

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

Determinación de valores de referencia para la Hormona Paratiroidea Intacta por Electroquimioluminiscencia en una población adulta sana comprendida entre los 20 a 40 años en el área metropolitana de la ciudad de Guatemala.

María del Rosario Cordoba Mena

Química Bióloga

Guatemala, Enero de 2006.

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

Determinación de valores de referencia para la Hormona Paratiroidea Intacta por Electroquimioluminiscencia en una población adulta sana comprendida entre los 20 a 40 años en el área metropolitana de la ciudad de Guatemala.

Informe de Tesis

Presentado por

María del Rosario Cordoba Mena

Para optar al título de

Química Bióloga

Guatemala, Enero de 2006.

INDICE

	Pagina
I. RESUMEN	1
II. INTRODUCCION	3
II. ANTECEDENTES	
A. Hormona Paratiroidea	5
1. Anatomía	5
2. Biosíntesis	5
3. Secreción y regulación	6
4. Acción hormonal	8
5. Metabolismo	10
6. Condiciones Patológicas	11
a. Hipercalcemia	11
b. Hipocalcemia	11
c. Hiperparatiroidismo primario	11
d. Hiperparatiroidismo secundario y terciario	13
e. Hipoparatiroidismo	13
f. Modificaciones de la función paratiroidea por enfermedades originadas en otros sistemas.	14
g. Proteína relacionada con la hormona paratiroidea.	14
B. Consideraciones Farmacológicas que modifican la función paratiroidea.	15
C. Variaciones de la Hormona Paratiroidea	17
D. Técnicas de Medición de la PTH.	18
1. Radioinmunoensayo	18
2. Ensayo inmunométrico, no competitivo para PTH intacta.	19
3. Electroquimioluminiscencia	20
a. Principio de la prueba	21
E. Determinación de calcio y fósforo	22
1. Calcio	22
a. Regulación	22
b. Función	23
c. Fisiopatología	24
d. Método para la determinación de calcio	24

2. Fósforo	25
a. Regulación	25
b. Función	25
c. Fisiopatología	25
d. Método para la determinación de fósforo	26
F. Valores biológicos de referencia	26
1. Valores de referencia	26
2. Individuos de referencia	27
3. Límites de referencia	27
4. Intervalos de referencia	27
5. Distribución de referencia	27
6. Criterios de inclusión y exclusión	28
G. Selección de individuos de referencia	28
H. Exclusión de individuos del grupo de referencia	29
I. Factores pre-analíticos	31
J. Manejo estadístico de los valores de referencia	32
K. Control de calidad	32
III. JUSTIFICACION	35
IV. OBJETIVOS	36
V. HIPOTESIS	37
VI. MATERIALES Y METODOS	38
VII. RESULTADOS	46
VIII. DISCUSION DE RESULTADOS	52
IX. CONCLUSIONES	54
X. RECOMENDACIONES	55
XI. REFERENCIAS	56
XII. ANEXOS	60

I. RESUMEN

La hormona paratiroidea es una hormona de importancia clínica, ya que es un parámetro valioso para el diagnóstico de diversas enfermedades, tales como hipocalcemia, hipercalcemia, enfermedades metabólicas óseas, hiperparatiroidismo primario, secundario y terciario así como hipoparatiroidismo. Por lo tanto, es importante determinar los valores de referencia apropiados para la población guatemalteca, con un método y en condiciones adecuadas (2,3 y 9). Los valores de referencia utilizados actualmente son tomados de poblaciones con distintos factores nutricionales y ambientales a los de nuestro país. Uno de estos factores es la exposición de una población a los rayos UV del sol, que modifican los niveles de esta hormona (4).

El objetivo de este estudio fue determinar los valores de referencia para la hormona paratiroidea intacta por el método de electroquimioluminiscencia, en una población adulta sana comprendida entre las edades de 20 a 40 años en el área metropolitana de la ciudad capital de Guatemala. Se estudiaron 240 individuos siendo estos, donadores voluntarios de sangre en el banco de sangre del Hospital General San Juan de Dios, a los cuales se les midió su talla y peso y se les realizó un cuestionario previo a la extracción sanguínea.

El análisis de las muestras se realizó utilizando el equipo automatizado Elecsys® para la determinación de PTH intacta. Debido a que la hormona paratiroidea juega una función muy importante en la homeostasis del calcio, y de igual manera en las concentraciones de fósforo estos también fueron evaluados en cada individuo participante (2,13).

Se implementó un control de calidad interno utilizando sueros control normal y anormal, PreciControl Bone 1,2 y 3. Roche® para la prueba de PTH, los cuales fueron medidos cada 30 muestras. Para la prueba de calcio y fósforo se utilizó el control

Precinorm – U. Roche®, realizando una determinación cada 10 muestras. Se analizó el resultado de los sueros control determinando medias, desviación estándar y coeficiente de variación para cada analito y luego se realizaron gráficas de Levey-Jenings y se utilizó los criterios de más o menos dos desviaciones estándar, para aceptar estos resultados.

Los resultados obtenidos se analizaron utilizando estadística descriptiva, para determinar si correspondían a una distribución normal, se utilizó la prueba de Shapiro - Wilk. Por medio de esta prueba, se comprobó que los datos se alejan del modelo de distribución normal, por lo que se estimaron los percentiles 2.5 y 97.5 para obtener los límites de referencia. Para este análisis se utilizó el programa STATA 6.0.

Los intervalos de referencia encontrados en este estudio fueron de 23 pg/mL como límite inferior y 77 pg/mL como límite superior. Se calcularon los límites de referencia para el género masculino un valor mínimo de 23 y máximo de 74 pg/mL, para el género femenino el valor mínimo fue de 24 y el máximo de 82 pg/mL. Al comparar los valores obtenidos por género se observó un entrecruzamiento entre los mismos, por lo que la diferencia entre ambos no se considera significativa. La media de las concentraciones de calcio fue 10.05 mg/dL y para el fósforo 3.52 mg/dL, valores que se encuentran dentro del rango normal de referencia del método utilizado.

De acuerdo a los resultados obtenidos en este estudio se puede concluir que no existe diferencia estadísticamente significativa entre los valores de referencia para la hormona paratiroidea obtenidos en este estudio y los reportados en la literatura utilizando el método de electroquimioluminiscencia. Por lo tanto los valores reportados por la literatura pueden ser utilizados como valores de referencia para la población adulta de 20 a 40 años de edad de la ciudad capital de Guatemala.

II. INTRODUCCION

Al realizar la interpretación de un dato de laboratorio, es necesario tomar una decisión por comparación del dato medido u observado en un individuo con relación a un intervalo de referencia confiable. Estos se utilizan para determinar si un valor observado sugiere la presencia de enfermedad o no. Los valores de referencia que proveen las casas fabricantes de reactivos, puede que no se adecuen a nuestra población de pacientes, ya que éstos datos son tomados de poblaciones con factores nutricionales y ambientales ajenos a los de nuestro país. En Guatemala no se cuenta con valores y límites de referencia específicos para la hormona paratiroidea, es importante que cada laboratorio establezca sus intervalos de referencia, los cuales servirán como guía para realizar un diagnóstico médico y un manejo terapéutico adecuado.

El valor de referencia se obtiene de una concentración medible obtenida de un único individuo o de un grupo de individuos correspondientes a un mismo estado de salud definido, el cual debe ser detallado y accesible para que otras personas puedan hacer uso de dicho valor. Para la determinación de los valores de referencia en este estudio, se utilizarán los lineamientos establecidos por la guía del Comité Nacional de Estándares de Laboratorio Clínico de Estados Unidos de América (NCCLS), este documento proporciona los lineamientos necesarios para establecer y validar intervalos de referencia en una población determinada (13).

La hormona paratiroidea es una hormona de importancia clínica, ya que es un parámetro valioso para el diagnóstico de diversas enfermedades, tales como hipocalcemia, hipercalcemia, enfermedades metabólicas óseas, hiperparatiroidismo primario, secundario y terciario así como hipoparatiroidismo. Para la medición adecuada de esta hormona se deben tomar en cuenta varias consideraciones, debido a que dicha hormona es muy lábil, posee una vida media de 2 a 5 minutos. La literatura indica que si la muestra a analizar no se procesa inmediatamente, se deberá mantener la cadena de frío. Si no se tienen estas condiciones los valores obtenidos se ven afectados. Un factor importante que modifica los niveles de esta hormona, es la exposición de una población a los rayos ultravioleta (UV) del sol, por lo que los valores de la PTH disminuyen entre más cerca se encuentre una población del ecuador de la tierra.

En este estudio se determinarán los valores séricos de referencia para la hormona paratiroidea intacta en una población adulta comprendida de 120 hombres y 120 mujeres, entre las edades de 20 a 40 años del área metropolitana de la ciudad capital de Guatemala.

Los valores obtenidos se procesarán primeramente utilizando estadística descriptiva. Si la distribución de estos es normal, se tomará un intervalo de confianza del 95% y se utilizarán los percentiles 2.5 y 97.5. Si los datos no cumplen con una distribución normal, se realizará una transformación de los mismos, para así poder obtener los percentiles antes mencionados. Para verificar que estos valores si cumplen con una distribución normal, se aplicará la prueba de normalidad de Shapiro - Wilk.

III. ANTECEDENTES

A. Hormona Paratiroidea.

1. Anatomía

La hormona paratiroidea es sintetizada y secretada por las glándulas paratiroideas. Usualmente son cuatro glándulas dos superiores y dos inferiores, pero puede oscilar entre dos y ocho. Estas son estructuras pequeñas, ovoides y de coloración amarillo pardusco. Miden aproximadamente 6mm por 4mm por 2mm y pesan alrededor de 30mg. Las glándulas paratiroideas son estructuras usualmente pares que se encuentran incluidas en la cápsula posterior de la glándula tiroides, aunque estas pueden estar localizadas en otras partes del cuello o de la parte superior del tórax. Estas glándulas están pobladas con células de origen epitelial, las cuales se dividen en dos grupos. El primer grupo consta de células principales, las cuales son responsables de la síntesis, almacenamiento y secreción de la hormona paratiroidea. El segundo grupo de células, esta representado por células oxífilas, la función de estas células es desconocida (1-2).

2. Biosíntesis

La síntesis de la hormona paratiroidea (PTH) comienza con la transcripción del ADN del gen que codificada la hormona preproparatiroidea. El RNAm precursor es procesado hacia RNAm maduro, que es traducido para formar la hormona naciente. La PTH es inicialmente biosintetizada en el interior de las células de la glándula paratiroidea en una forma precursora denominada preproparatiroidea, la cual consta de 115 aminoácidos. La forma precursora contiene un péptido señal amino terminal o secuencia guía que se considera desempeña un papel fundamental en la identificación de la proteína

por parte de la célula como destinada a ser secretada, y posteriormente en la facilitación de su entrada en las cisternas del retículo endoplásmico rugoso en vías hacia la secreción final (1,3).

Una vez la secuencia guía ha cumplido su función es separada del resto de la hormona, esta separación intracelular genera la prohormona (pro-PTH), una forma precursora de la hormona PTH. Esta forma de hormona atraviesa los canales irregulares del retículo endoplásmico rugoso hacia el aparato de Golgi, donde la hormona es nuevamente separada, produciendo la disociación de los primeros 6 aminoácidos de la pro-PTH dando origen a la forma madura de la hormona, que es almacenada en gránulos secretorios. La prohormona no es secretada ni está presente en cantidades medibles en sangre (3).

La hormona paratiroidea intacta contiene 84 aminoácidos y tiene un peso molecular de 9450. Su actividad biológica reside en el primer tercio o su región N-terminal (segmento 1-34 aminoácidos) de la PTH intacta, la oxidación de los residuos de metionina en la posición 8 y 18 resulta en la pérdida de su actividad biológica. La porción media de la molécula es bastante inmunogénica debido a su capacidad hidrófoba y su especificidad de especie. La totalidad del proceso, desde la síntesis hasta el almacenamiento de la PTH, dura aproximadamente 15 minutos (1,2).

3. Secreción y Regulación

La hormona almacenada intacta es liberada de acuerdo con las demandas metabólicas. Las células paratiroideas responden a los niveles extracelulares de calcio a través de alteraciones en los niveles intracelulares de calcio (3).

El efecto del calcio sobre la secreción de la PTH es mediado por la unión a un receptor de calcio libre que activa intracelularmente eventos que llevan a la liberación de calcio libre de almacenamientos intracelulares. Esta elevación del calcio libre intracelular modula la secreción y biosíntesis de la PTH. Existe una relación sigmoidal entre el calcio libre y la PTH. Una supresión o secreción máxima son atenuados con una hipercalcemia o hipocalcemia moderada respectivamente. El punto medio de esta relación, o punto de equilibrio, es la concentración de calcio en la cual, la secreción de la PTH es moderadamente elevada. Los puntos de equilibrio varían de individuo a individuo y pueden ser alterados por procesos fisiológicos o patológicos. El índice de secreción de PTH está inversamente relacionado con la concentración de calcio iónico en el líquido extracelular. En presencia de niveles de calcio solo ligeramente inferiores al margen normal, debajo de 8mg/dl, la secreción de PTH aumenta en forma notable. En presencia de una elevación de calcio, 11 a 18 mg/dl, la supresión de la secreción hormonal a nivel de las células paratiroides disminuye en forma marcada pero ésta es incompleta. La incapacidad de interrumpir completamente la secreción de la hormona, puede ser la causa de ciertos trastornos hipercalcémicos. El magnesio, la vitamina D, fósforo y catecolaminas han sido reportados como influyentes en la secreción de la hormona paratiroidea (1,3).

