



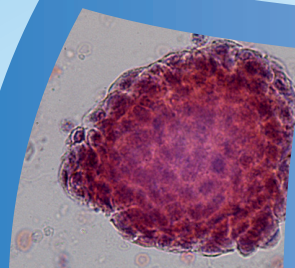
DIAGNÓSTICO IN VITRO

No. 17 - febrero 2021

ria@ifcc.org

rinconiberoamericanoifcc@gmail.com

Communications and Publications Division (CPD) of the IFCC
Ibero-American Nomenclature and Translations (WG-IANT)



EDITOR

Dr. Raúl Girardi.

Chair del Grupo de Trabajo de Iberoamérica de Nomenclatura y traducciones (WG-IANT).

Director General Revista *Diagnostico In Vitro*.

Rincón Ibero-Americano.

La Plata, Buenos Aires. Argentina



rincon iberoamericano ifcc



@RIA_IFCC

**GRUPO DE TRABAJO DE IBEROAMÉRICA
DE NOMENCLATURA Y TRADUCCIONES**

EDITORIAL

03

LA CIENCIA, LA ESTUPIDEZ, LA RIQUEZA Y LA POBREZA...LA SÍNTESIS DE AVERROES.

NOVEDADES Y NOTICIAS

06

REMEMBRANZA Y RECONOCIMIENTO ANA LETICIA DE MASELLI.

07

DESTACADA ACEPTACIÓN DEL CURSO DE FORMACIÓN CONTINUADA “GUÍAS PRÁCTICAS CLÍNICA Y RECOMENDACIONES DEL LABORATORIO”.

09

I CONGRESO VIRTUAL LABCLIN 2020.

12

SOCIEDAD ECUATORIANA DE BIOQUÍMICA CLINICA. NÚCLEO PICHINCHA (SEBIOCLIP). APOYANDO EN CONOCIMIENTO A LOS PROFESIONALES DE LATINOAMERICA EN TIEMPOS DE PANDEMIA.

ARTÍCULOS CIENTÍFICOS

16

BIOMARCADORES DE HIPOGONADISMO MASCULINO EN LA INFANCIA Y LA ADOLESCENCIA.

30

DETECCIÓN DE HEMOGLOBINA SC EN PACIENTE PEDIATRICO.

37

EL PROBLEMA DEL CITODIAGNÓSTICO DE LOS TUMORES UROTELIALES DE BAJO GRADO.

49

LA BIOPSIA LÍQUIDA EN EL MANEJO DEL CÁNCER. UNA NUEVA HERRAMIENTA REVOLUCIONARIA DE LA MEDICINA DE PRECISIÓN, AUN CON LIMITACIONES.

CARTAS AL EDITOR

64

AREA SANITARIA DEL SURESTE ESPAÑOL, EL EJIDO (ALMERIA).

67

REPORTE DE ACTIVIDADES CONFEDERACIÓN LATINOAMERICANA DE BIOQUÍMICA CLÍNICA (COLABIOCLI) EN TIEMPOS DE PANDEMIA.

REPORTAJE

74

DRA. ANJA KESSLER. CHAIR DEL COMITÉ DE TRAZABILIDAD EN MEDICINA DE LABORATORIO (C-TLM) DE LA INTERNATIONAL FEDERATION OF CLINICAL CHEMISTRY AND LABORATORY MEDICINE (IFCC) .



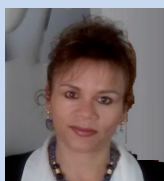
Director
Dr. Raúl Girardi
Argentina



Dra. María del
Carmen Pasquel
Carrera
Ecuador



Dra. Patrocinio
Chueca
España



Dra. Alba
Cecilia Garzón
Colombia



Dra. Beatriz
Mina Guerrero
Bolivia

Editorial

LA CIENCIA, LA RIQUEZA, LA ESTUPIDEZ Y LA POBREZA... LA SÍNTESIS DE AVERROES

Las enfermedades son parte de la historia de la humanidad desde que el ser humano empezó a organizarse en sociedad y a crear núcleos de personas que convivían juntas en un mismo espacio territorial. Cuando ese espacio es traspasado por las enfermedades infectocontagiosas convirtiéndose en una amenaza para la población, se empezaron a documentar las primeras pandemias, que transformaron las sociedades en las que aparecieron y, muy posiblemente, han cambiado o influido decisivamente en el curso de la historia.

En el año 541 d.C el mismísimo emperador Justiniano fue víctima y afortunado sobreviviente de la peste que azotó su mal llamado Imperio Bizantino siendo la primera epidemia de la que se tiene constancia. Al final de la epidemia, la capital imperial, Estambul, había perdido casi el 40% de su población, y en todo el imperio se había cobrado la vida de 4 millones de personas que no corrieron la misma suerte que su emperador y las consecuencias económicas fueron catastróficas.

A mediados del siglo XIV la peste negra era ya y sigue siendo, pues hay brotes activos en la actualidad una enfermedad conocida, sin embargo, como en épocas de Justiniano se ignoraba por completo tanto sus causas como su tratamiento. Para explicar su origen se les atribuyó a los miasmas y pestilencias transmisores hasta la discriminación prejuiciosa de ser los judíos quienes transferían la enfermedad. Hubo que esperar a fines del siglo XIX para descubrir su origen zoonótico, en las ratas, que durante la Edad Media convivían en las grandes ciudades con las personas e incluso se desplazaban en los mismos transportes hacia ciudades lejanas, portando pulgas infectadas con *Yersinia pestis*.

La viruela y sus pústulas en piel es conocida desde hace por lo menos 7.000 años, llegando a tener tasas de mortalidad de hasta el 30%. Tuvo un crucial impacto masivo en América, transportada por los conquistadores afectando

Por:

Dr. Raúl Girardi

Chair del
WG-IANT/RIA/CPD-IFCC
Director General Revista
Electrónica DIV



de manera terrible a una población aborígen local no inmune frente a nuevas enfermedades. En Europa tuvo un periodo de expansión dramático durante el siglo XVIII, infectando y desfigurando a millones de personas. Tuvieron que pasar muchos siglos hasta que las primeras observaciones claves en el año 1721 en Turquía por lady Mary W Montagu y, casi 100 años más tarde aún, en el Reino Unido cuando Edward Jenner, al inocular a un niño de 8 años sano, material infectado que obtuvo de una persona que padecía la viruela bovina, el pequeño desarrollara una fiebre leve que desapareció a los pocos días. Unos meses más tarde, volvió a inocular al niño, pero esta vez con viruela humana para comprobar si el niño desarrollaba la enfermedad. Los resultados le dieron la razón y el niño ni contrajo la enfermedad ni murió, Edward Jenner probó científicamente la eficacia de lo que sería la primera vacuna.

A pesar de que el experimento se realizó con 23 personas más obteniendo el mismo resultado exitoso, Jenner encontró resistencia tanto por parte de médicos celosos de su éxito como de la Iglesia y de grupos antivacunas, que lo consideraban un sistema contra natura. La Asociación Médica de Londres se opuso al tratamiento con el singular argumento de que con este método

“los pacientes podrían convertirse poco a poco en ganado vacuno”.

En 1977 se registró el último caso de contagio del virus y en el año 1980 la Organización Mundial de la Salud (OMS) la declaró erradicada. A Jenner el reconocimiento le llegaría en 1805 desde Francia de parte del mismísimo Napoleón Bonaparte el cual dio la orden de vacunar a todos sus soldados con el método del médico inglés. Aun así, se calcula que solo en el siglo XX la viruela causó unos 300 millones de muertes. Después de esta seguramente incompleta y desprolija cronología de epidemias y pandemias, nos toca a nosotros vivir la propia con el SARS-Cov-2. Permítanme concluir con dos puntos que me resultan de interés.

A diferencia de nuestros honrosos científicos pasados de quienes nos valemos de sus enormes aportes para que hoy podamos haber identificado el agente, decodificado el genoma del virus, descrito sus constituyentes y en casi un tiempo sin precedentes para la ciencia médica y bioquímica de casi un año, podamos estar aplicando las vacunas y ya se hayan probado al menos media docena de tratamientos, algunos de ellos prometedores. Más aún, la ciencia y tecnología actual nos permite que al día de hoy identificamos variantes nuevas y se estén evaluando su infectividad, respuesta a tratamientos y vacunas como informara el Center for Disease Control and Prevention (CDC)

<https://espanol.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/transmission/variant.html>



Claro está que otra pandemia nos viene afectando que en otros tiempos no se transmitía con tanta rapidez y vertiginosidad, porque los medios de comunicación y redes sociales son sus vectores fundamentales, me refiero a la pandemia de la (des)información. Así hemos visto como muestra, cosas como el auge y la caída del tratamiento basado en la hidroxiquina, la difusión del uso de lejía diluida como tratamiento (ambos potenciados en gran medida por la adhesión personal de algún presidente de una de las primeras potencias mundiales) y la inclusión de la ivermectina en base a experimentos in vitro, información fraudulenta o trabajos de muy escasa relevancia. Otras aseveraciones más grotescas como tomar sol o vivir en zonas cálidas o bañarse con agua caliente lo previenen, gárgaras con agua y sal o vinagre o alcohol, o ingerir metanol o ajo eliminan al virus o la no menos increíble afirmación de que el virus se transmite a través del 5G.

Se han puesto en discusión muchas veces en boca de vendedores de humo, basados en información falsa o tergiversada con un exceso general de opiniones cuando se dispone de pocos datos o la información es deliberadamente engañosa en áreas críticas como el debate sobre, la protección de la población infantil durante el confinamiento, el uso del método “medieval” de la cuarentena para evitar la difusión, el uso de mascarillas, desinfectantes como el hipoclorito o alcohol al 70% o el nivel y la duración reales de la inmunidad al virus, la efectividad y el grado de información científica sobre las vacunas

Guy Berger, director de Políticas y Estrategias sobre Comunicación e Información de la *United Nations Educational, Scientific and Cultural Organization* (UNESCO) indicó que;

“Lamentablemente, algunos han aprovechado la pandemia para difundir desinformación con el fin de favorecer sus propias agendas.”

Otra pandemia, que quiero comentar y que viene arrastrando la humanidad desde tiempos inmemorables y que no nos diferencia de otras épocas, es la atribuible a la eterna brecha entre países ricos y pobres, déjenme relacionarla en este caso con las vacunas.

Un artículo publicado en “*The New York Times*” el 3 de febrero escrito por Matt Apuzzo y Selam Gebrekidan, titulado Los Acuerdos Secretos de las Vacunas

<https://www.nytimes.com/es/2021/02/01/espanol/vacunas-secretos.html?smid=em-share>



dice, y cito algunos párrafos:

“Además de que a los fabricantes de los medicamentos se les garantiza que gran parte de los acuerdos no se divulgarán, los contratos multimillonarios les brindan cláusulas de protección de responsabilidad, la propiedad de las patentes y margen de maniobra en las fechas de entrega y los precios”.

Estados Unidos ha reservado 400 millones de dosis de las vacunas Pfizer-BioNTech y Moderna, y está cerca de ordenar 200 millones de dosis adicionales para el verano, con opciones para comprar hasta 500 millones más. También tiene acuerdos de compra anticipada para más de 1.000 millones de dosis de otras cuatro compañías cuyas inoculaciones aún no

cuentan con la aprobación regulatoria de Estados Unidos.

La Comisión Europea, el poder ejecutivo de la Unión Europea que negocia en nombre de sus 27 Estados miembros, tiene casi 2.300 millones de dosis bajo contrato y está negociando por unos 300 millones más, según datos recopilados por la *United Nations International Children's Emergency Fund* (UNICEF) y *Airfinity*, una empresa de análisis científicos.

El Fondo de Acceso Global para Vacunas COVID-19 (COVAX, por sus siglas en inglés) es una alianza de 190 países, que tiene el objetivo de que las vacunas estén disponibles en todo el mundo (en especial en los países pobres) de manera gratuita o a un costo reducido, dice que tiene acuerdos por poco más de 2.000 millones de dosis de vacunas, aunque también mantiene sus contratos en secreto. Solo alrededor de una docena de los 92 países que califican para recibir los subsidios de vacunas que otorga la alianza han logrado asegurar acuerdos con compañías individuales, por un total de 500 millones de dosis.

De lo poco que se ha podido rescatar del secretismo de los contratos se puede ver que los gobiernos ayudaron a la creación de las vacunas, esto es obvio, ya que desarrollar vacunas es una empresa arriesgada para las compañías hasta que están seguras de que sus vacunas son eficaces y pueden obtener la aprobación del gobierno. Esa es parte de la razón por la que suele tomar tanto tiempo desarrollarlas y distribuirlas.

Las empresas se quedarán con las patentes. A pesar de las enormes inversiones de los contribuyentes, normalmente las empresas farmacéuticas son propietarias absolutas de las patentes. Eso significa que las compañías pueden decidir cómo y dónde se fabrican las vacunas y cuánto cuestan. Esto ha sido motivo de discordia durante meses. Una coalición de países, liderada por India y Sudáfrica, ha solicitado a la Organización Mundial del Comercio que ceda los derechos de propiedad intelectual para que los fabricantes de medicamentos genéricos puedan comenzar a producir las vacunas. La OMS ha respaldado esta idea, pero ha sido prácticamente condenada por la oposición de Estados Unidos y Europa, cuyas farmacéuticas afirman que las patentes (y las ganancias derivadas de ellas) son el sustento de la innovación.

Zain Rizvi del grupo de monitoreo *Public Citizen*, dijo:

“Los gobiernos están creando una escasez artificial”

“Cuando los ciudadanos financian el conocimiento requerido para poner fin a una pandemia, eso no debería permanecer en secreto”.

Las donaciones y las reventas están restringidas, Los activistas de salud pública les han pedido a los países ricos que prácticamente han acaparado algo así como el 70% del mercado de las primeras dosis, que donen o vendan vacunas a los países pobres. Sin embargo, los contratos podrían restringir la capacidad de los compradores para exportar dosis, lo que podría reducir las ventas.

Las vacunas llegarán cuando las empresas lo decidan. Los tiempos de entrega se consideran información patentada, por lo que no existen puntos de referencia públicos con los que se pueda medir el desempeño de una compañía. Steven Van Gucht, el principal experto del virus del gobierno belga dijo:

“En un momento dado llegaron a prometer más vacunas o vacunas más rápidas”, dijo. “Y al final no pudieron cumplir”.

Algunos gobiernos se están beneficiando. Al comienzo de la pandemia, el Banco Europeo de Inversiones, la entidad de préstamos de la Unión Europea, otorgó un préstamo de 100 millones de dólares a la empresa alemana BioNTech, que se asoció con Pfizer para producir una vacuna. Además de los intereses del préstamo, el banco europeo recibirá hasta 25 millones de dólares en ganancias de vacunas, según una versión redactada del contrato que BioNTech presentó a los entes reguladores.

El banco dijo que los acuerdos de en las ganancias reflejan el riesgo involucrado en el financiamiento anticipado. Rizvi, de *Public Citizen*, argumentó:

“...que pone a los gobiernos del mismo lado que los fabricantes de medicamentos y reduce cualquier incentivo para hacer que los medicamentos sean baratos y estén ampliamente disponibles”.

Resumiendo, en pocas palabras y nunca nada más breves y justas que las pronunciadas por el enorme científico y filósofo musulmán cordobés Averroes

Cuatro cosas no pueden ser escondidas durante largo tiempo: la ciencia, la estupidez, la riqueza y la pobreza.

Y lo dijo entre los años 1126-1198 d.C

REMEMBRANZA Y RECONOCIMIENTO A LA ESTIMADA PROFESIONAL ANA LETICIA CÁCERES DE MASELLI

La Dra. Ana Leticia Cáceres de Maselli, Ex Presidenta de la Confederación Latinoamericana de Bioquímica Clínica (COLABIOCLI) (2009-2011) falleció el 14 de enero del año 2021 dejando una huella de dedicación y compromiso. Nuestra entrañable amiga Ana Leticia Cáceres de Maselli, fue miembro destacado del Comité Ejecutivo de la Federación Internacional de Química Clínica y Medicina del Laboratorio (IFCC), miembro colaborador del Comité de Nominaciones (2016-2017), y de la División de Educación y Gestión (2017-2019), Asesor y Tutor por COLABIOCLI en el Comité de Relaciones Públicas, de la División de Comunicaciones y Publicaciones, y distinguida Representante Nacional por la Asociación de Químicos y Biólogos de Guatemala (AQBG). La Doctora Cáceres de Maselli se graduó de Química-Bióloga en la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos en Guatemala. Ana Leticia estuvo muy involucrada en la gestión del aseguramiento de la calidad, siendo miembro fundador del Programa de Evaluación Externa de Calidad (PEEC) para los laboratorios clínicos de la Asociación de Químicos Biólogos de Guatemala (AQBG); así también fue precursora de la Comisión de Garantía de la Calidad en 1995, y además Coordinadora en el Subprograma de Inmunología del PEEC.

Entre sus logros fue fundadora del Laboratorio de Referencia Biomédico de Guatemala. Ana Leticia fue miembro del Colegio de Farmacéuticos y Químicos de Guatemala y de AQBG. En el año 2009 recibió el galardón de Guatemaltecos ilustres en la categoría científica por sus estudios y publicaciones sobre el diagnóstico de cisticercosis. Realizó la labor de asesora en 2011 en la organización del XX Congreso Latinoamericano de Bioquímica Clínica. Participó como conferencista invitado en varios Congresos de COLABIOCLI y Congresos Nacionales de diversos países. También fue corresponsal de Guatemala para Infobioquimica.org de Radio El Microscopio. Participó con la Asociación Americana de Química Clínica (AACC) como miembro del primer Grupo de Trabajo Latinoamericano (2010-2011), lo que permitió la mejora del conocimiento en el Control y Aseguramiento de Calidad de los profesionales de los laboratorios clínicos en América Latina. Recibió la distinción del Banco Industrial por su trayectoria profesional como Química Bióloga a propuesta del Colegio de Farmacéuticos y Químicos de Guatemala y la Asociación de Químicos Biólogos de Guatemala, en marzo del año 2011 por los

Por:

Dra. Alba Marina
Valdés de García

Presidenta de la
Asociación de Químicos
Biólogos de Guatemala.



Dra. Ana Leticia
Cáceres de Maselli

estudios en la estandarización de métodos para el diagnóstico de la cisticercosis, siendo un aporte científico valioso.

La labor académica y gremial de Ana Leticia fue trascendente para la implementación de la mejora continua de la calidad en los laboratorios clínicos de Guatemala y con un liderazgo reconocido en el fortalecimiento del diagnóstico de los laboratorios clínicos de América Latina. La región y la comunidad científica del mundo extrañarán a Ana Leticia como una profesional comprometida y dedicada a promocionar e impulsar el campo de la Química Clínica y la Medicina de Laboratorio en América Latina y su notable protagonismo como embajadora de la IFCC, COLABIOCLI, AACC y la AQBG entre los profesionales que ejercen en el laboratorio clínico de los países de Latinoamérica y Guatemala. Reconocemos que Lety, como así la llamábamos cariñosamente, ha dejado un legado invaluable de humanismo y profesionalismo además de la amistad que brindó a nuestros colegas en Guatemala y en las diferentes Sociedades Científicas en las que fue un miembro activo y responsable de sus funciones como una digna representante de la AQBG.

Descanse en Paz Querida Ana Leticia, amiga y compañera en el destacado camino recorrido en su vida personal y profesional. Extrañaremos y continuaremos tu legado de bondad, dedicación y profesionalismo que siempre te caracterizó.

DESTACADA ACEPTACIÓN DEL CURSO FORMACIÓN CONTINUADA “GUÍAS DE PRÁCTICA CLÍNICA Y RECOMENDACIONES DE LABORATORIO”

SOCIEDAD ANDALUZA DE ANÁLISIS CLÍNICOS Y MEDICINA DEL LABORATORIO

Por:

Dra. María Mayor Reyes

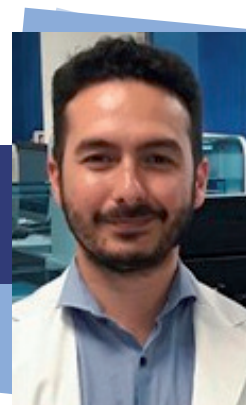
Coordinadora Curso -
Comité Científico SANAC



Por:

Dr. Joaquín Bobillo Lobato

Coordinador Curso -
Comité Científico SANAC



Es una satisfacción para nuestra Sociedad Andaluza el excelente resultado obtenido del curso online de formación continuada "Guías de práctica clínica y recomendaciones de laboratorio", gracias al esfuerzo potenciado por la ilusión y trabajo en equipo de profesionales sanitarios que persiguen un mismo y desinteresado fin, colaborar en la formación de nuestros compañeros.

Las encuestas de satisfacción de la primera y segunda edición de este curso han mostrado un grato resultado, como se refleja en la valoración final de las mismas. Los alumnos han valorado positivamente ítems como la competencia del profesorado, la metodología empleada, organización, aplicabilidad a la realidad asistencial y logro de objetivos, dando como resultado una alta valoración global de las pasadas ediciones con una puntuación media general de 4,55 en una escala de 1 a 5.

El programa se desarrolla sobre una plataforma educativa por vía telemática. La primera edición fue acreditada por la Agencia de Calidad Sanitaria de Andalucía (ACSA) con 6,32 créditos de formación continuada y con 3,36 créditos la segunda.

El objetivo de este curso es realizar una revisión de las principales Guías de Práctica Clínica y

recomendaciones de laboratorio de las distintas sociedades científicas como la National Academy of Clinical Biochemistry (NACB), la National Institute for Health and Clinical Excellence (NICE) y sociedades científicas españolas. Se trata de un curso de formación continuada, que aborda temas de la práctica clínica donde el laboratorio representa una herramienta diagnóstica indispensable, dando un énfasis especial al carácter multidisciplinar del diagnóstico, tratamiento y seguimiento integrado del paciente.

Después de su primera (2017/18) y segunda edición (2019/20) este curso se ha consolidado como imprescindible para nuestra sociedad. En el mismo, se tratan patologías comunes con un enfoque multidisciplinar donde comparten autoría facultativos de laboratorio y profesionales médicos de otras especialidades; se revisan los temas en base a las últimas guías publicadas, tanto en ámbito nacional como internacional, y se estudian las recomendaciones de las distintas sociedades, debatiéndose y comparándose las distintas actuaciones y protocolos de la práctica clínica.

Los programas de las pasadas ediciones tocaron temas relevantes y de uso común en la práctica diaria:

I Edición (2017/18)	II Edición (2019/20)
1º Medicina Basada en la Evidencia (MBE) y recursos disponibles en internet Rodríguez Espinosa, Manuel	1º Guías y recomendaciones de laboratorio en el manejo de diabetes mellitus Romero García, Irene
2º Guías y recomendaciones de laboratorio en el manejo de las hiper e hiponatremias Valencia Vera, Estefanía y Gallardo Magaña, Rocío	2º Guías y recomendaciones de laboratorio en el manejo de la enfermedad renal crónica Batalha Caetano, Paula y Santotoribio Camacho, José Diego
3º Guías y recomendaciones de laboratorio en el manejo de las alteraciones tiroideas Callejón Martín, Gonzalo	3º Guías y recomendaciones de laboratorio en el manejo de la insuficiencia cardíaca Romero Reyes, María José y Bobillo Lobato, Joaquín
4º Guías y recomendaciones de laboratorio en el manejo de la enfermedad celiaca Martin Salido, Eva y Cantero Sánchez, Fernando Miguel	4º Guías y recomendaciones de laboratorio en el manejo de las dislipemias Rodríguez Espinosa, Manuel y Pérez de Algaba Fuentes, Inmaculada
5º Guías y recomendaciones de laboratorio en el manejo del feocromocitoma Varo Sánchez, Gema y Bobillo Lobato, Joaquín	5º Guías y recomendaciones de laboratorio en el manejo del síndrome de Cushing Lillo Rodríguez, Rosa Mª y Rodríguez Sánchez, Inés
6º Guías y recomendaciones de laboratorio en el manejo de gammopatías monoclonales Lendínez Ramírez, Ana	6º Guías y recomendaciones de laboratorio en el cribado del cáncer de colon Hortas Nieto, María Luisa y González Raya, Arturo
7º Guías y recomendaciones de laboratorio en el manejo del hepatocarcinoma Sáenz Mateos, Luis y Elizalde Apestegui, Inmaculada	7º Guías y recomendaciones de laboratorio en el manejo del lupus eritematoso sistémico González Rodríguez, Concepción y Pérez-Pérez, Antonio
8º Guías y recomendaciones de laboratorio en el manejo del líquido cefalorraquídeo Morales Alcázar, Mª Ángeles	8º Guías y recomendaciones de laboratorio en el manejo de la enfermedad inflamatoria intestinal Rodríguez Espinosa, Manuel y Pérez de Algaba Fuentes, Inmaculada
9º Guías y recomendaciones de laboratorio en el manejo del semen para inseminación artificial (conyugal y donante) Mayor Reyes, María	9º Guías y recomendaciones de laboratorio en el cribado prenatal del primer trimestre Bueno Rodríguez, Guadalupe y Lepe Balsalobre, Esperanza

TERCERA EDICIÓN

Tenemos en marcha el proyecto de la III Edición (2021/22), próximamente publicaremos el programa junto con las fechas y enlace para la inscripción, que compartiremos con todos nuestros compañeros del Rincón Iberoamericano de la IFCC y os animaremos a vuestra participación.

Esperamos sea de vuestro interés, que sea un curso de provecho y queremos contar con vuestra participación.

Este es el programa preliminar de la III Edición (2021/22):

PROGRAMA PRELIMINAR DE LA III EDICIÓN (2021/22):

- 1º Guías y recomendaciones de laboratorio en el estudio y manejo de las anemias.
- 2º Guías y recomendaciones de laboratorio en la amiloidosis.
- 3º Guías y recomendaciones de laboratorio en insuficiencia suprarrenal.
- 4º Guías y recomendaciones de laboratorio para psoriasis (en sus distintas manifestaciones).
- 5º Guías y recomendaciones de laboratorio en el estudio y manejo de la esteatosis hepática.
- 6º Guías y recomendaciones de laboratorio en el estudio y manejo de los trastornos de la conducta alimentaria.
- 7º Guías y recomendaciones de laboratorio en el estudio y manejo hormonal de mujeres peri y postmenopáusicas.
- 8º Guías y recomendaciones de laboratorio para la aloinmunización RhD en el embarazo.
- 9º Guías y recomendaciones de laboratorio para las enfermedades de transmisión sexual.

Dr. Cristóbal Avivar Oyonarte
Presidente SANAC

I CONGRESO VIRTUAL LABCLIN 2020

SEQC^{ML}

Sociedad Española de Medicina de Laboratorio

Por:

Dr. José Puzo Foncillas

Jefe de Servicio de Análisis
y Bioquímica Clínica del
Hospital Universitario San
Jorge de Huesca
Presidente Comité Local
del Congreso Virtual
LABCLIN 2020



La decisión de celebrar el Congreso LABCLIN por primera vez en su historia en formato virtual fue tomada por las Sociedades Científicas del Laboratorio Clínico y estuvo basada en las garantías tecnológicas ofrecidas por la oficina técnica, y en el reconocimiento de la necesidad de mantener la formación continuada de los profesionales de la Medicina de Laboratorio, ya que la tecnología sigue avanzando y todos los pacientes necesitan la mejor atención sanitaria. El primer congreso virtual LABCLIN se celebró desde el 8 al 14 de noviembre y tuvo un notable éxito. El encuentro se siguió con extraordinario interés y podemos certificar que esta nueva experiencia ha alcanzado el alto nivel científico que han tenido siempre todas las actividades LABCLIN anteriores.

