia clínicamente importante, y 4- la variabilidad de las mediciones; con estos puntos el estadístico puede calcular el tamaño de muestra (2). Según las recomendaciones de Reed, Henry y Mason de 1971 un número adecuado de muestras para el cálculo de valores de referencia es de 120 (37). Sin embargo la res-

puesta estadística clásica al problema del cálculo de tamaño de muestra es que cuanto más observaciones hay, mejor (2).

Hay que tomar en cuenta que existen varios factores que pueden afectar el cálculo de intervalos de referencia, éstos pueden ser preanalíticos y analíticos. Entre los primeros se encuentra edad, hábitos alimenticios, género; diferencias genéticas y otros; entre los segundos encontramos recolección y procesamiento de la muestra, análisis de resultados y cualquier variación que se realice durante la obtención de resultados (34).

G. Métodos de Análisis de Proteínas en Orina

Las proteínas urinarias suelen detectarse con una prueba colorimétrica (tira reactiva), que depende de la capacidad de las proteínas, en especial de la albúmina, para alterar la reacción de color de un colorante sensible al pH (19). Estas pruebas cualitativas tal vez detecten concentraciones de proteína de tan sólo 15 mg/dl, y quizá produzcan un resultado positivo si existe una cantidad normal de proteína en un volumen concentrado de orina. A la inversa, los ritmos anormales de excreción de proteína tal vez no se detecten en grandes volúmenes de orina diluida. Por tanto, es importante valorar en cierta medida el grado de concentración de orina al considerar la importancia del resultado positivo de una prueba cualitativa para proteína. La prueba cualitativa positiva para proteína urinaria por lo regular justifica una medición más exacta de la excreción absoluta de proteína en 24 horas (19,20). De manera alternativa, la relación

proteína-creatinina de una muestra urinaria aleatoria recolectada durante el día se correlaciona bien con los valores de muestras de 24 horas (19.20).

G.1 Métodos para el análisis

Los métodos para el análisis de proteínas totales en orina pueden clasificarse en tres principales: turbidimétrico, fijación de colorantes y químico (2).

G.1.1 Turbidimetría

Se basa en la precipitación de las proteínas por medio de sustancias químicas. Los reactivos más comúnmente empleados para estimaciones turbidimétricas de proteínas son ácido tricloroacético, ácido sulfosalicílico y más recientemente cloruro de bencetonio en medio alcalino (2).

Un precipitante de proteínas tal como el ácido tricloroacético se añade a la muestra y la proteína desnaturalizada precipita en forma de una fina suspensión que se cuantifica turbidimétricamente. La turbidez varía apreciablemente con la naturaleza química del ácido precipitante, el tipo de proteína, la concentración del ácido, la temperatura y la duración del reposo una vez añadido el ácido. La cuantificación fotométrica directa depende de la dispersión de la luz más bien que de su absorción por las partículas en suspensión. Se puede utilizar cualquier longitud de onda pero, a medida que esta disminuye, aumenta la dispersión de la luz (2).

G.1.2 Fijación de Colorantes

En 1976 Bradford propuso el empleo del colorante azul

brillante de Coomassie G-250 para la estimación de proteínas a baja concentración (2). La fijación de la proteína produce un desplazamiento del máximo de absorción desde 465 nm (forma roja) a 595 nm (forma azul)(2). El aumento de absorbancia a 595 nm se utiliza para seguir el grado de la reacción. La fijación es completa en aproximadamente 2 minutos y el color es estable durante 1 hora (2).

En 1973 Pesce y Strande desarrollaron una técnica para la determinación de proteína en orina, en base a la formación de un complejo proteína-colorante con Ponceau S (2). Las muestras se mezclan con una solución de ácido tricloroacético -Ponceau S, que hace que las proteínas precipiten y fijen el colorante al mismo tiempo. El precipitado rojo se disuelve en hidróxido de sodio diluido, produciéndose una solución color violeta que se mide espectrofotométricamente a 560 nm (2). El color es estable 6 horas a temperatura ambiente (2).

G.1.3 Químico

La reacción de biuret consiste en la reacción de los iones Cu^{++} en medio alcalino con los enlaces peptídicos de la proteína (2). Dado que la reacción del biuret es demasiado insensible y adolece de interferencias cuando se aplica directamente a la orina, la proteína requiere ser primero concentrada. Esto se logra por precipitación de la proteína con ácido tricloroacético o solución etanólica de HCl-ácido fosfotúngstico. El precipitado de proteína se concentra por centrifugación. La proteína disuelta se hace reaccionar con el reactivo del biuret (2).

Más recientemente, Yatzids propuso un método para determinación de proteínas urinarias totales en el cual la proteína es precipitada con ácido tánico. El precipitado se disuelve luego con una solución acuosa de trietanolamina-cloruro férrico produciéndose un color púrpura debido a la reacción con ácido tánico en el complejo de proteínas (2).