Los niveles de PTH se ven afectados por los depósitos de 25-hidroxi-colecalciferol (25-OH-Vitamina D), que están correlacionados con los niveles de la PTH. Un buen porcentaje de 25-OH-Vitamina D es derivado de la exposición a rayos ultravioleta, el límite de referencia superior de la PTH es mayor entre más lejos se encuentre una población del ecuador. Por lo que en una población que se encuentre cerca del ecuador, los niveles de la PTH disminuirán por la mayor exposición a rayos UV (4).

4. Acción hormonal

La función principal de la hormona paratiroidea es gobernar gran parte de la homeostasis mineral, manteniendo la concentración de calcio del líquido extracelular. Esta hormona actúa directamente sobre el hueso y el riñón e indirectamente sobre el intestino a través de su efecto sobre la síntesis de 1,25-dihidroxicolecalciferol ($1,25(\text{OH})_2\text{D}$), aumentando los niveles de calcio en el suero. La producción de PTH se halla sometida a un control riguroso por la concentración de los iones de calcio séricos. Este sistema de retroalimentación es el mecanismo homeostático esencial para el mantenimiento del calcio en el LEC (1-3).

El efecto que posee esta hormona en los riñones, es de modular el transporte de calcio, fósforo y otros iones en los túbulos renales y también estimula la producción de $1,25(\text{OH})_2\text{D}$. Específicamente la PTH, aumenta la reabsorción de calcio y magnesio a nivel de la rama ascendente del asa de Henle y en los túbulos distales. Provoca una disminución de la reabsorción de fosfato a nivel del túbulo proximal y posiblemente también de los túbulos distales. Esta hormona también provoca una ligera disminución del índice de filtración glomerular. La PTH estimula la producción de $1,25(\text{OH})_2\text{D}$, por medio de la inducción de 1α -hidroxilasa, la cual estimula la absorción intestinal del calcio y fósforo (3).

Sobre el hueso la PTH posee un efecto de resorción o de formación, dependiendo de la concentración de la PTH y el tiempo de exposición. Una exposición prolongada de PTH conlleva a la resorción del hueso y pérdida de la masa ósea. La PTH actúa alterando

directamente la actividad de los osteoblastos (células formadoras de hueso) e indirectamente en los osteoclastos (células de resorción de hueso) (1).

La hormona paratiroidea actúa sobre la mucosa intestinal, aumentando la eficacia de la absorción intestinal del calcio. La vitamina D fomenta la resorción de calcio del intestino. El colecalciferol o vitamina D₃, se transforma en dos etapas: la primera de estas se produce en el hígado y la segunda en el riñón. El metabolito vitamínico muy activo sintetizado por el riñón pasa a la circulación; la hormona de las glándulas paratiroideas, fomenta la oxidación en el riñón descrita con anterioridad. La deficiencia severa y prolongada de vitamina D produce la absorción inadecuada de calcio y fósforo, y la alteración de los depósitos minerales en el hueso (3,5).

Los efectos que causa la PTH en el hueso, riñón e indirectamente en el intestino, resultan en la alteración de la concentración del calcio y fósforo en el suero y en la orina. En el suero la PTH incrementa el calcio total y libre y reduce la concentración de fósforo. En orina, la PTH incrementa el fósforo y adenosin monofosfato cíclico (AMP) y a menudo incrementa la excreción de calcio. El incremento en la excreción de calcio ocurre porque al incrementarse su concentración sérica y el aumento de su filtración, sobrepasa los efectos de la PTH en la reabsorción tubular. En ausencia de enfermedad, la elevación del calcio en el suero, reduce la secreción de PTH a través de retroalimentación negativa manteniendo así la homeostasis del calcio en la sangre (1,3).

Esta hormona ejerce su acción sobre células efectoras situadas en el hueso y riñón, interactuando con receptores de la PTH localizados en la membrana plasmática de la célula. La formación de los complejos receptor – PTH, da origen a una cascada de eventos intracelulares, tales como, la generación de AMP cíclico, activación de quinasas, fosforilación de proteínas, ingreso de calcio, incremento de calcio libre, estimulación de

fosfolipasa C con la generación de diacilglicerol y fosfoinositol, activación de enzimas y sistema de transporte y secreción de enzimas lisosomales (1).

5. Metabolismo

La PTH es rápidamente eliminada del plasma por la circulación periférica (vida media <5min). El riñón y el hígado, metabolizan la hormona intacta, liberando fragmentos inactivos (medio o C-terminal). La concentración de la PTH intacta es regulada por la secreción, metabolismo y depuración renal. Los fragmentos inactivos son removidos de la circulación principalmente por filtración glomerular. La pérdida de la función renal puede prolongar la eliminación de estos fragmentos de 1 hora en personas normales a varios días en individuos con enfermedades renales terminales. La tasa de depuración sanguínea del péptido secretado de 84 aminoácidos es más rápida que la tasa de depuración de los fragmentos biológicamente inactivos de menor tamaño, correspondientes a la región media y carboxiterminal de las moléculas derivadas del metabolismo periférico o de la secreción glandular. Por consiguiente, la determinación de la hormona paratiroidea en sangre por la mayoría de los inmunoanálisis presenta únicamente un índice global de la actividad de la glándula paratiroidea y no una medición directa de la hormona biológicamente activa (1-5).

La heterogeneidad en la circulación es consecuencia de la secreción de las glándulas paratiroideas de la hormona intacta y fragmentos inactivos y el metabolismo periférico de la hormona intacta. La secreción de la hormona intacta se ve incrementada por hipocalcemia y reducida o ausente en hipercalcemia. Los fragmentos C-terminal inactivos (fragmento medio y carboxilo) persisten en hipercalcemia (1,6).

6. Condiciones Patológicas

a. Hipercalcemia

Las principales etiologías para el desarrollo de hipercalcemia son las siguientes: 1. Incremento de la resorción ósea debido a una estimulación por factores humorales como la PTH o a factores secretados por tumores o debido a una destrucción directa del hueso por metástasis, estos explican el 90% de los casos; 2. Disminución de la excreción renal de calcio; 3. Aumento de la absorción intestinal del calcio (3).

b. Hipocalcemia

La tetania, o espasmo muscular, es el rasgo más característico de todos los signos y síntomas de la hipocalcemia aguda o crónica. Esta manifestación es la consecuencia directa del aumento de la excitabilidad neuromuscular. Los trastornos clínicos que producen hipocalcemia pueden asociarse a una deficiencia de la concentración o actividad de la PTH (1,5).

c. Hiperparatiroidismo primario

El hiperparatiroidismo, es la producción excesiva de PTH es consecuencia de tumores paratiroides o de hiperplasia que afecta a todas las glándulas. El exceso de esta hormona da lugar a hipercalcemia e hipofosfatemia se debe al efecto del exceso de la hormona paratiroidea sobre la reabsorción tubular de fosfatos. La hipofosfatemia agrava, a su vez, la hipercalcemia, en parte por el aumento de la síntesis de $1,25(\text{OH})_2\text{D}$, y en parte por el aumento de la sensibilidad ósea a la hormona. Esta condición también interfiere en

la mineralización normal del hueso, dando origen a un cuadro mixto de aumento de resorción ósea y déficit de la mineralización en las regiones adyacentes (5,7).

Una de las causas principales de hiperparatiroidismo pueden subdividirse en adenomas o hiperplasia. El hiperparatiroidismo se debe a la hiperfunción de una o varias glándulas paratiroides. Los adenomas tienden a afectar las glándula aisladas, mientras que la hiperplasia compromete a múltiples glándulas. Se cree que la hiperplasia de una sola glándula (adenoma solitario) origina aproximadamente del 80% de los casos (5,7), existe un segundo grupo en el que todas las glándulas muestran hiperfunción; este grupo se le denomina hiperplasia paratiroidea de células principales y constituye aproximadamente el 15% de todos los casos (7).

El hiperparatiroidismo puede existir como una condición independiente o estar asociado con otros trastornos endocrinos en una categoría designada como neoplasia endocrina múltiple (NEM). La NEM tipo I consiste en la presencia de lesiones en la hipófisis, páncreas y glándulas paratiroides. La NEM tipo II-A son consiste en hiperparatiroidismo, carcinoma medular de la tiroides y feocromocitoma. El tipo II-B consiste en un carcinoma medular de la tiroides, feocromocitoma y neuromas mucosos. Las manifestaciones clínicas corresponden a la de la enfermedad subyacente e hipercalcemia (5).

El hiperparatiroidismo sintomático se presenta predominantemente como una osteopatía o una nefrolitiasis. Las alteraciones óseas incluyen osteoporosis y reabsorción subperióstica. Las manifestaciones inespecíficas del hiperparatiroidismo incluyen la aparición de síntomas neuromusculares vagos, letargia leve, trastornos de conducta, probable úlcera péptica, pancreatitis aguda o crónica, dolor abdominal inespecífico, cálculos vesiculares e hipertensión. En presencia de niveles séricos de calcio mayores de

130mg/L, es posible observar casi siempre anormalidades del sistema nervioso central y con concentraciones de 170mg/L, es frecuente observar un estado de estupor y coma (2).

d. Hiperparatiroidismo secundario y terciario.

El hiperparatiroidismo secundario, es la respuesta fisiológica de las glándulas paratiroides normales a la hipocalcemia, se considera como una respuesta biológica compensatoria a la hipocalcemia. La PTH se incrementa antes que los niveles de calcio se presenten anormalmente bajos. A medida que el calcio sérico se eleva hacia niveles normales, la secreción de PTH debe disminuir en forma correspondiente. El estado más común se observa en pacientes con insuficiencia renal, cuyos riñones son incapaces de excretar fósforo. El fósforo sérico aumenta lo que determina una disminución secundaria del calcio sérico, esto estimula la secreción de PTH con el fin de restaurar el nivel de calcio sérico. Este mecanismo se lleva a cabo principalmente a expensas de una desmineralización ósea. Este proceso usualmente puede ser controlado mediante el tratamiento adecuado de la insuficiencia renal. Otras formas de hiperparatiroidismo secundario se observan en los estados de osteomalacia, debido a la malabsorción de calcio a través del tracto gastrointestinal o una pérdida renal excesiva de calcio. Esta condición resuelve cuando se trata la causa que originó la hipocalcemia (1,2).

En el hiperparatiroidismo terciario se emplea para describir la situación en que las glándulas paratiroides crónicamente hiperestimuladas, hiperplásicas e hiperactivas del hiperparatiroidismo secundario pierden su sensibilidad a la influencia supresora de las concentraciones normales de calcio (anexo no. 2). Es entonces cuando las glándulas hiperplásicas secretan cantidades anormalmente elevadas de hormona paratiroidea, produciendo hipercalcemia (2).

e. Hipoparatiroidismo

El hipoparatiroidismo aparece como consecuencia de la extirpación quirúrgica de las glándulas paratiroides, de atrofia idiopática (autoinmune) de las glándulas paratiroides o refractividad congénita de los tejidos blanco a la hormona paratiroidea (seudohipoparatiroidismo). La deficiencia de la hormona o la refractariedad a su acción provoca reducida absorción de calcio del intestino, menor resorción de las sales de calcio del hueso y disminución de la depuración de fosfato. El calcio sérico desciende y aumenta el fosfato en el suero (anexo no. 2). Si el calcio sérico desciende a menos de 8 mg/dl, puede presentarse un cuadro de síntomas moderados de tetania. El tratamiento adecuado para estas condiciones son lactato de calcio y vitamina D (3,8).

f. Modificaciones de la función paratiroidea por enfermedades originadas en otros sistemas.

La enfermedad renal puede estimular indirectamente la secreción de PTH de varias formas. La primera, en la acidosis tubular renal, la pérdida de calcio por la orina tiende a disminuir la concentración sérica de calcio, estimulando así la secreción de PTH. En segundo lugar esto puede presentarse en la uremia, debido a la poca capacidad de los riñones y el bajo índice de filtración para excretar fosfato, conduce a hiperfosfatemia. Las altas concentraciones de fosfato extracelular, tienden a formar complejos insolubles con el calcio, reduciendo de esta manera la concentración de calcio ionizado y estimulando la secreción de PTH. Otra forma es con pérdida avanzada de tejido renal carecen de la capacidad de convertir formas relativamente inactivas de vitamina D a 1,25-dihidroxicolecalciferol; en consecuencia, se produce una hipocalcemia, lo que activa la secreción de PTH (6,7,9).

g. Proteína relacionada con la hormona paratiroidea (PTH-rP)

La proteína relacionada con la PTH fue la descubierta por primera vez en tumores situados en pulmones, tejido mamario, riñones, encéfalo y músculo liso. PTH-rP está compuesta de 141 aminoácidos y comparte una considerable homología funcional y estructural. Sus primeros 13 aminoácidos son iguales a los de la PTH. Sus acciones incluyen la unión y activación de un receptor de la PTH, por esto simula los efectos biológicos de la PTH en hueso, riñones e intestino. PTH-rP aumenta la resorción ósea estimulando los osteoclastos y promueve la reabsorción en el túbulo renal de calcio. El efecto neto de la PTH-rP es elevar la concentración de calcio sérico. La PTH-rP ejerce importantes influencias durante el desarrollo, sobre el calcio y la biología del hueso. En los fetos, la PTH-rP dirige el paso transplacentario de calcio y en el tejido mamario se producen elevadas concentraciones de la misma que pasan a la leche. La leche humana y bovina contienen, elevadas concentraciones de la hormona. Se desconoce cuál puede ser el significado biológico de este hecho. La PTH-rP podría desempeñar también un papel en la contracción uterina (10).