El programa científico y la realización operativa del Congreso virtual fueron inmejorables. Han contribuido a ello la preparación y puesta a punto de los Comités Científico y Organizador y la Secretaria Técnica del Congreso que realizaron grandes esfuerzos durante todo el año para conseguir que todo funcionara perfectamente, tanto en contenidos como en herramientas tecnológicas, temporalidad y calidad de las transmisiones.

El Congreso tuvo 1.132 inscripciones, 1.092 comunicaciones aceptadas, 31 sesiones entre las que se incluyen 12 simposios, 3 conferencias, 7 workshops. En el Congreso han intervenido 82 ponentes y 30 moderadores y han colaborado 9 empresas patrocinadoras, 5 de ellas con stand virtual. Las 3 sociedades

científicas organizadoras Asociación Española de Biopatología Médica- Medicina de Laboratorio, Asociación Española de Laboratorio Clínico y Sociedad Española de Medicina de Laboratorio contaron con la presencia de un stand virtual. Se concedieron tres premios y 7 accésits a las mejores comunicaciones al Congreso.

Durante todo el Congreso se realizaron actividades simultáneas, alcanzando más de 500 conexiones en cada sesión. Esto indica el gran interés y la dedicación de todos los congresistas. Durante el Congreso se obtuvieron más de 80.000 visitas a la plataforma virtual. En las sesiones científicas diarias se conectaron más de 1.000 usuarios registrados, tanto de España como de otros países. Por otro lado, las encuestas de satisfacción y evaluación del Congreso mostraron unos resultados muy buenos, con unas puntuaciones muy altas.

Las ponencias, tanto conferencias, mesas redondas, como workshops tuvieron un enorme interés y nadie parecía querer desconectarse del congreso. Hay que agradecer que, durante una semana entera, desde las 5 de la tarde, muchos facultativos de España y otros países estuvieran conectados a este Congreso debatiendo, aprendiendo y formándose de manera virtual y dando un ejemplo de dedicación. Solo ha faltado un aspecto imprescindible en el Congreso, que es el contacto humano y la posibilidad de estar con colegas y amigos del laboratorio clínico que tanto enriquecen nuestras reuniones y congresos anuales de LABCLIN.

Durante el Congreso se desarrolló un amplio programa que ha constatado la importancia del laboratorio clínico en la prevención, detección y tratamiento de las enfermedades.

Los profesionales de la Medicina de Laboratorio han tenido un papel crucial en la pandemia por COVID-19 en nuestro país, participando en el diagnóstico e interpretación del resultado. Asimismo, en los pacientes ingresados, se han ocupado de la monitorización de los indicadores de pronóstico y los parámetros de respuesta; para orientar los tratamientos de cada paciente y valorar si estaban siendo efectivos.

El Congreso tuvo sesiones extraordinarias con una visión multidisciplinar del SARS-CoV-2, y con los procesos de adecuación del laboratorio durante la pandemia con la Dra. Ana Isabel Quinteiro y contó con la participación del Prof. Matthias Orth, miembro de la Junta Directiva de la Asociación Alemana de Laboratorio Clínico, que expuso las estrategias aplicadas en su país y la experiencia acumulada en los últimos nueve meses. El Profesor Orth revisó la gestión en Alemania de la enfermedad Covid-19, provocada por el SARS-Cov-2 en Alemania, desde el punto de vista del laboratorio clínico, se centró fundamentalmente en la agrupación de recursos, aunando los esfuerzos de los laboratorios públicos, privados, de investigación y las universidades. Esta estrategia les permitió conseguir inicialmente una capacidad diagnóstica

de 177.000 test/día, que en la actualidad ha aumentado a 1,6 millones de test por semana. En el congreso LABCLIN 2020 también se han presentado los modelos puntuales sobre la organización de los laboratorios en España, exponiéndose los datos de la gestión del laboratorio del Hospital de IFEMA (Feria de Madrid: Eventos, Ferias y Congresos), presentado por el Dr. Antonio Buño, que ha dejado una clara constancia de la rapidez y eficacia de sus actuaciones para poner a disposición de los pacientes ingresados en IFEMA un laboratorio de primer nivel: “todo ello gracias al esfuerzo y capacidad de los profesionales del Hospital Universitario La Paz” de Madrid.

Una parte importante de las sesiones se dedicó a la valoración de los marcadores para agilizar los procesos diagnósticos, definir con más precisión el pronóstico y colaborar con el seguimiento de los pacientes. Entre ellos cabe destacar como muy novedoso, la medición de la amplitud de distribución de los monocitos (MDW), que en los estudios preliminares destaca como un parámetro diagnóstico y pronóstico que cumple los criterios de especificidad, sensibilidad y bajo coste. Los datos son muy prometedores y fueron presentados por el Dr. Cristian Morales, del Hospital Universitario Germans Trias i Pujol de Badalona (Barcelona), que participa en uno de los estudios internacionales que están analizando la idoneidad de este marcador.



Plataforma virtual: la secretaria técnica, exposición comercial, organizadores, sesiones en vivo y demás funcionalidades.



En España fallecen al año unas 112.000 personas por algún tipo de cáncer. La tasa de mortalidad de cualquier tumor es inversamente proporcional al estadio en el que se diagnostica, por lo que es fundamental utilizar programas de cribado fácilmente aplicables a toda la población.

“Hoy en día, el uso de los biomarcadores en cáncer se aplica a la mayoría de los tumores, especialmente en la monitorización de la enfermedad”, comenta el **Dr. Álvaro González Hernández**, Director del Laboratorio de Bioquímica de la Clínica Universidad de Navarra.

Por ejemplo, el cáncer de mama es la primera neoplasia en la mujer, tanto en incidencia como en mortalidad. Provoca más de 6.000 muertes anuales y 30.000 casos diagnosticados. Los biomarcadores como el CA15.3 y otros son imprescindibles en la monitorización de la enfermedad.

Entre otros muchos temas se habló del papel esencial del laboratorio clínico en la orientación diagnóstica de las patologías lipídicas. En el congreso se resaltó la visión conjunta en la clínica de las dislipemias y el papel fundamental en la elaboración de los informes, justificación de resultados y detección precoz. El **Dr. Antonio J. Vallejo-Vaz**, del **Imperial Centre for Cardiovascular Disease Prevention** (Londres) comentó en su presentación:

“La Hipercolesterolemia Familiar (HF) es una enfermedad que se estima afecta a 200.000 personas en España, de las cuales solo el 10% están diagnosticadas y tratadas adecuadamente.

Y ello, a pesar de que la HF es una enfermedad que causa arteriosclerosis y puede producir eventos como ictus o infarto de miocardio en personas relativamente jóvenes y, por tanto, provocar un aumento de la morbilidad y mortalidad prematura”.

La HF es un trastorno genético que implica unas concentraciones plasmáticas de colesterol muy altas en los afectados, desde las etapas iniciales de la vida. En el año 1998 la Organización Mundial de la Salud (OMS) reconoció que esta enfermedad era una prioridad de salud pública mundial. Según la OMS, esta enfermedad afecta a 1 de cada 200-250 personas en todo el mundo de todas las razas y etnias.

El principal reto para luchar contra la Hipercolesterolemia Familiar es la detección precoz. Para ello, es fundamental el cribado de los casos desde Pediatría y Atención Primaria, y es esencial la implicación de los laboratorios clínicos.

Entre otros muchos temas, también se dedicó un espacio al papel de la cronobiología en la prevención de las diferentes patologías y en la planificación de una adecuada gestión de los recursos materiales y humanos. Los análisis ritmométricos nos ayudan a estudiar los meses más difíciles para la aparición de ciertas patologías y nos indica el objetivo para extremar la prevención y recursos en determinadas enfermedades. Estos datos permiten adecuar los programas preventivos y los recursos sanitarios a los períodos de intensificación de las patologías más prevalentes.

Este Congreso ha sido nuestro primer congreso virtual, pero esperamos con ilusión que el año 2021 tenga la generosidad de dejarnos celebrar nuestro próximo Congreso LABCLIN de forma presencial en la ciudad de Zaragoza.

SOCIEDAD ECUATORIANA DE BIOQUÍMICA CLÍNICA NÚCLEO PICHINCHA (SEBIOCLIP) APOYANDO EN CONOCIMIENTO A LOS PROFESIONALES DE LATINOAMÉRICA EN TIEMPOS DE PANDEMIA.



Por:

Dra. BQF. María del
Carmen Pasquel

Member WG-IANT
Consejo Editorial DIV
Member CPR-/CPD-IFCC



Una gran acogida tuvo el webinar realizado por SEBIOCLIP el sábado 21 de noviembre del 2020, donde se expusieron dos temas de mucho interés, el primero fue *“La importancia del hemograma y el análisis del frotis sanguíneo en pacientes con COVID-19”* disertado por el Dr. Enrique de Jesús González Cruz de México y el segundo tema fue *“Gestión de Riesgo: Descubrir y minimizar fallos en el Laboratorio Clínico, para evitar pérdidas y desprestigio”*. La participación fue de 480 profesionales en vivo de diferentes partes de Latinoamérica.

El Dr. Enrique de Jesús González tiene una amplia experiencia en el área de hematología, expuso que el estado situacional en la expertis médica, en la interpretación de valores y de resultados, nos permiten establecer criterios de sospecha de cuadros clínicos agudos o de tipo infeccioso (virales o bacterianos), procesos inflamatorios, identificación de enfermedades hematológicas heredadas o adquiridas, fallas del sistema de defensa o de procesos malignos como pueden ser leucemias o linfomas, etc.

El análisis cuidadoso nos brinda un panorama hematológico que nos permite detectar posibles alteraciones cualitativas y cuantitativas que nos puedan definir la presencia o no de una probable patología en estudio; así como conocer el estado de los elementos formes de

la sangre, necesarios para el buen funcionamiento y mantenimiento de procesos dinámicos como la hemostasia primaria, correcta oxigenación celular, el buen desempeño de nuestro sistema inmunológico, etc.

Hoy en día la globalización ha impactado de manera única a los laboratorios de hematología diagnóstica; imponiendo el uso de analizadores automatizados de tecnología avanzada, permitiendo obtener procesos con mayor velocidad y exactitud en el análisis y la entrega de los resultados por el laboratorio.

El complemento final del análisis del hemograma, sin lugar a dudas es la revisión microscópica del extendido sanguíneo por el especialista en hematología; lo que permite reconocer normalidades y alteraciones morfológicas de impresión diagnóstica que no pueden ser detectadas por los analizadores automatizados.

El hemograma hoy en día, es un examen de laboratorio solicitado con mayor frecuencia en la práctica clínica, y forma parte del estudio básico que se necesita para orientar y definir un criterio de diagnóstico clínico en cada paciente que acude a la consulta diaria tanto en instituciones de salud particulares como gubernamentales.

Este estudio nos permite visualizar biomarcadores (leucocitosis, linfopenias, etc.) que pueden expresarse durante el inicio y evolución de la enfermedad causada por el virus denominado SARS-CoV-2 que causa la nueva enfermedad llamada “COVID 19”; llegando a ser una herramienta de gran utilidad para la toma de decisiones en los protocolos de atención médica, desde el diagnóstico hasta el tratamiento, varias imágenes de frotis sanguíneos y su respectivo análisis se expusieron en su presentación lo que agradó sobremanera, por ser tan claro y práctico y cómo este análisis correcto puede ser una herramienta de gran ayuda en la toma de importantes decisiones para el diagnóstico, tratamiento y seguimiento de los paciente con COVID-19.

La segunda intervención estuvo a cargo de la Dra. María del Carmen Pasquel de Ecuador quien expuso la importancia y obligatoriedad del Laboratorio Clínico para que trabaje con un correcto aseguramiento de la calidad y así pueda liberar resultados que realmente sean de utilidad clínica para los pacientes y más aún en estos tiempo de pandemia, donde los ojos de todos se centran en los resultados del laboratorio no solo para realizar la atención adecuada de los pacientes sino también para obtener datos correctos en una estadística epidemiológica tan necesaria en esta nueva enfermedad.

La gestión del Riesgo en el Laboratorio Clínico es el primer paso para esta obligatoriedad y esta nueva ISO 31000 en su versión actualizada 2018, da respuesta, con eficiencia y seguridad a los riesgos y peligros reales a los que se enfrentan las organizaciones y en este caso el Laboratorio Clínico.

La nueva norma utiliza varias metodologías que pueden ser aplicadas a cualquier campo en el que se desee implementar, siendo la Metodología de Análisis de Modo, Efecto y Falla (AMEF) la sugerida para servicios, en este caso el Laboratorio Clínico. Al ser un servicio de salud puede de manera favorable seguir esta metodología y así utilizar la Gestión del Riesgo como una herramienta para minimizar de forma anticipada, las posibles inseguridades que pudieran producirse y evitar errores y sus consecuencias.

El primer paso es **evaluar** los riesgos para: identificarlos, analizarlos y priorizarlos y de esta manera poder **controlarlos**, pudiendo visualizar cuál es el mayor, mediano y bajo y, usar colores para categorizarlos (semaforizar) y entonces planificar su solución de manera urgente para resolver y controlar al de mayor riesgo.

En la metodología AMEF usamos tres parámetros a los cuales el laboratorio de manera independiente le da una escala numérica. En el ejemplo se usó 1 para el menor 5 para el mayor en la Probabilidad e Impacto y la misma escala pero de uso inverso para la Detectabilidad, 1 para el de fácil detección 5 para el de difícil detección siendo:

1. Probabilidad (ocurrencia): que hace referencia a la frecuencia con la que el riesgo o el fallo puede presentarse.
2. Severidad (Impacto): Valora el impacto o daño que puede generar.
3. Detectabilidad (sistemas de control): Valora la capacidad y los medios que se tienen para detectar cuando se presenta el fallo, a mayor capacidad de detección menor riesgo, a menor capacidad de detección mayor riesgo.

De esta forma se procede a Calcular el NPR (Número Prioritario de Riesgo) de cada efecto, utilizando la siguiente fórmula:

$$\text{NPR} = \text{Severidad} * \text{Ocurrencia} * \text{Detección}$$

Se obtienen los valores correspondientes, se los ordena o identifica por un color predeterminado según una escala previamente definida.

Indicó que al obtener el NPR, se realiza un análisis del control del riesgo prioritario para tomar las acciones recomendadas y poder eliminar o reducirlo, en este paso debe establecerse un plan de acción para mitigar el riesgo o falla, se realizó un ejemplo completo de este análisis para la fase pre analítica. Finalmente realizó varias conclusiones como las referidas a: todo el personal que componen el laboratorio clínico tienen la responsabilidad de generar resultados que sean realmente de utilidad clínica para el paciente.

Es urgente e indispensable realizar la Gestión de Riesgo utilizando la metodología AMEF para lograr un trabajo más eficiente al analizar y semaforizar nuestros riesgos para tomar las acciones correctivas necesarias y evitar fallas e inconformidades que generan pérdidas y desprestigio.

Indicó que al seguir los lineamientos de la ISO 31000:2018 suministra, a bajo costo, una oportunidad alta de éxito en la “Gestión de Riesgos Empresariales”, (Enterprise Risk Management, ERM por sus siglas en inglés).

Otro beneficio de utilizar esta ISO 31000 es que agrega valor y reduce los riesgos a través de proporcionar directrices para una gestión eficaz en el desempeño de nuestro proceso.

“Finalmente concluyó que la Gestión de Riesgos no es otra cosa que crear un valor a la incertidumbre”.

Las autoridades de SEBIOCLI y en especial su Presidente la Dra. Mónica Haro Aspiazu, agradeció a los expositores, el interés presentado a este evento que definitivamente fue de gran utilidad para los participantes y agradeció el auspicio a Lab-Centro Illingworth y a su gerente propietario el Dr. Vicente Illingworth. Expresó que la Sociedad Científica que preside tiene entre sus principales objetivos la capacitación continua de los colegas ecuatorianos

pero que ahora se ha logrado extender gracias a la tecnología a colegas de toda Latinoamérica en un intercambio continuo no solo de conocimientos sino de estímulo para avanzar en la lucha diaria contra esta nueva enfermedad que tenemos causada por el SARS-CoV-2.

Después de dos horas de presentaciones y ronda de preguntas el evento concluyó con gran satisfacción por parte de los organizadores y participantes con el compromiso de realizar eventos tipo taller para poder ejecutar lo aprendido.

WEBINAR GRATUITO GESTIÓN DEL RIESGO: (AMEF)

Descubrir y minimizar fallos en el Laboratorio Clínico.
“para evitar pérdidas y desprestigio”



La **Dra. María del Carmen Pasquel**
compartirá:
Método de Análisis Modo Efecto y Fallo
AMEF



El **Dr. Enrique de Jesús González Cruz**
demostrará:
La importancia del hemograma y del
análisis del frotis sanguíneo en el
COVID 19

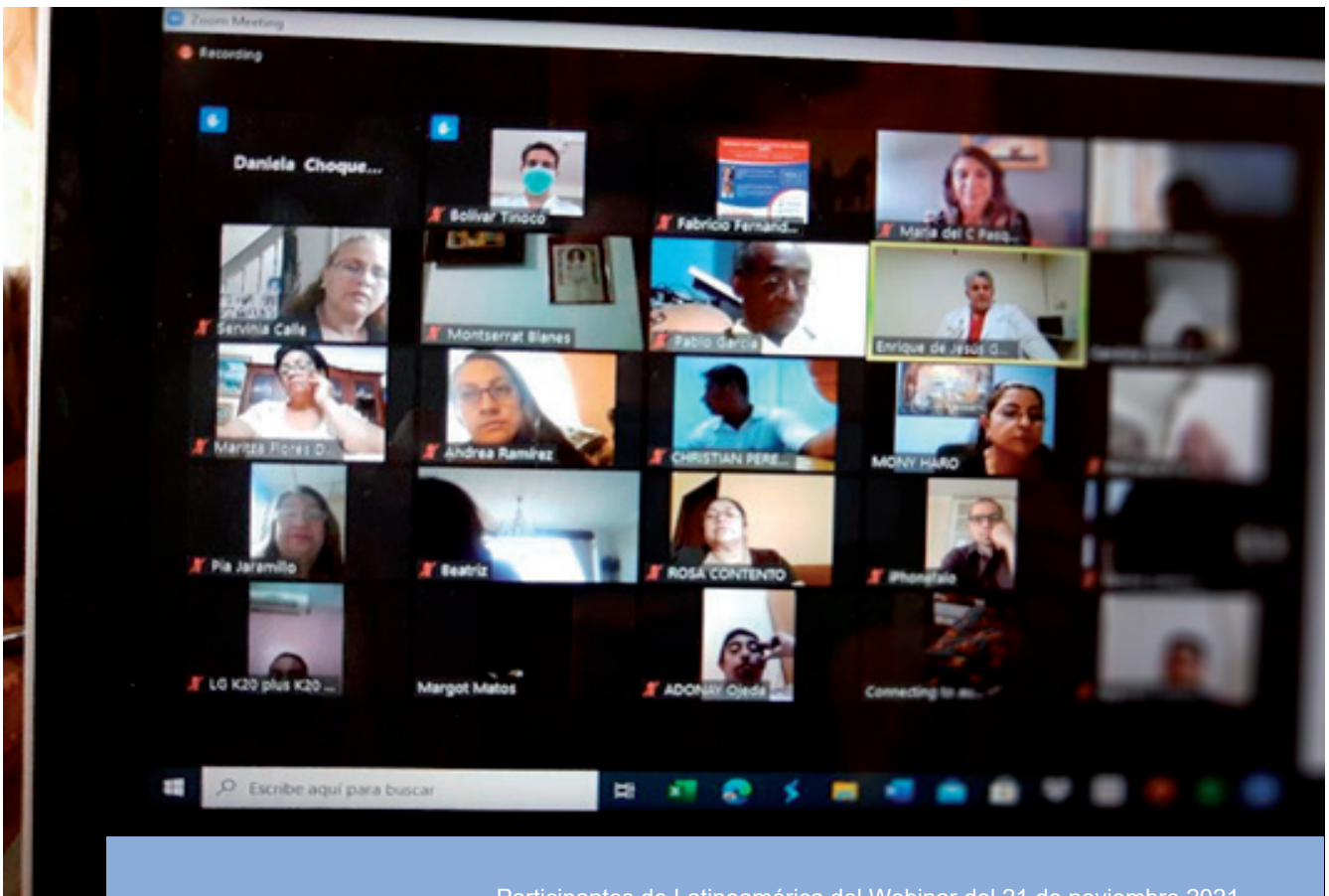
Sábado 21
de Noviembre
15H00 Ecuador

Con el Auspicio de:

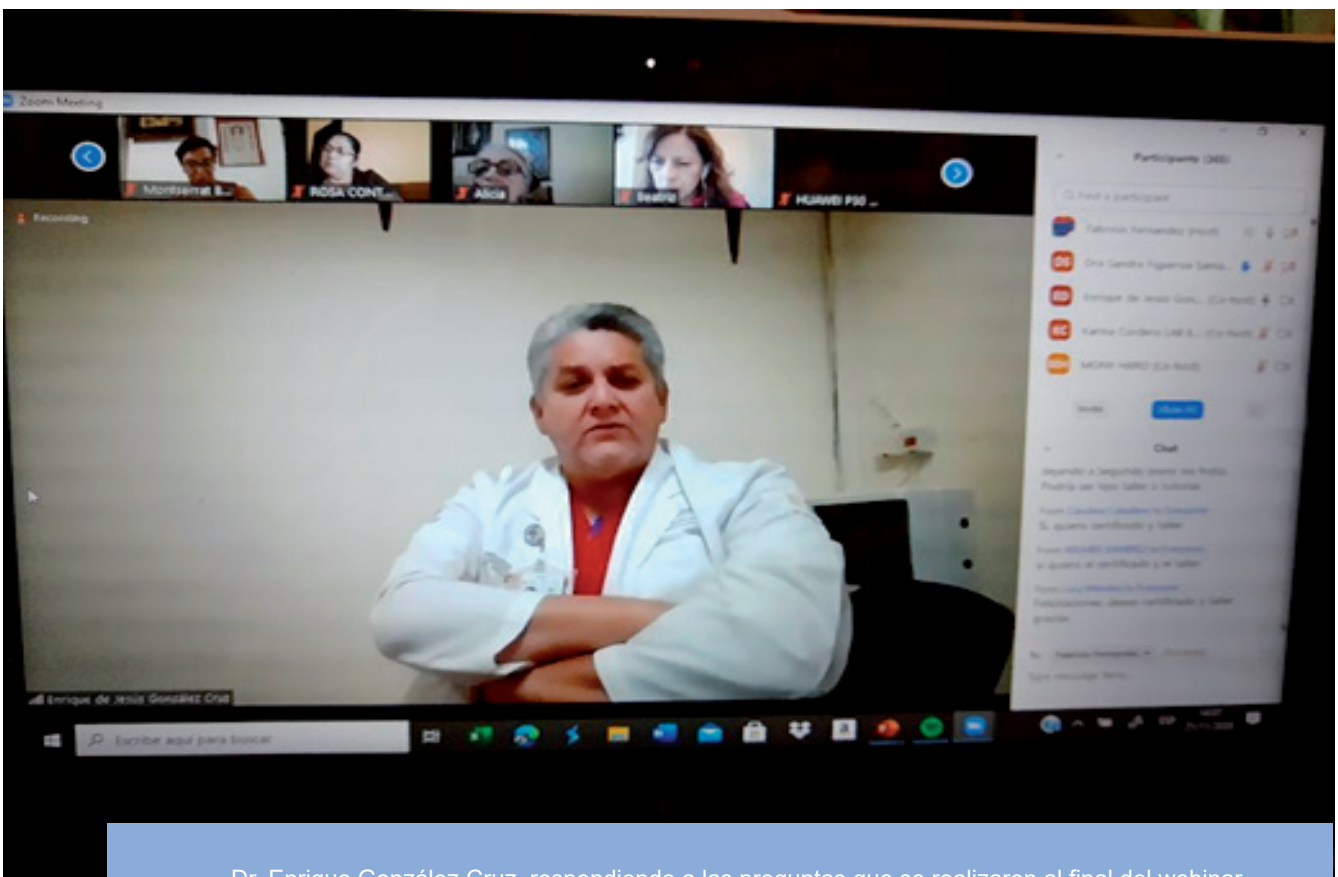


**PARA INGRESAR
GRATUITAMENTE**
Haga clic en el siguiente enlace

Poster promocional del evento.



Participantes de Latinoamérica del Webinar del 21 de noviembre 2021



Dr. Enrique González Cruz, respondiendo a las preguntas que se realizaron al final del webinar.

BIOMARCADORES DE HIPOGONADISMO MASCULINO EN LA INFANCIA Y LA ADOLESCENCIA

Puede acceder en este link al documento completo, publicado en la revista *Advances in Laboratory Medicine / Avances en Medicina de Laboratorio*. DOI: <https://doi.org/10.1515/almed-2019-0043>

AUTOR

Rodolfo A. Rey

CORRESPONDIENTE AL AUTOR

Centro de Investigaciones Endocrinológicas “Dr. César Bergadá” (CEDIE), CONICET – FEI – División de Endocrinología, Hospital de Niños Ricardo Gutiérrez, Gallo, 1330, C1425EFD, Buenos Aires, Argentina.
Tel.: +54 114963 5931
Fax: +54 11 4963 5930
E-mail: rodolforey@cedie.org.ar

PALABRAS CLAVE

Keywords

Ambigüedad genital; criptorquidia; disgenesia gonadal; hipogonadismo hipergonadotrófico; hipogonadismo hipogonadotrófico; micropene; testículo; trastornos del desarrollo sexual.

TÍTULO

Title

Biomarcadores de hipogonadismo masculino en la infancia y la adolescencia

RESUMEN

Summary

El eje hipotálamo-hipófiso-testicular es activo en la vida fetal y durante los primeros meses de la vida posnatal: la hipófisis secreta hormona luteinizante (LH) y folículo-estimulante (FSH), mientras que el testículo produce testosterona y factor insulino-símil 3 (INSL3) en las células de Leydig y hormona anti-Mülleriana (AMH) e inhibina B en las células de Sertoli. En la infancia, los niveles séricos de gonadotropinas, testosterona y factor INSL3 disminuyen a valores prácticamente indetectables, pero los de AMH e inhibina B permanecen altos. En la pubertad, se reactivan las gonadotropinas y la producción de testosterona e INSL3, aumenta la inhibina y disminuye la AMH, como signo de maduración de la célula de Sertoli.

Sobre la base del conocimiento de la fisiología del desarrollo del eje, es posible utilizar clínicamente estos biomarcadores para interpretar la fisiopatología y diagnosticar las diferentes formas de hipogonadismo que pueden presentarse en la infancia y la adolescencia.

Introducción

Clásicamente se define al hipogonadismo masculino como el fallo testicular caracterizado por una deficiencia androgénica. Si bien esa definición es ampliamente aceptada en la endocrinología del adulto, tiene poca aplicación en el paciente pediátrico [1]. Para comprender las dificultades que pueden emerger de un uso inadecuado de la definición de hipogonadismo en niños y adolescentes, es necesario revisar la fisiología del desarrollo de eje hipotálamo-hipófiso-testicular (H-H-T).

Fisiología del desarrollo del eje H-H-T

Los testículos se diferencian durante la sexta semana del desarrollo embrionario (8 semanas de amenorrea), antes de que el eje hipotálamo-hipofisario sea funcionalmente activo [2]. Los túbulos seminíferos se forman por la asociación de las células de Sertoli, que rodean a las células germinales; en el tejido

intersticial, se diferencian las células de Leydig. Las células de Sertoli producen hormona anti-Mülleriana (AMH), responsable de la regresión de los conductos paramesonérficos de Müller (esbozos del útero y las trompas de Falopio) en las semanas 8 y 9 de la vida intrauterina (Figura 1). En esa etapa, la producción de AMH es independiente de las gonadotropinas hipofisarias pero, a partir de la segunda mitad de la gestación, responde a la hormona folículo-estimulante (FSH) [3]. Las células de Sertoli también secretan inhibina B, que responde a la FSH y es responsable de la retroalimentación negativa sobre la producción hipofisaria de FSH [4, 5]. Las células de Leydig producen andrógenos (Figura 1), que provocan el desarrollo de los conductos mesonérficos de Wolff para formar los epidídimos, los conductos deferentes y las vesículas seminales, así como la virilización del seno urogenital y los esbozos de los genitales externos [6]. La síntesis de andrógenos depende esencialmente de la acción de la gonadotropina coriónica humana (hCG) en el primer trimestre de la gestación y de la hormona luteinizante (LH) hipofisaria posteriormente. Las células de Leydig también secretan el factor insulino-símil 3 (INSL3) que es responsable, junto con los andrógenos, del descenso testicular hacia el escroto [7, 8].