G.2 Métodos de Referencia y Elección

La determinación de proteínas totales en orina es mucho más difícil que en suero. La concentración de proteína urinaria es normalmente baja (100 a 200 mg/l); es común que haya grandes variaciones de una a otra muestra en la composición de proteínas; la concentración de sustancias interferentes no proteicas es elevada en relación a la concentración de proteína y el contenido de iones inorgánicos es elevado. Todos estos factores afectan la precisión y exactitud de los diversos métodos (2).

De la variedad de métodos y técnicas propuestos a través de los años para la determinación de proteínas totales en orina, los procedimientos turbidimétricos son los que han ganado la más amplia aceptación; lo cual es atribuible mayormente a su sensibilidad y simplicidad, a lo cual se puede agregar el bajo costo (2,9).

IV. JUSTIFICACIONES

La demostración de proteínas en orina (proteínuria) es muy importante para el diagnóstico de múltiples patologías renales y no renales por lo cual debe contarse con valores de referencia adecuados a los distintos grupos etáreos de los pacientes en estudio. Así mismo, es de igual importancia contar con métodos y técnicas adecuados para la detección de dichas proteínas en la orina.

Debido a que el metabolismo de una persona adulta sana y de un niño sano varían considerablemente, no se deben considerar los mismos valores de referencia de proteínas en orina de 12 y 24 horas para ambos grupos de individuos. Incluso dichos valores puede variar dependiendo de la hora en que se recolecta la muestra, para lo cual en este trabajo de investigación se utilizarán muestras recolectadas en un período diurno (7:00 a 19:00 horas).

V. OBJETIVOS

Generales

- * Establecer los valores de referencia de proteínas en orina de 12 horas en una población de niños sanos.
- * Disminuir la problemática en la obtención y recolección de muestras adecuadas para la detección de proteinuria en niños.

Específicos

- * Determinar la concentración de proteínas en orina de 12 horas en niños sanos, con muestras recolectadas durante el periodo comprendido entre las 7:00 a.m. y las 7:00 p.m.

VI. HIPOTESIS

El presente trabajo de investigación no incluye hipótesis debido a que es de tipo descriptivo.

VII. MATERIALES Y METODOS

A. Universo

El universo lo comprenden los niños sanos de la cabecera del departamento de Suchitepéquez, Mazatenango.

B. Muestra

La muestra está comprendida por los niños sanos que fueron seleccionados al azar.

C. Materiales

- | | | |
|--------------|---|---|
| Equipo: | - | espectrofotómetro |
| | - | envases oscuros para recolección de muestra |
| | - | centrífuga |
| Cristalería: | - | balón aforado de 100 ml |
| | - | probeta de 1000 ml |
| | - | tubos de ensayo de 13 x 100 mm |
| | - | cubetas para espectrofotómetro |
| | - | pipetas de 1, 2, 5, y 10 ml |
| Reactivos: | - | ácido tricloroacético |
| | - | agua destilada |
| | - | albúmina bovina al 30 por ciento |
| | - | solución salina a 0.85 por ciento |

D. Procedimiento

D.1 Muestreo

El tamaño de muestra fué de 97, según cálculos estadísticos realizados en el Instituto de Investigaciones de Química Biológica (ver diseño experimental).

Para la selección de la muestra se tomaron en cuenta los niños que cumplieron satisfactoriamente con los parámetros de inclusión que se enumeran a continuación: 1- procedentes de Mazatenango; 2- de 3 a 12 años de edad; 3- excentos de procesos patológicos y 4- normales en cuanto a talla y peso corporales, según las tablas del National Center for Health Statistics (NCHS).

Se pretendió hacer un muestreo significativo de las distintas regiones de Mazatenango, para lo cual fué apropiado realizar el muestreo en algún colegio o escuela, que son lugares a donde llegan niños de las distintas regiones y que además pueden cumplir con los requerimientos necesarios para formar parte de este estudio.

La muestra fué recolectada durante el período de 12 horas comprendido entre las 7:00 a.m. y las 7:00 p.m., debido principalmente a las siguientes razones: 1- los valores que se establecieron en el presente trabajo deben ser reproducibles, por lo cual es necesario estandarizar la toma de muestra a un sólo período de 12 horas; 2- se sabe que la excreción de proteínas en orina no es constante durante un período prolongado de tiempo, sin un patrón especial, por lo que el análisis de muestras recogidas al azar puede ser desorientador (2); 3- un aumento fisiológico en la excreción protéica se observa en el mantenimiento prolongado de la postura erecta así como después del ejercicio (actividades realizadas normalmente por los niños durante el día)(2); 4- la orina debe reflejar la excreción durante un período

precisamente medido (2); 5- es necesario recoger orina que ha sido producida por los riñones durante un periodo específico (2). Debido a estas razones, en el presente trabajo proponemos una recolección de muestra durante el periodo de tiempo ya mencionado.