Los niveles de PTH-rP son normales en pacientes con hiperparatiroidismo primario, hipoparatiroidismo, enfermedad renal crónica y otras condiciones como hipercalcemia. PTH-rP es medible por numerosos ensayos inmunocompetitivos así como cromatografía de afinidad y otras técnicas de purificación (7,10).

B. Consideraciones farmacológicas que modifican la función paratiroidea.

Toda droga que eleve la concentración en el suero de iones calcio tiende a suprimir la secreción de PTH. Se incluyen entre ellas diversas sales de calcio y las vitaminas D y A, en grandes dosis. De la misma manera toda droga que disminuya la concentración de iones calcio en el suero tiende a aumentar la secreción de PTH. Estas incluyen a los

agentes fijadores del calcio, como el ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), citrato y fosfato. Los diuréticos tiacídicos disminuyen la depuración del calcio renal y por eso se disminuye el calcio urinario, elevando los niveles de calcio séricos. Los agonistas de los receptores betaadrenérgicos como la adrenalina y los agonistas de los receptores de H-2 aumentan la secreción de la PTH, aunque su importancia fisiológica no se conoce. Algunos fármacos como el propranolol y la cimetidina no disminuyen de forma reproducible los niveles circulantes de PTH. El magnesio controla la secreción hormonal de la misma manera que el calcio, pero en menor intensidad. No es probable que las variaciones fisiológicas de la concentración de magnesio modifiquen la secreción paratiroidea, aunque la deficiencia intracelular grave de magnesio se asocie a una secreción defectuosa de la hormona (7).

Los medicamentos que se mencionan a continuación influyen en el metabolismo del calcio, y pueden inhibir la resorción osteoclástica ósea, por lo que pueden aumentar la concentración de PTH. La modalidad más usada para este propósito es un bisfosfonato (como el pamidronato). El uso de otros agentes, como la calcitonina, mitramicina, o nitrato de galio, es menos común. Los bisfosfonatos son una de las alternativas farmacológicas más eficaces para el control de la hipercalcemia. Se unen a la hidroxiapatita en el hueso calcificado, haciéndolo resistente a la disolución hidrolítica por medio de fosfatasas, inhibiendo de esta manera tanto la resorción ósea normal como la anormal. Otros bisfosfonatos son etidronato y el pamidronato (11).

La calcitonina y la plicamicina tienen un efecto hipocalcémico más rápido que los bisfosfonatos; El pamidronato reduce con mayor frecuencia las concentraciones de calcio sérico a índices normocalcémicos que la calcitonina o la plicamicina. La calcitonina es un hormona peptídica secretada por células especializadas en la tiroides y paratiroides. Su

síntesis y secreción normalmente aumentan en respuesta a las altas concentraciones de calcio ionizado sérico. La calcitonina se opone a los efectos fisiológicos de la hormona paratiroidea en la reabsorción del calcio tubular renal y óseo. Los glucocorticoides tienen eficacia como agentes hipocalcémicos principalmente en tumores que responden a los esteroides (p.ej., linfomas y mieloma) y en pacientes cuya hipercalcemia está asociada con un aumento de síntesis o consumo de vitamina D (sarcoidosis e hipervitaminosis D). Los glucocorticoides aumentan la excreción de calcio urinario e inhiben la absorción gastrointestinal de calcio mediada por vitamina D (3,11).

En la terapia de sustitución hormonal, puede emplearse inyecciones de PTH exógenas para corregir las anomalías metabólicas del hipoparatiroidismo, es inconveniente utilizar de esta forma de terapia ya que, después de un tiempo, su eficiencia resulta ser limitada por la producción de anticuerpos. Esta terapéutica es totalmente inefectiva en el pseudohipoparatiroidismo (3).

C. Variaciones de la hormona paratiroidea.

Los niveles de la hormona paratiroidea pueden cambiar en diversas etapas de la vida. En niños y adolescentes se han reportado valores ligeramente disminuidos o muy similares a los encontrados en personas adultas (1,12). Los niveles de PTH se ven aumentados en personas de mayor edad (1).

La PTH se ha medido durante el embarazo, en sangre del cordón umbilical y neonatos. Se han reportado valores aumentados de PTH durante el embarazo, es frecuente que las paratiroides crezcan durante el embarazo, si la alimentación de la madre es pobre en calcio. El aumento de tamaño de estas glándulas causa resorción de calcio de los huesos maternos, con lo que se conserva una concentración normal de ión calcio en los tejidos

extracelulares de la madre, conforme el feto utiliza calcio para sus propios huesos. En la lactancia, el aumento de la PTH es mayor, porque se requiere de mucho más calcio en esta etapa. Los valores de la PTH se ven disminuidos en fetos y sangre del cordón umbilical, en los primeros días de vida, estos se ven aumentados. Durante la menopausia y en la posmenopausia, existe una excesiva actividad osteoclástica. La pérdida de la función gonadal (disminución de estrógenos), incrementa la producción de IL-6 que va a estimular hormonas como la PTH. (1,3,7,13)

D. Técnicas de medición de la hormona paratiroidea.

Antes de la década de los ochentas, era difícil la medición e interpretación de los niveles de la PTH, debido a la inadecuada especificidad y sensibilidad del radioinmunoensayo (RIA). Los avances en la medición de la PTH se deben a numerosas investigaciones en los últimos años de la década de los ochentas, lanzando al mercado métodos sensibles y específicos para la determinación de la PTH intacta, utilizando principios inmunométricos no competitivos. Entre estos se puede mencionar: 1) determinación de la secuencia de aminoácidos de la PTH; 2) mayor conocimiento sobre su secreción, metabolismo, depuración y formas circulantes de PTH; 3) síntesis de PTH humano (1,14).

1. Radioinmunoensayos

Los ensayos competitivos de radioinmunoanálisis (RIA) fueron introducidos en 1963 y después fueron clasificados dependiendo del fragmento sintético de PTH que éste reconociera (carboxi-terminal, amino-terminal y región media). Estos ensayos eran poco sensibles para medir la PTH humana debido a que los anticuerpos utilizados eran no homólogos (PTH bovino). Se alcanzó mayor especificidad introduciendo preparados de

PTH humano o fragmentos sintéticos como inmunógenos (9). Los RIAs para medición de PTH son divididos en dos categorías 1) RIAs que miden fragmentos inactivos de PTH y 2) RIAs que miden la PTH intacta.

Los ensayos más utilizados eran aquellos dirigidos hacia la región media y carboxi-terminal. Sin embargo, este ensayo presentaba reacciones cruzadas con secuencias de aminoácidos presentes en las regiones media / carboxi-terminal y la hormona intacta, por lo que se medían principalmente fragmentos inactivos debido a su mayor concentración en la circulación. La depuración de los fragmentos intactos de PTH se realiza a través de la filtración glomerular de allí que, los resultados de la PTH eran difíciles de interpretar, especialmente en pacientes con función renal inadecuada (1).

El segundo grupo de RIAs emplea antisuero contra la porción amino-terminal biológicamente activa. Aunque estos ensayos son menos dependientes de la función renal, su sensibilidad no es suficiente para detectar concentraciones elevadas de PTH en la mayoría de pacientes con hiperparatiroidismo primario y niveles de PTH en individuos normales (1).

2. Ensayo inmunométrico, no competitivo para PTH intacta

Este método mide PTH intacta y fueron reportados por primera vez en 1987. Dependiendo del sistema de detección se pueden dividir en inmunométricos (IRMA), cuando son radiomarcados e inmunoquioluminiscentes, cuando se utiliza una sustancia quimioluminosa como marcador del anticuerpo. Este tipo de ensayo también se le ha referido como de dos sitios, emparedado o anticuerpo marcado. Estos ensayos utilizan dos grupos de anticuerpos, uno que se utiliza como anticuerpo de captura el cual se ha movilizado sobre una superficie sólida y el segundo grupo que sirve como anticuerpos de señal el cual está marcado ya sea con un componente detectable o una enzima (9,15).

El ensayo inmunométrico posee diversas ventajas sobre el inmunoensayo competitivo (RIAs): 1) incremento de la especificidad y sensibilidad a través del uso de anticuerpos con secuencias específicas y purificados por afinidad; 2) ensayo con un rango de concentración mayor y 3) disminución del tiempo de incubación (13,16).

3. Electroquimioluminiscencia

El ensayo ha utilizar en este estudio está basado en una reacción quimioluminiscente en la que se generan especies altamente reactivas en la superficie de un electrodo a partir de precursores estables (17).

La electroquimioluminiscencia está basada en la interacción entre un quelato de rutenio (trisbipiridil-rutenio) y tripropilamida sobre la superficie de un electrodo de platino. El quelato de rutenio produce sales altamente estables que pueden acoplarse fácilmente a muchas especies biológicamente como proteínas y ácidos nucleicos. Para desencadenar una reacción electroquimioluminiscente no se requiere más que una simple excitación eléctrica. La emisión de luz se mide con un fotomultiplicador situado por encima de la célula de excitación. El trisbipiridil-rutenio, soluble en agua, es una molécula marcadora extremadamente estable a diferencia de muchos otros marcadores quimioluminiscentes. La molécula de este compuesto se regenera continuamente después de atravesar varios estados de oxidación. Por lo tanto, la magnitud de la señal electroquimioluminiscente no es exclusivamente dependiente de la cantidad de moléculas de rutenio presentes. Estas propiedades, junto con el bajo peso molecular del quelato de rutenio, permiten la obtención de anticuerpos con marcaje múltiple o de otros conjugados que presentan una elevada actividad específica (17).

Una de las mayores ventajas de la electroquimioluminiscencia es la gran capacidad de amplificación de la señal a partir de una molécula marcadora que puede ser excitada repetidas veces, lo cual permite obtener límites de detección muy bajos y amplios intervalos de medición en rápidos procesos con cortos tiempos de reacción.

La fase sólida de estreptavidina es la base de los inmunoensayos de electroquimioluminiscencia. Esta puede acoplarse a toda clase de moléculas inmunológicas biotinadas. El sistema estreptavidina-biotina es muy eficaz para la obtención de una inmunorreactividad alta y constante de los anticuerpos, antígenos o haptenos, sin que se presenten problemas por impedimento estérico debido a la fijación indirecta a la fase sólida. La electroquimioluminiscencia posee varias ventajas una de ellas es el aumento de la sensibilidad y que se reduce el tiempo de la prueba (17).

a. Principio de la prueba.

Esta prueba utiliza la electroquimioluminiscencia para determinar la PTH intacta utilizando como el principio de ensayo sandwich. Como primer paso la muestra es incubada con un anticuerpo monoclonal biotinado específico el cual reacciona con el fragmento N-terminal (compuesto por los aminoácidos de 1 a 37 de la PTH) y el anticuerpo monoclonado marcado con quelato de rutenio con el fragmento C-terminal (conformado por los aminoácidos de 38-84), reaccionan para formar un complejo sandwich. Se procede a la incorporación de micropartículas recubiertas de estreptavidina, el complejo formado se fija a la fase sólida por la interacción entre biotina y estreptavidina. La mezcla de reacción es trasladada a la célula de lectura donde, por magnetismo las micropartículas se fijan temporalmente a la superficie del electrodo. Los elementos no fijados se eliminan posteriormente. Al aplicar una corriente eléctrica definida se produce una reacción

quimioluminiscente cuya emisión de luz se mide directamente con un fotomultiplicador (18).

E. Determinación de Calcio y Fósforo.

Debido a que la hormona paratiroidea juega una función muy importante en la homeostasis del calcio, manteniendo su concentración sérica dentro de sus límites normales. Este es necesario para realizar funciones metabólicas y neurológicas que sin este mineral se verían alteradas. Las concentraciones de fósforo también se ven alteradas cuando los niveles de la PTH varían. Es por estos motivos que también se evaluarán los niveles de calcio y fósforo (2,13).