Al nacimiento, las concentraciones de todas las hormonas del eje gonadal se encuentran bajas en sangre, pero aumentan progresivamente a partir de la primera semana de vida [9]. Las gonadotropinas, la testosterona y el INSL3 permanecen en niveles similares a los del adulto hasta aproximadamente el sexto mes de vida, en que disminuyen a niveles bajos o indetectables [10]. La AMH persiste en niveles elevados durante toda la infancia, reflejando el estado inmaduro de la célula de Sertoli [11, 12], mientras que la inhibina B disminuye parcialmente pero mantiene niveles claramente detectables [5]. Durante la infancia, el volumen testicular aumenta de manera imperceptible clínicamente, siendo la población de células de Sertoli la que mayor aporte hacen al tamaño gonadal [13]. Las células de Sertoli no maduran en los primeros 6 meses, a pesar de estar expuestas a altas concentraciones de andrógenos, dado que no expresan el receptor de andrógenos [14–16]. Luego del primer año comienzan a expresarlo, pero persisten inmaduras durante el resto de la infancia porque los niveles de testosterona son muy bajos

[17]. Las células germinales sólo se dividen por mitosis, pero no entran en meiosis, por lo cual no hay producción espermática.

El inicio del desarrollo puberal se caracteriza por una reactivación del gonadotropo, que comienza a producir FSH y LH de manera cíclica. La FSH provoca una proliferación de las células de Sertoli aun inmaduras. Así, el volumen testicular comienza a aumentar progresivamente. La LH estimula la producción de testosterona por las células de Leydig; el aumento de la testosterona intratesticular induce la maduración de las células de Sertoli, que comienzan a producir menos AMH y más inhibina B [13]. Otra característica de las células de Sertoli maduras es que son capaces de desarrollar la barrera hemato-testicular y sostener funcionalmente a la espermatogénesis adulta [18]. La marcada proliferación de las células germinales es responsable del notable aumento del volumen testicular.

Biomarcadores del eje H-H-T

Hormonas hipofisarias: LH y FSH

Las gonadotropinas LH y FSH tienen en común, junto con la tirotropina (TSH) hipofisaria y la hCG, la subunidad alfa y deben su especificidad a la subunidad beta. Ambas son secretadas por el gonadotropo hipofisario, en respuesta al estímulo que produce la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) producida a nivel del hipotálamo.

LH

La LH se une al receptor de LHCG (LHCGR), el cual responde tanto a la LH como a la hCG, y está presente en la membrana de las células de Leydig testiculares. La LH, de forma aguda, provoca un estímulo de la esteroidogénesis testicular, con el consecuente aumento en los niveles circulantes de testosterona. De forma crónica, la LH tiene un efecto trófico sobre las células de Leydig, aumento su número (hiperplasia) y su secreción de INSL3 [19, 20]. El descenso en los niveles de LH conlleva a una desdiferenciación de las células de Leydig a precursores mesenquimáticos y un descenso en los niveles de andrógenos e INSL3, tras el período de 3 a 6 meses de activación posnatal, clásicamente conocido como “mini-pubertad” [10, 13, 21]. En la pubertad, que en el varón puede iniciarse entre los 9 y los 14 años [22], la LH provoca nuevamente el desarrollo de células de Leydig y la producción de andrógenos e INSL3.

Los niveles circulantes de LH son muy bajos en las primeras horas tras el nacimiento [23] y aumentan en la primera semana de vida [9] para

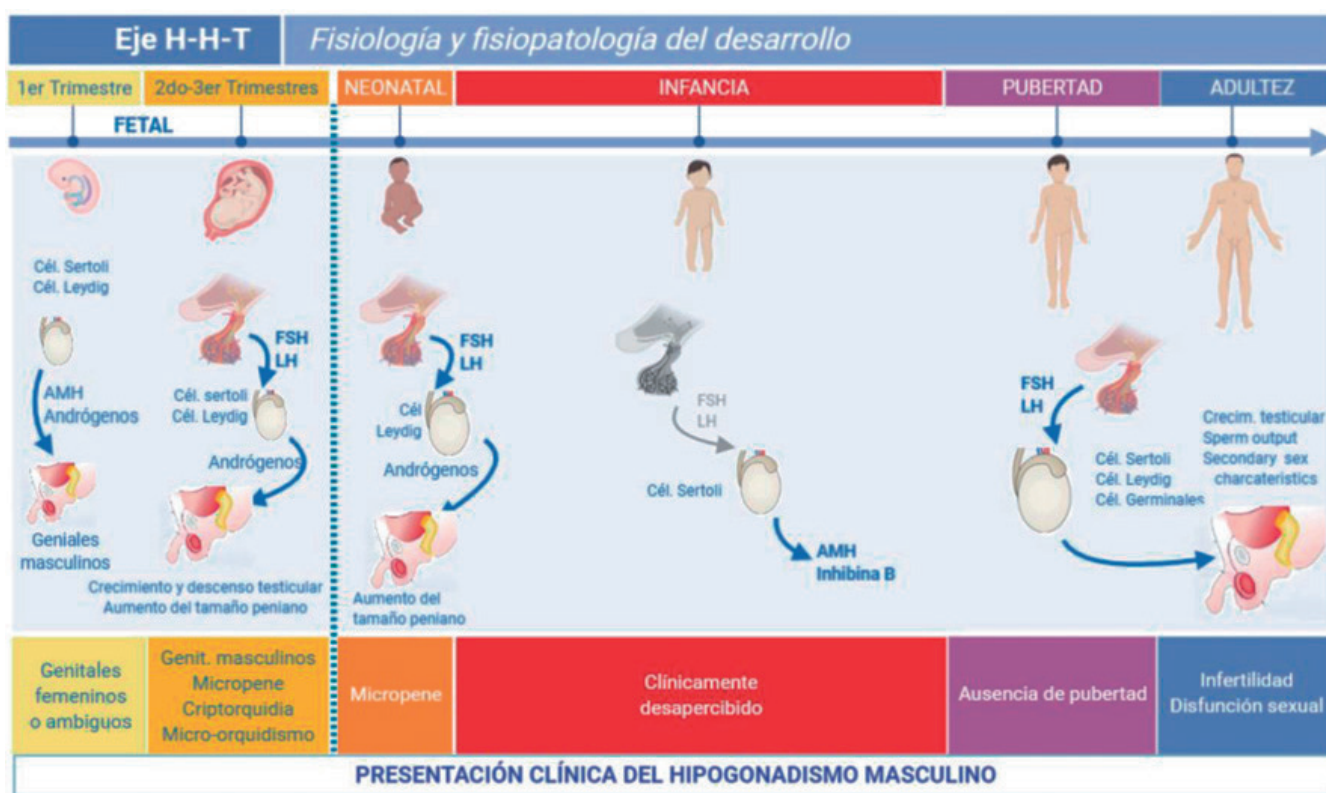


Figura 1:

Ontogenia del eje hipotalámico-hipófisis-testicular (H-H-T) en el varón y su impacto en la presentación clínica del hipogonadismo. Las gónadas se diferencian en el primer trimestre de la vida fetal, independientemente de las gonadotropinas hipofisarias. Los andrógenos testiculares y la hormona anti-Mülleriana (AMH) provocan la diferenciación masculina de los genitales; su ausencia conduce a la diferenciación femenina. El hipogonadismo en este período lleva al desarrollo de genitales ambiguos o femeninos en individuos XY. En los trimestres segundo y tercero, los andrógenos provocan el descenso testicular y el agrandamiento del pene. Los hipogonadismos primarios y secundarios dan como resultado micropene, microorquidismo y/o criptorquidia en un recién nacido que presenta genitales masculinos. En los primeros meses de la vida posnatal, la secreción de gonadotropinas y andrógenos es activa; el hipogonadismo impide el agrandamiento del pene en los niños. Durante la infancia, las gonadotropinas y la testosterona son normalmente bajas o incluso indetectables; el hipogonadismo establecido en este período no da lugar a signos clínicamente evidentes y sólo puede detectarse si se evalúan los niveles de AMH o inhibina B. Durante la pubertad, el eje H-H-T se reactiva y provoca el desarrollo típico de caracteres sexuales secundarios; el hipogonadismo puede provocar un desarrollo puberal ausente o incompleto, o más tarde infertilidad y disfunción sexual. Esta figura se modificó utilizando BioRender (<https://biorender.com/>) con permiso de Grinspon RP, Freire AV, Rey RA. Hypogonadism in Pediatric Health: Adult Medicine Concepts Fail. Trends Endocrinol Metab 2019;30(12):879–890. © 2019 Elsevier Ltd.

permanecer en valores similares a los de la pubertad hasta los 3 a 6 meses de vida [10]. Luego, la LH sérica disminuye hasta valores generalmente no detectables por los métodos habitualmente utilizados en la clínica y permanece así hasta el inicio de la pubertad (Figura 2). Durante el desarrollo puberal, la LH comienza a ser secretada en pulsos cada aproximadamente 90 minutos, que son primero nocturnos para luego hacerse presentes durante todo el día [24]. Los niveles circulantes de LH aumentan progresivamente durante el desarrollo puberal, de acuerdo con los estadios de Tanner [12]. La evaluación de los niveles de LH, al igual

que los del resto de las hormonas del eje gonadal, deben ser evaluados en función de los estadios de Tanner [25] y no de la edad, dada la amplia variabilidad interindividual que existe en cuanto a la edad de inicio y de fin de la pubertad en la población general [22].

FSH

La FSH se une a su receptor específico (FSHR), que está presente en la membrana de las células de Sertoli. La FSH tiene un efecto proliferativo sobre las células de Sertoli inmaduras (desde la vida fetal hasta el inicio de

la pubertad), siendo así un determinante esencial del tamaño testicular en esas etapas de la vida. Además, la FSH estimula la secreción de AMH [26] e inhibina B [27]. Al igual que la LH, la FSH sérica está baja al nacer [23], luego aumenta durante la primera semana de vida [9]. En el varón la FSH suele estar algo más baja que la LH en la “mini-pubertad” [10] y en la pubertad verdadera [12]. Durante la infancia, la FSH también disminuye, pero menos que la LH (Figura 2). Eso hace que los niveles circulantes de FSH estén por encima de los de LH en esta etapa de la vida [12, 28].

Hormonas testiculares

Los testículos tienen dos poblaciones celulares con capacidad endocrina: las células de Sertoli y las células de Leydig. La actividad endocrina de las células de Leydig es clínicamente informativa durante la activación posnatal o “mini-pubertad” y en la pubertad, mientras que la actividad de las células de Sertoli es la que debe evaluarse clínicamente en la infancia.

Testosterona

Los niveles circulantes de testosterona siguen las mismas variaciones que los de la LH (Figura 2): son bajos al nacer [23] y aumentan progresivamente durante el primer mes de vida [9]. Si bien es aconsejable medir los niveles de esteroides por espectrometría de masas, la mayoría de los laboratorios clínicos siguen usando actualmente inmunoensayos [29]; por ello, es importante tener en cuenta que en las primeras 2 a 3 semanas de vida, los inmunoensayos pueden detectar inespecíficamente otros esteroides, siendo fundamental hacer las determinaciones tras un proceso de extracción para evitar valores artificialmente elevados [9]. Después de los 3 a 6 meses de vida, la testosterona circulante suele ser no detectable en plasma, aumentando nuevamente recién en el estadio 2 o 3 de Tanner [12]. En la infancia, es factible medir la testosterona circulante tras un estímulo con hCG (2 a 3 inyecciones IM de 1500 a 2500 UI, con 48 horas de diferencia), para estimar la capacidad funcional de las células de Leydig [30].

INSL3

La secreción testicular de INSL3 muestra perfiles similares a los de testosterona [10, 13, 21]. Sin embargo, dado que refleja solamente el efecto trófico de larga duración de las gonadotropinas sobre las células de Leydig, su medición no es tan útil luego del estímulo agudo con hCG [31].

AMH

La AMH es un marcador distintivo de la célula de Sertoli prepuberal (Figura 2). La AMH sérica disminuye transitoriamente al nacimiento, pero luego aumenta durante las primeras semanas de vida [9] para llegar a sus niveles máximos entre los 2 y 3 años de edad, siendo hasta 100 veces más elevada en el varón que en la mujer [11, 12, 32].

Ello es de importancia en la práctica ya que requiere una dilución de la muestra en varones para que la concentración de AMH entre en el rango de los inmunoensayos usados actualmente.

Aunque la producción basal de AMH es independiente de las gonadotropinas [33], la FSH estimula la secreción testicular de AMH [26, 34–36]. Por su parte, el aumento de la concentración intratesticular de testosterona provoca una inhibición de la secreción de AMH [18, 37]. Es de interés notar que el aumento de los niveles circulantes de andrógenos provocados por el tratamiento farmacológico no logra niveles suficientes de testosterona intratesticular para provocar la caída de la AMH [38]. Asimismo, la AMH no disminuye en respuesta a la testosterona antes del año de vida dado que las células de Sertoli no expresan el receptor de andrógenos en ese período de la vida [14, 39].

Inhibina B

Las inhibinas son proteínas diméricas producidas por las gónadas [40], compuestas por una subunidad alfa común y una subunidad beta específica. La inhibina B, que contiene una subunidad beta B, es la única de relevancia fisiológica en el sexo masculino [41, 42]. La célula de Sertoli es la mayor fuente de inhibina B en el varón [4]; su producción es estimulada por la FSH [27, 35]. A su vez, la inhibina B es el principal inhibidor de la secreción hipofisaria de FSH. En caso de una secreción disminuida de inhibina B, o ausente como en la anorquia, los niveles de FSH se encuentran muy elevados. Sin embargo, durante la infancia, la FSH puede no estar elevada [28], lo que es un indicador del reposo hipotálamo-hipofisario (gonadotropo) en ese período de la vida.

Los niveles de inhibina B aumentan durante las primeras semanas de vida [9], llegando a niveles del adulto en el segundo año [43, 44]. Luego, en el resto de la infancia, los niveles son algo menores pero siempre claramente detectables (Figura 2) y superiores a los de las niñas. En la pubertad, la inhibina B aumenta nuevamente

llegando a sus niveles máximos en el estadio 2 o 3 de Tanner [4, 44, 45]. A partir de ese momento, los niveles de inhibina B reflejan la actividad de las células de Sertoli y su interacción con las células germinales.

Hipogonadismo masculino

La definición de hipogonadismo masculino, generada por la medicina del adulto [1], se refiere a la deficiente función testicular reflejada en insuficiencia androgénica acompañada o no de una deficiente producción espermática [46].

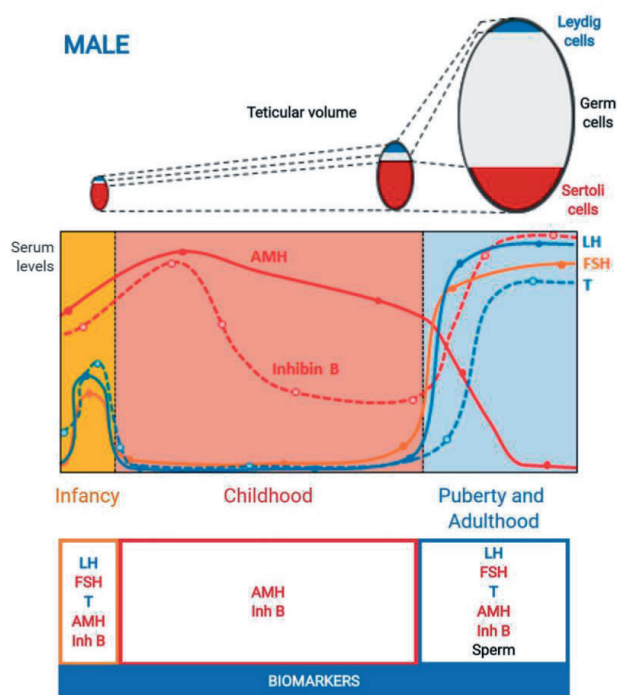


Figura 2: Ontogenia esquemática de la evolución del volumen testicular desde el nacimiento hasta la edad adulta. Los túbulos seminíferos (células de Sertoli + células germinales) son siempre el componente principal de los testículos. Desde el nacimiento y durante todo el período prepúbere (es decir, hasta los 9–14 años, estadio 1 de Tanner), el volumen de túbulos seminíferos depende principalmente de las células Sertoli, mientras que el aumento significativo en el volumen testicular durante el desarrollo puberal (es decir, entre las etapas de Tanner 2 y 5) se debe principalmente a la proliferación de células germinales (espermatogénesis adulta). Esta figura se modificó utilizando BioRender (<https://biorender.com/>) con permiso de Grinspon RP, Freire AV, Rey RA. *Hypogonadism in Pediatric Health: Adult Medicine Concepts Fail. Trends Endocrinol Metab* 2019;30(12):879–890. © 2019 Elsevier Ltd.

Si se aplicase esa definición en la infancia, analizando la fisiología del desarrollo previamente descrita, todos los niños deberían ser calificados como hipogonádicos ya que no producen testosterona ni espermatozoides. Sin embargo, las células de Sertoli son activas durante la infancia, provocando un aumento del tamaño testicular – si bien discreto (Figura 2) – y secretando AMH [47] e inhibina B [43, 44].

Como veremos, la valoración endocrina de las células de Sertoli es útil como indicador de función testicular en la población pediátrica. Una definición más integral de hipogonadismo masculino debe contemplar la función disminuida de la función testicular, comparada con la esperada para la edad, que puede involucrar a las células de Sertoli (AMH, inhibina B), de Leydig (testosterona, INSL3) y/o germinales [48].

Del concepto anterior, se desprende la idea de clasificar al hipogonadismo masculino no solamente según el nivel del eje H-H-T primariamente afectado sino también según el momento de la vida en que se establece y la población testicular primariamente dañada (Tablas 1 y 2).

Hipogonadismo primario (“hipergonadotrófico”), secundario (“hipogonadotrófico”) o dual

El hipogonadismo puede deberse a una afección primaria del hipotálamo o la hipófisis, o a un daño principal de las gónadas. En raros casos, tanto el eje hipotálamo-hipofisario como las gónadas están primariamente dañados al mismo tiempo, lo cual da origen a un hipogonadismo “dual” o combinado [48].

Hipogonadismo primario

El hipogonadismo primario (testicular o periférico), usualmente denominado “hipergonadotrófico” en la medicina del adulto [1, 46], se caracteriza por un daño primario de las gónadas. La insuficiente producción de inhibina B y testosterona impiden un normal retrocontrol negativo a nivel hipotálamo-hipofisario, lo cual lleva en algunas etapas de la vida a un aumento de las gonadotropinas. Ya veremos que ello no ocurre siempre y que puede haber una disociación entre los niveles de LH y FSH. Ejemplos de hipogonadismo primario son el síndrome de Klinefelter, el síndrome de regresión testicular y la orquitis, entre otros.

Hipogonadismo secundario

El hipogonadismo secundario (hipotálamo-hipofisario o central), usualmente denominado

“hipogonadotrófico” en la medicina del adulto [1, 46], se caracteriza por un daño primario del hipotálamo o de la hipófisis. La insuficiente producción de LH y FSH impiden un normal desarrollo de las células de Leydig y de los túbulos seminíferos (células de Sertoli y germinales). Dada la fisiología normal del desarrollo del eje H-H-T, este tipo de hipogonadismo puede ser muy difícil de diagnosticar en la infancia; también es posible encontrar en algunos casos una disociación entre los niveles de LH y FSH, como se describe más adelante. Ejemplos de hipogonadismo secundario son el síndrome de Kallmann, la insuficiencia hipofisaria multihormonal y la insuficiencia hipofisaria post-cirugía del sistema nervioso central, entre otros.

Hipogonadismo dual

Existen condiciones poco frecuentes en las que tanto el eje hipotálamo-hipofisario como las gónadas están primariamente dañadas; es decir, a diferencia de las formas primarias y secundarias, en el hipogonadismo dual, el fallo ocurre conjuntamente en ambos niveles, sin ser una consecuencia de la otra. Ejemplos de

hipogonadismo dual son el síndrome de Prader-Willi y el fallo gonadal en pacientes oncológicos tratados con quimioterapia y radioterapia —craneana, entre otros.

Fallo gonadal generalizado o disociado

Hipogonadismo generalizado

En estos casos, todas las poblaciones celulares del testículo están primariamente dañadas, llevando una deficiencia de todas las hormonas testiculares y de la producción de células germinales. Son ejemplos la disgenesia testicular y el síndrome de Kallmann (hipogonadismo hipogonadotrófico aislado con hiposmia).

Hipogonadismo disociado

A diferencia de los anteriores, las formas disociadas de hipogonadismo se caracterizan por un daño primario de una de las poblaciones celulares del testículo. Secundariamente, a menor o mayor plazo, las otras poblaciones pueden también verse afectadas en diferente

		Genitales	Infancia					Pubertad-Adultez					
			LH	FSH	T	AMH	Inh B	LH	FSH	T	AMH	Inh B	Espem.
Hipogonadismo primario (Testicular)	Fallo gonadal generalizado	Femeninos o ambiguos	N-A	N-A	B-ND	B-ND	B-ND	A	A	B-ND	B-ND	B-ND	Azoosp.
	Disgenesia gonadal	Femeninos o ambiguos	N-A	N-A	B-ND	B-ND	B-ND	A	A	B-ND	B-ND	B-ND	Azoosp.
	Sme. Regresión testicular	Micropene, Escroto vacío	N	N	N	N	N	A	A	N-B	B-ND	B-ND	Azoosp.
	Torsión testicular	Masculinos	N	N	N	N	N	A	A	N-B	B-ND	B-ND	Azoosp.
	Síndrome de Klinefelter, Varón XX	Masculinos	N	N	N	N	N	A	A	N-B	B-ND	B-ND	Azoosp.
	Fallo gonadal disociado												
	Células de Leydig	Femeninos o hipovirilizados	N-A	N	B-ND	N-A	N	A	A	B-ND	N-A	B-ND	Azoosp.
	Hipoplasia/aplasia: Defectos esteroideogénicos	Criptorquidia	N	N	N	N	N	N	N-A	N	N	N-B	Oligosp.
	Mutaciones de INSL3	Criptorquidia	N	N	N	N	N	N	N-A	N	N	N-B	Oligosp.
	Células de Sertoli	Testículos pequeños	N	N	N	B	B	N	A	N	B	B	Oligosp.
Hipogonadismo secundario (Central)	Mutaciones de FSH-R	PMDS	N	N	N	ND	N	N	N	N	ND	N	N
	Mutaciones de AMH	PMDS	N	N	N	ND	N	N	N	N	ND	N	N
	Fallo gonadal generalizado	Micropene, Criptorquidia	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	Oligosp./azoosp.
	Insuficiencia hipofisaria multihormonal	Micropene, Criptorquidia	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	Oligosp./azoosp.
	Hipogonadismo central aislado	Micropene, Criptorquidia	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	Oligosp./azoosp.
	Fallo gonadal disociado												
	Insuficiencia hipofisaria multihormonal	Testículos pequeños	N	B	N	B	B	N	B	N		B	
	Hipogonadismo central aislado: Mutaciones de <i>TAC3</i> o <i>TACR3</i>	Micropene, Criptorquidia	B	N	B	N	N	B	N	B		B	Oligosp./azoosp.
	Mutaciones de <i>LHβ</i>	Micropene, Criptorquidia	B	N	B	N	N	B	A	B	A		Oligosp./azoosp.
	Mutaciones de <i>FSHβ</i>	Testículos pequeños	N	B	N			A	B	N			Oligosp./azoosp.
Hipogonadismo dual (Combinado)	Fallo gonadal generalizado												
	Síndrome de Prader-Willi	Micropene, Criptorquidia	B-N	B-N	B-N	B	B	N	N	B	B	B	Oligosp./azoosp.
	Hipoplasia adrenal congénita ligada al X	Micropene, Criptorquidia	B-N	B-N	B-N	B	B	N	N	B	B	B	Oligosp./azoosp.

B, N, A, bajo, normal, alto en comparación con los niveles de referencia masculinos para la edad; ND, no detectable. Traducida con permiso de Rey RA, Grinspon RP, Gottlieb S, Pasqualini T, Knoblovits P, Aszpis S, Pacenza N, Stewart Usher J, Bergadá I, Campo SM. Male hypogonadism: an extended classification based on a developmental, endocrine physiology-based approach. *Andrology*. 2013;1(1):3–16. © 2012 American Society of Andrology and European Academy of Andrology.

Tabla 1:
Hipogonadismo masculino de inicio fetal.

		Infancia					Pubertad-Adultez					Espermatogénesis	
		LH	FSH	T	AMH	Inh B	LH	FSH	T	AMH	Inh B		
Hipogonadismo primario (Testicular)	Fallo gonadal generalizado												
	Orquitis	N	N	B-ND	B-ND	B-ND	A	A	B-ND	B-ND	B-ND	Oligosp./azoosp.	
	Torsión o traumatismo testicular												
	Síndrome de down	N-A	N-A	N-B	N-B	N-B	A	A	B	B	B	Azoosp.	
	Varicocele	N	N	N	N	N	N-A	N	N-B	N	N	Teratozoosp./asthenozoosp.	
	Enfermedades crónicas: <i>Granulomas, amiloidosis, fibrosis quística, insuficiencia renal</i>						A	A	B-ND	B-ND	B-ND	Oligosp./azoosp.	
	Hipogonadismo de comienzo tardío	No corresponde					N-A	N-A	B		B		
	Fallo gonadal disociado												
	Deleciones del cromosoma Y: <i>AZF</i> Mutaciones génicas: <i>CILD1, USP9Y</i>	N	N	N	N	N	N	A	N		B	Oligosp./azoosp.	
	Quimioterapia Radioterapia abdómino-pelvíana	N	N	N-B		N-B	N-A	A	N-B		B	Oligosp./azoosp.	
Tratamientos farmacológicos: <i>espironolactona, ketoconazol</i>	N	N	N-B			N-A	N-A	B			Oligosp.		
Hipogonadismo secundario (Central)	Fallo gonadal generalizado												
	Lesiones hipofisarias y del SNC: <i>Tumores, histiocitosis, traumatismos, etc.</i>	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	Oligosp./azoosp.	
	Hipogonadismo central funcional: <i>Enfermedades crónicas, abuso de drogas o alcohol, etc.</i>						B-N	B-N	B		B	Oligosp./azoosp.	
Hipogonadismo dual (Combinado)	Fallo gonadal generalizado												
	Radioterapia craneana + Quimioterapia	B-N	B-N	B-N	B	B	B-N	B-N	B	B	B	Oligosp./azoosp.	
	Intoxicación con plomo												
	Consumo de marihuana Irradiación corporal total												

B, N, A, bajo, normal, alto en comparación con los niveles de referencia masculinos para la edad; ND, no detectable. Traducida con permiso de Rey RA, Grinspon RP, Gottlieb S, Pasqualini T, Knoblovits P, Aszpis S, Pacenza N, Stewart Usher J, Bergadá I, Campo SM. Male hypogonadism: an extended classification based on a developmental, endocrine physiology-based approach. *Andrology*. 2013;1(1):3–16. © 2012 American Society of Andrology and European Academy of Andrology.