D.2 Recolección de Muestra

La muestra fué recolectada en envases oscuros debidamente rotulados con el nombre, lugar de procedencia, edad y sexo; previo haber llenado la encuesta de selección de muestra (ver anexo). Como ya se mencionó la muestra fué recolectada durante el periodo de 12 horas comprendido entre las 7:00 a.m. y las 7:00 p.m. Como se menciona en la literatura, las muestras para cuantificación de metabolitos no deben incluir la orina de la vejiga correspondiente a periodos anteriores al de la prueba cronometrada, por lo cual se descartó la primera orina (2).

D.3 Procesamiento

La metodología a utilizada fué la que se realiza en el Hospital General San Juan de Dios; según referencia verbal con la Licda. Ingrid Tabarini asesora del presente trabajo. Cabe mencionar que dicha técnica ha sido desarrollada a partir de la técnica original descrita por Toro y Ackerman (39).

D.3.1 Preparación de la muestra

- Homogenizar la muestra.
- Medir el volumen de orina y anotar.
- Tomar una alícuota de 10 ml.

- Centrifugar 5 minutos a 3000 revoluciones por minuto.

D.3.2 Medición de las proteínas

- En dos tubos de ensayo agregar a cada uno 1 ml de orina.
- Al primer tubo agregar 1 ml de solución salina al 0.85 por ciento (blanco), al segundo agregar 1 ml de ácido tricloroacético al 12.5 por ciento (muestra).
- Leer inmediatamente la absorbancia de la muestra contra el blanco y anotarla.
- El estandar será preparado a partir de albúmina bovina al 30 %, el mismo tendrá una concentración de 0.03 % (g/dl) y se procederá exactamente igual que con una muestra.
- Realizar diluciones en aquellas muestras en que la concentración sea demasiado alta y no sea posible una adecuada lectura de la absorbancia.

D.3.3 Cálculos

$$\frac{\text{absorbancia de la muestra}}{\text{absorbancia del estandar}} \times \frac{\text{concentración del estandar}}{\text{estandar}} = \text{g/dl}$$

Según técnica original de Toro y Ackerman (39).

Para hacer la conversión de g/dl a g/12 horas se multiplica por el volumen total de orina en 12 horas y se divide por 100. Si se hiciese alguna dilución se multiplica por el factor de dilución.

E. Diseño Experimental

E.1 Muestra

El tamaño de muestra fué obtenido según asesoramiento del Instituto de Investigaciones de Química Biológica (IIQB) así:

$$n = \frac{NC^2 \sigma^2}{D^2}$$

Donde: n = número de muestra
 NC = nivel de confianza
 σ = Varianza
 D = límite de error

NC: Nivel de confianza del 95 por ciento, entonces
 $Z-\alpha/2=1.96$

σ^2 : Para establecer la varianza se utilizaron como referencia los valores utilizados para proteínas de 24 horas siendo el rango de 0.05 a 0.15 g/24 horas, habiendo 4σ en una campana Gaussiana normal con una variación de 0.1 ± 0.025 , entonces:

$$0.005 - 0.15 = 4\sigma$$

$$4\sigma = 0.1$$

$$\sigma = 0.1/4$$

entonces la varianza estimada es:

$$\sigma^2 = 0.000625 \text{ g}^2/12 \text{ hrs.}^2$$

D^2 : es la distancia máxima que debe existir entre los valores experimentales y el valor real.

Se procedió a hacer el cálculo de n con un D igual a 0.005 así:

$$D = 0.005$$

$$n = \frac{(1.96)^2 (0.000625)}{(0.005)^2} = 97$$

Este n puede ser aumentado a discreción del investigador con el fin de mejorar la investigación (37).

E.2 Análisis Estadístico de Resultados

Los resultados primeramente fueron tabulados, luego se sometieron a pruebas de normalidad para comprobar si la distribución de los mismos se comporta de una forma normal.

Para determinar la normalidad de la distribución de datos se utilizó la prueba de Chi-cuadrado de bondad de ajuste así como la prueba de bondad de ajuste de Lilliefors para determinar si la función de la variable en estudio se ajusta a la función de la curva normal.

Luego de determinar la normalidad de la distribución de datos se procedió a determinar el intervalo de referencia por medio del cálculo de los percentiles 5 y 95, ya que estos pueden ser utilizados para grupos de datos con una distribución no normal.

VIII. RESULTADOS

Después de analizar las 110 muestras recolectadas, se obtuvieron los resultados de concentración de proteínas en orina de 12 horas, expresados en gramos en 12 horas (g/12 horas).