1. Calcio

El organismo adulto consume un promedio de 1 a 2 kg/día de calcio, del cual la mayor parte se localiza en el hueso. El calcio es el principal componente del hueso y es necesario para la mineralización del hueso neoformado. El calcio plasmático se encuentra en tres formas diferentes: como ion libre, unido a las proteínas plasmáticas y en menor medida como complejo difusible. La concentración de los iones de calcio libre, influye sobre muchas funciones celulares, esta depende de un control riguroso, sobre todo a través de la hormona paratiroidea. La absorción de calcio aumenta en las fases de crecimiento rápido de los niños, durante el embarazo y la lactancia, y disminuye con la edad (3).

a. Regulación:

La homeostasis del calcio se mantiene mediante dos hormonas: hormona paratiroidea y calcitrol (1,25-dihidroxitamina D). La PTH regula la concentración del calcio sérico ionizado minuto a minuto. La secreción de PTH es estimulada cuando el calcio ionizado sérico circundante disminuye. La PTH actúa sobre los receptores de células

diana periféricas, incrementando la eficacia de la reabsorción tubular renal de calcio. Además, el PTH aumenta la resorción de calcio del hueso mineralizado y estimula la conversión de vitamina D a su forma activa, calcitriol, lo cual posteriormente incrementa la absorción intestinal de calcio y fósforo. Las dosis farmacológicas de calcitonina actúan como un antagonico de la PTH, disminuyendo el calcio sérico y el fósforo, e inhibiendo la resorción ósea (11,13).

b. Función:

El calcio es un componente integral del organismo que tiene importantes efectos sobre numerosos procesos intracelulares y extracelulares, incluyendo la contracción muscular, la conducción nerviosa, la regulación enzimática y la secreción y acción de las hormonas. Es un importante cofactor de la activación enzimática o de la formación de complejos en múltiples estadios de la cascada de la coagulación.

La formación ósea y la resorción están en equilibrio dinámico, principalmente a través de la actividad de los osteoblastos (células que forman los huesos) y osteoclastos (células de resorción ósea). Aunque el 99% del calcio corporal total está contenido en los huesos, estos órganos parecen tener una función menor en el mantenimiento diario de los niveles de calcio del plasma. El intercambio diario entre los huesos y el fluido extracelular es mínimo (11).

Los riñones tienen la capacidad de filtrar cantidades grandes de calcio que son posteriormente recuperadas mediante reabsorción tubular. Los riñones son capaces de aumentar la excreción de calcio casi cinco veces para mantener las concentraciones homeostáticas de calcio sérico. Aunque la reabsorción de calcio está conectada con la reabsorción de sodio y agua en los túbulos renales proximales, ocurre una regulación clara en los túbulos renales distales principalmente bajo la influencia de PTH (11).

c. Fisiopatología

Los valores de calcio total aumentan en hiperparatiroidismo primario y terciario, enfermedades malignas con compromiso óseo, sobre todo carcinoma metastático de la mama, pulmón o riñón, mieloma múltiple, linfomas y leucemia. También aumentan en neoplasia malignas del esófago, páncreas, vejiga o hígado. Feocromocitoma con hiperplasia paratiroidea asociada, sarcoidosis, intoxicación con vitamina D, tirotoxicosis, acromegalia, fase diurética de la necrosis tubular aguda y hipercalcemia de la infancia. Los valores séricos de calcio total disminuyen en hipoparatiroidismo idopático y quirúrgico así como pseudohipoparatiroidismo, deficiencia de vitamina D sobre todo en malabsorción nutricional; insuficiencia renal crónica, deficiencia de magnesio, pancreatitis aguda, osteomalacia, enfermedad tubular renal proximal y distal, alcoholismo, cirrosis hepática y hipoalbuminemia. Se deben efectuar determinaciones repetidas de calcio sérico para diagnosticar hiperparatiroidismo ya que, a veces el calcio total es normal y el calcio iónico está elevado. Puede aparecer tetania si el calcio descende a menos de 6 a 7 mg/dl (19).

d. Método para la determinación de calcio.

El método a utilizar para la determinación del calcio se basa en la reacción del calcio con la o-cresolftaleina-complexona en una solución alcalina. El magnesio se enmascara con 8-hidroxiquinolina. El principio de la prueba es colorimétrico con determinación de punto final, la intensidad del color es directamente proporcional a la concentración de calcio que se mide fotométricamente. Los valores de referencia son de 8.4 a 10.2 mg/dL en una población adulta de 12 a 60 años (20).

2. Fósforo

El fósforo es un elemento esencial del hueso y de todos los tejidos e interviene, en casi todos los procesos metabólicos. La cantidad total del fósforo del adulto normal es aproximadamente 1 kg de los cuales alrededor del 85% se localiza en el esqueleto (11,13).

a. Regulación:

Los niveles totales de fósforo son mayores en los niños y tienden a aumentar en las mujeres después de la menopausia. La concentración de fósforo sufre una variación circadiana, el valor basal se observa a las nueve horas y las doce del mediodía, este se eleva conforme transcurre el día (3,19).

b. Función:

El fósforo es el principal anión de los líquidos intracelulares. Los fosfatos tienen la capacidad de combinarse en forma reversible con diversos sistemas enzimáticos y también con gran número de otros compuestos necesarios para que tengan lugar los procesos metabólicos. Los fosfatos son el constituyente mineral aislado más importante de la actividad celular, intervienen en las funciones del ATP, ADP y fosfato de creatina entre otras (13).

c. Fisiopatología:

Los niveles de fósforo inorgánico aumentan en algunos pacientes con mieloma múltiple, enfermedad de Paget, tumor metastático osteolítico en hueso, enfermedad de Addison, leucemia, sarcoidosis, exceso de vitamina D, fracturas en curación, insuficiencia renal, hipoparatiroidismo, pseudohipoparatiroidismo, cetosis diabética y acromegalia. Los niveles de fósforo sérico se ven disminuidos en hiperinsulinismo, hiperparatiroidismo, osteomalacia, esteatorrea, síndrome de Falconi, acidosis renal, alcoholismo agudo,

septicemia por bacterias gramnegativo, hipokalemia, raquitismo hipofosfatémico familiar, síndrome de malabsorción y deficiencia de vitamina D (19).

d. Método para la determinación de fósforo:

El método para determinar el fósforo inorgánico se basa en la reacción de fosfato con el molibdato de amonio para formar fosfomolibdato de amonio. El complejo se determina fotométricamente en la región ultravioleta (340nm). La adición de un acelerador permite alcanzar una reacción más rápida, con el empleo de una muestra en blanco se obtienen resultados más precisos. El valor de referencia para este método es de 2.7 a 4.5 mg/dL en una población adulta (21).

F. Valores biológicos de referencia.

Los elementos del organismo humano están sujetos a variaciones causadas por procesos fisiológicos, diferencias genéticas, enfermedades y factores ambientales. Una interpretación racional de los resultados de laboratorio exige el conocimiento de la variación de estos componentes o elementos en el individuo en estudio o en uno o más individuos de referencia adecuadamente definidos. Además, un enfoque racional para proporcionar bases sólidas para la interpretación de los valores observados y así interpretar los valores fisiológicos y patológicos de una manera más comprensiva y precisa (22, 23).

1. Valor de referencia

Los valores de referencia se obtienen de una concentración medible obtenida de un único individuo o de un grupo de individuos correspondientes a un mismo estado de salud definido, el cual debe ser detallado y accesible para que otras personas puedan hacer uso de dicho valor (22, 23).

2. Individuo de referencia

Es una persona seleccionada en base a criterios definidos y establecidos. Es importante definir el estado de salud de las personas, para que los resultados obtenidos, puedan ser comparados con los valores de otros individuos bajo una misma investigación clínica (23, 24).

Para establecer valores de referencia es muy importante establecer el estado de salud del individuo de referencia, esto es un concepto relativo y no absoluto que está regido por los diferentes lugares geográficos en un mismo país, por distintas situaciones ambientales, sociales y nutricionales. La definición de la salud de una población de referencia presenta varios problemas, no se ha establecido ninguna definición de la salud que parezca ser completamente satisfactoria incluyendo la de la Organización Mundial de la Salud. Esta especifica la salud como un estado completo de bienestar físico, mental, social y no meramente la ausencia de enfermedad o dolencia. La salud es conceptualmente diferente en distintos países. Para el uso práctico de los valores de referencia, estos deberían estar acompañadas por una palabra que califique el estado de salud que se desea evaluar en los individuos de referencia (25).

3. Límites de referencia

Estos son establecidos de la distribución y los análisis descriptivos de los valores de referencia (23).

4. Intervalo de referencia

Es el que incluye los límites de referencia inferior y superior.

5. Distribución de referencia

Es la manera en que los valores de referencia se distribuyen estadísticamente.

6. Criterios de inclusión y exclusión

Estos son los términos que permitirán establecer los criterios de inclusión y exclusión ya que definen el grupo poblacional seleccionado para este estudio.

G. Selección de individuos de referencia.

La selección de los individuos de referencia debe ser aleatoria, es decir, que todos los integrantes de una población tengan la misma oportunidad de participar en la muestra. Un grupo de valores de referencia usualmente se obtiene de sujetos que se consideran sanos (23, 24).

El proceso requiere de una definición de la población de individuos de un criterio de selección y muestreo, así como el del procedimiento y el análisis de las muestras. Definir el estado de salud es considerado el primer paso en este tipo de investigaciones. Este criterio se ve afectado por diversos factores como lo son las condiciones fisiológicas y ambientales bajo las cuales la población en estudio se ve afectada, como también los criterios de partición en este se utilizan las características tales como, edad, sexo, grupos étnicos, factores genéticos y socio-económicos. De la misma forma se deben establecer los criterios usados para excluir a individuos no saludables del estudio de acuerdo a criterios específicos de inclusión y exclusión, con el fin de definir el procedimiento de obtención de muestra que incluye la preparación del individuo y el sitio de obtención como también el manipuleo y el almacenamiento del espécimen y por ultimo el método analítico y estadístico (27).

Para la selección de individuos de referencia, se puede utilizar dos técnicas de muestreo las cuales se describen a continuación.

a) Selección a priori:

Esta es una selección prospectiva de una población general usando criterios de exclusión y partición establecidos, determinados por estudios previos sobre la misma población o bien obtenidos por la literatura (23).

b) Selección a posteriori:

Es una selección retrospectiva de individuos de una muestra de población, la cual es obtenida al azar o no al azar, seguida por el argumento y exclusión de acuerdo a las características del grupo de muestra de referencia (23).

La selección a posteriori es más conveniente para la producción de valores de referencia en un población sana, pero la selección a priori puede ser aplicable a todas las situaciones (2).

H. Exclusión de individuos del grupo de referencia.

Son los factores que contribuyen a la variabilidad biológica, es decir, que pueden causar la exclusión de los individuos de referencia. El uso que se hará con de los valores de referencia determinará el criterio de exclusión a ser aplicado en la selección de individuos de referencia. Tomando en cuenta estas consideraciones en este estudio, los criterios de exclusión a utilizar se aplican a las siguientes condiciones: enfermedades severas o evolutivas sistemáticas, pacientes con trastornos metabólicos de calcio como hipercalcemia o hipocalcemia y drogas con conocimiento que afecten el metabolismo del calcio o hueso. Estas pueden ser bisfosfonatos, calcitonina, fluoruros, tiacidinas, glucorticoesteroides y suplementos de vitamina D. Toda droga que eleve la concentración en el suero de iones calcio tiende a suprimir la secreción de PTH. De la misma manera toda droga que disminuya la concentración de iones calcio en el suero tiende a aumentar la secreción de PTH. Los medicamentos que influyen en el metabolismo del calcio pueden

inhibir la resorción osteoclástica ósea, por lo que pueden aumentar la concentración de PTH (7,11,19).

De igual manera serán excluidos pacientes que presenten cuadros de desnutrición u obesidad. Una buena nutrición es la que representa un equilibrio entre el gasto energético y la energía recuperada regularmente y en cantidad suficiente para que se mantenga una buena reserva que permita en cumplir las funciones del organismo eficientemente. El indicador más específico del estado calórico actual de una persona, es el de peso/talla. Un valor bajo de peso para talla implica que la masa muscular y la grasa corporal se encuentran disminuidas, por lo que este estado deficiente indica un desequilibrio en el estado nutricional de la persona. Lo mismo sucede con personas que presentan un valor elevado de peso para talla, por lo que estos individuos se les considera para este estudio, no estar en condiciones óptimas de salud. El peso/talla será medido utilizando el índice de Quetelet, el cual es un indicador simple de la cantidad total de grasa corporal (28-30).

Las mujeres que estén consumiendo anticonceptivos también serán excluidas del estudio, ya que estos favorecen el anabolismo sobre el catabolismo óseo, aumentando los valores de PTH. Así mismo mujeres embarazadas o dando de lactar, debido a que la absorción de calcio aumenta, elevando los valores de PTH (3,7,13,19).

Otro criterio de exclusión se aplica a individuos con cáncer, la hipercalcemia es el trastorno metabólico más común de los relacionados con las enfermedades neoplásicas. Están asociados con mayor frecuencia a la hipercalcemia los tumores sólidos como los del seno, pulmón, al igual que algunas malignidades hematológicas, en particular mielomatosis múltiple. La causa fundamental de hipercalcemia inducida por el cáncer es el aumento de resorción ósea con la movilización de calcio hacia el fluido extracelular y, en segundo plano, la excreción inadecuada de calcio renal, aumentando los niveles de PTH (5, 11).

I. Factores Pre-analíticos.

La preparación de los individuos de referencia, el muestreo y los análisis de las muestras son condiciones que deberán ser las mismas que cuando se trabaja con pacientes. Existen factores que afectan el resultado de un análisis, debiéndose controlar y asegurar que estos mismos factores se presenten en una situación clínica (31)

Se deben controlar las posibles fuentes de variación para que sea posible la comparación con los valores obtenidos en un sujeto.