Tabla 2:
Hipogonadismo masculino de inicio postnatal.

grado. Ejemplo de ello son la hipoplasia de células de Leydig por mutaciones del LHCG-R, la deficiencia de FSH por mutaciones del gen de la subunidad beta de FSH que afecta esencialmente a las células de Sertoli y el fallo gonadal post-quimioterapia que daña primariamente a las células germinales.

Hipogonadismo de inicio fetal, infantil, puberal o en la adultez

Las manifestaciones clínicas del hipogonadismo dependen de la etapa de la vida en la que el fallo se establece. El hipogonadismo fetal establecido en el primer trimestre del desarrollo provoca un trastorno del desarrollo sexual (DSD, por sus siglas en inglés correspondientes a Disorders of Sex Development), que se manifiesta por la existencia de genitales ambiguos o femeninos al nacimiento [49]. La disgenesia gonadal es un ejemplo de hipogonadismo fetal generalizado, mientras que la hipoplasia de células de Leydig es una forma disociada. El hipogonadismo central no puede dar lugar a la ambigüedad genital, ya que la función de las células de

Leydig en el primer trimestre de la vida fetal no depende de las gonadotropinas hipofisarias sino de la hCG placentaria. El hipogonadismo establecido a partir del segundo trimestre de la vida fetal, sea testicular, central o dual, da lugar típicamente a micropene y criptorquidia en un varón sin ambigüedad genital [50–52].

Puesto que el eje H-H-T permanece activo durante los 3 a 6 primeros meses de vida posnatal [9, 10], este período representa una ventana de oportunidad para establecer el diagnóstico de hipogonadismo [50, 52].

El hipogonadismo establecido durante la infancia puede pasar desapercibido. Esto se debe, como hemos visto, a que la función H-H-T normalmente disminuye en el niño. La condición debe sospecharse y buscarse activamente (por ejemplo, mediante la medición de AMH o inhibina B en condiciones basales, o testosterona en respuesta a la estimulación con hCG); de lo contrario el diagnóstico se retrasa hasta la edad puberal [53].

En varones que llegan a la edad puberal, el hipogonadismo se caracteriza por la ausencia o

la detención del desarrollo puberal normal [22, 25]. Debido a la insuficiencia androgénica, las características sexuales secundarias no se desarrollan: las proporciones del cuerpo son típicamente eunucoides (relación entre segmento superior/inferior del cuerpo <1 , con una braza que supera en 6 cm a la talla), la voz sigue siendo aguda, la edad ósea se retrasa, y el volumen testicular no aumenta, lo que refleja la falta o la detención de la espermatogénesis.

El hipogonadismo que se establece en la adultez se caracteriza por una disminución de la libido, la impotencia y la oligo- o azoospermia [46]. En un porcentaje de hombres de mayor edad, se desarrolla una deficiencia androgénica leve, conocida como hipogonadismo de inicio tardío [54], que presenta síntomas similares a los del hipogonadismo en hombres jóvenes.

Utilidad clínica de los biomarcadores del eje H-H-T en la infancia y la adolescencia

Entre el nacimiento y los 3 a 6 meses de vida

En esta etapa de la vida todo el eje H-H-T está activo, por lo cual todas las hormonas pueden ser informativas.

Recién nacidos con genitales ambiguos o femeninos

En un recién nacido con genitales ambiguos, deben buscarse las causas de un DSD. En pacientes con cariotipo 46,XY la causa puede ser una disgenesia gonadal, o sea un hipogonadismo fetal primario generalizado de inicio en el primer trimestre. El hallazgo de niveles muy bajos de AMH, inhibina B, testosterona e INSL3 es esperable, con elevación de las gonadotropinas [49, 52, 55]. En estos pacientes, los estudios por imágenes demuestran la presencia de útero y trompas por deficiencia de AMH. En cambio, cuando la ambigüedad genital se acompaña de una ausencia de restos müllerianos, puede tratarse de un hipogonadismo fetal primario disociado, con fallo exclusiva del sector leydigiano. Las causas pueden ser una hipoplasia de células de Leydig por mutación del LHCG-R o anomalías en alguna de las proteínas involucradas en la esteroidogénesis testicular [56]. Si bien la testosterona está baja y la LH alta, la AMH se encuentra en valores normales del rango masculino, lo que elimina el diagnóstico de disgenesia gonadal [57]. Si tanto la testosterona como la AMH están en valores masculinos normales, no existe hipogonadismo y la causa

del DSD puede ser una insensibilidad a los andrógenos por mutaciones del receptor de andrógenos, una deficiente producción periférica de DHT por mutación del gen de la 5α -reductasa o bien una causa no endocrina [49, 55, 58]. En pacientes con anomalías del par de cromosomas sexuales (por ejemplo deleciones del brazo corto del cromosoma Y, 45,X/46,XY u otros mosaicismos con cromosoma Y presente), la causa del DSD es una disgenesia gonadal.

Una forma poco frecuente de DSD 46,XY es el síndrome de persistencia de los conductos de Müller (PMDS), que se presenta con criptorquidia y genitales masculinizados completamente. Las gonadotropinas y testosterona están en el rango masculino normal, mientras que la AMH es muy baja o indetectable en la mutaciones del gen *AMH* y normal cuando la mutación está a nivel del receptor *AMHR2* [59].

En el primer caso estamos frente a un hipogonadismo fetal primario disociado, con afectación exclusiva de las células de Sertoli, mientras que en el segundo no hay hipogonadismo sino resistencia periférica a la AMH.

En recién nacidos con cariotipo 46,XX, la ambigüedad genital puede ser por un exceso de andrógenos de origen suprarrenal (por ejemplo, hiperplasia suprarrenal congénita) [60] o placentario (deficiencia de aromatasas) [61]; estos pacientes tienen ovarios y la AMH e inhibina B están en el rango femenino [57]. Pero la ambigüedad genital puede deberse al desarrollo de tejido testicular, ya sea en forma de ovotestes o testículos disgenéticos [62]. En los dos primeros casos, la AMH y la testosterona suelen estar en valores intermedios entre los masculinos y los femeninos, y las gonadotropinas pueden estar elevadas, o incluso en el rango normal cuando existe suficiente tejido ovárico funcional.

Existe también la posibilidad del nacimiento de un varón con cariotipo 46,XX y genitales masculinos normales. Estos casos, que se detectan por la discordancia con un eventual cariotipo hecho durante la gestación, presentan todas las hormonas del eje H-H-T en valores masculinos normales hasta la pubertad, como se describe más adelante.

Recién nacidos con micropene, criptorquidia Y/O microorquidismo

El micropene, la criptorquidia y/o el micro-orquidismo son signos de fallo en el eje

H-H-T. Se trata de un hipogonadismo fetal establecido a partir del segundo trimestre, es decir después de que los genitales ya se diferenciaron en sentido masculino. La asociación de niveles bajos de LH, FSH, testosterona, INSL3, AMH e inhibina B son altamente sugestivos del diagnóstico de hipogonadismo fetal central (hipogonadotrófico) que afecta a todos los sectores del eje [35, 52, 63–65]. Pero el cuadro puede también deberse a un fallo testicular primario generalizado establecido a partir del segundo trimestre de la gestación: el síndrome de regresión testicular se caracteriza por niveles indetectables de las hormonas testiculares con elevación de las gonadotrofinas [52, 66].

Entre los 6 meses Y la edad de la pubertad

En esta etapa de la vida, las gonadotrofinas, la testosterona y el INSL3 son muy poco informativos, siendo las hormonas producidas por las células de Sertoli las de mayor utilidad clínica.

Si la condición es congénita pero el diagnóstico se retrasó, es posible que no sea fácil confirmar la causa del

problema. Los niveles bajos de AMH e inhibina B indican una deficiencia de células de Sertoli, pero puede ser difícil de establecer si el trastorno es primariamente testicular o secundario a un fallo hipotálamo-hipofisario. En efecto, las gonadotrofinas pueden normalizarse durante la infancia en pacientes con hipogonadismo primario (DSD disgenético o por disfunción leydigiana, o en el síndrome de regresión testicular o anorquia). Es decir que el hipogonadismo primario no es siempre “hipergonadotrófico” en niños durante la edad prepuberal [28]. Los valores de testosterona no se distinguen de los de un niño normal (son indetectables), a menos que se realice una prueba de estímulo con hCG, que busque definir si existen células de Leydig funcionales. Si la AMH y la inhibina B son indetectables, el diagnóstico de anorquia está confirmado.

En los niños sin antecedentes perinatales de micropene, la posibilidad de un hipogonadismo fetal está más alejada. La consulta puede ser motivada por criptorquidia, torsión o traumatismo testicular o tratamientos oncológicos que puedan afectar la función gonadal. Nuevamente, las gonadotrofinas y la testosterona basales no son informativas: las gonadotrofinas no se elevan durante la infancia cuando la noxa afectó a las gónadas luego de los 6 meses de vida [28]. En pacientes sin gónadas palpables, un valor detectable de AMH

[67] o inhibina B [68] asegura la existencia de gónadas en posición ectópica, al igual que un aumento de la testosterona luego de una prueba de estímulo con hCG [67]. Valores bajos de AMH [53, 67, 69, 70] o inhibina B [68, 69] indican una función testicular alterada.

Valores dentro del rango normal pueden verse en niños con monorquia [71]. Los valores circulantes de INSL3 no son informativos en este grupo etario [72].

En edad puberal

La ausencia de signos del desarrollo puberal indica una deficiencia androgénica. Si bien puede deberse a un hipogonadismo primario, es raro que un fallo testicular curse con una afectación del sector leydigiano tal que provoque una ausencia completa de secreción androgénica.

En general en el hipogonadismo primario, se afecta más el sector tubular, lo cual se refleja en un tamaño testicular pequeño [73]. Ejemplo de ello son el síndrome de Klinefelter [74, 75], el varón XX [76] y los pacientes sometidos a quimioterapia [70], en los cuales hay inicialmente una afectación de la población de células germinales con niveles circulantes normales de hormonas testiculares y gonadotrofinas hasta el estadio 3 de Tanner del desarrollo puberal. Recién entonces el hipogonadismo primario se hace “hipergonadotrófico”.

Más frecuentemente, la ausencia de desarrollo puberal puede ser debida a una deficiencia hipotálamohipofisaria, o sea un hipogonadismo central congénito o adquirido, o simplemente a un retraso en la reactivación del eje o “retraso puberal simple” [22]. El diagnóstico diferencial suele no ser sencillo: una vez descartadas causas generales, tales como enfermedades sistémicas agudas o crónicas, la valoración de los niveles circulantes de las hormonas del eje H-H-T pueden ser o no informativas. Las gonadotrofinas en valores prepuberales no distinguen al hipogonadismo central del retraso puberal simple y es necesario hacer pruebas de estímulo con GnRH [77] o análogos [78]. El diagnóstico se facilita cuando hay otras deficiencias hipofisarias, que aumentan la probabilidad de un déficit gonadotrófico. La testosterona y el INSL3 también persisten en valores prepuberales, no siendo distintivos entre el hipogonadismo central y el retraso puberal simple [79]. En cambio, la AMH y la inhibina B podrían ser de utilidad, ya que están más bajas en pacientes con hipogonadismo central que en aquellos con retraso puberal simple [79, 80].

Al igual que el hipogonadismo primario, el hipogonadismo central puede afectar a todas las poblaciones celulares (“generalizado”) o bien afectar inicialmente a un solo sector del eje. Ejemplos de hipogonadismo central disociado son las mutaciones de TAC3 y su receptor TACR3 [81] o de la mutación de la subunidad beta de la LH [82], que cursan con LH baja pero FSH normal, y las mutaciones de la subunidad beta de la FSH [83], que presentan FSH disminuida y LH y andrógenos normales.

El hipogonadismo dual se caracteriza por tener una afectación concomitante del eje hipotálamo-hipofisario y de las gónadas. Pueden ser trastornos congénitos pero en los que el hipogonadismo es una manifestación tardía, como en el síndrome de Prader-Willi [84, 85] y en el asociado a hipoplasia adrenal congénita de comienzo tardío por mutación de DAX1 [86]. Alternativamente, puede tratarse de condiciones adquiridas, como es el caso de los pacientes sometidos a quimioterapia, que afecta primariamente al testículo, y radioterapia craneana, que afecta al hipotálamo. La característica de estos pacientes es que, a pesar de los niveles bajos de todas las hormonas gonadales, las gonadotrofinas no aumentan, o sea se comportan como un hipogonadismo eugonadotrófico.

Conclusiones

El hipogonadismo puede tener origen fetal o postnatal, siendo sus manifestaciones clínicas variables según el momento de la vida en que se establece. Pueden afectarse todos los componentes funcionales del testículo o primariamente uno de ellos, llevando a manifestaciones clínicas y bioquímicas específicas. Finalmente, pueden dañarse primariamente las gónadas o el eje hipotálamo-hipofisario, y más raramente pueden estar ambos concomitantemente afectados. Las gonadotrofinas y los andrógenos son biomarcadores útiles en el recién nacido y en el varón de edad puberal, mientras que en la infancia son de mayor beneficio clínico las determinaciones de AMH e inhibina B.

Financiación de la investigación: No declarada.

Contribución de los autores: El autor aceptó la responsabilidad sobre la totalidad de lo contenido en el manuscrito enviado, habiendo aprobado la totalidad de ellos su presentación.

Conflicto de intereses: R.A. Rey recibe honorarios derivados de un acuerdo con Beckman-Coulter por el desarrollo de un ELISA

de AMH. También recibe honorarios del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET, Argentina) por servicios tecnológicos que usan el ELISA de AMH.

Referencias

1. Grinspon RP, Freire AV, Rey RA. Hypogonadism in pediatric health: adult medicine concepts fail. *Trends Endocrinol Metabol* 2019;30: 879–90.
2. Casoni F, Malone SA, Belle M, Luzzati F, Collier F, Allet C, et al. Development of the neurons controlling fertility in humans: new insights from 3D imaging and transparent fetal brains. *Development* 2016;143:3969–81.
3. Edelsztein NY, Grinspon RP, Schteingart HF, Rey RA. Anti-Müllerian hormone as a marker of steroid and gonadotropin action in the testis of children and adolescents with disorders of the gonadal axis. *Int J Pediatr Endocrinol* 2016;2016:20.
4. Andersson AM. Inhibin B in the assessment of seminiferous tubular function. *Baillieres Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2000;14:389–97.
5. Bergadá I, Bergadá C, Campo SM. Role of inhibins in childhood and puberty. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2001;14: 343–53.
6. Makela JA, Koskenniemi JJ, Virtanen HE, Toppari J. Testis development. *Endocr Rev* 2019;40:857–905.
7. Ivell R, Hartung S. The molecular basis of cryptorchidism. *Mol Hum Reprod* 2003;9:175–81.
8. Klonisch T, Fowler PA, Hombach-Klonisch S. Molecular and genetic regulation of testis descent and external genitalia development. *Dev Biol* 2004;270:1–18.
9. Bergadá I, Milani C, Bedecarrás P, Andreone L, Ropelato MG, Gottlieb S, et al. Time course of the serum gonadotropin surge, inhibins, and anti-mullerian hormone in normal newborn males during the first month of life. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91: 4092–8.
10. Kuiri-Hänninen T, Sankilampi U, Dunkel L. Activation of the hypothalamic-pituitary-gonadal axis in infancy, minipuberty. *Horm Res Paediatr* 2014;82:73–80.
11. Aksglæde L, Sorensen K, Boas M, Mouritsen A, Hagen CP, Jensen RB, et al. Changes in anti-mullerian hormone (AMH) throughout the life span: a population-based study of 1027 healthy males from birth (cord blood) to the age of 69 years. *J Clin Endocrinol Metab* 2010;95:5357–64.
12. Grinspon RP, Bedecarrás P, Ballerini MG, Iñiguez G, Rocha A, Mantovani Rodrigues Resende EA, et al. Early onset of primary

- hypogonadism revealed by serum anti-Müllerian hormone determination during infancy and childhood in trisomy 21. *Int J Androl* 2011;34:e487–98.
13. Rey RA. Mini-puberty and true puberty: differences in testicular function. *Ann Endocrinol (Paris)* 2014;75:58–63.
 14. Chemes HE, Rey RA, Nistal M, Regadera J, Musse M, Gonzalez-Peramato P, Serrano A. Physiological androgen insensitivity of the fetal, neonatal, and early infantile testis is explained by the ontogeny of the androgen receptor expression in Sertoli cells. *J Clin Endocrinol Metab* 2008;93: 4408–12.
 15. Berensztein EB, Baquedano MS, Gonzalez CR, Saraco NI, Rodriguez J, Ponzio R, et al. Expression of aromatase, estrogen receptor alpha and beta, androgen receptor, and cytochrome P-450scc in the human early prepubertal testis. *Pediatr Res* 2006; 60:740–4.
 16. Boukari K, Meduri G, Brailly-Tabard S, Guibourdenche J, Ciampi ML, Massin N, et al. Lack of androgen receptor expression in sertoli cells accounts for the absence of anti-mullerian hormone repression during early human testis development. *J Clin Endocrinol Metab* 2009;94:1818–25.
 17. Rey RA, Musse M, Venara M, Chemes HE. Ontogeny of the androgen receptor expression in the fetal and postnatal testis: its relevance on sertoli cell maturation and the onset of adult spermatogenesis. *Microsc Res Tech* 2009;72:787–95.
 18. Edelsztein NY, Rey RA. Importance of the androgen receptor signaling in gene transactivation and transrepression for pubertal maturation of the testis. *Cells* 2019;8:1–17.
 19. Bay K, Andersson AM. Human testicular insulin-like factor 3: in relation to development, reproductive hormones and andrological disorders. *Int J Androl* 2011;34:97–109.
 20. Ivell R, Wade JD, Anand-Ivell R. INSL3 as a biomarker of Leydig cell functionality. *Biol Reprod* 2013;88:147.
 21. Bay K, Hartung S, Ivell R, Schumacher M, Jurgensen D, Jorgensen N, et al. Insulin-like factor 3 serum levels in 135 normal men and 85 men with testicular disorders: relationship to the luteinizing hormone-testosterone axis. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90: 3410–18.
 22. Palmert MR, Dunkel L. Clinical practice. Delayed puberty. *N Engl J Med* 2012;366:443–53.
 23. Corbier P, Dehennin L, Castanier M, Mebazaa A, Edwards DA, Roffi J. Sex differences in serum luteinizing hormone and testosterone in the human neonate during the first few hours after birth. *J Clin Endocrinol Metab* 1990;71:1344–8.
 24. Liu JH, Patel B, Collins G. Central causes of amenorrhea. In: Feingold KR, Anawalt B, Boyce A, Chrousos G, Dungan K, Grossman A, Hershman JM, Kaltsas G, Koch C, Kopp P, Korbonits M, McLachlan R, Morley JE, New M, Perreault L, Purnell J, Rebar R, Singer F, Trencle DL, Vinik A, Wilson DP, editors. *Endotext*. South Dartmouth (MA) MDTEXT.COM, Inc.; 2000.
 25. Marshall WA, Tanner JM. Variations in the pattern of pubertal changes in boys. *Arch Dis Child* 1970;45:13–23.
 26. Urrutia M, Grinspon RP, Rey RA. Comparing the role of antimullerian hormone as a marker of FSH action in male and female fertility. *Expert Rev Endocrinol Metab* 2019;14:203–14.
 27. Raivio T, Toppari J, Perheentupa A, McNeilly AS, Dunkel L. Treatment of prepubertal gonadotrophin-deficient boys with recombinant human follicle-stimulating hormone. *Lancet* 1997; 350:263–4.
 28. Grinspon RP, Ropelato MG, Bedecarrás P, Loreti N, Ballerini MG, Gottlieb S, et al. Gonadotrophin secretion pattern in anorchid boys from birth to pubertal age: pathophysiological aspects and diagnostic usefulness. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2012;76:698–705.
 29. Taylor AE, Keevil B, Huhtaniemi IT. Mass spectrometry and immunoassay: how to measure steroid hormones today and tomorrow. *Eur J Endocrinol* 2015;173:D1–12.
 30. Ahmed SF, Keir L, McNeilly J, Galloway P, O'Toole S, Wallace AM. The concordance between serum anti-mullerian hormone and testosterone concentrations depends on duration of hCG stimulation in boys undergoing investigation of gonadal function. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2010;72:814–19.
 31. Bay K, Andersson AM. Human testicular insulin-like factor 3: in relation to development, reproductive hormones and andrological disorders. *Int J Androl* 2011;34:97–109.
 32. Hagen CP, Aksglæde L, Sorensen K, Main KM, Boas M, Cleemann L, et al. Serum levels of anti-mullerian hormone as a marker of ovarian function in 926 healthy females from birth to adulthood and in 172 Turner syndrome patients. *J Clin Endocrinol Metab* 2010;95:5003–10.
 33. Lasala C, Carré-Eusèbe D, Picard JY, Rey R. Subcellular and molecular mechanisms regulating anti-müllerian hormone gene expression in mammalian and nonmammalian species. *DNA Cell Biol* 2004;23:572–85.
 34. Young J, Chanson P, Salenave S, Noel M, Brailly S, O'Flaherty M, et al. Testicular anti-mullerian hormone secretion is stimulated by recombinant human FSH in patients with congenital hypogonadotropic hypogonadism.

- J Clin Endocrinol Metab 2019;99:724–8.
35. Bougnères P, François M, Pantalone L, Rodrigue D, Bouvattier C, Demesteere E, et al. Effects of an early postnatal treatment of hypogonadotropic hypogonadism with a continuous subcutaneous infusion of recombinant follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone. *J Clin Endocrinol Metab* 2008; 93:2202–5.
 36. Grinspon RP, Urrutia M, Rey RA. Male central hypogonadism in paediatrics – the relevance of follicle-stimulating hormone and sertoli cell markers. *Eur Endocrinol* 2018;14:67–71.
 37. Edelsztein NY, Racine C, di Clemente N, Schteingart HF, Rey RA. Androgens downregulate anti-mullerian hormone promoter activity in the Sertoli cell through the androgen receptor and intact SF1 sites. *Biol Reprod* 2018;99:1303–12.
 38. Young J, Rey R, Couzinet B, Chanson P, Josso N, Schaison G. Antimüllerian hormone in patients with hypogonadotropic hypogonadism. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84:2696–9.
 39. Grinspon RP, Andreone L, Bedecarrás P, Ropelato MG, Rey RA, Campo SM, Bergadá I. Male central precocious puberty: serum profile of anti-mullerian hormone and inhibin B before, during, and after treatment with GnRH analogue. *Int J Endocrinol*. 2013; 2013:823064.
 40. Burger H. Remembrance: the story of inhibin—the Melbourne version. *Endocrinology* 1992;131:1585–6.
 41. Anawalt BD, Bebb RA, Matsumoto AM, Groome NP, Illingworth PJ, McNeilly AS, Bremner WJ. Serum inhibin B levels reflect Sertoli cell function in normal men and men with testicular dysfunction. *J Clin Endocrinol Metab* 1996;81:3341–5.
 42. Illingworth PJ, Groome NP, Byrd W, Rainey WE, McNeilly AS, Mather JP, Bremner WJ. Inhibin-B: a likely candidate for the physiologically important form of inhibin in men. *J Clin Endocrinol Metab* 1996;81:1321–5.
 43. Bergadá I, Rojas G, Ropelato MG, Ayuso S, Bergadá C, Campo SM. Sexual dimorphism in circulating monomeric and dimeric inhibins in normal boys and girls from birth to puberty. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1999;51:455–60.
 44. Andersson A, Skakkebaek NE. Serum inhibin B levels during male childhood and puberty. *Mol Cell Endocrinol* 2001;180:103–7.
 45. Trigo RV, Bergadá I, Rey R, Ballerini MG, Bedecarrás P, Bergadá C, et al. Altered serum profile of inhibin B, Pro-alphaC and antimullerian hormone in prepubertal and pubertal boys with varicocele. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2004;60:758–64.
 46. Salonia A, Rastrelli G, Hackett G, Seminara SB, Huhtaniemi IT, Rey RA, et al. Paediatric and adult-onset male hypogonadism. *Nat Rev Dis Prim* 2019;5:38.
 47. Josso N, Rey RA, Picard JY. Anti-müllerian hormone: a valuable addition to the toolbox of the pediatric endocrinologist. *Int J Endocrinol* 2013;2013:674105.
 48. Rey RA, Grinspon RP, Gottlieb S, Pasqualini T, Knoblovits P, Aszpis S, et al. Male hypogonadism: an extended classification based on a developmental, endocrine physiology-based approach. *Andrology* 2013;1:3–16.
 49. Rey RA, Grinspon RP. Normal male sexual differentiation and aetiology of disorders of sex development. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metabol* 2011;25:221–38.
 50. Grumbach MM. A window of opportunity: the diagnosis of gonadotropin deficiency in the male infant. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90:3122–7.
 51. Bouvattier C, Maione L, Bouligand J, Dode C, Guiochon-Mantel A, Young J. Neonatal gonadotropin therapy in male congenital hypogonadotropic hypogonadism. *Nat Rev Endocrinol* 2012;8: 172–82.
 52. Grinspon RP, Loreti N, Braslavsky D, Valeri C, Schteingart H, Ballerini MG, et al. Spreading the clinical window for diagnosing fetal-onset hypogonadism in boys. *Front Endocrinol (Lausanne)* 2014;5:51–14.
 53. Grinspon RP, Gottlieb S, Bedecarras P, Rey RA. Antimüllerian hormone and testicular function in prepubertal boys with cryptorchidism. *Front Endocrinol (Lausanne)* 2018; 9:181–14.
 54. Wang C, Nieschlag E, Swerdloff R, Behre HM, Hellstrom WJ, Gooren LJ, et al. Investigation, treatment and monitoring of late-onset hypogonadism in males. *Int J Androl* 2009;32:1–10.
 55. Ahmed SF, Achermann JC, Arlt W, Balen A, Conway G, Edwards Z, et al. Society for endocrinology UK guidance on the initial evaluation of an infant or an adolescent with a suspected disorder of sex development (Revised 2015). *Clin Endocrinol (Oxf)* 2016;84:771–88.
 56. Mendonça BB, Costa EM, Belgorosky A, Rivarola MA, Domenice S. 46,XY DSD due to impaired androgen production. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metabol* 2010;24:243–62.
 57. Freire AV, Grinspon RP, Rey RA. Importance of serum testicular protein hormone measurement in the assessment of disorders of sex development. *Sex Dev* 2018;12:30–40.
 58. Grinspon RP, Rey RA. When hormone defects cannot explain it: malformative disorders of sex development. *Birth Defects Res C Embryo Today* 2014;102:359–73.
 59. Picard JY, Cate RL, Racine C, Josso N. The persistent mullerian duct syndrome: an update