Tabla No. 1. Resultados obtenidos de la medición de proteínas en orina, de las 110 muestras analizadas, expresados en gramos en 12 horas (g/12 hrs).

No.	g/12 hrs	No.	g/12 hrs	No.	g/12 hrs
1	0.088	38	0.002	75	0.0005
2	0.169	39	0.011	76	0.006
3	0.038	40	0.002	77	0.006
4	0.012	41	0.026	78	0.006
5	0.008	42	0.029	79	0.018
6	0.217	43	0.004	80	0.009
7	0.022	44	0.038	81	0.003
8	0.310	45	0.009	82	0.019
9	0.099	46	0.002	83	0.016
10	0.032	47	0.0009	84	0.053
11	0.085	48	0.090	85	0.009
12	0.087	49	0.009	86	0.005
13	0.010	50	0.066	87	0.002
14	0.011	51	0.143	88	0.028
15	0.044	52	0.041	89	0.054
16	0.008	53	0.004	90	0.076
17	0.053	54	0.016	91	0.038
18	0.050	55	0.016	92	0.002
19	0.004	56	0.055	93	0.004
20	0.026	57	0.070	94	0.008
21	0.008	58	0.043	95	0.002
22	0.009	59	0.007	96	0.003
23	0.022	60	0.007	97	0.028
24	0.003	61	0.009	98	0.069
25	0.072	62	0.003	99	0.020
26	0.002	63	0.008	100	0.045
27	0.008	64	0.025	101	0.090
28	0.002	65	0.034	102	0.046
29	0.0003	66	0.035	103	0.039
30	0.0002	67	0.022	104	0.025
31	0.008	68	0.002	105	0.103
32	0.042	69	0.067	106	0.084
33	0.003	70	0.087	107	0.028
34	0.012	71	0.004	108	0.044
35	0.079	72	0.001	109	0.009
36	0.021	73	0.048	110	0.064
37	0.003	74	0.041		

Luego se realizó el análisis estadístico de los resultados, obteniéndose una media aritmética mayor que la mediana, lo cual junto con el coeficiente de sesgo (3.056) indica que existe un sesgo positivo (la distribución tiene una cola hacia la derecha).

Tabla No. 2 Principales resultados estadísticos obtenidos

Media (g/12h)	Mediana (g/12h)	Desviación Estandar	Varianza	Curtosis	Sesgo
0.035	0.019	0.046	0.002	13.052	3.056

Posteriormente los resultados fueron analizados por medio de la prueba de Chi-cuadrado (anexo No. 2) de bondad de ajuste y la prueba de Lilliefors (anexo No. 3), para determinar si la distribución es normal o no.

Después de analizar los resultados y concluir que la distribución de los mismos no es normal, se procedió a calcular el rango de referencia (valores de referencia) por medio del cálculo de los percentiles 5 y 95 de la distribución de datos. Se utilizó este procedimiento ya que los percentiles pueden ser utilizados para agrupaciones de datos que presenten una distribución normal, como en aquellos que presentan una distribución no normal (tal es el caso del presente trabajo).

Así pues, los valores de referencia se deben tomar en base al rango delimitado por los percentiles 5 y 95 de la distribución de datos:

Percentil 5 = 0.002 g/12 horas

Percentil 95 = 0.099 g/12 horas

Por lo tanto los valores de referencia determinados en el presente estudio para orina de 12 horas recolectada en el período comprendido entre las 7:00 a.m. y las 7:00 p.m. para niños sanos comprendidos entre las edades de 3 a 12 años, procedentes de Mazatenango, Cabecera del Departamento de Suchitepéquez es de "0.002 g/12 horas a 0.099 g/12 horas".

IX. DISCUSION DE RESULTADOS

Los valores encontrados en el presente estudio mostraron variación con respecto a los que actualmente se vienen utilizando como referencia para orina de 12 horas, los cuales como ya se ha mencionado con anterioridad corresponden a los valores de referencia de proteínas de 24 horas dividido por dos (0.025-0.075 g/12 horas). Esta variación puede ser debida a distintos factores, de los cuales uno de los principales es el horario en el cual se recolecta la muestra, ya que la excreción de proteínas en orina se afecta conforme a la hora y a la postura de la persona (es mayor en posición erguida), también la excreción de orina aumenta con la actividad física del individuo (un niño tiene mayor actividad física durante el día que durante la noche).