Los individuos seleccionados deberán cumplir con las siguientes condiciones:

- a) Un día antes de la toma de muestra se debe tener una dieta ordinaria, la última comida deberá realizarse antes de la 22:00 horas, después de esta hora el paciente solo puede tomar un vaso de agua hasta que se realice la toma de muestra (14).
- b) La muestra debe obtenerse con el paciente en un estado sin estrés, por lo que el paciente debe estar en reposo por lo menos durante 15 minutos. La posición erecta durante 15 minutos causa un aumento del 4 al 7% del nivel de calcio, antes de la extracción el paciente no deberá realizar ejercicio con los músculos de los brazos (19).
- c) La extracción de la muestra se realizará entre las 8:00 a las 10:00 horas de la mañana. Debido a que posee ritmo circadiano, con los valores más altos a las 14 – 16 horas y una declinación hasta valores básicos a las 8 de la mañana (19).
- d) Al extraer la muestra, el individuo debe estar sentado con su brazo a cuarenta y cinco grados de la posición horizontal. La punción se deberá hacer en la fosa antecubital, sin torniquete solo se permite una pequeña presión con el dedo para localizar la vena (19).
- e) Se obtendrá una muestra de sangre en un tubo con anticoagulante EDTA, para la determinación de la PTH y un tubo sin anticoagulante para determinar calcio y fósforo.

La sangre total con EDTA se considera muestra más adecuada para la medición de la PTH intacta (32,33).

J. Manejo estadístico de los valores de referencia.

Para efectuar el análisis estadísticos de los valores de referencia se utilizan métodos paramétricos como la distribución de probabilidades de Gauss, este proporciona un estimado de la media y de la desviación estándar. Esta misma se aplica a otras distribuciones paramétricas como las de Kurtosis. Utilizando estos métodos se obtiene una aproximación del intervalo de referencia que es usualmente del 95% de la distribución de referencia y es delimitado por los percentiles 2.5 y 97.5 que ayudan a graduar la admisión de la distribución (14).

En ocasiones se puede utilizar el análisis estadístico no paramétrico de los valores de referencia, el cual consiste en: seleccionar y ordenar todos los valores, asignar rangos numéricos a los valores, contar todos los valores de rango entre 2.5 y 97.5 y buscar el valor percentil correspondiente en la tabla de selección de valores de referencia. Al utilizar un método no paramétrico es recomendable que el número mínimo de muestras de referencia sea de 120, el cual es necesario para obtener el 90% de los intervalos de confianza para ser computarizados no paramétricamente alrededor de cada límite de referencia (23).

K. Control de calidad.

El control de calidad de las pruebas analíticas, se lleva a cabo con el fin de asegurar la confiabilidad de cada medición que se realiza a la muestra de un paciente. Este se define como las actividades y técnicas necesarias para cumplir con los requisitos de calidad concernientes al monitoreo de los procedimientos realizados en el laboratorio (2, 34).

Es importante que el laboratorio lleve a cabo un control de calidad externo, en el que una institución ajena provee muestras desconocidas para su análisis. Los resultados son remitidos para su evaluación independientemente y devueltos al laboratorio participante con una evaluación de rendimiento, aceptable o inaceptable. Existen diversos fabricantes de materiales de control de calidad, que proporcionan programas en los cuales los laboratorios reciben informes en los que se comparan los resultados del control de calidad (medias y desviaciones estándar) con las de otros usuarios semejantes de los mismos materiales de control. Estos son extremadamente útiles porque permiten establecer si existen problemas con el método utilizado o material para el control de calidad. En este estudio se solicitó al Centro de educación médica e investigación (CEMIC), participar en su programa de control de calidad Buenos Aires (9,35).

De la misma manera es indispensable que el laboratorio cuente con un programa de control de calidad interno. Los valores obtenidos de los individuos de referencia para los diferentes analitos deben ser confiables, para lograr esto es necesario implementar un programa de control de calidad interno. Este debe realizarse como parte de la rutina diaria de un laboratorio. Debido a que las muestras de control de calidad y las de los pacientes son analizados por el mismo sistema, los datos de ambos reflejan cambios que ocurren en el sistema, de modo que con dos fuentes de datos se puede seleccionar una combinación operacional efectiva de herramientas que cubran mejor sus necesidades (35).

Es necesario realizar la calibración de los equipos a utilizar con los calibradores adecuados. Un calibrador es una suspensión que posee un valor establecido por el fabricante, el cual se utiliza con el objetivo de mantener un nivel estable de exactitud analítica (2). El analizador automatizado Elecsys® 1010. Roche, utilizado para la

determinación de PTH, posee un estuche de calibradores PTH CalSet Elecsys®. Estos consisten en suero humano liofilizado completado con PTH sintética en dos intervalos de concentración (18).

IV. JUSTIFICACION

Los laboratorios clínicos de Guatemala, no cuentan con valores y límites de referencia específicos para la hormona paratiroidea intacta, para una población adulta comprendida entre los 20 a 40 años de edad. Los valores de referencia utilizados actualmente son tomados de poblaciones con distintos factores nutricionales y ambientales a los de nuestro país.

Por lo tanto, es importante determinar los valores de referencia apropiados para la población guatemalteca, con un método y en condiciones adecuadas. Estos nuevos valores de referencia contribuirán al mejoramiento del diagnóstico de enfermedades tales como, hipocalcemia, hipercalcemia, enfermedades metabólicas óseas, hiperparatiroidismo primario, secundario y terciario así como hipoparatiroidismo.

Existen inmunoensayos desarrollados para determinar varios fragmentos de la molécula de PTH, estos poseen anticuerpos específicos contra diferentes regiones de la PTH. Estos son C – terminal, N – terminal o fragmentos intermedios de la molécula. Estos anticuerpos no solo reconocen una región específica sino también fragmentos similares, obteniendo así resultados no confiables. La medición selectiva de la hormona paratiroidea intacta permite determinar directamente la actividad secretora de la glándula paratiroidea. El ensayo para determinar la PTH intacta como lo es Elecsys® PTH intacta, posee la sensibilidad necesaria para detectar la molécula intacta circulante y permite detectar una disminución funcional de la glándula paratiroidea.

V. OBJETIVO

General

Determinar los valores de referencia para la hormona paratiroidea intacta por el método de electroquimioluminiscencia, en una población adulta sana comprendida entre las edades de 20 a 40 años en el área metropolitana de la ciudad capital de Guatemala.

Específico

Establecer si existe diferencia entre los valores de referencia reportados en la literatura, con los valores obtenidos en la población de estudio.

VI. HIPOTESIS

Existe diferencia entre los valores de referencia de la hormona paratiroidea intacta, determinados en una población adulta comprendida entre los 20 a 40 años de edad del área metropolitana de la ciudad capital de Guatemala, con los valores reportados en la literatura o en otras poblaciones de referencia utilizando el método de electroquimioluminiscencia.

VII. MATERIALES Y METODOS

A. Universo:

Población adulta, del área metropolitana de la ciudad de Guatemala.

B. Muestra:

Comprendida por un grupo de 120 hombres y 120 mujeres con las mismas características que el universo y que cumplieran con los criterios de inclusión y exclusión.

1. Criterios de inclusión:

Se incluyo en el estudio, individuos que cumplieran con las siguientes características:

- 20 a 40 años de edad.
- Aparentemente sanos y sin presencia de enfermedades subyacentes o sistemáticas
- Peso corporal estable en los últimos 6 meses.

- Ayuno de 8 a 10 horas antes de la extracción sanguínea.

2. Criterios de exclusión:

Se excluyo del estudio, individuos que:

- Estuviesen ingiriendo vitamina D
- Estuviesen ingiriendo calcio
- Personas que padecieran de hipercalcemia, hipocalcemia, hiperparatiroidismo y/o hipoparatiroidesmo.
- Individuos que utilicen drogas que afecten el metabolismo del calcio como, bisfosfonatos, calcitonina, fluoruros, tiacidas, glucocorticosteroides y suplementos de vitamina D.
- Personas con cáncer
- Mujeres embarazadas.
- Mujeres dando de lactar.
- Mujeres utilizando anticonceptivos.
- Personas obesas (Índice de masa corporal mayor a 30).
- Personas desnutridas (Índice de masa corporal menor a 19).

C. Recursos:

1. Humanos:

Br. María del Rosario Córdoba Mena	Investigadora
Licenciado Eric Prera Mix	Asesor
Licenciado Guillermo Gutiérrez	Asesor
Licenciada Patricia Díaz	Co-asesora

2. Institucional:

Laboratorio Clínico “Santa Clara”

Banco de Sangre, Hospital General San Juan de Dios.

Roche®, Guatemala.

3. Físico:

a. Equipo

- Termómetro
- Centrifugadora congelada.
- Pipeta automática de volumen variable
- Roche/Hitachi® 902
- Analizador automatizado Elecsys® 1010. Roche.
- Congelador a -20° C.

b. Material de laboratorio

- Tubo de extracción vacuette®.
- Tubo de extracción vacuette® con anticoagulante (EDTA).
- Aguja 21 x 1.5 para vacuette®.
- Algodón
- Alcohol
- Tubos de reacción
- Pipetas Pasteur.
- Gradilla
- Hielera
- Marcador indeleble.

c. Reactivos

- Estuche de reactivos Elecsys PTH intacta. Roche®: Micropartículas recubiertas de estreptavidina: 0.72 mg/ml, anticuerpos monoclonales biotinilados anti-PTH (ratón) 2.3 mg/l, anticuerpos monoclonales anti-PTH (ratón) marcados con quelato de rutenio 2.0 mg/l y tampón fosfato 100 mmol/l pH 7.0.
- Set de reactivos para Calcio total. Roche®: Tampón etanolamina: 1 mmol/l pH 10.6, complexona o-cresolftaleína: 0.3 mmol/l, 8-hidroxiquinolina: 13.8 mmol/l y ácido clorhídrico: 122 mmol/l.
- Set de reactivos para Fósforo. Roche®: Ácido sulfúrico: 0.36 mmol/l, Molibdato de amonio: 3.5 mmol/l y cloruro de sodio: 150 mmol/l

d. Controles

- PreciControl Bone 1,2 y 3. Roche®.
- Precipath – U. Roche®
- Precinorm – U. Roche®
- Control de calidad externo.

e. Calibradores:

- Calibrador: C.f.a.s. (Calibrator for automated systems).
- Elecsys PTH CalSet. Roche®

D. Metodología:

Con el fin de cumplir con los criterios para selección de individuos de referencia según la guía del NCCLS (22), a los individuos participantes se les llenó una hoja de consentimiento informado y éstos debieron firmar. De esta manera se manifestó estar de

acuerdo en participar en este estudio. Luego se les lleno un cuestionario diseñado para cumplir con los criterios de inclusión y exclusión (ver anexo 1).

1. Toma de muestra:

a. Obtención de la muestra para la determinación de PTH:

Los pacientes participantes debieron tener un ayuno de 8 a 10 horas y un reposo de por lo menos 15 minutos antes de la toma de muestra. Se localizo el sitio de venopunción, para obtener 4 cc de sangre en tubo con anticoagulante EDTA, el se lleno hasta su capacidad total. Se procedió a separar el plasma utilizando centrífuga refrigerada. El plasma se refrigero (2-8 °C) durante un lapso de tiempo no mayor de 2 horas, y posteriormente fue procesado.

b. Obtención de muestra para la determinación de calcio y fósforo:

Los pacientes debieron estar en las mismas condiciones establecidas para la obtención de muestra para la determinación de PTH. Se localizo el sitio de venopunción, para obtener 4 cc de sangre en tubo sin anticoagulante y con activador para coagulación. Luego se separo el suero de las células. El suero fue almacenado de 15-25 °C y procesado durante las siguientes 2 horas.

2. Determinación de PTH, calcio y fósforo:

a. Principio de PTH

Esta prueba utiliza el equipo automatizado Elecsys® para la determinación de PTH intacta se basa en el principio sandwich, en el que el anticuerpo monoclonal biotinado reacciona con el fragmento N-terminal (aminoácidos 1-37) y el anticuerpo monoclonal marcado con quelato de rutenio, con el fragmento C-terminal (aminoácidos 38-84). Esta técnica está basada en una reacción electroquimioluminiscente en la que se generan especies altamente reactivas en la superficie de un electrodo a partir de precursores estables (18).

i. Procedimiento de medición:

- Poner a temperatura ambiente controles y reactivo para Elecsys® PTH
- Seleccionar en el equipo automatizado Elecsys® 1010 la prueba de PTH.
- Cargar el equipo automatizado Elecsys® 1010 con el estuche de reactivos y controles para la prueba de PTH.
- Pipetear 250uL de cada muestra en una cubeta de reacción.
- Colocar muestras en equipo automatizado Elecsys® 1010.
- Los resultados se obtienen mediante una curva de calibración realizada en el sistema a partir de una calibración a dos puntos y una curva maestra incluida en el código de barras del reactivo.

b. Principio de calcio

El método a utilizar para la determinación de calcio es colorimétrico, en este se da la reacción entre el calcio y o-cresolftaleína-complexona en una solución alcalina, formando un complejo púrpura el cual es medido fotométricamente dando una concentración de calcio directamente proporcional a la intensidad del color (20).

i. Procedimiento de medición:

- Seleccionar la prueba para calcio en el equipo automatizado Hitachi® 902, el equipo debe contar con el estuche de reactivo para calcio.
- Calibrar el equipo automatizado Hitachi®.
- Medición de controles .
- Pipetear 200uL de cada muestra en cubetas de reacción.
- Colocar muestras en el equipo Hitachi®.
- La determinación e impresión de los resultados de calcio son realizados por el equipo automatizado Hitachi® 902.

c. Principio de fósforo

El principio del método utilizado para la determinación de fósforo inorgánico, es de punto final con muestra en blanco. El fósforo forma un complejo de fosfomolibdato de amonio en presencia de ácido sulfúrico, este complejo es medido fotométricamente (21).

i. Procedimiento de medición:

- Seleccionar la prueba para fósforo en el equipo automatizado Hitachi® 902, el equipo debe contar con el estuche de reactivo para fósforo.
- Calibrar el equipo automatizado Hitachi®.
- Medición de controles .
- Pipetear 200uL de cada muestra en cubetas de reacción.
- Colocar muestras en el equipo.
- La determinación e impresión de los resultados de fósforo son realizados por el equipo automatizado Hitachi® 902.