- based upon a personal experience of 157 cases. *Sex Dev* 2017;11:109–25.
60. Turcu AF, Auchus RJ. Adrenal steroidogenesis and congenital adrenal hyperplasia. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2015;44:275–96.
 61. Belgorosky A, Guercio G, Pepe C, Saraco N, Rivarola MA. Genetic and clinical spectrum of aromatase deficiency in infancy, childhood and adolescence. *Horm Res* 2009;72:321–30.
 62. Grinspon RP, Rey RA. Molecular characterization of XX maleness. *Int J Mol Sci* 2019;20:6089.
 63. Trabado S, Maione L, Bry-Gauillard H, Affres H, Salenave S, Sarfati J, et al. Insulin-like peptide 3 (INSL3) in men with congenital hypogonadotropic hypogonadism/Kallmann syndrome and effects of different modalities of hormonal treatment: a single-center study of 281 patients. *J Clin Endocrinol Metab* 2014;99:E268–75.
 64. Braslavsky D, Grinspon RP, Ballerini MG, Bedecarrás P, Loreti N, Bastida G, et al. Hypogonadotropic hypogonadism in infants with congenital hypopituitarism: a challenge to diagnose at an early stage. *Horm Res Paediatr* 2015;84:289–97.
 65. Lambert AS, Bougnères P. Growth and descent of the testes in infants with hypogonadotropic hypogonadism receiving subcutaneous gonadotropin infusion. *Int J Pediatr Endocrinol* 2016;2016:13.
 66. McElreavey K, Jorgensen A, Eozenou C, Merel T, Bignon-Topalovic J, Tan DS, et al. Pathogenic variants in the DEAH-box RNA helicase DHX37 are a frequent cause of 46,XY gonadal dysgenesis and 46,XY testicular regression syndrome. *Genet Med* 2020;22:150–9.
 67. Lee MM, Donahoe PK, Silverman BL, Hasegawa T, Hasegawa Y, Gustafson ML, et al. Measurements of serum müllerian inhibiting substance in the evaluation of children with nonpalpable gonads. *N Engl J Med* 1997;336:1480–6.
 68. Hildorf S, Dong L, Thorup J, Clasen-Linde E, Yding Andersen C, Cortes D. Sertoli cell number correlates with serum inhibin B in infant cryptorchid boys. *Sex Dev* 2019;13:74–82.
 69. Hamdi SM, Almont T, Galinier P, Mieusset R, Thonneau P. Altered secretion of Sertoli cells hormones in 2-year-old prepubertal cryptorchid boys: a cross-sectional study. *Andrology* 2017;5:783–9.
 70. Grinspon RP, Arozarena M, Prada S, Bargman G, Sanzone M, Morales Bazurto M, et al. Safety of standardised treatments for haematologic malignancies as regards to testicular endocrine function in children and teenagers. *Hum Reprod* 2019; 34:2480–94.
 71. Grinspon RP, Haj_alméd-2019-0043_ref_0 C, Bedecarrás P, Gottlieb S, Rey RA. Compensatory function of the remaining testis is dissociated in boys and adolescents with monorchidism. *Eur J Endocrinol* 2016;174:399–407.
 72. Van Brakel J, de Muinck Keizer-Schrama S, Hazebroek FWJ, Dohle GR, de Jong FH. INSL3 and AMH in patients with previously congenital or acquired undescended testes. *J Pediatr Surg* 2017; 52:1327–31.
 73. Ladjouze A, Donaldson M. Primary gonadal failure. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2019;33:101295.
 74. Lanfranco F, Kamischke A, Zitzmann M, Nieschlag E. Klinefelter's syndrome. *Lancet* 2004;364:273–83.
 75. Bastida MG, Rey RA, Bergadá I, Bedecarrás P, Andreone L, del Rey G, et al. Establishment of testicular endocrine function impairment during childhood and puberty in boys with Klinefelter syndrome. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2007;67:863–70.
 76. Aksglæde L, Skakkebaek NE, Juul A. Abnormal sex chromosome constitution and longitudinal growth: serum levels of insulinlike growth factor (IGF)-I, IGF binding protein-3, luteinizing hormone, and testosterone in 109 males with 47,XXY, 7,YYY, or sex-determining region of the Y chromosome (SRY)-positive 46,XX karyotypes. *J Clin Endocrinol Metab* 2008;93:169–76.
 77. Grinspon RP, Ropelato MG, Gottlieb S, Keselman A, Martinez A, Ballerini MG, et al. Basal follicle-stimulating hormone and peak gonadotropin levels after gonadotropin-releasing hormone infusion show high diagnostic accuracy in boys with suspicion of hypogonadotropic hypogonadism. *J Clin Endocrinol Metab* 2010; 95:2811–18.
 78. Resende EA, Lara BH, Reis JD, Ferreira BP, Pereira GA, BorgesMF. Assessment of basal and gonadotropin - releasing hormonestimulated gonadotropins by immunochemiluminometric and immunofluorometric assays in normal children. *J Clin Endocrinol Metab* 2007;92:1424–9.
 79. Rohayem J, Nieschlag E, Kliesch S, Zitzmann M. Inhibin B, AMH, but not INSL3, IGF1 or DHEAS support differentiation between constitutional delay of growth and puberty and hypogonadotropic hypogonadism. *Andrology* 2015;3:882–7.
 80. Adan L, Lechevalier P, Couto-Silva AC, Boissan M, Trivin C, Brailly- Tabard S, et al. Plasma inhibin B and antimüllerian hormone concentrations in boys: discriminating between congenital hypogonadotropic hypogonadism and constitutional pubertal

- delay. *Med Sci Monit* 2010;16:CR511-17. PMID 20980953.
81. Francou B, Bouligand J, Voican A, Amazit L, Trabado S, Fagart J, et al. Normosmic congenital hypogonadotropic hypogonadism due to TAC3/TACR3 mutations: characterization of neuroendocrine phenotypes and novel mutations. *PLoS One* 2011;6:e25614. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0025614>.
 82. Lofrano-Porto A, Barra GB, Giacomini LA, Nascimento PP, Latronico AC, Casulari LA, et al. Luteinizing hormone beta mutation and hypogonadism in men and women. *N Engl J Med* 2007;357:897–904.
 83. Layman LC, Porto ALA, Xie J, da Motta LACR, da Motta LDC, Weiser W, et al. FSH β gene mutations in a female with partial breast development and a male sibling with normal puberty and azoospermia. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87:3702–7.
 84. Hirsch HJ, Eldar-Geva T, Bennaroch F, Pollak Y, Gross-Tsur V. Sexual dichotomy of gonadal function in Prader-Willi syndrome from early infancy through the fourth decade. *Hum Reprod* 2015; 30:2587–96.
 85. Eiholzer U, l'Allemand D, Rousson V, SchlumpfM, Gasser T, Girard J, et al. Hypothalamic and gonadal components of hypogonadism in boys with Prader-Labhart-Willi Syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91:892–8.
 86. Bergadá I, Andreone L, Bedecarrás P, Ropelato MG, Copelli S, Laissue P, et al. Seminiferous tubule function in delayed-onset Xlinked adrenal hypoplasia congenita associated with incomplete hypogonadotrophic hypogonadism. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2008; 68:240–6.

DETECCIÓN DE HEMOGLOBINOPATÍA SC EN PACIENTE PEDIÁTRICO

AUTORES

Isabel María Portell-Rigo¹, María Angustias Molina-Arrebola, Cristóbal Avivar-Oyonarte.

CORRESPONDIENTE AL AUTOR

1. Área Integrada de Laboratorios Clínicos. Hospital de Poniente. El Ejido (Almería).

Área Integrada de Biotecnología. APES Hospital de Poniente. Carretera de Almerimar, 31. 04700, El Ejido (Almería).
Teléfono: +34950022554. Fax +34950022601
Correo electrónico:
isabelmaria.portell@ephpo.es

PALABRAS CLAVE

Keywords

Hemoglobinopatía SC, cromatografía líquida de alta resolución, HPLC, secuestro esplénico, parvovirus B19.

Hemoglobinopathy SC, high performance liquid chromatography, HPLC, splenic sequestration, parvovirus B19.

TÍTULO

Title

Detección de Hemoglobinopatía SC en paciente pediátrico

RESUMEN

Summary

Las hemoglobinopatías constituyen un grupo heterogéneo de enfermedades hereditarias autosómicas recesivas que se producen por alteraciones de la molécula de hemoglobina. La cadena que con más frecuencia se afecta es la beta. Su diagnóstico en el laboratorio resulta esencial por sus implicaciones clínicas.

Describimos un caso de hemoglobinopatía SC diagnosticado a raíz de un cuadro agudo de secuestro esplénico e infección por parvovirus B19.

Los movimientos poblacionales producidos por el estado creciente de globalización obligan a los laboratorios clínicos a estar preparados para afrontar diagnósticos hasta ahora prácticamente desconocidos en nuestro medio, como es la hemoglobinopatía SC.

Hemoglobinopathies constitute a heterogeneous group of autosomal recessive hereditary diseases produced by alterations in the hemoglobin molecule. The chain most frequently affected is the beta chain. Their diagnosis in the laboratory is essential because of their clinical implications.

We describe a case of hemoglobin SC diagnosed as a result of an acute picture of splenic sequestration and infection by parvovirus B19.

The population movements in the growing state of globalization forces to our laboratories to face diagnoses so far practically unknown in our environment, such as hemoglobinopathy SC.

INTRODUCCIÓN

Las hemoglobinopatías son trastornos genéticos hereditarios que afectan a la hemoglobina (Hb) a nivel estructural, de síntesis o de funcionalidad y se clasifican principalmente en dos grandes grupos: talasemias y hemoglobinopatías estructurales (1).

Las hemoglobinopatías estructurales son consecuencia de las mutaciones genéticas producidas a nivel de la secuencia de aminoácidos de una de las cadenas de globina de la Hb, generando así la síntesis de hemoglobinas (Hbs) anómalas denominadas "variantes de Hb". Se describen más de 1.300 variantes de hemoglobinopatías estructurales que afectan aproximadamente al 7 % de la población mundial. La HbS y la HbC se encuentran especialmente en las personas de etnia negra, la HbE es típica del sudeste asiático, la HbD se encuentra en el Punjab (India) y la HbO-Arab en el Extremo Oriente. Aunque son más frecuentes en países endémicos de malaria, la HbS y la HbC también se encuentran en población blanca, sobre todo en países del área mediterránea, y se han descrito en Andalucía y Extremadura. Debido al aumento de los flujos migratorios en los últimos años estamos asistiendo a pacientes con este tipo de patología, hasta hace poco tiempo desconocida en nuestro medio (2). Se transmiten con carácter autosómico recesivo y cerca del 90 % de estas Hbs anormales ocurren por una mutación puntual en la que el cambio se produce a nivel de un solo aminoácido. La consecuencia final de la mutación es, en la mayoría de los casos, una alteración en las propiedades fisicoquímicas de la molécula de Hb: cambios en la movilidad electroforética, en la polimerización de la Hb dentro de la célula (HbS, HbC), en la afinidad por el oxígeno, en la estabilidad de la molécula o la acumulación de metahemoglobina, dando lugar a las diferentes manifestaciones clínicas, según el tipo de hemoglobinopatía estructural y si se trata de un individuo en estado homocigoto o heterocigoto (1,2).

MATERIAL Y MÉTODOS

Describimos un caso de doble heterocigosis SC a raíz de un cuadro agudo de anemia y esplenomegalia masiva, en cuanto a caracterización de sus índices hematimétricos, datos bioquímicos, hallazgos morfológicos en sangre periférica, métodos de cribado y detección.

El análisis del hemograma fue realizado en el autoanalizador hematológico DxH800 (Beckman-Coulter®), y el análisis bioquímico con el sistema AU 5800 (Beckman-Coulter®). La visualización del frotis de sangre periférica se realizó tras tinción clásica con May-Grünwald-Giemsa. Ante la sospecha de la presencia de HbS realizamos el test de falciformación o modificación del test de solubilidad, después de realizar la mezcla de sangre total con el agente reductor metabisulfito sódico al 2% y su visualización en fresco en lectura inmediata y tras incubación de 2 y 24 horas. El cribado de hemoglobinopatía estructural fue llevado a cabo con el sistema TOSOH G8 (HLC-723®G8) (Horiba Medical®), sistema de cromatografía líquida de alta resolución (*high performance liquid chromatography*, HPLC) automatizado que usa cromatografía líquida de alta eficacia con intercambiador iónico no poroso catiónico mediante la diferencia iónica, para separación de variantes, en programa de 1,6 minutos. La absorbancia del eluido de Hb es cuantificada en una doble longitud de onda (415 y 500 nm). El estudio de electroforesis capilar se realizó en un laboratorio de referencia.

RESULTADOS

Descripción del caso

Presentamos el caso de un niño de 13 años de edad, natural de Nigeria, que es trasladado desde su domicilio a Urgencias de nuestro hospital por desconexión brusca del medio y pérdida de consciencia, precedido de vómitos y malestar general.

No destacan antecedentes familiares de interés. A su llegada a urgencias se encuentra en estado comatoso, coloración amarillenta de piel y mucosas, fiebre de 38,4°C y marcada esplenomegalia (23 cm).

Se solicita al laboratorio una petición analítica urgente de hemograma, bioquímica y gasometría venosa. En la tabla 1 se indican los resultados analíticos más relevantes.

Se solicita la realización de un frotis de sangre periférica a Hematología. Se visualiza al microscopio, pero debido a la intensa anemia no es posible una visualización óptima. Ante la situación de extrema urgencia, se realiza la transfusión de hematíes iniciándose simultáneamente tratamiento antibiótico empírico.

Magnitud	Valor	Rango de referencia en nuestro hospital
Hemoglobina (g/dL)	1,5	12,5-16
Hematíes ($\times 10^6/\mu\text{L}$)	0,66	4,1-5,55
Hematocrito (%)	5,8	36,5-47,5
Volumen corpuscular medio (fL)	88,1	78-93
Leucocitos ($10^3/\mu\text{L}$)	56,4	4,5-11,4
Reticulocitos (%)	10	0,5-2,8
Reticulocitos absolutos ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	66	30-105
Plaquetas ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	163	130-450
Actividad de protrombina (%)	55	> 60
Fibrinógeno (mg/dL)	550	150-500
Dímero D (ng/mL)	5.538	< 500
Lactato deshidrogenasa (LDH) (U/L)	1.891	50-683
GOT (U/L)	112	10-50
Bilirrubina total (mg/dL)	1,36	0,3-1,26
Bilirrubina indirecta (mg/dL)	1,25	0-0,75
Proteína C reactiva (mg/dL)	6,01	0-0,5
Ferritina (ng/mL)	3.039,1	6-320
Procalcitonina (ng/mL)	0,89	0,02-0,5

Tabla 1.
Resultados hematimétricos y bioquímicos y rangos de referencia en nuestro hospital.

Debido a la situación actual de pandemia mundial por coronavirus SARS-CoV-2 (COVID 19) se realiza PCR (negativa) y serología (IgM e IgG negativa). El test de antígeno de *Plasmodium* también resulta negativo. Se recibe muestra post-transfusional cuyo valor de hemoglobina es de 5,5 g/dL. Se

realiza un frotis de sangre periférica en el que se observa la presencia de policromasia en la serie roja, dianocitos, aislados eritroblastos y hematíes irregulares con aspecto de quilla de barco (Figura 1). El hallazgo de esos datos tan característicos aconseja iniciar el estudio de una posible hemoglobinopatía.

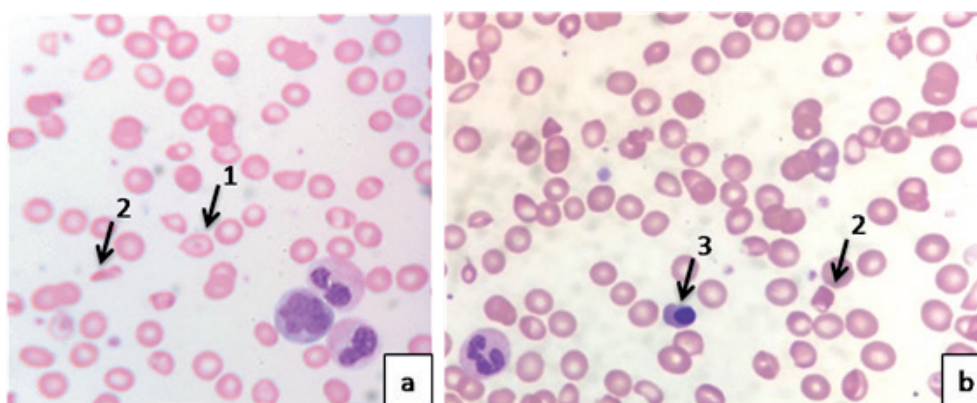


Figura 1.
Frotis de sangre periférica, tinción May-Grünwald-Giemsa ($\times 1000$). Se observa anisopoiquilocitosis, con presencia de dianocitos (1), hematíes irregulares con aspecto de quilla de barco (2) y eritroblastos aislados (3).

Se realiza el test de falciformación con metabisulfito sódico, resultando positivo. El análisis de Hb por HPLC muestra un cromatograma con doble pico anormal de Hb: presencia de variante V1 compatible con HbS (14,68 %) y presencia de variante V2 compatible con HbC (15,08 %) junto con Hb A0 (89,58 %) (proveniente del origen post-transfusional de la muestra) (Figura 2). La obtención de resultados por HPLC de la muestra pre-transfusional no fue posible, debido a la intensa anemia.

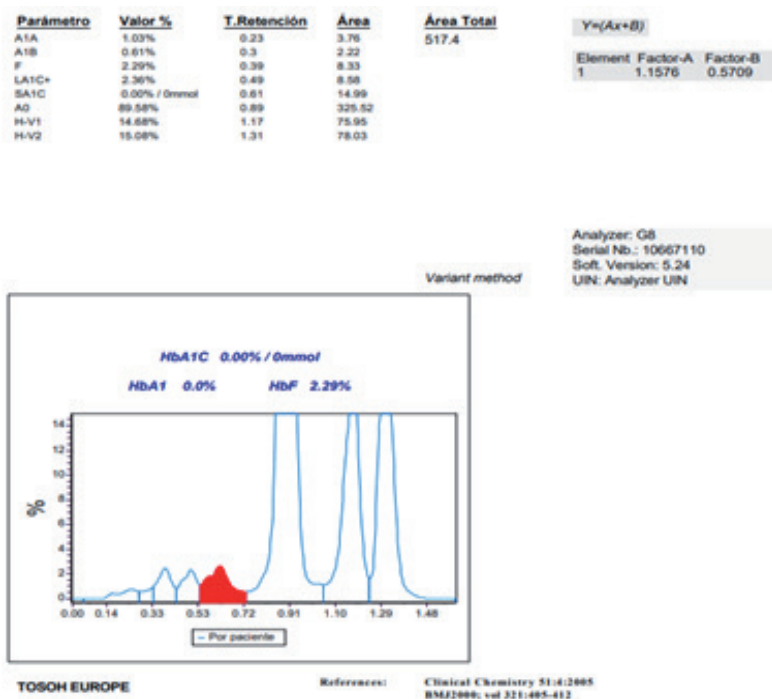


Figura 2.
Gráfica obtenida por HPLC.

Se envía la muestra pre-transfusional al laboratorio de referencia para confirmación por electroforesis capilar. El resultado obtenido indica la presencia de HbS de 32,5 % y HbC de 46,2 % (Figura 3). El paciente es diagnosticado de hemoglobinopatía SC.

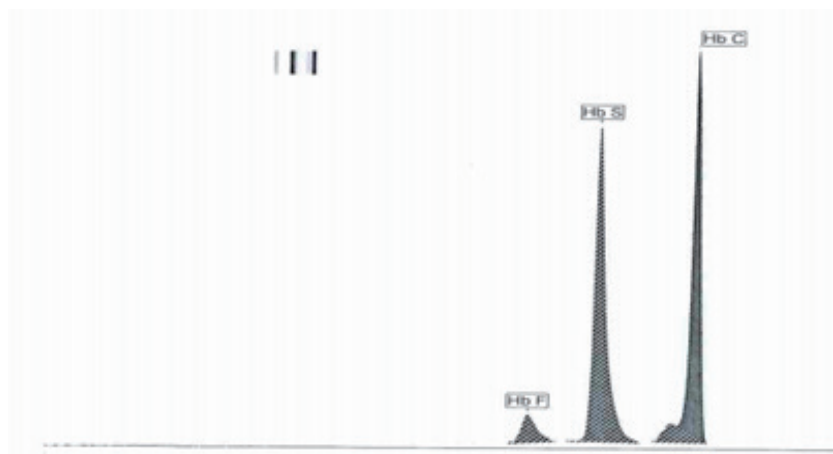


Figura 3.
Gráfica obtenida por electroforesis capilar.

Fraciones	%	Ref. %
Hb F	4,1	
Hb S	32,5	
Hb C	46,2	
Hb A2	2,2	

Serología a virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), virus de la hepatitis A, B y C negativas. Posteriormente se realiza serología de Parvovirus B19 resultando IgM e IgG positiva.

DISCUSIÓN

La hemoglobinopatía S es la más frecuente a nivel mundial y la de mayor impacto clínico. Presenta una alta incidencia en la población de raza negra afectando a un elevado porcentaje de población africana, y, con menor frecuencia, puede observarse en países del Mediterráneo. La base genética de la HbS es la sustitución de timina por adenina, provocando el cambio del aminoácido ácido glutámico por valina en posición 6 del cromosoma 11 de la cadena β de la globina. Esto genera cambios muy importantes en la polimerización, formándose estructuras rígidas e insolubles (cuerpos tactoides) que distorsionan el hematíe y hacen que adopte la característica forma de hoz (drepanocito o *sickle cell*). Estos hematíes provocan obstrucciones vasculares (microinfartos) y aumentan la viscosidad sanguínea, afectando especialmente a los individuos en estado homocigoto (anemia falciforme o HbSS) con clínica muy variable y grave y caracterizada por presentar crisis hemolíticas, dolor, episodios trombóticos, síndrome torácico agudo, necrosis avasculares óseas, etc. Presentan anemia normocítica con frotis característico: dianocitos, policromasia, eritroblastos, esferocitos y, sobre todo, drepanocitos, especialmente en la crisis hemolítica. Los sujetos heterocigotos (rasgo drepanocítico, HbAS) no suelen presentar alteraciones en el hemograma aunque se describen trombosis, hematuria (necrosis papilar), infartos óseos, rabiomiolisis y muerte tras esfuerzo físico intenso o deshidratación (3).

La HbC se produce por la sustitución del aminoácido ácido glutámico por lisina en la posición 6 del cromosoma 11 de la cadena β de la globina, misma posición que la mutación de la HbS. Ocasiona cambios en la solubilidad de la Hb y en la forma del hematíe, pero las manifestaciones clínicas y alteraciones en el hemograma son menos frecuentes y menos graves que en la HbS. El paciente homocigoto (HbCC) presenta hemólisis crónica, anemia moderada micro o normocítica, típicamente hiperocrómica, destacando morfológicamente los dianocitos, células de contornos irregulares por cristalización de HbC y eritroblastos. Los heterocigotos (HbAC) son asintomáticos, sin anemia, pero con tendencia a presentar microcitosis e hiperocromía. El frotis de sangre periférica muestra aislados dianocitos.

La coherencia de las mutaciones de la β globina de la HbS y la HbC da lugar a la

hemoglobinopatía SC. Es el segundo subtipo más común de enfermedad de células falciformes y se trata de un síndrome drepanocítico doble heterocigoto en el que no existe gen β normal, por lo que no hay presencia de HbA. La migración desde África occidental propagó la aparición de HbC y esta variante HbSC a otros países de Europa y América, entre otros (3).

Los pacientes con hemoglobinopatía SC suelen tener unos niveles de Hb más elevados que en la HbSS; aproximadamente, el 70% de los pacientes presenta anemia leve y solamente un 10 % presenta anemia normo o ligeramente microcítica, con cifras de Hb < 10 g/dL, y con la concentración de hemoglobina corpuscular media algo elevada. Existe menor grado de anemia hemolítica, con una vida media del hematíe de unos 27 días, en comparación con los 17 días de la anemia falciforme; la leucocitosis está ausente o levemente elevada y el recuento de plaquetas puede ser normal o presentar trombocitopenia (leve-moderada) que suele ser más grave en los pacientes que presentan esplenomegalia (4,5).

El diagnóstico en general suele ser tardío debido a la baja prevalencia de anemia grave en estos pacientes y la aparición más tardía de los síntomas en comparación con la anemia falciforme. A veces el diagnóstico se realiza tras la aparición de alguna complicación grave, y a veces la esplenomegalia es el único hallazgo físico detectable. En el examen morfológico no se suelen observar los clásicos drepanocitos, y sí dianocitos junto a unas células de bordes agudos, poiquilocitos, que se describen como en forma de quilla de barco (*boat-shaped cells*). En la electroforesis de hemoglobina la HbS y HbC están presentes en similares proporciones. La prueba de falciformación es positiva (2,3).

Aunque se considera un síndrome drepanocítico más leve, se asocia con morbilidades potencialmente graves que justifican la vigilancia y la intervención médica. En general la clínica es menos severa que en la hemoglobinopatía SS homocigota (menores fenómenos de oclusión de vasos, menos crisis dolorosas) pero hay afectación de otros sistemas como problemas auditivos, necrosis ósea, y especialmente a nivel ocular, destacando la retinopatía proliferativa, hemorragia del vítreo, y desprendimiento de retina, perjudicando aproximadamente al 30-70 % de los pacientes (se recomiendan revisiones oftalmológicas anuales a los niños a partir de 10 años de edad) (6).

Una de las complicaciones que puede ocurrir de forma espontánea en la anemia falciforme, y que a veces puede ser el primer síntoma de la enfermedad es la denominada crisis de secuestro esplénico, que se define como la disminución aguda de Hb de al menos 2 g/dL, esplenomegalia, trombocitopenia y reticulocitosis compensadora. La clínica se caracteriza por instauración brusca de decaimiento, dolor y distensión abdominal, palidez y aumento brusco del tamaño del bazo como consecuencia del atrapamiento de sangre, con descenso de la Hb. En los casos graves se asocian signos de compromiso hemodinámico: taquicardia, hipotensión y letargia, con rápida evolución a shock hipovolémico. Se considera una emergencia médica, ya que los episodios graves pueden tener una evolución fatal en pocas horas. La mayoría de los episodios se producen antes de los 5 años, y el pico de incidencia se encuentra entre los 3 meses y 2 años. La tasa de recurrencia tras un primer episodio es del 50-75%. Constituye la segunda causa de muerte en menores de 10 años, después de las infecciones. La prevalencia es menor en pacientes con fenotipo SC, afectando a un 6-12 % de los niños. No se ha encontrado ningún factor desencadenante, por lo que no pueden establecerse estrategias preventivas (7).

El tratamiento consiste en la transfusión de hematíes muy urgente, profilaxis con antibióticos (independientemente del estado de vacunación del paciente) y, en ocasiones, se requiere realizar una esplenectomía si el cuadro no mejora. Es muy importante concienciar a los pacientes y a la familia de que este fenómeno puede ser recurrente, sobre todo en los primeros 12 meses de la aparición del primer episodio, advirtiendo de la necesidad de acudir rápidamente a un centro hospitalario en caso de presentar fiebre, decaimiento o esplenomegalia (8,9).

Por otro lado, son frecuentes las crisis aplásicas en el seno de hemoglobinopatías y anemias hemolíticas crónicas, y suelen ser secundarias a déficit de ácido fólico o infecciones víricas, principalmente a Parvovirus B19. La insuficiencia eritroide medular puede causar rápidamente una anemia intensa y clínica de insuficiencia cardíaca, hipoxia y fallo cardiovascular. También pueden disminuir las demás series y provocar aplasia medular. Clínicamente, se manifiesta con palidez, astenia, irritabilidad y taquicardia. Aunque a veces la infección es subclínica, pueden referir como antecedente un episodio febril con dolor abdominal, diarrea,

artralgias, mal estado general y exantema. El episodio suele revertir espontáneamente en 2-14 días (10).

Es indiscutible que el laboratorio clínico juega un papel fundamental en el diagnóstico de las hemoglobinopatías, y las guías clínicas internacionales recomiendan utilizar la combinación de dos técnicas diagnósticas distintas para un diagnóstico definitivo. En la actualidad, el método de cribado "gold standard" es la HPLC ampliamente utilizada por ejemplo en la dosificación de HbA1c en el diagnóstico y seguimiento de la diabetes; el test de falciformación confirma la presencia de HbS, y el diagnóstico definitivo puede obtenerse por electroforesis de Hb o estudios moleculares (3).