Al observar los resultados obtenidos en el presente estudio (0.002-0.099 g/12 horas) notamos como el intervalo de referencia es más amplio, lo cual nos indica que la excreción de proteínas en orina en los niños es mayor que en los adultos (debido presumiblemente a que los adultos desarrollan en su mayoría una vida sedentaria mientras que los niños tienden a tener una actividad física mayor y a pasar la mayor parte del tiempo en movimiento y de pie). Sin embargo es importante aclarar que cuando decimos que la excreción de proteínas en niños es mayor que la de los adultos nos referimos al rango o intervalo encontrado, el cual se amplía principalmente en su valor inferior (ya que 0.002 g/12 horas que es el valor establecido en este trabajo esta por debajo

del valor de adultos que sería 0.025 g/12 horas); aunque también hay una variación en el valor superior (el valor establecido en el presente trabajo es 0.099 g/12 horas y el establecido para adultos es 0.075 g/12 horas).

Esta ampliación en ambos lados del intervalo de referencia puede ser debida como ya se discutió principalmente a que los niños tienen una excreción de proteínas por la sola razón de que su actividad física es generalmente mayor que la de un adulto.

X. CONCLUSIONES

- * Los valores de referencia de proteínas en orina de 12 horas (en el período de 7:00 a.m. a 7:00 p.m.) para niños sanos de ambos sexos comprendidos entre las edades de 3 a 12 años procedentes de Mazatenango, Cabecera del Departamento de Suchitepéquez quedaron establecidos en el rango de "0.002 a 0.099 g/12 horas".
- * No se realiza una comparación estadística entre los resultados obtenidos y los valores que se vienen utilizando actualmente ya que éstos últimos no son valores establecidos sino una adaptación de los valores de referencia para orina de 24 horas de adultos, por lo cual no hay punto de comparación entre unos y otros.
- * La toma de muestra, realizada en el período de tiempo sugerido en el presente estudio fué sencilla y confiable ya que los niños fueron directamente supervisados por sus padres o maestros (los cuales anteriormente habían sido instruidos en la correcta forma de recolectar la muestra, la cual se realizó de la forma característica para muestras en periodos prolongados).

XI. RECOMENDACIONES

- * Se sabe que los adultos y los niños son diferentes en cuanto a metabolismo y actividad física, por lo cual recomendamos que para poder hacer una comparación entre los valores de referencia establecidos en el presente estudio con los de los adultos primero deben establecerse los valores de referencia para adultos bajo las mismas condiciones en las que se realizó el presente trabajo de investigación.
- * Se recomienda no utilizar como valores de referencia de proteínas en orina de 12 horas los valores de proteínas en orina de 24 horas dividido por dos ya que éste corresponde a una adaptación empírica y aunque no es objetivo del presente trabajo hacer comparación estadística entre esos valores y los establecidos en éste trabajo, se nota una clara diferencia entre ambos intervalos.
- * Se recomienda utilizar como valores de referencia para proteínas en orina de 12 horas de niños los establecidos en el presente estudio, siempre y cuando las condiciones de toma y procesamiento de muestra sean las mismas que aquí se llevaron a cabo.

XII. REFERENCIAS

1. Fessenden JR., Fessenden JS. Química Organica. 2 ed. México: Grupo Editorial Iberoamérica, 1983. XVI + 1075 p (p.858,884).
2. Kaplan LA., Pesce AJ. Química Clínica: Técnicas de Laboratorio-Fisiopatología-Métodos de Análisis. 1 ed. Argentina: Editorial Médica Panamericana S.A., 1992. XVII + 1739 p (p.349-359,487,1082,1084-1087,1180,1558-1564).
3. Stansfield WD. Genética. 3 ed. México: McGraw-Hill Interaamericana de México, S.A. de C.V., 1992. VIII + 574 p (p.344-345).
4. McGilvery RW., Goldstein GW. Bioquímica: Aplicaciones Clínicas. 2 ed. México: Nueva Editorial Interamericana S.A. de C.V., 1986. XIII + 1025 p (p.24, 623,637).
5. Bellanti JA. Inmunología. 3 ed. México: Nueva Editorial Interamericana S.A. de C.V., 1986. XV + 662 p (p.98).
6. Preissner KT., Wasemuth R., Müller-Berghaus G. Physicochemical Characterization of Human S-protein and its Function en the Blood Coagulation System. J Bioch 1985; 231:349-355.
7. Luc G., Fruchart JC. Oxidation of Lipoproteins and Atherosclerosis. Am J Clin Nutr 1991; 53:206-209.
8. Yuan TC., et al. Renal Disease in Type I Glycogen Storage Disease. N Engl J Med 1988; 318:7-11.
9. Lynch MJ, Raphael SS., Mellor LD., Spare FD., Inwood