3. Control de calidad:

El control de calidad interno de este estudio realizó de la siguiente manera: Se utilizaron los sueros control PreciControl Bone 1,2 y 3. Roche® para la prueba de PTH, los cuales fueron medidos cada 30 muestras. Para la prueba de calcio y fósforo se utilizó el control Precinorm – U. Roche®, realizando una determinación cada 10 muestras. Para estas pruebas también se realizó una determinación con un control externo.

Se realizaron curvas de Levey-Jenings y se determinó el coeficiente de variación para cada uno de los analitos.

E. Diseño estadístico:

1. Tipo de investigación:

Estudio Descriptivo

2. Tipo de variables:

a) Variable Independiente.

Edad y género de los individuos en estudio.

b) Variable Dependiente.

Concentración de la hormona paratiroidea intacta.

3. Diseño del muestreo.

a. Tamaño de la muestra

Se consideró que el tamaño de muestra adecuado está comprendido por 240 individuos, los cuales fueron seleccionados aleatoriamente de la población del área metropolitana de la ciudad de Guatemala. Con este número se obtiene un 95% de confiabilidad (11).

b. Marco de muestreo

Se muestrearon 120 hombres y 120 mujeres entre 20 a 40 años de edad que asistieron al Banco de Sangre del Hospital General San Juan de Dios y que cumplieron con los criterios de inclusión y exclusión establecidos. Los participantes fueron divididos según su edad en grupos de quintiles, con el fin de tener una distribución adecuada de la muestra que incluya las edades comprendidas en el rango de edad establecido en este estudio.

4. Análisis estadístico

Los valores obtenidos se procesaron primeramente utilizando estadística descriptiva, calculando media, mediana, desviación estándar y varianza de la muestra. Se determinó si los datos presentaban una distribución normal utilizando la prueba de Shapiro - Wilk. Por medio de esta, se comprobó que los datos se alejan del modelo de distribución normal, por lo que se estimaron los percentiles 2.5 y 97.5 para obtener los límites de referencia. Para este análisis se utilizó el programa STATA 6.0.

VII. RESULTADOS

En este estudio 240 individuos de referencia fueron estudiados, 120 mujeres y 120 hombres, comprendidos entre las edades de 20 a 40 años del área metropolitana de la ciudad de Guatemala. Los individuos participantes, fueron donadores voluntarios de sangre en el banco de sangre del Hospital General San Juan de Dios.

Por medio de un cuestionario realizado previo a la extracción sanguínea a todos los participantes en este estudio, se evaluó si estos cumplían con los criterios de inclusión y exclusión previamente establecidos. Se determinó que todos los individuos estuviesen entre los 20 a 40 años de edad, con un ayuno de 8 a 10 horas, así como que ninguno consumiera suplementos vitamínicos con calcio o vitamina D, drogas que afecten el metabolismo del calcio, que padecieran de algún desorden hormonal o metabólico y si padecían de cáncer o enfermedad en los riñones. En el caso del género femenino también se evaluó el consumo de anticonceptivos, embarazo y si estaban dando de lactar. Se determinó el índice de Quetelet, para detectar desnutrición o sobrepeso.

Los resultados obtenidos en el presente estudio demuestran que los intervalos de referencia para la hormona paratiroidea fueron los que se presentan en la tabla 1.

Tabla 1. Valores de referencia para la Hormona Paratiroidea

	Valor
Intervalo de referencia	23 a 77 pg/mL
Media	46.1 pg/mL
Desviación estándar	14.7

Fuente: Datos experimentales.

Se obtuvo un valor mínimo de 19.27 y máximo de 103.3. La prueba de normalidad realizada fue la de Shapiro - Wilk, la cual indica que los datos no se comportan normalmente ($p < 0.000001$). Por lo que el rango normal se encuentra en los percentiles 2.5 y 97.5 que corresponden a los valores indicados en la tabla 1, los cuales corresponden a las concentraciones mínima y máxima respectivamente, los datos se presentan en el anexo 3. Con el propósito de visualizar la distribución de estos valores con respecto de una curva normal, se realizó un histograma de distribución con los datos obtenidos de los 240 individuos de referencia, utilizando el programa STATA 6.0, el cual se presenta en el anexo 4.

Los intervalos de referencia obtenidos para el género masculino y femenino fueron los que se presentan en la tabla 2.

Tabla 2. Valores de referencia para la Hormona Paratiroidea para el género masculino y femenino.

	Masculino	Femenino
Intervalo de referencia	23 a 74 pg/MI	24 a 82 pg/mL
Media	45.0 pg/MI	47.1 pg/mL
Desviación estándar	13.8	15.4

Fuente: Datos experimentales.

La prueba de normalidad indica que los datos no se comportan normalmente con un valor p 0.00004 y p 0.00003. Por lo que el rango normal se encuentra en los percentiles 2.5 y 97.5 que corresponden a los valores indicados en la tabla 2. En las gráficas 2 y 3 que corresponden al anexo 5 se muestran los histogramas de distribución de los valores agrupados por género con respecto de una curva normal.

En las tablas 3,4 y 5 se muestra los valores de la media y desviación estándar, obtenidos para calcio y fósforo por género de la población estudiada.

Tabla 3. Valores estadísticos obtenidos para calcio y fósforo.

	Media	Desviación estándar
Calcio	10.05 mg/dL	0.36
Fósforo	3.52 mg/dL	0.46

Fuente: Datos experimentales.

Tabla 4. Valores estadísticos obtenidos para calcio y fósforo género masculino. $n=120$

	Media	Desviación estándar
Calcio	10.1 mg/dL	3.46
Fósforo	0.35 mg/dL	0.44

Fuente: Datos experimentales.

Tabla 5. Valores estadísticos obtenidos para calcio y fósforo género femenino. $n=120$

	Media	Desviación estándar
Calcio	10.0 mg/dL	3.57
Fósforo	0.36 mg/dL	0.47

Fuente: Datos experimentales.

Los resultados obtenidos del cálculo del índice de Quetelet, el cual relaciona peso y talla se muestran en la tabla 6. Este parámetro asume que todo valor menor a 19 indica desnutrición y todo valor mayor de 30 indica obesidad.

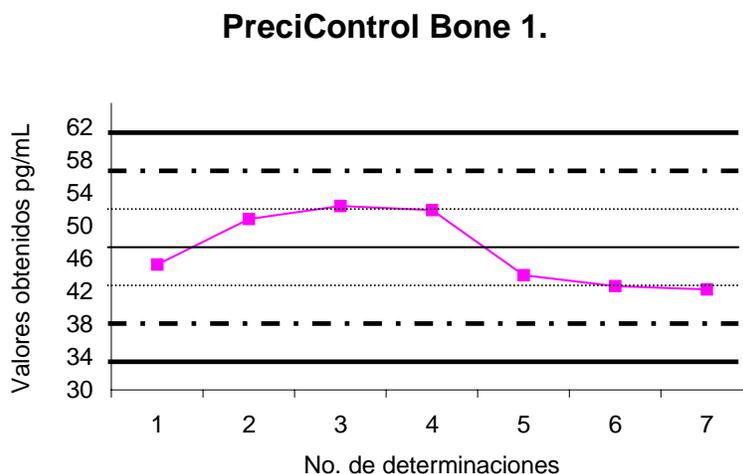
Tabla 6. Valores del Índice de Quetelet

Género	Media	Rango
Masculino	25	20 – 29
Femenino	25	21 – 29

Fuente: Datos experimentales.

En el control de calidad interno de la PTH se utilizaron sueros control de valores normales y anormales (Precibone 1 o control normal, Precibone 2 y 3 o control anormal). El valor control se determino cada treinta muestras, para el control normal se obtuvo una media de 47.06 pg/mL, desviación estándar 4.5 y un coeficiente de variación de 9.5%. Los controles anormales presentaron medias de 156.1 y 586.8 pg/mL, desviación estándar 17.6 y 81.8 y coeficiente de variación de 11.2 y 13.6%. Se realizaron curvas de Levy-Jennings las cuales se presentan en las gráficas 4, 5 y 6, como se puede observar estas se encuentran dentro de más o menos dos desviaciones estándar.

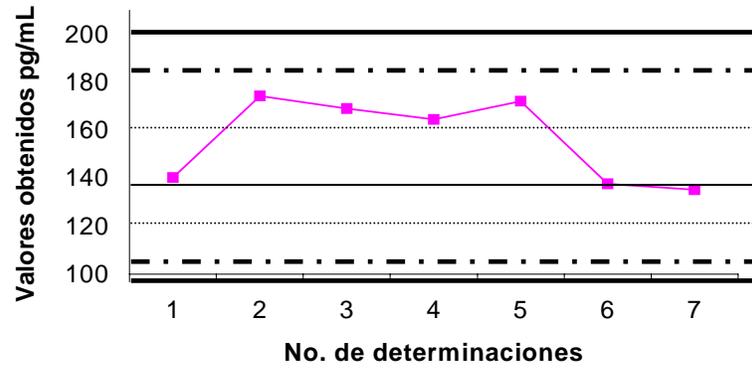
Gráfica 4. Curva de Levy-Jennings para el control normal de la PTH.



Fuente: Datos experimentales. : promedio; : primera desviación estándar (DS);
 - · - : segunda DS; : tercera DS.

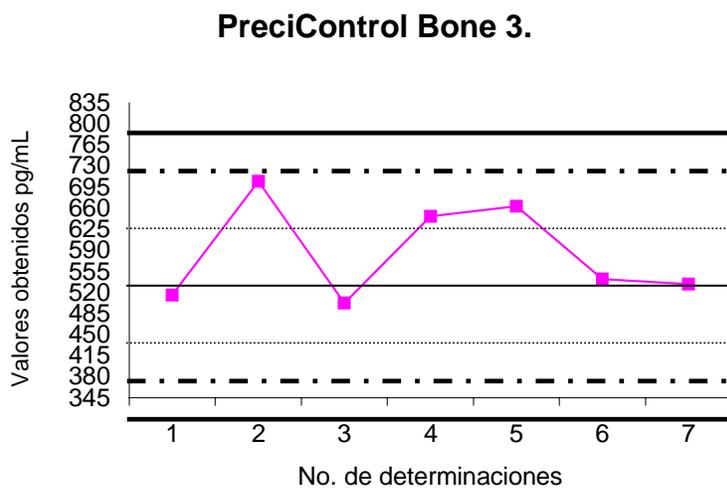
Gráfica 5. Curva de Levy-Jennings para el control anormal de la PTH

PreciControl Bone 2.



Fuente: Datos experimentales. — : promedio; : primera desviación estándar (DS);
 - - - : segunda DS; ——— : tercera DS.

Gráfica 6. Curva de Levy-Jennings para el control anormal de la PTH.



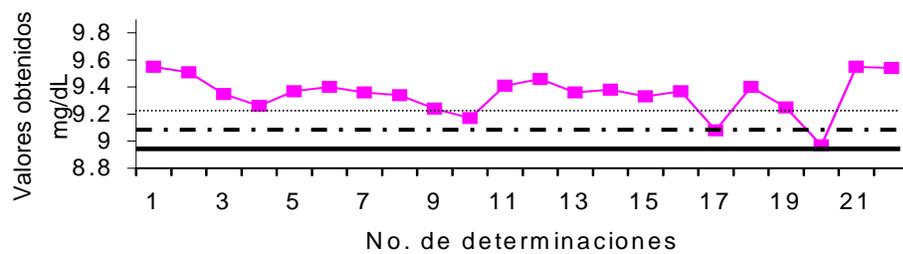
Fuente: Datos experimentales. — : promedio; : primera desviación estándar (DS);
 - - - : segunda DS; ——— : tercera DS.

Para el control de calidad interno de calcio y fósforo se utilizó un control normal (Precinorm – U. Roche®). Los valores estadísticos obtenidos fueron de 9.35 mg/dL y 3.94 mg/dL para la media, 0.15 y 0.08 desviación estándar y coeficiente de variación 1.60% y 2.01% respectivamente. Las curvas de Levy-Jennings fueron realizadas, en donde se observa valores dentro de más o menos dos desviaciones estándar, estas se presentan en las gráficas 7 y 8.