CONCLUSIONES

- Describimos el caso de doble heterocigosis HbSC como un ejemplo de patología poco conocida en nuestro medio, pero que resulta esencial reconocer por sus implicaciones clínicas.
- La hemoglobinopatía SC es un tipo de anemia falciforme menos grave que la hemoglobinopatía S homocigota y su diagnóstico suele ser tardío; no obstante, el diagnóstico puede precipitarse por complicaciones agudas como el secuestro esplénico.
- La serología positiva por Parvovirus B19 puede explicar una posible crisis de anemia aplásica asociada, lo que puede agravar aún más la propia anemia hemolítica de la hemoglobinopatía SC.
- Es importante enfatizar la importancia de la visualización del frotis de sangre periférica: la presencia de dianocitos y hematíes irregulares en forma de quilla de barco pueden orientar el diagnóstico en una situación de emergencia clínica.
- Destacar que es posible realizar el diagnóstico o la sospecha de este tipo de hemoglobinopatías con los medios disponibles en hospitales sin gran especialización o sofisticación de medios técnicos, mediante la realización del hemograma, bioquímica, frotis sanguíneo, HPLC y test de falciformación.
- Es fundamental establecer una estrategia multidisciplinar de colaboración y formación entre las distintas áreas de diagnóstico en el laboratorio en el estudio de las hemoglobinopatías.

BIBLIOGRAFÍA

1. González Fernández FA, Martín Núñez G. Hemoglobinopatías. Talasemias. En: Moraleda Jiménez JM. Pregrado de Hematología. Ed. Luzán 5. Madrid. 2017. p. 123-55.
2. Molina MA. Aplicación de técnicas de análisis hematológico al estudio de la serie roja. En: Mérida F.J., Moreno E.E. Manual para Técnico Superior de Laboratorio Clínico y Biomédico. Ed. Médica Panamericana. Madrid. 2015. p. 1043-62.
3. Bain, BJ. Haemoglobinopathy Diagnosis. 3 ed. UK. Wiley Blackwell; 2020. p. 222-8.
4. Gualandro SF, Fonseca GH, Yokomizo IK, Gualandro DM, Suganuma LM. Cohort study of adult patients with haemoglobin SC disease: clinical characteristics and predictors of mortality. *Br J Haematol.* 2015; 171(4): 631-7.
5. Rezende PV, Santos MV, Campos GF, Vieira L, Souza MB, Belisário AR et al. Clinical and hematological profile in a newborn cohort with hemoglobin SC. *J Pediatr (Rio J).* 2018; 94(6): 666-72.
6. Pecker LH, Schaefer BA, Luchtman-Jones L. Knowledge insufficient: the management of haemoglobin SC disease. *Br J Haematol.* 2017; 176(4): 515-26.
7. SEHOP. Enfermedad de células falciformes. Guía de práctica clínica. Ed. CeGe. 2019.
8. Uptodate. [Internet]. Elliott Vichinsky, MD. Overview of variant sickle cell syndromes. 2020 [Nov 2020; Dic 2020]. Disponible en: <http://www.uptodate.com/>.
9. Subbannan K, Ustun C, Natarajan K, Clair B, Daitch L, Fields S et al. Acute splenic complications and implications of splenectomy in hemoglobin SC disease. *Eur J Haematol.* 2009; 83(3): 258-60.
10. Leoz Gordillo I, Pérez Suárez E. Crisis aplásica por Parvovirus B19 y virus de Epstein-Barr en paciente con esferocitosis hereditaria. *An Pediatr (Barc).* 2015; 82(1): e102-7.

EL PROBLEMA DEL CITODIAGNÓSTICO DE LOS TUMORES UROTELIALES DE BAJO GRADO

AUTORES

Fernando Guerra, Adriana Esther Rocher, Carlos Martínez Figueroa, Luis Palaoro

CORRESPONDIENTE AL AUTOR

Laboratorio de Citología-Departamento de Bioquímica Clínica-Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad de Buenos Aires-Hospital de Clínicas José de San Martín-INFIBIOC.

Dirección: Av. Córdoba 2351 (C1120AAR) Ciudad Autónoma de Buenos Aires-Argentina
Teléfono: 5411-5950-8000

Mail: informes@hospitaldeclinicas.uba.ar

TÍTULO ABREVIADO

Abbreviated Title

Citología de Tumores Uroteliales de bajo grado
Low Grade Urothelial Tumor Cytology

PALABRAS CLAVE

Keywords

Tumores uroteliales de bajo grado (LGUN); Tumores uroteliales de alto grado (HGUC); Sistema de París para reportar Citología urinaria; Citología urinaria

Low-grade urothelial tumors (LGUN); High-grade urothelial tumors (HGUC); Paris System for Reporting Urinary Cytology; Urinary cytology

RESUMEN

Summary

Introducción: La sensibilidad en el citodiagnóstico de tumores uroteliales de bajo grado (LGUN, según sus siglas en inglés) en muestras de orina es baja. En muchos casos, las patologías reactivas, virales o inflamatorias son sobre-diagnosticadas, o incluidas en la categoría de "atípicas", e inversamente, grupos celulares con células de aspecto normal o con mínimas alteraciones se consideran como no tumorales, cuando en realidad provienen de un LGUN.

Material y Métodos: 77 pacientes con tumores de tracto urinario inferior fueron seleccionados para este estudio, de los cuales 45 presentaban tumores papilares de bajo grado (LGUN) y 32 eran portadores de tumores uroteliales de alto grado (HGUC, según sus siglas en inglés), adenocarcinomas y carcinomas pavimentosos.

Resultados: Los 45 LGUN fueron correctamente diagnosticados por citología en 26 casos (58%). Nosotros utilizamos los siguientes criterios: Grupos papilares (tridimensionales) de células de aspecto benigno, con relación núcleo/citoplasma (N/C) > 0,5 y núcleos ligeramente elongados.

A diferencia del Sistema de París (TPS), no observamos los "cores fibrovasculares" ni el efecto de plumaje en los grupos papilares. TPS privilegia el diagnóstico de los HGUC y minimiza el diagnóstico de los LGUN debido a la baja sensibilidad en la evaluación de esta patología. Sin embargo, nuestro objetivo fue re-valorizar el citodiagnóstico de los LGUN, a pesar de sus mayores dificultades y no sólo privilegiar los HGUC donde el consenso para aplicar los criterios diagnósticos está ampliamente generalizado.

Conclusiones: La aplicación de estrictos criterios permitió el citodiagnóstico de los LGUN en un importante número de casos, a pesar de que el valor del diagnóstico de los tumores uroteliales de bajo grado fue minimizado en el último Consenso realizado en París.

Introduction: The sensitivity in the cytodiagnosis of low-grade urothelial tumors (LGUN) in urine samples is low. In many cases, the reactive, viral or inflammatory pathologies are over-diagnosed, or included in the category of "atypical", and conversely, cell groups with cells with normal appearance or with minimal alterations are considered non-tumoral, when in fact they come from a LGUN.

Material and Methods: 77 patients with lower urinary tract tumors were selected for this study. 45 had low-grade papillary tumors (LGUN) and 32 had high-grade urothelial tumors (HGUC), adenocarcinomas and squamous cell carcinomas.

Results: The 45 LGUN were correctly diagnosed by cytology in 26 cases (58%). We use the following criteria: Papillary groups (three-dimensional) of benign-looking cells, with nucleus / cytoplasm ratio (N / C) > 0.5 and slightly elongated nuclei.

Unlike the Paris System (TPS), we did not observe the "fibrovascular cores" or the effect of plumage in the papillary groups. TPS favors the diagnosis of the HGUC and minimizes the diagnosis of the LGUN due to the low sensitivity in the evaluation of this pathology. However, our objective was to revalue the cytodiagnosis of the LGUN, despite its greatest difficulties and not only to privilege the HGUC, where the consensus to apply the diagnostic criteria is widely generalized.

Conclusions: The application of strict criteria allowed the cytodiagnosis of the LGUN in a significant number of cases, despite the fact that the diagnostic value of low-grade urothelial tumors was minimized in the last Consensus carried out in Paris.

INTRODUCCIÓN

El citodiagnóstico de las patologías del tracto urinario a partir de la orina no es sencillo por varios motivos: las células tienen escasa adhesividad a los portaobjetos, sufren alteraciones por su permanencia en la orina y durante años no hubo uniformidad en los criterios para establecer benignidad o malignidad. En especial, el diagnóstico de los tumores uroteliales de bajo grado (LGUN) tiene baja sensibilidad debido a la semejanza de las células tumorales con las normales.

Se comunicaron bajas sensibilidades en el diagnóstico de un LGUN. Algunos autores informaron valores que varían en un amplio margen, entre 10% y 70% (1), mientras que otros comunicaron una sensibilidad de 18,3% en la detección de las mismas lesiones (2).

Se ha intentado establecer criterios citológicos claves (homogeneidad citoplásmica, alta relación N/C) y criterios arquitectónicos (fragmentos papilares con núcleos fibrovasculares) para el diagnóstico de los LGUN. Sin embargo, la concordancia entre los observadores para el diagnóstico citológico de los LGUN es pobre, con muchos resultados falsos positivos por incorrecta interpretación de procesos reactivos (3,4). En muchos casos, las patologías reactivas, virales o inflamatorias son sobre-diagnosticadas, o incluidas en la categoría de "atípicas", e inversamente, grupos celulares con células de aspecto normal o con mínimas alteraciones son consideradas no tumorales, cuando en realidad provienen de los LGUN.

El objetivo del presente trabajo fue revalorizar el diagnóstico citológico de los LGUN, minimizado en la reunión de Consenso que propuso el Sistema de París para informar la citología urinaria, y establecer nuestras objeciones a algunos de los criterios para la evaluación de los LGUN.

MATERIALES Y MÉTODOS

El grupo estudiado se compone de 77 pacientes con tumores de tracto urinario inferior, que acudieron al Hospital de Clínicas José de San Martín de CABA, Argentina, 45 presentaban tumores papilares de bajo grado (LGUN) y 32 eran portadores de tumores uroteliales de alto grado (HGUC), adenocarcinomas y carcinomas pavimentosos. Las muestras de orina fueron recogidas de micciones espontáneas, concentradas por centrifugación y extendidas en portaobjetos para su observación por microscopía óptica en fresco y coloreadas con las tinciones de Papanicolaou y Giemsa. Todos los pacientes participantes en el presente estudio firmaron el consentimiento informado correspondiente.

RESULTADOS

De los 32 pacientes con patologías malignas, la citología correlacionó con el diagnóstico histológico de HGUC en 26 casos (81%), 4 casos fueron sospechosos (12%) y en 2 casos no se observaron células neoplásicas. Todos los adenocarcinomas y carcinomas

pavimentosos pudieron diagnosticarse correctamente. Los 45 LGUN fueron correctamente diagnosticados por citología en 26 casos (Sensibilidad 58%).

DISCUSIÓN

Los tumores de alto grado (HGUC) son diagnosticados con alta sensibilidad en las muestras de orina, pues los criterios para su evaluación son claros y permiten un acuerdo entre diferentes observadores.

Estos tumores se caracterizan por la alta relación núcleo/citoplasma (N/C), la irregularidad de la membrana nuclear, hiper cromatismo, pleomorfismo nuclear y el patrón grueso de la cromatina (5,6).

Recientemente, una reunión de consenso sobre los criterios para el diagnóstico de la citología urinaria realizada en París (TPS), estableció siete categorías diagnósticas (7,8):

- 1) Muestra insatisfactoria
- 2) Negativa para HGUC (NHGUC)
- 3) Células uroteliales atípicas (AUC)
- 4) Sospechoso para HGUC (SHGUC)
- 5) Positivo para neoplasia urotelial de bajo grado (LGUN)
- 6) Positivo para HGUC
- 7) Otros (Tumores no uroteliales y metástasis) (No se analizarán en el presente trabajo todas las categorías, sólo aquellas de mayor frecuencia, y en especial HGUC y LGUN).

La aplicación de TPS permitió aumentar la sensibilidad especialmente en el diagnóstico de HGUC, cuando se realizó la evaluación o re-evaluación de las muestras de orinas archivadas (9,10,11).

Los criterios de este sistema para el diagnóstico de HGUC, establece como mínimo de 5 a 10 células uroteliales muy anormales con una relación N/C de 0,7 o más. Las células deben ser hiper cromáticas, con cromatina gruesa y membrana nuclear marcadamente irregular (Figuras 1 y 2).

La diferencia entre los tumores de bajo y alto grado tiene su correlación molecular. Los tumores no invasivos, de muy buen pronóstico, presentan una mutación activadora del receptor 3 del factor de crecimiento fibroblástico (FGFR3) (12), mientras que los tumores músculo-invasivos muestran una amplia gama de alteraciones genómicas, donde se destaca la mutación o delección de p53 en aproximadamente 70% de los casos, y una sobrevida inferior al 60% (13). La categoría "Negativa para HGUC" es interesante, porque aquí entra un grupo de

células que podrían ser confundidas con aquellas provenientes de lesiones más avanzadas, pero que son benignas (14). Entre las más importantes figuran:

- a) Células reactivas: con cromatina irregular, a veces gruesa, pudiendo presentar grandes nucleolos o cromocentros, pero manteniendo una membrana nuclear tensa y una relación N/C no elevada (Figuras 3-5).
- b) Células con cambios inflamatorios por litiasis: con núcleos agrandados, membranas nucleares gruesas, cromatina irregular, pero con gran número de células en sombrilla, que constituyen un criterio de benignidad (Figuras 6 y 7).
- c) Células provenientes de instrumentación, radiación o quimioterapia, que muestran anomalías nucleares que a veces son sospechosas (Figuras 8 y 9).
- d) Células infectadas por virus de poliomavirus, hipercomáticas, con muy alta N/C, pero con una estructura de cromatina uniforme, amorfa, típica de infecciones virales (Figura 10).
- e) En las orinas normales, sin ningún cambio sospechoso, se observan células uroteliales en sombrilla (superficiales) y en menor grado, células intermedias. Las células profundas del urotelio aparecen cuando se realizan exploraciones instrumentales o en algunas patologías como la litiasis.

Los criterios para el diagnóstico de Neoplasia urotelial de bajo grado (LGUN), según The Paris System for Reporting Urinary Cytology son: Relación N/C > 0,5, células de núcleo elongado, monótomas (no sombrilla) agrupadas y con formación de "plumas" (células que parecen desprenderse del grupo) y presencia de cores fibrovasculares en el interior de los grupos celulares. No se ha logrado uniformidad en los criterios de LGUN. Se ha comunicado que aplicando estos criterios para el diagnóstico de LGUN, aproximadamente la mitad de los casos provenían de lesiones no tumorales (15,8). Según la Organización Mundial de la Salud, las neoplasias uroteliales papilares (PUN) han sido categorizados como papiloma urotelial (UP), papiloma invertido (IP), neoplasia urotelial papilar de bajo potencial maligno (PUNLMP), carcinoma urotelial papilar de bajo grado (LGPUC) y carcinoma urotelial papilar de alto grado (HGPUC) (16). El UP y el IP se presentan como una pequeña masa única. PUNLMP es un tumor papilar que se asemejan a UP exofítico, excepto por un aumento de la proliferación celular (mayor grosor). LGPUC está formado por ramificaciones papilares complejas y HGPUC

presenta atipias moderadas a marcadas. La diferenciación entre estas categorías es poco reproducible, por eso se ha propuesto un sistema de scores para aumentar la reproducibilidad de estas neoplasias uroteliales papilares, donde el índice mitótico y el grosor de las capas con atipia citológica podrían ser parámetros útiles y reproducibles para que el algoritmo de puntuación discrimine entre tumores uroteliales papilares (17).

Los UP, IP, PUNLMP y LGPUC son los que forman el grupo de los LGUN. En orina, estos tumores aparecen como formaciones papilares, y como no puede efectuarse la sub-clasificación por citología, porque incluso no existe acuerdo en la discriminación en las biopsias de estos tumores, todos son como LGUN.

Ante todo, pensamos que el citodiagnóstico de LGUN para tumores papilares es importante y que puede hacerse con buena sensibilidad si se ajustan algunos criterios. Nosotros utilizamos los siguientes criterios: Grupos papilares (tridimensionales) de células de aspecto benigno, con $N/C > 0,5$ y núcleos ligeramente elongados (Figuras 11-13). Los tumores papilares de bajo grado se desarrollan sobre prolongaciones del estroma sub-urotelial, a las que cubren como las hojas de un árbol a sus ramas. Estas prolongaciones estromáticas contienen vasos sanguíneos y linfáticos, de ahí el nombre de “cores fibrovasculares”. Cuando se desprenden de las paredes del urotelio, estos conjuntos celulares pueden observarse en la orina como grupos papilares, mientras la sangre de los capilares se derrama a la orina, produciendo la típica hematuria que acompaña a estos tumores (18). En los casos de LGUN que observamos, no hemos detectado el efecto de “plumaje”, aunque sí la disposición monótona de células con $N/C > 0,5$.

Tampoco hemos observado el “core fibrovascular” en los grupos tumorales desprendidos en la orina. Es más probable que el core no se encuentre visible en los grupos exfoliados, ya que las células se disponen en forma tridimensional, rodeando al estroma sobre el cual crecieron e impidiendo su observación en la orina. El core fibrovascular es observado rutinariamente en las biopsias de estas lesiones, debido a que el fino corte del micrótopo permite ver el interior de las papilas.

Nuestra principal objeción a los criterios de TPS para el diagnóstico de LGUN es la exigencia de la presencia del core fibrovascular. En base a nuestra experiencia, creemos que los grupos tridimensionales de células uroteliales de aspecto normal pueden orientar con gran sensibilidad al citodiagnóstico de LGUN de tumores papilares. La sensibilidad en nuestro trabajo fue de 58%. En muchos casos donde se produjeron errores en el diagnóstico de LGUN, éstos se debieron al considerar como neoplásicas las agrupaciones de células uroteliales bidimensionales, que provienen, en general, de patologías reactivas. Otras causas que condujeron a los errores diagnósticos de los LGUN fueron la escasa celularidad de algunas muestras y la necrosis que acompañaba a otras (Figura 14).

El TPS privilegia el diagnóstico de HGUC y minimiza el diagnóstico de LGUN debido a la baja sensibilidad en la evaluación de esta patología. Sin embargo, tenemos la oportunidad de re-valorizar el citodiagnóstico de LGUN, a pesar de sus mayores dificultades y no sólo privilegiar los HGUC, donde el consenso para aplicar los criterios diagnósticos está ampliamente generalizado.

FIGURAS

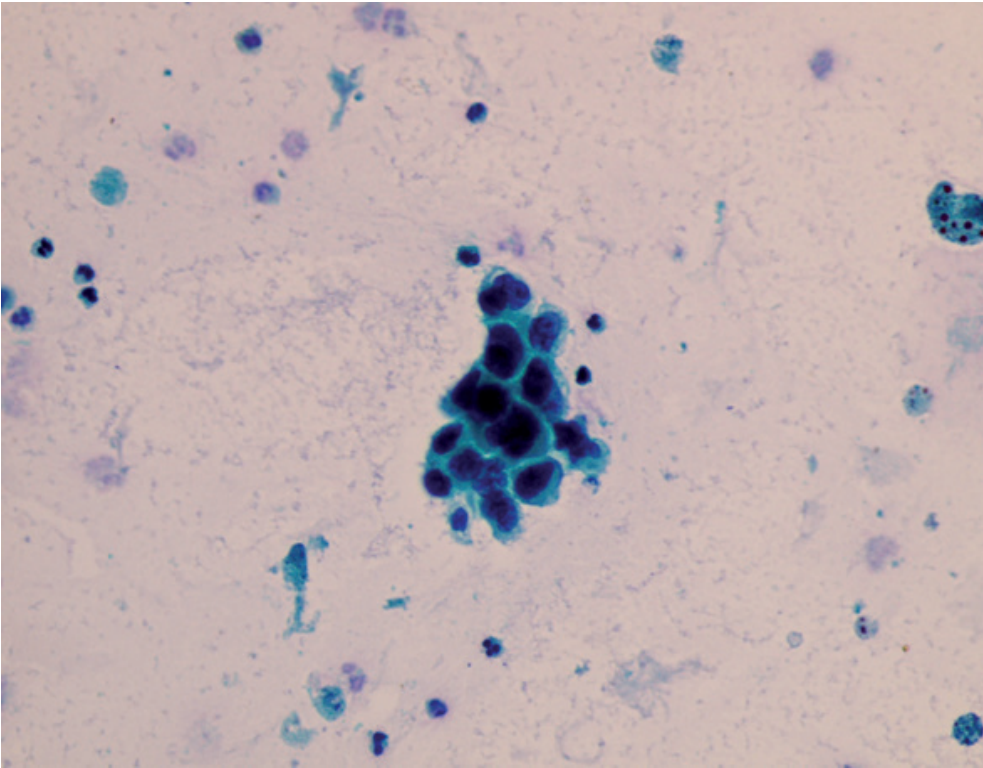


Figura 1
HGUC en una muestra de orina. Las células son hipercromáticas, con N/C > 0,7 (400x- Papanicolaou).

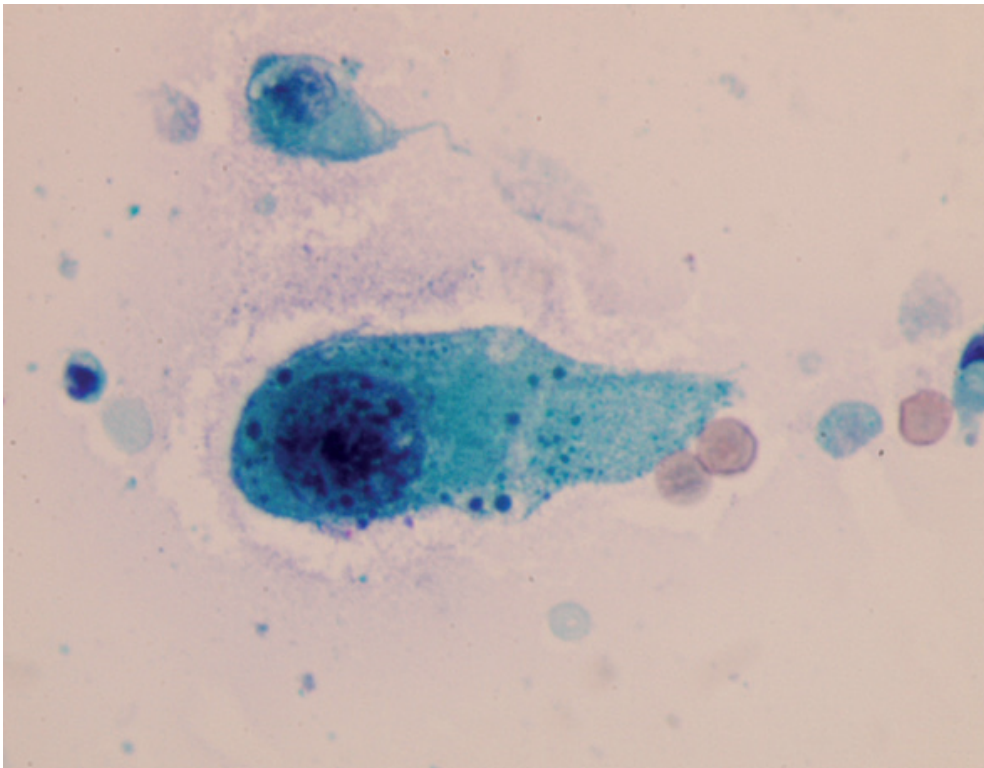


Figura 2
Células provenientes de HGUC en orina. Presenta grumos de cromatina irregulares (800x-Papanicolaou).

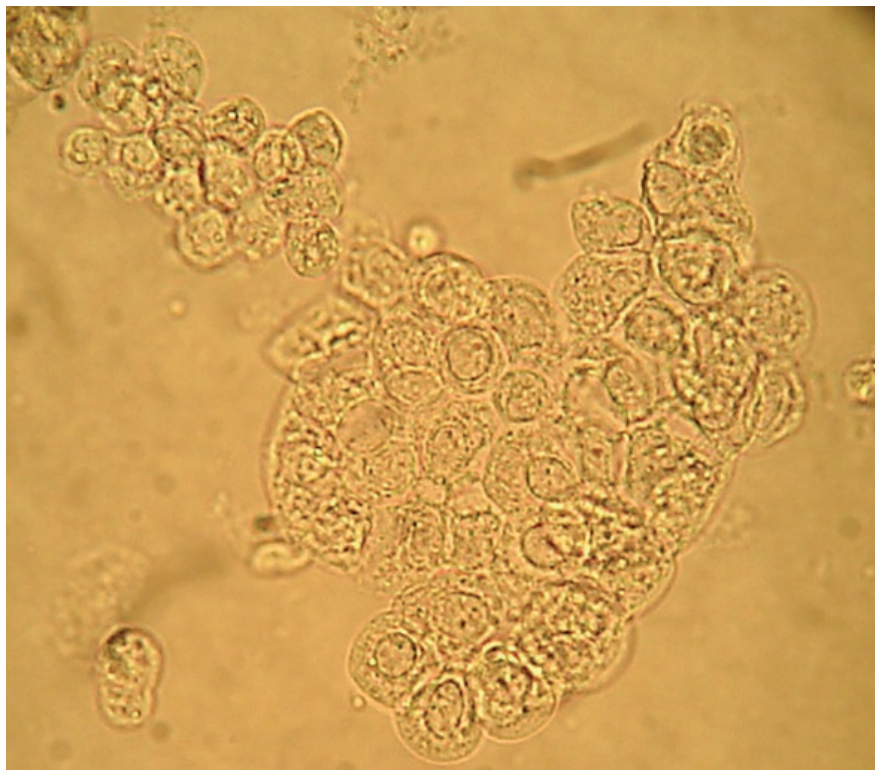


Figura 3
Células levemente reactivas en orina, con ligero aumento de N/C, pequeños nucleolos y membrana nuclear tensa y homogénea. El grupo es bidimensional. (400x-Fresco).

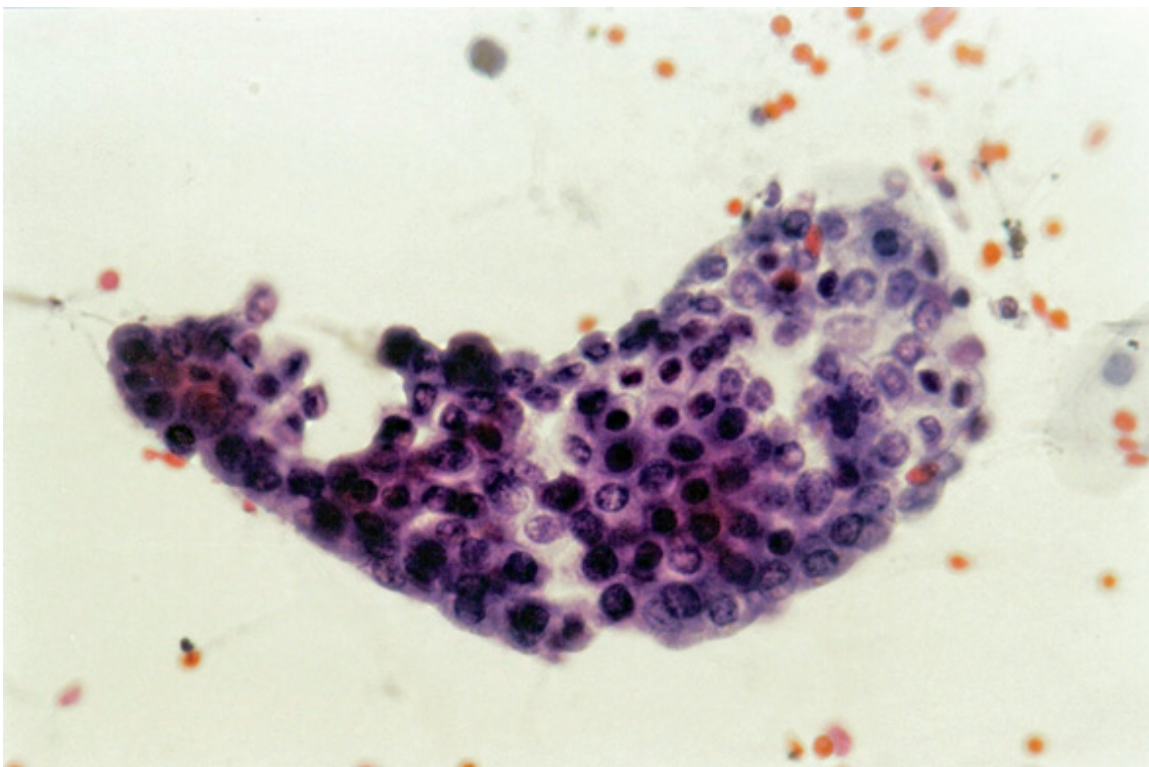


Figura 4
Células reactivas en orina, dispuestas en un plano. N/C está ligeramente aumentada. Los núcleos son hipercromáticos, con cromatina irregular, pero la membrana nuclear es tensa y uniforme. (400x-Papanicolaou).