- MJH. Métodos de Laboratorio. 2 ed. México: Nueva Editorial Interamericana S.A. de C.V., 1988. Volumen I. X + 1522 (p.97,106,114-115).
10. Uri SA. Pediatric Nephrology. The Ped Clin of North Am 1995; 42:1459-1468.
 11. Trachtman H., et al. Increased Urinary Nitrite Excretion in Children with Minimal Change Nephrotic Syndrome. J Ped 1996; 128:173-176.
 12. Herrera HW. Diagnóstico Temprano de Nefropatía Diabética. Universidad de San Carlos de Guatemala (Tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 1993. 44 p (p.1-15).
 13. Malayappa J., et al. Aminoaciduria of Severe Trauma. Am J Clin Nutr 1989; 49:814-822.
 14. Sjölin J., et al. Evaluation of Urinary 3-methylhistidine excretion in infection by measurements of 1-methylhistidine and the Creatinine Ratios. Am J Clin Nutr 1989; 49:6270.
 15. Barbara C., et al. Swallowing Dysfunction in Nephropathic Cystinosis. N Engl J Med 1990; 323: 565-570.
 16. Wyatt RJ., et al. IgA Nephropathy Long Term Prognosis for Pediatric Patients. J Ped 1995; 127:913-919.
 17. Dick PT., Feldman W. Routine Diagnostic Imaging for Childhood Urinary Tract Infections: A Systematic Overview. J Ped 1996; 128:15-22.

18. Henry JB. Todd-Sanford-Davideohn: Diagnóstico y Tratamiento Clínicos por el Laboratorio. 8 ed. Barcelona, España: Salvat Editores S.A., 1988. Tomo I XXIV + XLVIII + 1774 p (p.513-515).
19. Wyngaarde JB., Smith LH. CECIL: Tratado de Medicina Interna. 18 ed. México: Interamericana McGraw-Hill, 1991. Volumen I XXXIX + 1393 p (p.557,574-576).
20. Isselbacher KJ., et al. Harrison's: Principles of Internal Medicine. 9 ed. USA: McGraw-Hill, 1980. XXVIII + 2073 p (p.215-216,1285,1319).
21. Merck & Co., Inc. El Manual Merck de Diagnóstico y Terapéutica. 8 ed. Barcelona, España: Ediciones Doyma S.A., 1989. XXXII + 2944 p (p.1772-1723).
22. Villate OND. Cuantificación de Parámetros Bioquímicos en Pacientes con tratamiento por más de un año de Carbamezapina, Internados en el Hospital Nacional de Salud Mental. Universidad de San Carlos de Guatemala (Tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 1993. 53 p (p.1,12-17).
23. Robbins SL., Kumar V. Patología Humana. 4 ed. Mexico: Interamericana McGraw-Hill S.A de C.V., 1987. XVI + 798 p (p.465-499).
24. Kaufman CE. Fluid and Electrolyte Abnormalities in Nephrotic Syndrome. Postgrad Med 1984; 76:135-137.
25. The Diabetes Control and Complications Trial Research Group. The Effect of Intensive Treatment of Diabetes on the Development and Progression of Long-Term

- Complications in Insulin-Dependent Diabetes Mellitus. *N Engl J Med* 1993; 329:977-986.
26. Behrman RE., Vaughan VC. Nelson: Tratado de Fediatria. 13 ed. México: Interamericana McGraw-Hill, 1989. Volumen I XXII + 813 p (p.6-30,144-148).
27. Hudson CA., et al. Protein Utilization by Young Women Consuming Animal or Plan Protein Diets at Various Levels of Vitamin B-6 Intake. *Am J Clin Nutr* 1989; 49:636-645.
28. Fjeld CR., et al. Body Composition of Children Recovering from Severe Protein Energy Malnutrition at two Rates of Catch-up Growth. *Am J Clin Nutr* 1989; 50: 1266-1281.
29. DeMichele SJ., et al. Enteral Nutrition With Structured Lipid: Effect on Protein Metabolism in Thermal Injury. *Am J Clin Nutr* 1989; 50:1295-1302.
30. Marin MC., et al. Interrelationship Between Protein-energy Malnutrition and Essential Fatty Acid Deficiency in Nursing Infants. *Am J Clin Nutr* 1991; 53:466-468.
31. Kandil H., et al. Nitrogen Balance an Protein Turnover During the Growth Failure in Newly Born Low-Birth-Weight Infants. *Am J Clin Nutr* 1991; 53:1411-1417.
32. Jensen MD., Haymond MW. Protein Metabolism in Obesity: Effects of Body Fat Distribution an Hyperinsulinemia on Leucine Turnover. *Am J Clin Nutr* 1991; 53:172-176.
33. Caputo MJ. The Use os Probability Plots an Log-Transformations in Normal Range Determinations. *Am J of Med Tech* 1972; 38:1-5.