Gráfica 7. Gráfica de Levy-Jennings para el control normal de Calcio.

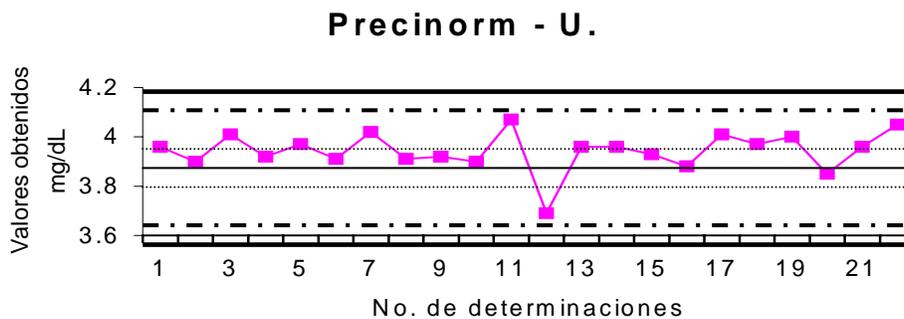


Precinorm - U.



Fuente: Datos experimentales. — : promedio; : primera desviación estándar (DS);
 - - - : segunda DS; ——— : tercera DS.

Gráfica 8. Curva de Levy-Jennings para el control normal de Fósforo.



Fuente: Datos experimentales. — : promedio; - - - : primera desviación estándar (DS);
 - - - - : segunda DS; ——— : tercera DS.

Para el control de calidad externo de calcio y fósforo, se utilizó un suero control normal y anormal (Bio-rad® Control 1 y 2), los resultados obtenidos para calcio fueron de 9.51 y 12.81mg/dL y para fósforo de 3.86 y 7.80mg/dL respectivamente. Los valores obtenidos se encuentran dentro de los límites establecidos para este control.

IX. DISCUSION DE RESULTADOS

Para establecer estos valores se seleccionó una población que cumplió con los criterios de inclusión y exclusión previamente establecidos. Para asegurar una distribución homogénea de la población, se realizaron grupos por quintiles correspondientes a las edades comprendidas entre 20 a 40 años. A demás de los criterios evaluados por el cuestionario, se obtuvieron los resultados de hematocrito, prueba rápida para VIH (virus de inmunodeficiencia) y VDRL (Prueba de la reagina en portaobjetos) de los participantes, los cuales fueron proporcionados por el banco de sangre del Hospital General San Juan de Dios. La media del valor de hematocrito para hombres fue de 45% y para mujeres 42%. Los resultados para la prueba rápida de VIH y VDRL fueron no reactivos o negativos. Lo anterior indica que los participantes en este estudio son individuos aparentemente sanos y sin enfermedades subyacentes.

Se obtuvieron los siguientes valores para establecer los limites de referencia, 23 pg/mL como limite inferior y 77 pg/mL como limite superior. Se calcularon los limites de referencia por género, obteniendo para el género masculino un valor mínimo de 23 y máximo de 74 pg/mL, para el género femenino el valor mínimo fue de 24 y el máximo de 82 pg/mL. De acuerdo con los valores reportados en la literatura 10 a 65 pg/mL, los valores obtenidos en este estudio se encuentran elevados (1, 9, 13 y 18). Con respecto a los valores obtenidos por género, en la literatura no se han encontrado reportes de valores de referencia por género para la PTH en el rango de edad evaluado (2, 9, 19). Al comparar los valores obtenidos por género se observa un entrecruzamiento entre los mismos, por lo que la diferencia entre ambos no se considera significativa.

Debido a que la hormona paratiroidea juega una función muy importante en la homeostasis del calcio y fósforo, ambos se ven alteradas cuando los niveles de la PTH varían (2, 13). Por lo tanto se obtuvieron las concentraciones de calcio y fósforo séricas de cada individuo participante en el estudio. La media para el calcio fue de 10.05 mg/dL (8.60 a 10.2 mg/dL) y para el fósforo 3.52 mg/dL (2.7 a 4.5 mg/dL), las cuales se encuentran dentro del rango normal de referencia del método utilizado, indicando que el metabolismo del calcio y fósforo de estos pacientes es normal.

Se realizó una comparación estadística utilizándose la prueba del valor Z con un nivel de significancia P de 0.05 por lo que, los valores de referencia de PTH obtenidos en este estudio, no demuestran una diferencia estadísticamente significativa con los reportados en la literatura.

Para asegurar la precisión de los resultados obtenidos, se realizó un control de calidad interno. El coeficiente de variación para el control normal de la PTH fue de 9.5% y los controles anormales altos fue de 11.2% y 13.6%. Los valores de los controles anormales se encuentran moderadamente elevados, esta variabilidad pudo deberse a que las determinaciones de estos fueron realizadas con dos lotes de reactivo diferentes. Los valores de los controles permanecieron dentro de más y menos 2 desviaciones estándar, por lo que se evidencia reproducibilidad y precisión en el rango de las concentraciones establecidas para cada control y en la realización de esta prueba. En este estudio no se realizó un control de calidad externo para evaluar el desempeño de la prueba de la hormona paratiroidea, debido a que la disponibilidad de este fue limitada.

X. CONCLUSIONES

1. No existe diferencia estadísticamente significativa entre los valores de referencia para la hormona paratiroidea obtenidos en este estudio y los reportados en la literatura.
2. Los valores de referencia reportados por la literatura pueden utilizarse para una población adulta de 20 a 40 años de edad de la ciudad capital de Guatemala.
3. Los valores obtenidos, se deben de utilizar como una fuente de referencia para ser comparados únicamente, entre individuos de la misma edad que los que participaron en este estudio y utilizando electroquimioluminiscencia como método de determinación.

XI. RECOMENDACIONES

1. Con el fin de proporcionar un diagnóstico médico y un manejo terapéutico adecuado, se recomienda realizar más estudios de referencia para la hormona paratiroidea en una población guatemalteca de recién nacidos, niños e individuos con un rango de edad mayor de 40 años.
2. Es recomendable realizar más estudios para valores o intervalos de referencia, ya que estos conllevan a establecer y comprobar valores de referencia propios del país.

XII. REFERENCIAS

1. Tietz, N.W., Burtis, C. A., Ashwood, E. R. Text book of Clinical Chemistry. 3er. Ed. United States of America. 1999, (p1410-1417).
2. Kaplan, L. Pesce, A.J. Química Clínica. Técnicas de Laboratorio, Fisiopatología, Métodos de Laboratorio, 5ta. Ed. Médica Panamericana, Argentina 1992. 1793pp.
3. Smith, Thier. Fisiopatología. Principios biológicos de la enfermedad. Segunda Edición. Editorial Panamericana. Argentina 1998, (p 552-558).
4. MAYO, Mayo Reference Services Communiqué. “Diagnostic use of Parathyroid Hormone Assay”. 2004; 29 (2): 1-5.
5. Marx, S. J. Hyperparathyroid and Hypoparathyroid Disorders. N. Engl. J. Med. 2001; 343 (25): 1863-73.
6. MAYO, Mayo Reference Services. “Parathyroid Hormone, 1-84 bio-intact, Serum #84213”. 2004; 29 (2).
7. Harrison, Isselbacher, Braunwald. Principios de Medicina Interna. Volumen II. 13^a edición, Editorial Interamericana, México 1994. (p 2471-74).
8. Tausk, M., Weider, J.Z. Farmacología de las hormonas. Tercera edición. Editorial Alltambra S.A. España 1975. (p 180-188).
9. Henry, J. B. Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods. 20th. Ed. United States of America. 2001. (p 198-99).
10. Martin, J. T. Actions of Parathyroid Hormone-Related Peptide and its Receptors. N. Engl. J. Med. 1996; 335 (10): 736-37.

11. Toledo, G., Simaneas, M.E. Hipercalcemia asociada a tumores: Incidencia, manifestaciones, evaluación y manejo. Instituto Superior de Ciencias Médicas de la Habana. 2002 30pp.
12. Saggese, G., Igli, G., Bertelloni, S. Determination of Intact Parathyrin by Immunoradiometric Assay Evaluated in normal children and in patients with various disorders of calcium metabolism. Clin. Chem. 2001; 37(11).
13. Guyton, A. Tratado de Fisiología Médica. 10ª Edición. Ed. Interamericana McGraw-Hill, México 2001. (p 865-1143).
14. Tietz, N. W. Fundamental of Clinical Chemistry 2nd. Ed. United States of America; Press of WB Saunders Co. 1995, 1263p.
15. Stites, Terr. Inmunología básica y clínica. 8ª Edición. México, Manual Moderno, 1996. (p218).
16. Blumsohn A, Alhadari A. Parathyroid hormone: What are we measuring and does it matter? Ann Clin Biochem. 2002; 39: 167-72.
17. www.rochediagnostics.org. Inmunoquímica. Basilia. Consultado en Febrero 2004.
18. PTH, intacta. Elecsys® Sistemas. Roche® Diagnostics. Doc.Tec.2003.
19. Tietz, N. W. Guía clínica de pruebas de laboratorio. 1ª. Ed. Buenos Aires, Argentina. Panamericana, 1992. (p 376).
20. Calcio. Roche/Hitachi®. Doc. Tec. 2004.
21. Fósforo. Roche/Hitachi®. Doc. Tec. 2004.
22. Solberg, H.E., Petit-Clerc, Cleds. "Preparación de individuos y obtención de valores de especímenes para la producción de valores de referencia". Federación Internacional de

- Química Clínica. Comité Científico. Sección Clínica Acta de Bioquímica Clínica, 1998. (p 603-611).
23. NCCLS, Approved Guideline C28-A "How to define and determine reference intervals in the clinical laboratory". Villanova, PA. : National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1995. (p 1-23).
 24. Grasbeck, R. et al. "Provisional recommendation on the theory on Reference values. Committe of Standard of the International Federation of Clinical Chemistry, Expert panel on the Theory of Reference Values". Clin. Chem. Act. 1978; 87: 461-465.
 25. Castillo de Sánchez, M.L., Fonseca, M. E. Guía para los laboratorios clínicos de América latina, 1995, Panamericana, México. 314pp.
 26. Federación Internacional de Química Clínica. Selección de individuos para la producción de valores de referencia. Acta de Bioquímica Clínica Latinoamericana. Noruega, SP. 1988.
 27. Federación Internacional de Química Clínica. Preparación de los individuos y obtención de especímenes para la producción de valores de referencia. Acta de Bioquímica clínica Latinoamericana. Noruega, SP. 1988.
 28. Instituto Colombiano de Seguridad Social. Evaluación del Estado Nutricional. 3ª. Edición. Bogotá, D.C. 1993. (p 44-45).
 29. National Institute of Health. Clinical Guidelines on the Identification, evaluation and treatment of Overweight and Obesity in adults. 1st. Ed.. United States of America. 1998. (p140-41).
 30. INCAP. Educación Nutricional, Publicación Instituto Nutricional de Centro América y Panamá, 1965, (p 9-15).

31. Solberg, H.E. Part I: El concepto de los valores de referencia. Federación Internacional de Química Clínica. Comité Científico. Sección clínica. Acta de Bioquímica. Clínica Latinoamericana. 1988; XXII/2: 297-503.
32. Russell D, Henley R. The Stability of Parathyroid hormone in blood and serum samples at 4 degrees C and at room temperature. Ann Clin Biochem 1995; 32: 216-17.
33. Glendenning P, *et al.* Parathyroid Hormone is more Stable in EDTA plasma than in serum. Clin Chem. 2002; 48:766-67.
34. Dybkaer, R. *et al.* Continuous Quality Improvement in Clinical laboratories Guide for Latinamerica. Col. Cli. 1994; 296.
35. Baer, D. Belsey, R.E. Limitations of quality control in physicians office and other decentralized testing situations. The challenge to develop New Methods of test validations. Clin. Chem. 1993; 38/1:9-13.
36. Molina, M.R., *et al.* Principales deficiencias de micronutrientes en Centroamérica. Estrategias de INCAP para su control. O.P.S., INCAP, Guatemala. 10pp.

XIII. ANEXOS

Anexo no. 1

No. Identificación _____

Fecha: _____

“DETERMINACION DE VALORES DE REFERENCIA PARA LA HORMONA PARATIROIDEA INTACTA POR ELECTROQUIMIOLUMINISCENCIA EN UNA POBLACION ADULTA SANA COMPRENDIDA ENTRE LOS 20 A 40 AÑOS DE EDAD EN EL AREA METROPOLITANA DE LA CIUDAD DE GUATEMALA.”

Consentimiento informado

Yo _____, estoy de acuerdo en participar en este estudio; y declaro que mi participación es completamente voluntaria y confidencial.

FIRMA: _____.

INFORMACION PERSONAL

NOMBRE: _____

No. de Muestra: _____

EDAD: _____ (años) SEXO: (M) (F)

TALLA: _____ M _____ cm PESO: _____ lbs.