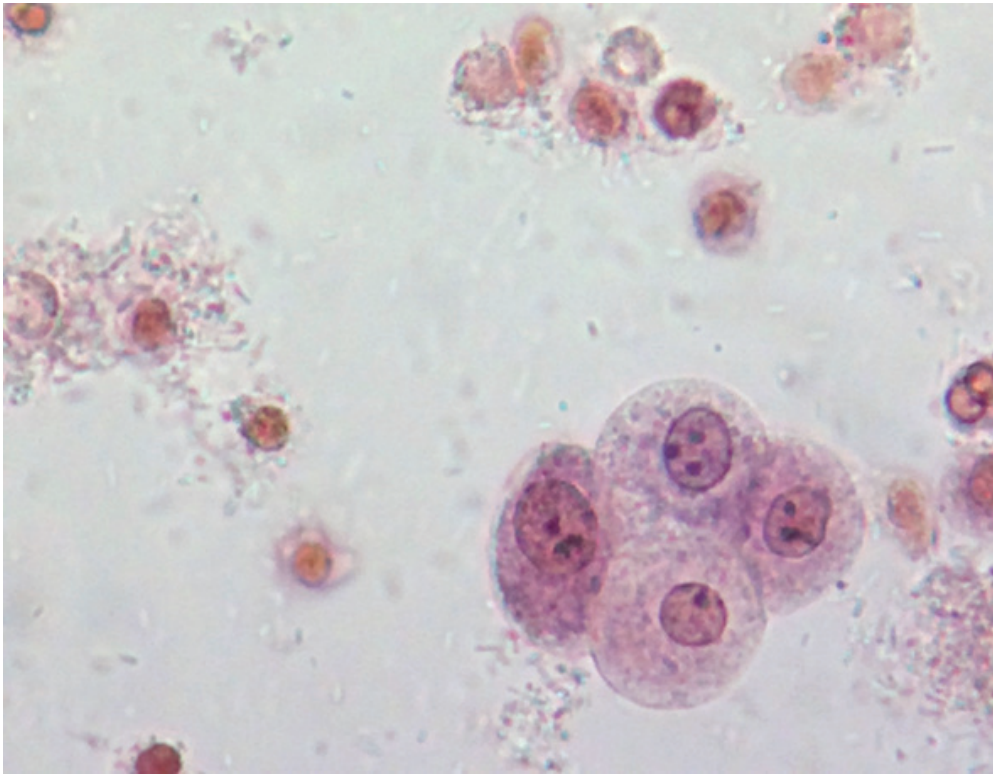


Figura 5
Células uroteliales reactivas, con grandes cromocentros y nucleolos pero manteniendo las membranas nucleares tensas (400x- Azul de Metileno/Safranina).

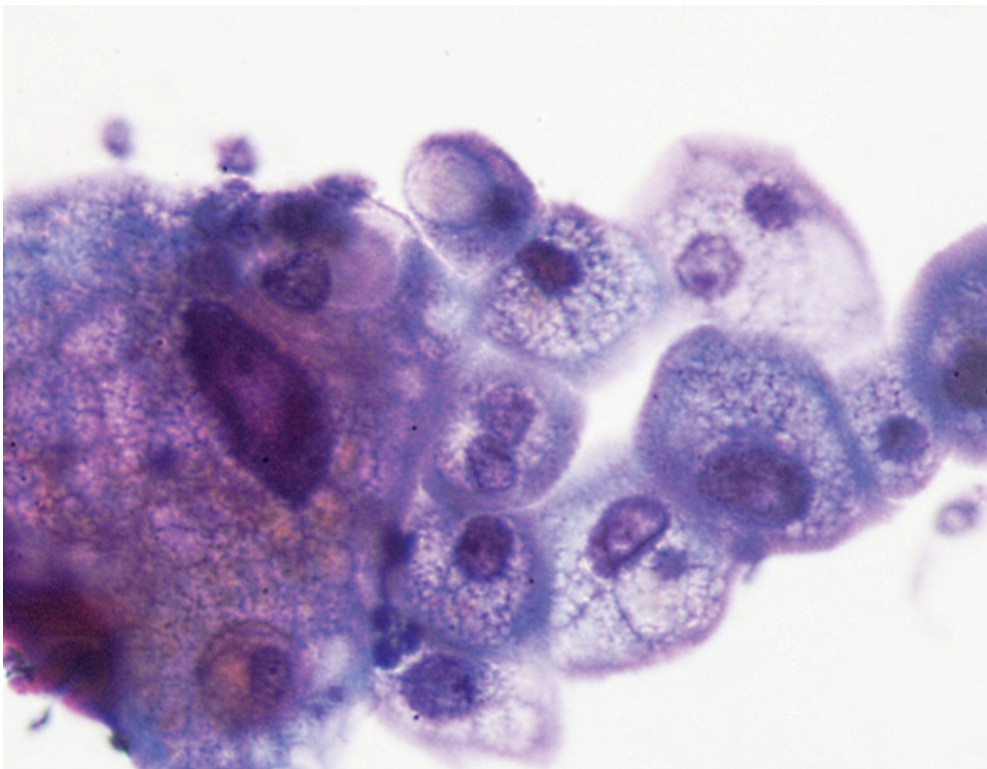


Figura 6
Células provenientes de litiasis en orina. Pese a las anomalías nucleares, con hiper cromatismo, cromatina irregular, megacariosis y citomegalia, su origen en la capa superficial del urotelio asegura su carácter benigno (800x-Papanicolaou).

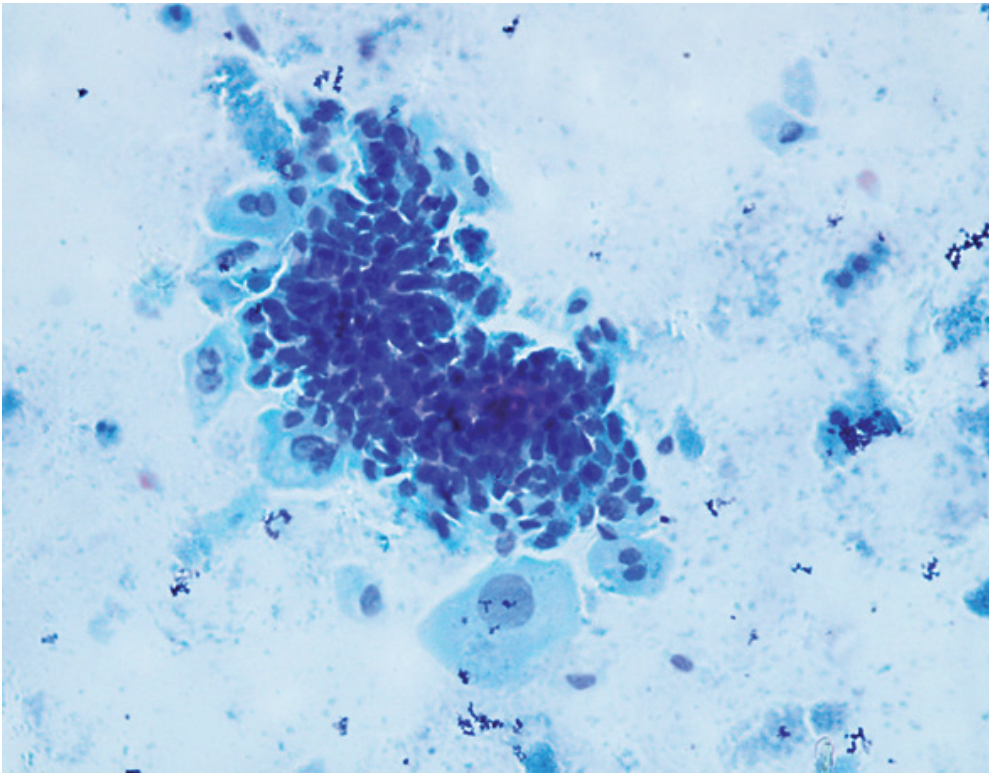


Figura 7

Células en un caso de litiasis en orina. Se observa un grupo de células hipercromáticas, de cromatina irregular, provenientes de las capas profundas del urotelio. El numeroso grupo de células en sombrilla aseguran la benignidad de la muestra (400x-Giemsa).

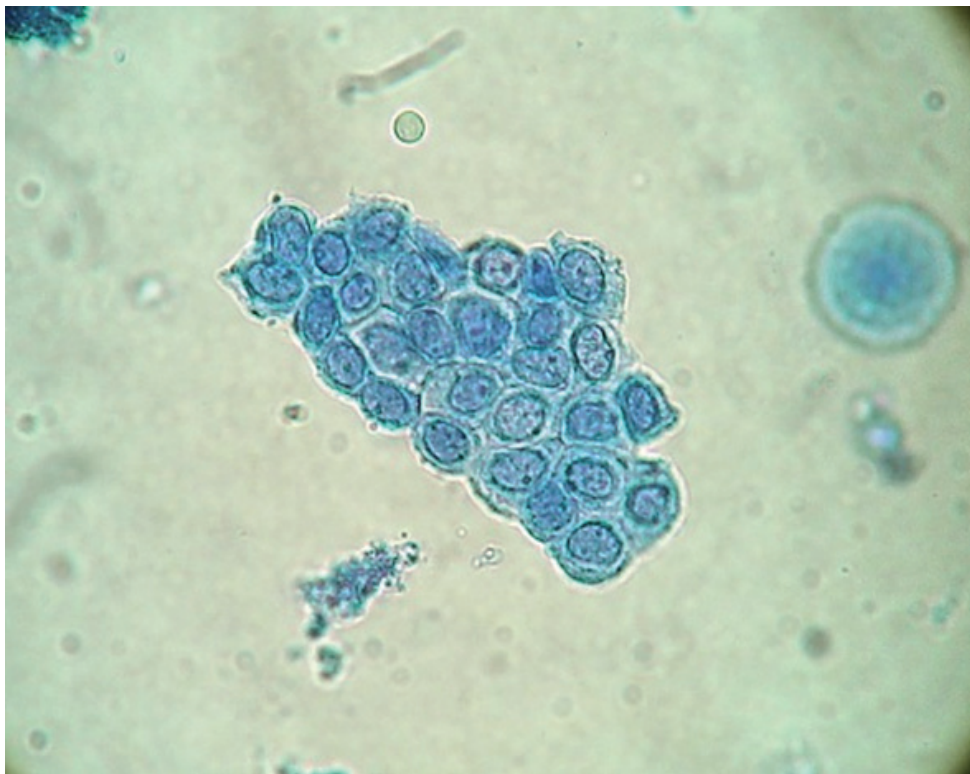


Figura 8

Grupo de células en orina provenientes de una exploración instrumental. Pese a la alta N/C, su cromatina regular, con pequeños nucleolos, la membrana nuclear tensa y fina y la disposición en un plano compacto, aseguran su benignidad (400x-Azul de metileno).

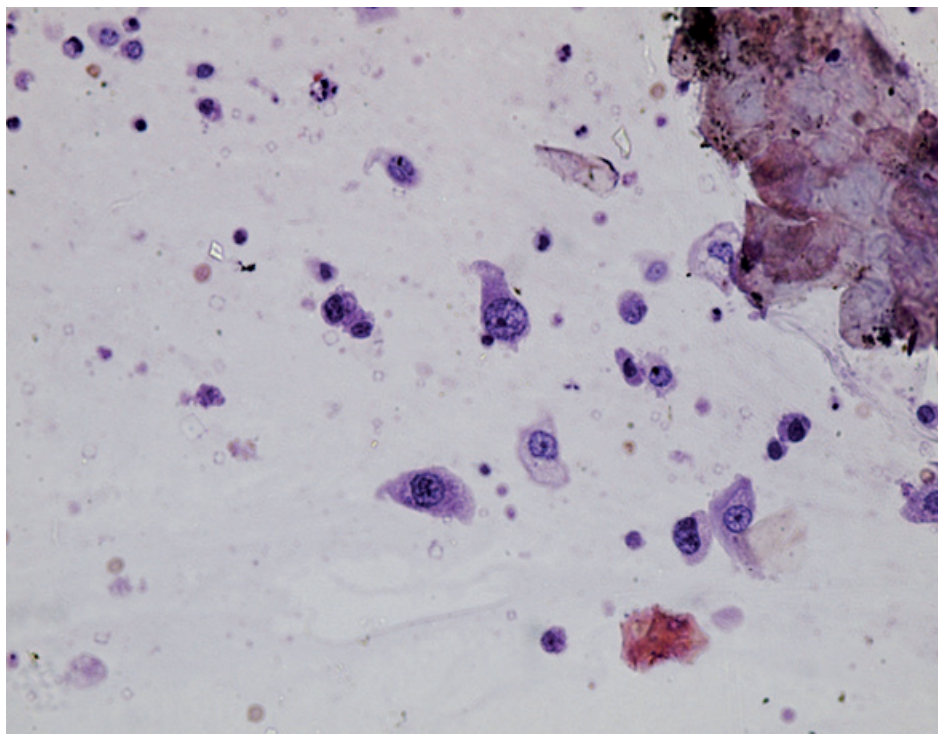


Figura 9
Efecto de la ciclofosfamida sobre el urotelio. Las células en orina muestran cromatina irregular, hiperchromatismo y membrana nuclear gruesa. Aunque benignas, en ocasiones estas células aparecen como sospechosas de malignidad (400x-Papanicolaou).

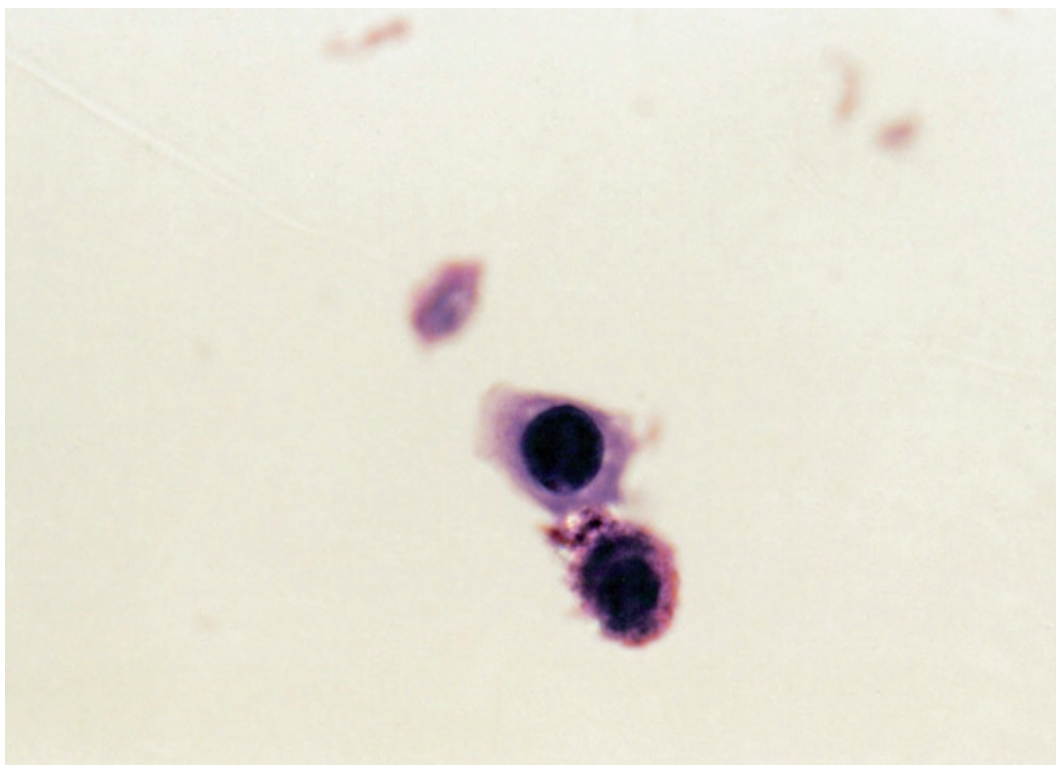


Figura 10
Efecto citopático de Polyomavirus sobre células provenientes de del urotelio en una muestra de orina. N/C es muy elevada, se observa hiperchromatismo, pero la cromatina es amorfa, característica del efecto viral. En ocasiones, la diferenciación con células neoplásicas es difícil (400x-Papanicolaou).

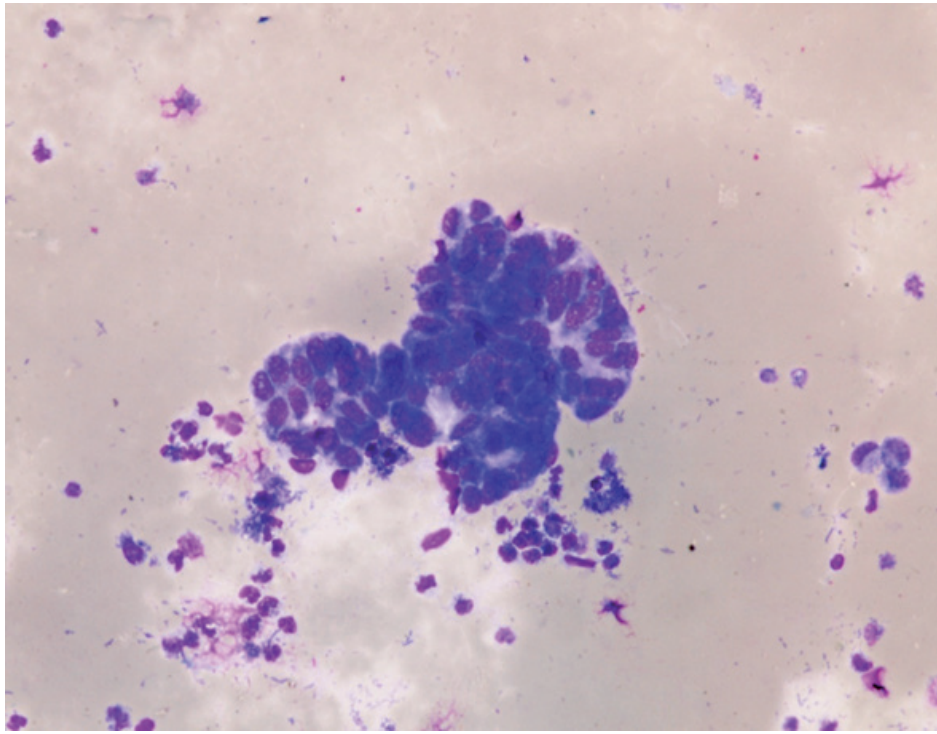


Figura 11
Células en orina procedentes de un LGUN. $N/C > 0,5$, los núcleos son ligeramente alargados y uniformes, y el grupo es tridimensional (400xGiemsa).

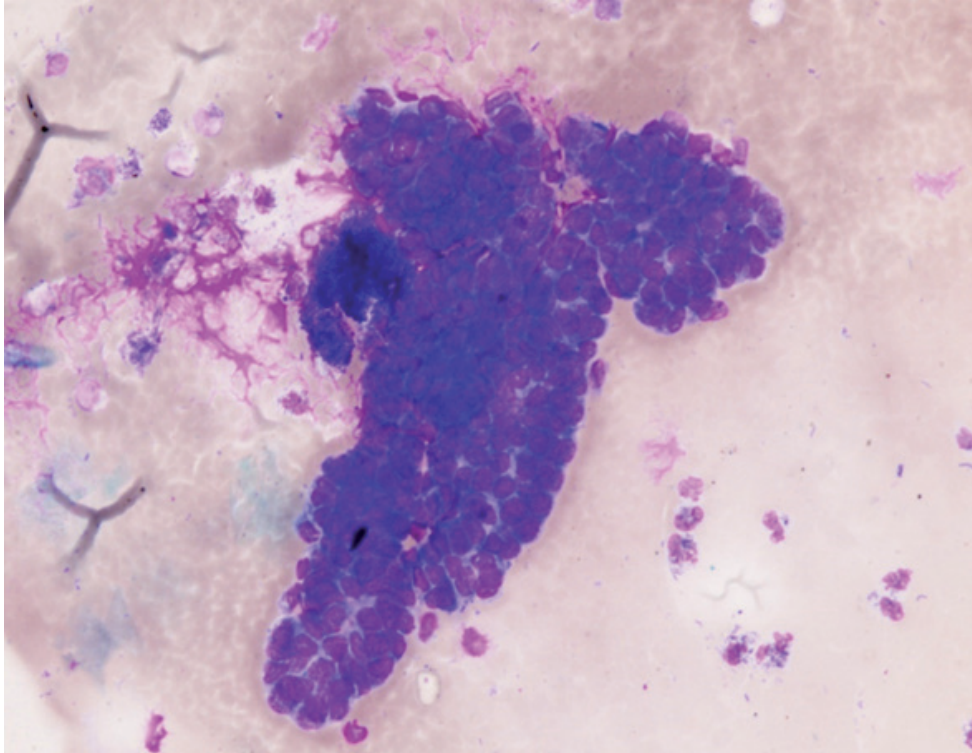


Figura 12
Células en orina procedentes de un LGUN. $N/C > 0,5$, los núcleos son ligeramente alargados y uniformes, y el grupo es tridimensional. Algunas células parecen desprenderse, pero no es suficiente para definirlo como efecto "plumaje" (400xGiemsa).

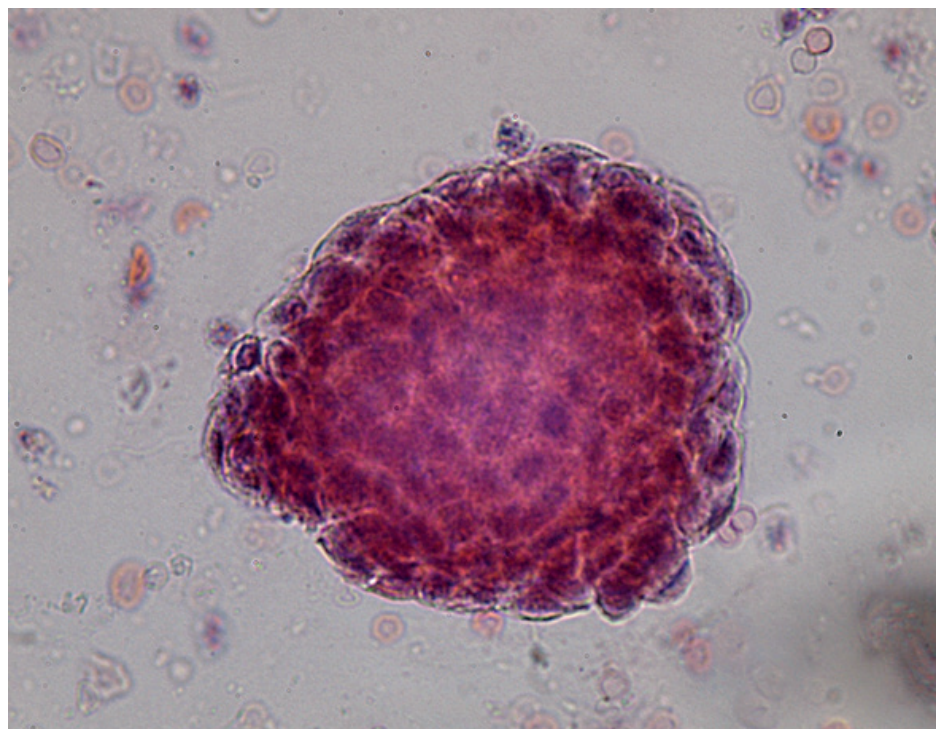


Figura 13
Células en orina procedentes de un LGUN. N/C > 0,5. La papila es tridimensional y de límites netos (400x-Papanicolaou).

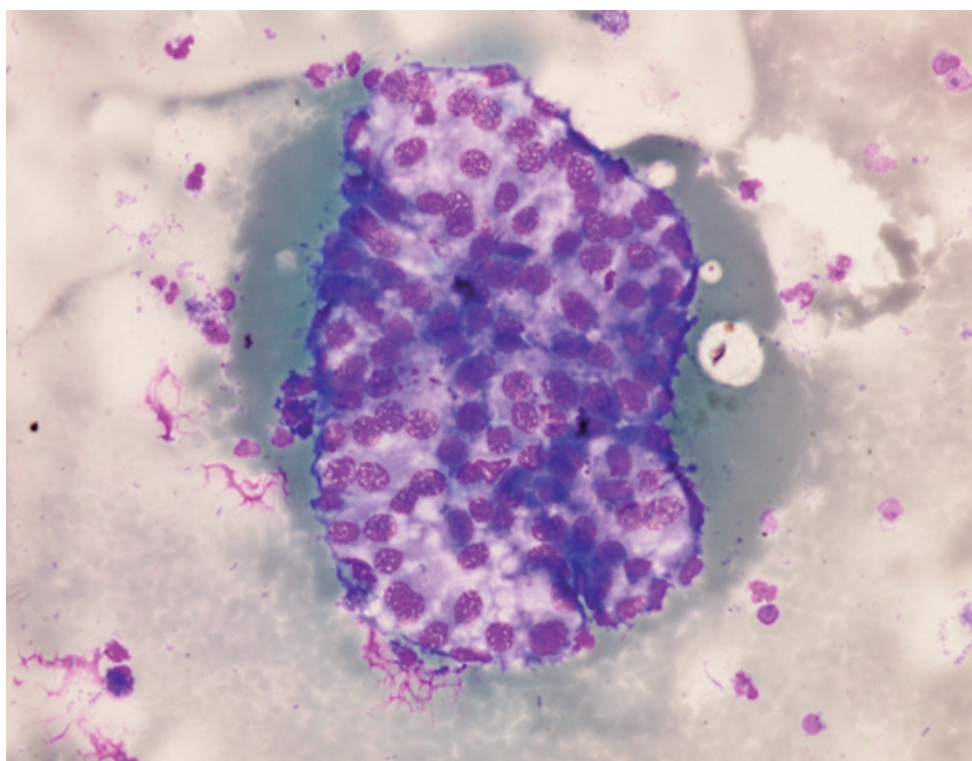


Figura 14
Este grupo de células uroteliales en orina no cumple con los criterios de LGUN. N/C < 0,5, la disposición es bidimensional, y como los núcleos muestran irregularidades cromatínicas, es clasificado como reactivo. (400x-Giemsa).