34. Garry PJ., et al. Clinical Chemistry Reference Intervals for Healthy Elderly Subjects. Am J Clin Nutr 1989; 50:1219-1230.
35. Martínez JLH. Valores de Referencia de Alfa-Fetoproteína en Mujeres Embarazadas que asisten al Hospital de Gineco Obstetricia del Instituto Guatemalteco de Seguridad Social (I.G.S.S). Universidad de San Carlos de Guatemala (Tesis de Graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 1995. 48 p (p.29).
36. Roulet ES. Determinación del Valor de Referencia para Calcio en Orina de 24 horas en Niños de Ambos Sexos Comprendidos entre las edades de 0 a 5 años, de la Ciudad Capital de Guatemala. Universidad de San Carlos de Guatemala (Tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 1995. 56 p (p.22-23).
37. Reed AH., Henry RJ., Mason WB. Influence of Statistical Method Used on the Resulting Estimate of Normal Range. Clin Chem 1971; 17:275-284.
38. Mansod MF. Nonparametric Percentile Estimate of Clinical Normal Ranges. Am J of Med Tech 1976; 43:243-252.
39. Toro G., Ackerman PG. Practical Clinical Chemistry. 1 ed. Boston: Little Brown and Company, 1975. XIX + 779 p (p.180-182).

Anexo No. 1

Encuesta

Nombre _____

Edad: años _____ meses _____ Sexo _____

Dirección o lugar de localización _____

Peso (lb) _____

Estatura (m.cm) _____

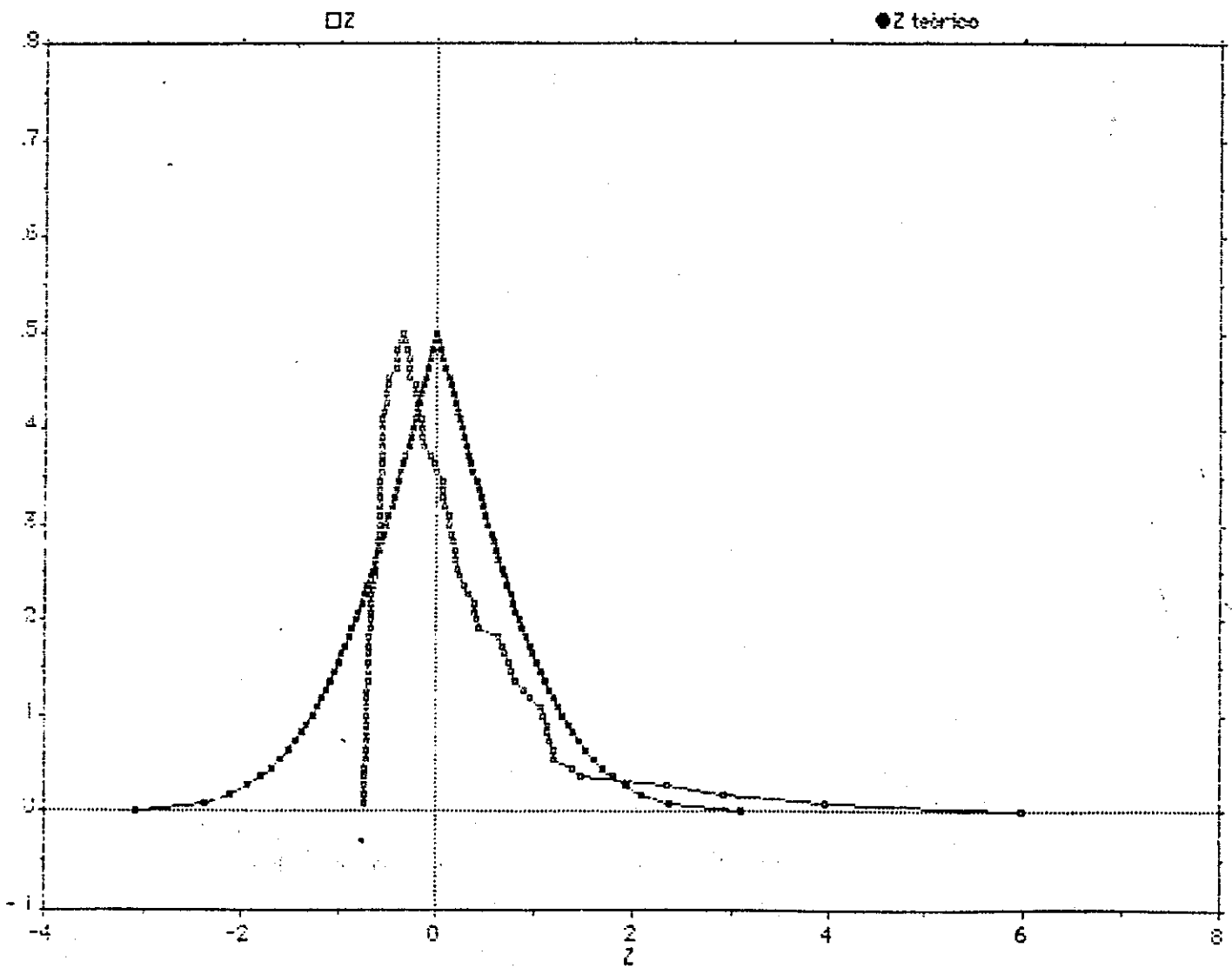
Estado de salud actual _____

Para uso del encuestador:

Ubicación según tablas del NCHS (percentiles) _____

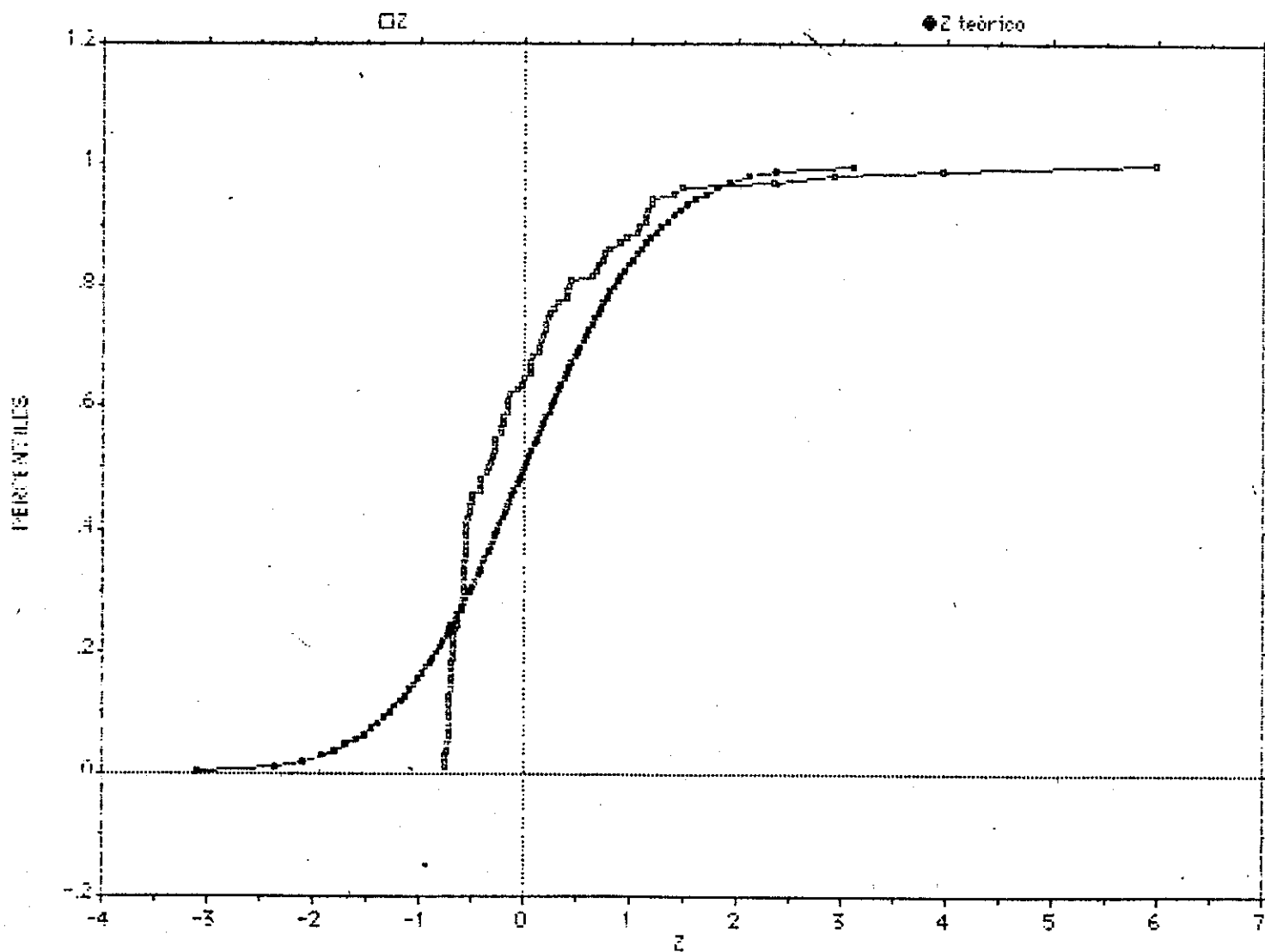
ANEXO No. 2

Comparación entre una distribución normal y la distribución de datos del presente estudio, por medio de la campana de Gauss.



ANEXO No. 3

Gráfico de la prueba de bondad de ajuste de Lilliefors.



Luis Alejandro López Hernández
Perista

Licda. Ingrid Tabarini
Reusora

Lic. Bernardo Lemuel Arroyo Catalán
Director

Lic. Jorge Rodolfo Pérez Poljar
Decano

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS GT
Biblioteca Central