ANTECEDENTES CLINICOS

1. ¿Está usted tomando vitamina D y/o calcio o algún suplemento vitamínico que los contenga? (SI) (NO)
2. ¿Toma pastillas anticonceptivas? (SI) (NO)
¿Hace cuánto tiempo? _____
3. ¿Está usted embarazada o sospecha estarlo? (SI) (NO)
4. ¿Está usted dando de lactar? (SI) (NO)
5. ¿Padece usted de cáncer? (SI) (NO)
6. ¿Ha padecido de desórdenes metabólicos u hormonales tales como, hipercalcemia, hipocalcemia, hiperparatiroidismo y/o hipotiroidismo? (SI) (NO)

7. ¿Padece usted de alguna enfermedad en los riñones? (SI) (NO)
8. ¿Padece usted de alguna enfermedad del páncreas? (SI) (NO)
9. ¿Utiliza usted algún medicamento? (SI) (NO)
Si consume alguno, especificar cual: _____

ESTADO NUTRICIONAL

Valor de Índice de Quetelet: _____

NORMAL: _____

DESNUTRICION: _____

OBESIDAD: _____

CARACTERISTICAS DEL SUERO

NORMAL: _____

ICTERICO: _____

LIPEMICO: _____

HEMOLIZADO: _____

VALORES OBTENIDOS

PTH : _____ pg/mL

CALCIO: _____ mg/dL

FOSFORO: _____ mg/dL

OBSERVACIONES: _____

Anexo 2

Cuadro 1
 Alteraciones bioquímicas en estados patológicos paratiroideos. (2)

Variable Analítica	Hiperparatiroidismo Primario	Hiperparatiroidismo secundario	Hiperparatiroidismo terciario	Hipoparatiroidismo	Seudohipoparatiroidismo
		↑	↑	↓	↑ PTH Normal a
	↑ Bajo a	Normal	↑	↓	↓ Calcio
Fósforo inorgánico	Normal a	Normal a	↑	↓	↓
	↑	↓	↑	↓	Excreción urinaria de
calcio				--	

↑
 ↓ , aumentado; , disminuido.

Cuadro 2
Indice de Quetelet. (28)

Rango	Hombre	Mujer
ACEPTABLE	20-25	19-24
SOBREPESO	25-30	24-30
OBESO	Mayor a 30	Mayor a 30

Anexo 3

Tabla 7

Resultados del valor de PTH intacta en la población total para la determinación de los valores de referencia de la hormona paratiroidea.

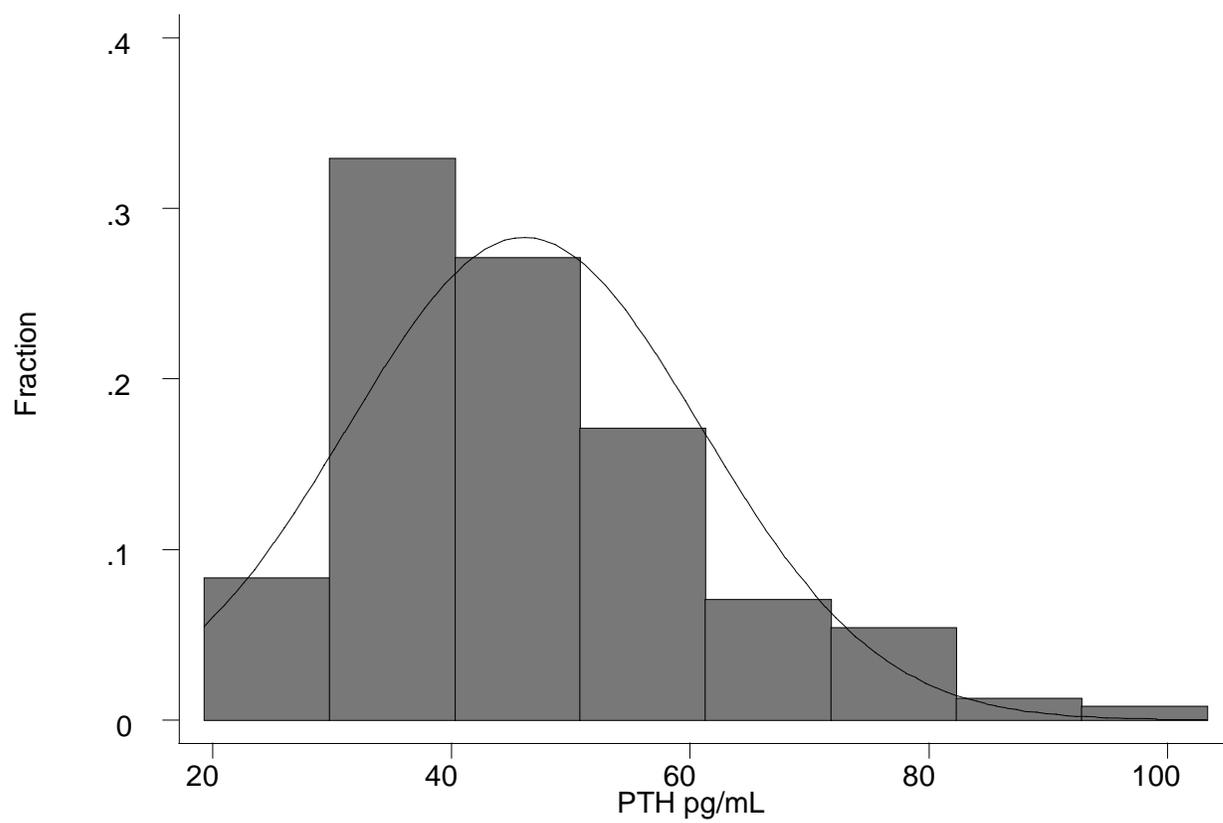
PTH intacta						
19.3	32.4	36.5	41.8	47.2	53.1	64.8
19.8	32.4	36.7	41.9	47.2	53.3	65.3
20.5	32.6	36.8	41.9	47.3	53.5	65.4
20.5	32.8	36.8	41.9	47.4	53.5	66.1
21.8	32.9	36.9	42.3	47.5	53.5	66.7
22.0	32.9	37.1	42.4	47.6	53.5	68.2
23.2	33.4	37.1	42.6	47.8	53.6	68.5
23.8	33.5	37.2	42.6	47.9	53.7	68.9
25.0	33.6	37.3	42.8	48.0	53.8	69.4
25.7	33.6	37.6	42.8	48.1	53.8	69.6
25.8	33.7	37.7	42.9	49.0	54.2	70.8
26.2	33.9	37.8	42.9	49.2	54.4	70.9
26.4	34.1	38.0	43.1	49.3	54.7	71.8
27.3	34.3	38.1	43.2	49.5	54.7	72.0
27.5	34.7	38.1	43.6	49.6	55.0	73.0
27.7	34.8	38.2	43.9	49.8	55.4	73.3
27.7	34.8	38.2	43.9	50.0	55.6	73.8
28.2	35.0	38.4	44.2	50.1	55.9	74.3
28.5	35.0	38.5	44.2	50.1	56.1	74.6
29.2	35.0	38.8	44.2	50.3	56.2	75.1
30.1	35.1	39.1	44.5	50.4	56.4	75.9
30.2	35.2	39.1	44.5	50.5	57.0	76.8
30.4	35.5	39.2	44.6	50.7	57.8	77.2
30.4	35.6	39.4	44.6	50.8	58.1	77.4
30.6	35.6	39.6	44.8	50.9	58.5	80.9
30.9	35.6	39.9	45.1	51.3	59.3	82.2
31.0	35.8	40.0	45.2	51.4	60.2	85.1
31.3	35.9	40.1	45.5	51.6	60.5	86.7
31.4	35.9	40.3	45.6	51.8	60.9	95.3
31.4	36.0	40.9	45.8	51.9	60.9	103.3
31.7	36.2	40.9	45.9	52.2	61.7	
31.8	36.3	40.9	46.0	52.4	62.2	
31.8	36.4	41.0	46.2	52.4	62.3	
32.0	36.4	41.2	46.4	52.6	62.4	
32.3	36.5	41.6	46.6	53.1	64.1	

Fuente: Datos experimentales.

Anexo 4

Gráfica 1

Histograma de datos totales comparado con curva normal de distribución.

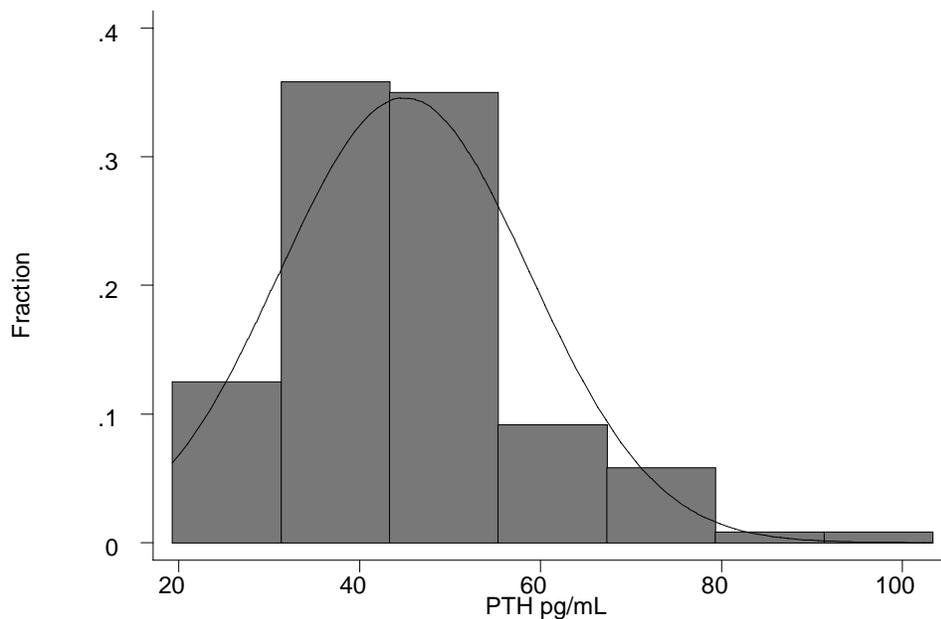


Fuente: Datos experimentales.

Anexo 5

Gráfica 2

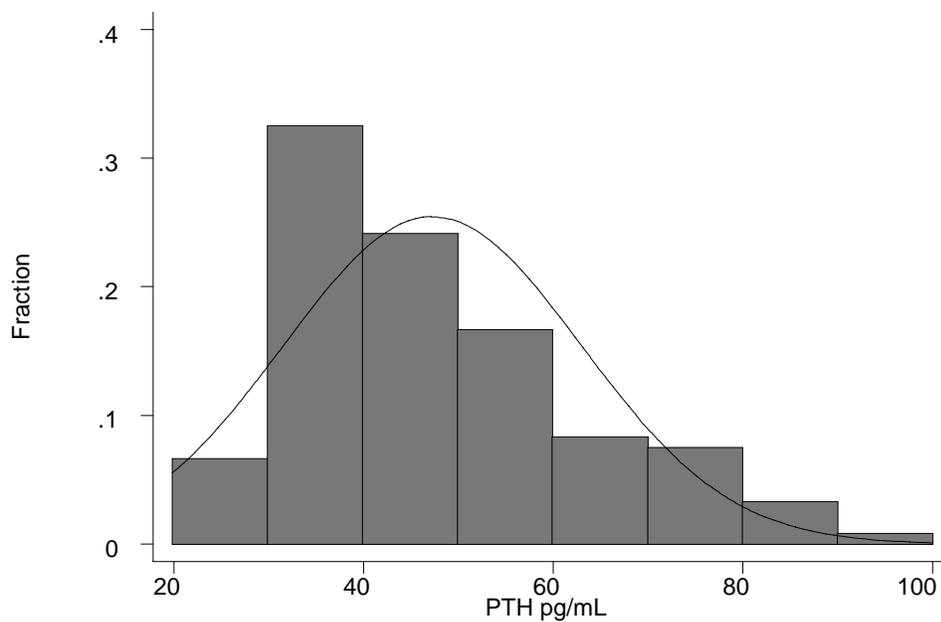
Histograma de datos obtenidos del género masculino comparado con curva normal de distribución.



Fuente: Datos experimentales.

Gráfica 3

Histograma de datos obtenidos del género femenino comparado con curva normal de distribución.



Fuente: Datos experimentales.

Anexo 6Tabla
Control de calidad.

PTH intacta. Control normal. PreciControl Bone 1. Roche ®

Determinación	Valor pg/mL	
1	45.27	
2	50.86	Media: 47.06 pg/mL
3	54.42	Desviación estándar: 4.51
4	51.96	Coefficiente de variación: 9.59%
5	43.98	
6	42.64	
7	42.28	

PTH intacta. Control anormal. PreciControl Bone 2. Roche ®

Determinación	Valor pg/mL	
1	140.3	
2	172.2	Media: 156.1 pg/mL
3	169.0	Desviación estándar: 17.6
4	164.5	Coefficiente de variación: 11.24%
5	172.1	
6	137.6	
7	135.2	

PTH intacta. Control anormal. PreciControl Bone 3. Roche ®

Determinación	Valor pg/mL	
1	515.9	
2	704.4	Media: 586.8 pg/mL
3	502.4	Desviación estándar: 81.8
4	646.1	Coefficiente de variación: 13.9%
5	663.1	
6	542.0	
7	533.8	