REFERENCIAS

- 1 - Renshaw AA, Nappi D, Weinberg DS. Cytology of grade 1 papillary transitional cell carcinoma. A comparison of cytologic, architectural and morphometric criteria in cystoscopically obtained urine. *Acta Cytol.* 1996;40(4):676-82.
- 2 - Abdullah LS. The value of urine cytology in the diagnosis of bladder cancer. *Cytopathological correlation.* *Saudi Med J.* 2013;34(9):937-41.
- 3 - Hughes JH, Raab SS, Cohen MB. The cytologic diagnosis of low grade transitional cell carcinoma. *Am J Clin Pathol.* 2000; 114(suppl):S59-S67.
- 4 - Nasuti JF, Fleisher SR, Gupta PK. Significance of tissue fragments in voided urine specimens. *Acta Cytol.* 2001;45(2):147-52.
- 5 - Koss LG, Melamed MR. *Diagnostic Cytology and its Histopathologic Bases.* ed 5. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins; 2006. P.760.
- 6 - Reid MD, Osunkoya AO, Siddiqui MT, Looney SW. Accuracy of grading of urothelial carcinoma on urine cytology: an analysis of interobserver and intraobserver agreement. *Int J Clin Exp Pathol.* 2012; 5(9): 882–91.
- 7 - Courtade-Saïdi M, Cochand-Priollet B, Vielh P, Piaton E; Sous l'égide de la Société Française de Cytologie Clinique. Une nouvelle terminologie pour la cytopathologie urinaire : le Système de Paris (2015) [A new terminology for urinary cytopathology: The Paris System for Reporting Urinary Cytology (2015)]. *Ann Pathol.* 2019;39(5):344-51.
- 8 - Barkan GA, Wojcik EM, Nayar R, Savic-Prince S, Quek ML, Kurtycz DFI, et al. The Paris System for Reporting Urinary Cytology: The Quest to Develop a Standardized Terminology. *Acta Cytol.* 2016;60(3):185–97.
- 9 - Roy M, Kaushal S, Jain D, Seth A, Iyer VK, Mathur SR. An institutional experience with The Paris System: A paradigm shift from ambiguous terminology to more objective criteria for reporting urine cytology. *Cytopathology.* 2017;28(6):509-15.
- 10 - McIntire PJ, Snow JT, Robinson BD, Rao RA, Goyal A, Heymann JJ, et al. Improved Correlation of Urinary Cytology Specimens Using The Paris System in Biopsy-Proven Upper Tract Urothelial Carcinomas. *Cancer Cytopathol.* 2018; 126(7): 498-504.
- 11- Bakkar R, Mirocha J, Fan X, Frishberg DP, Peralta-Venturina M, Zhai J, et al. Impact of the Paris system for reporting urine cytopathology on predictive values of the equivocal diagnostic categories and interobserver agreement. *Cytojournal.* 2019 Oct 22;16:21. doi: 10.4103/cytojournal.cytojournal_30_19.
- 12- Van Rhijn BW: Combining molecular and pathologic data to prognosticate non-muscle invasive bladder cancer. *Urol Oncol.* 2012; 30(4):518–23.
- 13- Cheng L, Zhang S, MacLennan GT, Williamson SR, Lopez-Beltran A, Montironi R. Bladder cancer: translating molecular genetic insights into clinical practice. *Hum Pathol.* 2011;42(4): 455–81.
- 14- Wojcik EM. What should not be reported as atypia in urine cytology. *J Am Soc Cytopathol.* 2015; 4(1): 30–6.
- 15- McCroskey Z, Pambuccian SE, Kleitherns S, Antic T, Cohen MB, Barkan GA, et al. Accuracy and interobserver variability of the cytologic diagnosis of low-grade urothelial carcinoma in instrumented urinary tract cytology specimens. *Am J Clin Pathol.* 2015; 144 (6): 902–8.
- 16- Mostofi FK, Davis CJ, Seterhenn IA. *Histological typing of urinary bladder tumors.* World Health Organization international histological classification of tumors. 1^o Ed. New York: Springer; 1999. p.120.
- 17- Shim J-W, Kang Su, Cho KS, Choi Y-D, Park Y-W, Lee D-W, et al. Diagnostic algorithm for papillary urothelial tumors in the urinary bladder. *Virchows Arch.* 2008;452(4):353-62.
- 18- Palaoro L, Angerosa M. Correlation between the cytology of urine sediment in fresh samples and smears stained by Papanicolaou and Giemsa Methods. *J Cytol.* 2014;31(1):25-31

LA BIOPSIA LÍQUIDA EN EL MANEJO DEL CÁNCER: UNA NUEVA HERRAMIENTA REVOLUCIONARIA DE LA MEDICINA DE PRECISIÓN, AÚN CON LIMITACIONES

Puede acceder en este link al documento completo, publicado en la revista *Advances in Laboratory Medicine / Avances en Medicina de Laboratorio*. DOI: <https://doi.org/10.1515/almed-2020-0038>

AUTORES

María Arechederra¹, Matías A. Ávila² y Carmen Berasain³

CORRESPONDIENTE AL AUTOR

1. Programa de Hepatología, CIMA, Universidad de Navarra, Avda. Pio XII, n55. 31008, Pamplona, España; Instituto de Investigaciones Sanitarias de Navarra-IdiSNA, Pamplona, E-mail: macalderon@unav.es
2. Programa de Hepatología, CIMA, Universidad de Navarra, Pamplona, España; Instituto de Investigaciones Sanitarias de Navarra-IdiSNA, Pamplona, España; and CIBERehd, Instituto de Salud Carlos III, Madrid, España
3. Programa de Hepatología, CIMA, Universidad de Navarra, Avda. Pio XII, n55. 31008, Pamplona, España; Instituto de Investigaciones Sanitarias de Navarra-IdiSNA, Pamplona, España; CIBERehd, Instituto de Salud Carlos III, Madrid, España, E-mail: cberasain@unav.es

PALABRAS CLAVE

Keywords

Biomarcadores circulantes; células tumorales circulantes (CTC); ADN tumoral circulante (ctDNA); medicina personalizada; "circuloma" tumoral.

RESUMEN

Summary

El término "biopsia líquida" se emplea en contraposición a la tradicional biopsia "sólida" de tejido. Esta técnica permite analizar y aislar el material tumoral presente en fluidos biológicos, lo cual podría abrir un amplio abanico de usos clínicos en el área de la oncología. Entre los fluidos biológicos se encuentran la sangre, la orina, la saliva, el líquido cefaloraquídeo (CSF), el líquido de derrame pleural o la bilis. En estas muestras biológicas se pueden aislar diversos analitos, de los cuales revisaremos los más relevantes en este trabajo: células tumorales circulantes (CTC), ADN tumoral circulante (ctDNA), proteínas, metabolitos y exosomas. Los biomarcadores que se analizarán dependen del analito, el tipo de tumor y la aplicación clínica, e incluyen mutaciones somáticas, deleciones, amplificaciones, fusiones génicas, marcas de metilación de ADN, miRNA específicos, proteínas y metabolitos. En esta revisión se ofrece una descripción general de las características de los analitos y las diferentes metodologías empleadas para su aislamiento. Así mismo, se describen las aplicaciones de la biopsia líquida en el manejo de los pacientes oncológicos, desde la detección temprana del cáncer a la monitorización de la respuesta a terapia en el cáncer avanzado. Finalmente, también se abordan las limitaciones y cuestiones aún por resolver en relación a esta herramienta.

INTRODUCCIÓN

Incluso antes de que el comité de expertos de la OMS consensuara la definición del término "biomarcador" en Ginebra en 2001 como "cualquier sustancia, estructura o proceso que pueda ser medido en el cuerpo o sus productos e influir y predecir la incidencia de un resultado clínico o una enfermedad" [1], ya se aplicaba la identificación de diferentes biomarcadores en sangre para el diagnóstico y pronóstico de numerosas enfermedades. Algunos ejemplos conocidos son la medición de los niveles de

diferentes metabolitos como la glucosa o el colesterol, la presencia de enzimas como las transaminasas producidas por la muerte de hepatocitos, o los niveles de inmunoglobulina monoclonal, antígeno carcinoembrionario (CEA, por sus siglas en inglés), alfafetoproteína (AFP), antígeno prostático específico (PSA), antígeno cancerígeno 125 (CA 125) o la gonadotropina coriónica humana (HCG) en el torrente sanguíneo [2, 3]. Todos estos biomarcadores, con diferente sensibilidad y especificidad, se han empleado comúnmente en el diagnóstico de la diabetes, enfermedades hepáticas o la presencia de mieloma, cáncer de colon, hígado, próstata, ovario, o de tumores de células germinales.

Sin embargo, la fiabilidad de estos biomarcadores presentes en fluidos biológicos es limitada [4]. Así mismo, en las últimas décadas, el enorme volumen de datos obtenidos mediante el empleo de técnicas moleculares de alto rendimiento, unido a los avances logrados en el campo de la farmacogenómica, han puesto de manifiesto la importancia de caracterizar el perfil molecular del tumor a la hora de adaptar los regímenes de tratamiento (la llamada “medicina personalizada”), realizar un seguimiento de la respuesta a dicho tratamiento, y detectar la aparición de resistencias [5]. Actualmente, también se sabe que el perfil genético de los tumores es heterogéneo en su localización y dinámico en el tiempo [6, 7].

Las tradicionales biopsias de tejido tumoral presentan ciertas limitaciones como que, en algunos casos, el tumor es de difícil accesibilidad o no se puede realizar dicha biopsia. Además, dada su naturaleza invasiva, las biopsias de tejido tumoral pueden suponer un riesgo para el paciente, lo cual limitará la recogida de muestras longitudinales para el seguimiento. Por otra parte, las biopsias de tejido pueden presentar un sesgo de muestra, ya que ofrecen un retrato del tumor en un solo punto, lo cual obvia la heterogeneidad genética espacial de los tumores, afectando negativamente a la precisión y sensibilidad de los datos obtenidos [6].

En los últimos años, los esfuerzos de numerosos grupos de investigación y el desarrollo de diferentes tecnologías han permitido mejorar en la detección de material tumoral en fluidos biológicos, impulsando el empleo de metodologías no invasivas para el diagnóstico, pronóstico, seguimiento y selección de terapias para el cáncer [8–13].

El término “biopsia líquida” se emplea, por tanto, en contraposición con la tradicional biopsia de tejido tumoral obtenida quirúrgicamente, e implica

el análisis de biomarcadores tumorales en material tumoral, por lo general aislado del torrente sanguíneo [13] o de otros fluidos biológicos como la orina, la saliva, el líquido cefalorraquídeo (CSF, por sus siglas en inglés), el derrame pleural o la bilis de pacientes oncológicos [8]. Entre los analitos que se emplean en la biopsia líquida, se encuentran las células tumorales circulantes (CTC), el ADN libre circulante (cfDNA, por sus siglas en inglés), las proteínas, los metabolitos, las vesículas extracelulares y el ARN circulante (cfRNA, por sus siglas en inglés) [10, 14]. Los biomarcadores que se analizan dependen del analito, el tipo de tumor y la aplicación clínica, e incluyen mutaciones somáticas, deleciones, amplificaciones, fusiones génicas, marcas de metilación de ADN, miRNA específicos, proteínas y metabolitos, entre otros (Figura 1). Las tecnologías de identificación y caracterización empleadas dependerán del tipo de analito y del biomarcador [12]. Merece especial mención la revolución de las tecnologías de secuenciación de nueva generación (NGS, por sus siglas en inglés), que han incrementado significativamente el uso de la biopsia líquida basada en el análisis de los ácidos nucleicos [11].

En 2013, la U.S. *Food and Drug Administration* (FDA) aprobó el primer test de biopsia líquida, la plataforma CellSearch® CTC (K073338-FDA), diseñada para el seguimiento del cáncer de mama, colon y próstata metastásicos mediante la medición de CTC [15]. Tres años después, en 2016, se aprobó la primera prueba de biopsia líquida basada en el análisis de cfDNA. Se trata de una prueba diagnóstica complementaria cuyo objeto es la detección de mutaciones del gen EGFR en el ctDNA de pacientes con carcinoma pulmonar no microcítico (NSCLC, por sus siglas en inglés) para que se puedan beneficiar de una terapia dirigida.

No obstante, antes de la plena implantación de las biopsias líquidas en la práctica oncológica, quedan algunas limitaciones por resolver. Además de la optimización y estandarización de protocolos para el aislamiento de analitos, quedan algunas cuestiones por dilucidar, como por ejemplo conocer en profundidad el comportamiento del tumor y su dinámica de diseminación, que de momento dificultan el uso generalizado de la biopsia líquida como nueva herramienta para el manejo del cáncer. En este escenario, y con el fin de acelerar el desarrollo, validación y uso clínico de la biopsia líquida, se ha creado un consorcio de colaboración constituido por entidades públicas, privadas, académicas y agencias reguladoras, tanto en Europa (Cancer-ID; <https://www.cancer-id.eu/>)

como en los Estados Unidos (BloodPAC; <https://www.bloodpac.org/>).

En esta revisión, analizamos los últimos avances en las tecnologías de biopsia líquida empleadas para el aislamiento de analitos y la identificación de biomarcadores, con especial hincapié en las CTC y el cfDNA. Así mismo, se describen las aplicaciones de la biopsia líquida en el manejo de los pacientes oncológicos, desde la detección temprana del cáncer al seguimiento de la respuesta a un tratamiento en el cáncer avanzado. Finalmente, también se abordan las limitaciones y cuestiones aún por resolver en relación a esta herramienta.

TIPOS DE ANALITOS EN LOS PACIENTES ONCOLÓGICOS

En los fluidos biológicos de los pacientes oncológicos se pueden detectar diferentes elementos tumorales. Tal como se ha descrito anteriormente, entre estos elementos tumorales se encuentran las CTC, el cfDNA, las proteínas, metabolitos, vesículas extracelulares y ARN libre circulante [10]. No obstante, todos estos analitos tumorales están rodeados de multitud de analitos no tumorales liberados por células normales, lo que dificulta el aislamiento y la detección de la fracción tumoral de interés. En este escenario, el desarrollo de tecnologías de mayor sensibilidad está aumentando el interés en este área, ya que permite a la obtención de material neoplásico por una técnica mínimamente invasiva. Cada analito presenta sus propias ventajas y desventajas, proporcionando información diferente. En algunos casos, su mera detección ya es informativa de por sí, o puede emplearse como material de partida para la detección de biomarcadores. Existe evidencia de que algunos tumores no liberan material tumoral en los fluidos biológicos (20–58%) [17, 18]. Por tanto, los pacientes con estos tumores no se beneficiarían de los avances en las biopsias líquidas y aumentarían el índice de falsos negativos. No obstante, estas aseveraciones deberán ser revisadas una vez se hayan desarrollado técnicas de mayor sensibilidad, ya que su limitada sensibilidad puede estar detrás de la afirmación de que algunos tumores no liberan material tumoral.

Hasta el presente, las pruebas de detección de proteínas tumorales han sido el método de referencia en el cribado y selección de terapias para los diferentes tipos de cáncer. Aunque su uso está muy extendido, su mayor limitación es el sobrediagnóstico [19]. Las investigaciones actuales se centran en la identificación del perfil proteómico en lugar de proteínas concretas para

resolver la falta de especificidad [20], así como en mejorar las técnicas de detección [21]. Las vesículas extracelulares tumorales son nanovesículas compuestas por una bicapa lipídica y secretadas por las células tumorales que contienen proteínas y ácidos nucleicos [22]. Estas se pueden hallar en casi todos los fluidos biológicos, especialmente en la sangre. De acuerdo con algunos estudios, sus niveles están elevados en algunos tipos de cáncer [23].

Además, al analizar su contenido, los investigadores han descubierto que los exosomas que contienen la proteína glicoproteína-1 (GPC1, por sus siglas en inglés) distinguen a los pacientes con cáncer de páncreas con una especificidad y sensibilidad absolutas frente a sujetos sanos [23]. También se han detectado mutaciones de KRAS y p53 [24] o un perfil proteómico específico de microRNA [25] en exosomas de pacientes con cáncer de páncreas. Las células tumorales también liberan diferentes tipos de ARN (mRNAs, miRNAs, lncRNAs) en el torrente sanguíneo. Sin embargo, el ARN es una molécula relativamente inestable, y su detección suele estar asociada a la presencia de vesículas extracelulares. Ya se han publicado algunos ejemplos de biomarcadores exosómicos de ARN [26, 27]. Sin embargo, entre los analitos de las biopsias líquidas, los estudios sobre CTC y cfDNA han experimentado un crecimiento exponencial en las últimas décadas. A continuación se ofrece una revisión detallada de estos dos analitos.

CÉLULAS TUMORALES CIRCULANTES (CTC)

Las CTC son una población de células que se han liberado de la masa tumoral y circulan en el torrente sanguíneo.

Tenemos que remontarnos 150 años para encontrar la primera descripción documentada de CTC. En 1869, el médico australiano Thomas R. Ashworth observó la presencia de unas células que se parecían a las células del tumor primario en la sangre de un hombre fallecido a causa de un cáncer metastásico [28]. Sin embargo, no fue hasta finales de los años noventa del siglo pasado cuando se produjo el estallido de las CTC, después de que Racila et col. desarrollaran una técnica de enriquecimiento inmunomagnético para la detección de CTC. Los autores, también demostraron entonces la presencia de CTC en los primeros estadios de la enfermedad y señalaron su uso potencial para la monitorización de la respuesta al tratamiento y de las recurrencias [29, 30].

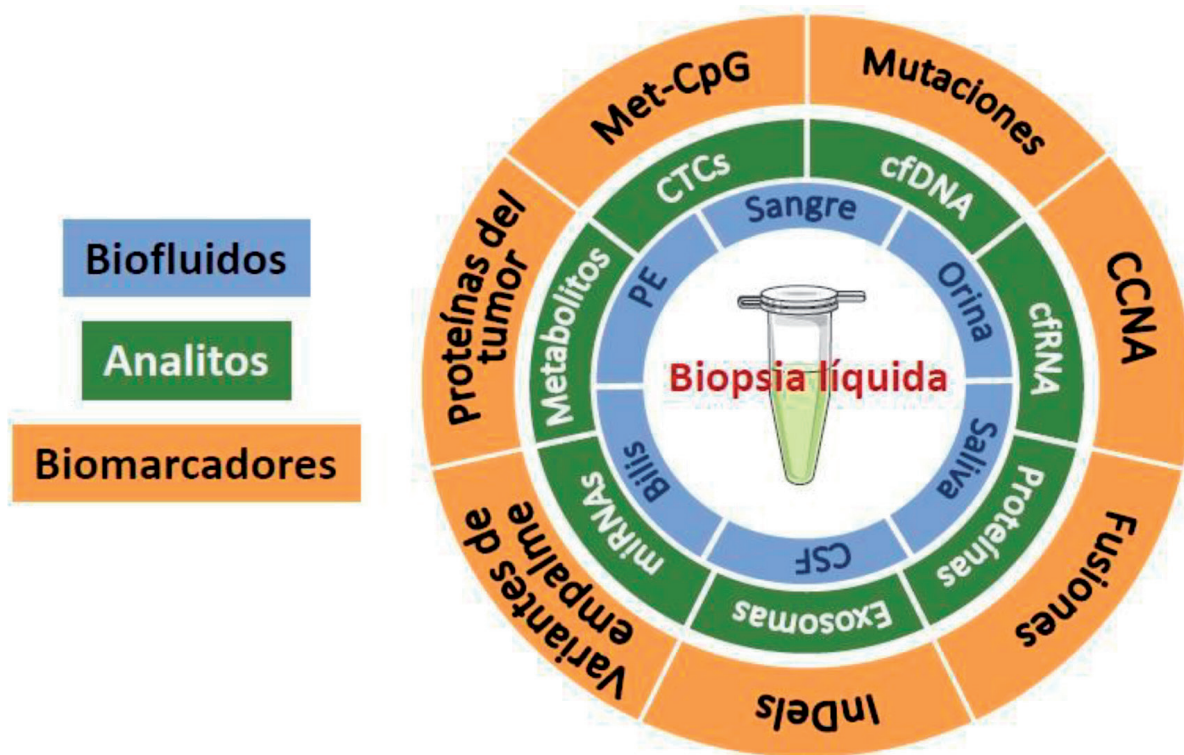


Figura 1:

Fluidos biológicos, analitos y biomarcadores que componen la biopsia líquida.

Met-CpG: CpGs metilado (dinucleótido C-G). CCNA: número de aberraciones en las copias cromosómicas; InDel: inserciones y deleciones; CTC: células tumorales circulantes; cfDNA: ADN libre circulante; cfRNA: ARN libre de circulante; miRNAs: microRNA; PE: derrame pleural; CSF: líquido cefalorraquídeo.

Fuentes y características de las CTC

La diseminación de las células tumorales en el sistema circulatorio es el primer paso en el proceso metastásico [31]. Aunque los mecanismos implicados en dicho proceso aún están por dilucidar, se sabe que la liberación de CTC en vasos sanguíneos o linfáticos se puede producir mediante la liberación pasiva del tumor primario o a través de un proceso activo asociado a la transición epitelio-mesenquimal (EMT, por sus siglas en inglés) [32]. Una vez en la circulación, si las células sobreviven y se diseminan, se puede desarrollar un tumor secundario en otro órgano [31]. Sin embargo, la metástasis es un proceso enormemente inefectivo, y la mayoría de estas células circulantes mueren debido a traumatismo, estrés oxidativo o los ataques del sistema inmune [33]. Además, la presencia de CTC en la sangre de un paciente oncológico es muy poco frecuente, con 1 CTC por cada 106 – 107 células sanguíneas, dependiendo del estadio de la enfermedad [34] y con una semivida en circulación de menos de 2,5 horas [35]. Las CTC son una población de células heterogénea a nivel genético, transcriptómico, proteómico y

metabólico [36], lo cual podría indicar que proceden de diferentes clones del tumor primario [37]. Las CTC se pueden distinguir de las células sanguíneas mesenquimales por la expresión de una serie de marcadores epiteliales, tales como la molécula de adhesión epitelial celular (EpCam, por sus siglas en inglés) o proteínas de la familia de las citoqueratinas (CK8, CK18 and CK19), o incluso por su morfología epitelial [34]. Sin embargo, tal como se ha descrito anteriormente, y con gran importancia a tener en cuenta en los protocolos de aislamiento, las CTC pueden haber experimentado una transición EMT, perdiendo los marcadores epiteliales y su morfología característica, y expresar en su lugar marcadores de EMT conocidos, como son los componentes de la vía del factor de crecimiento transformante b (TGF, por sus siglas en inglés)-beta, la vimentina, la Ncadherina o el factor de transcripción FOXC1 [32, 38]. Además, un porcentaje de la población de CTC puede adquirir propiedades similares a las de las células madre, expresando marcadores de células madre como ALDH7A1, CD44, y KLF4 [39].

En estudios recientes se han detectado CTC en agregados celulares. Aunque estos son extremadamente raros comparados con las CTC, poseen un gran potencial metastásico [40]. Estos agrupamientos pueden proceder directamente del tumor mediante diseminación pasiva o migración colectiva [40, 41], o bien pueden haberse formado de novo en el torrente sanguíneo mediante la agregación de CTC individuales [42]. Los agrupamientos de CTC suelen estar formados por entre 2 y 50 células con fuertes contactos célula-célula. En estos agregados multicelulares, las células tumorales están acompañadas por otras células no tumorales como plaquetas, células inmunes o fibroblastos activados por tumores, lo que podría favorecer la supervivencia de estos agrupamientos de CTC [32, 43]. Además, la proporción de estos agregados puede ser mayor de lo estimado, aumentando durante el proceso de metástasis [44]. Existe evidencia de que la queratina 14 [41], placoglobina [40] y CD44 [42], así como algunos marcadores mesenquimales están sobreexpresados en estos agrupamientos de CTC [32].

Aislamiento de CTC

En las últimas décadas, se han desarrollado una serie de técnicas para aislar CTC individuales en sangre. Estas tecnologías se basan en las diferencias biológicas o físicas entre las CTC y las células sanguíneas no tumorales. No obstante, aislar CTC sigue siendo complicado debido a que son muy poco frecuentes y a su heterogeneidad [36]. Así, y a pesar de la variedad de tecnologías desarrolladas y probadas, estas aún presentan una serie de limitaciones por resolver. Además del método de aislamiento, también hay que tener en cuenta variables pre-analíticas, como el tipo de tubo de extracción de sangre, el tiempo transcurrido entre la toma de muestras y su procesamiento, o la temperatura de almacenamiento, ya que estos pueden influir en el posterior análisis [45]. De este modo, presentamos una descripción general de los métodos de aislamiento de CTC más conocidos, aunque para una descripción más detallada, recomendamos consultar las revisiones publicadas sobre cada tecnología de aislamiento de CTC [14, 46–49].

Aislamiento de CTC en función de sus propiedades biológicas

Los métodos basados en las propiedades biológicas de las CTC se basan en una serie de biomarcadores específicos expresados en la superficie celular de estas células, que permiten su captura en muestras de sangre. La selección positiva de CTC se realiza mediante el reconocimiento

de antígenos específicos en la superficie de la célula tumoral, por lo general EpCAM y citoqueratinas (CK8, CK18 y CK19).

Sin embargo, tal como se ha mencionado anteriormente, algunas CTC pierden sus marcadores epiteliales, expresando en su lugar marcadores mesenquimales y/o de células madre [32, 38], dando lugar a una muestra de sangre con diversos fenotipos de CTC. Por lo tanto, el sesgo que supone el marcador de selección representa una importante limitación de los métodos de enriquecimiento positivo, ya que producen una captura selectiva de subpoblaciones de CTC específicas, omitiendo otras subpoblaciones. Cabe mencionar también que se ha publicado que la captura basada en el reconocimiento de EpCAM es también útil a la hora de aislar células epiteliales circulantes en pacientes con enfermedades benignas de colon [50], lo que puede por tanto llevar al sobrediagnóstico. La selección negativa de CTC consiste en emplear antígenos que se expresan en las células de sangre periférica pero no en las CTC para así capturar y eliminar las células no tumorales de la muestra, dejando intactas las CTC [51]. Para esta técnica se suele emplear el antígeno CD45. Aunque este método ofrece una pureza menor en comparación con la técnica de enriquecimiento positivo, tiene la ventaja de que se aislarán juntas las diversas subpoblaciones de CTC [51, 52]. Para aplicar el principio de inmunoafinidad se suelen emplear dos dispositivos que consisten en los anticuerpos seleccionados unidos a perlas inmunomagnéticas o a chips microfluídicos. Otra limitación de esta metodología es que la unión de las CTC a la superficie del dispositivo puede dificultar su recuperación y el posterior análisis de eventos moleculares. Actualmente, el sistema CellSearch® (Menarini Silicon Biosystems), que combina el enriquecimiento positivo y negativo, es la única tecnología de CTC aprobada por la FDA. Este sistema sirve para cuantificar la cantidad de CTC en sangre mediante el enriquecimiento basado en CD45-, EpCAM+, y citoqueratinas 8+, 18+, y/o 19+ [15].

Aislamiento de CTC en función de sus propiedades físicas

Los métodos basados en las propiedades físicas de las CTC se basan en las diferencias físicas entre estas células y las demás células sanguíneas (mayoritariamente leucocitos) tales como su tamaño, densidad, deformabilidad o carga eléctrica [47]. En principio, las CTC tienen mayor tamaño que las células sanguíneas normales [53]. Las CTC presentan una densidad similar a la de las células sanguíneas nucleadas, quedando entre el plasma y los glóbulos rojos

tras la centrifugación. Algunos estudios muestran que las CTC tienen mayor capacidad de deformación que las células normales [54, 55]. Además, también se han utilizado las características eléctricas de las CTC para distinguirlas de las células sanguíneas no tumorales mediante la dielectroforesis [56]. Por último, existen otros métodos de aislamiento de CTC basados en sus características funcionales, como son su capacidad para invadir una matriz de adhesión celular, secretar diferentes proteínas o sobreexpresar la enzima telomerasa [13].

Utilidad, limitaciones y aspectos importantes de las CTC

A pesar de la existencia de numerosas plataformas para el análisis de CTC y el creciente número de publicaciones en este campo, su traslado a la práctica clínica presenta algunas limitaciones. Hasta el presente, algunos estudios indican que el hecho de aislar CTC y su número por mL de sangre son en sí mismos un biomarcador con posibles implicaciones clínicas. No obstante, actualmente la FDA solo ha autorizado el uso de una plataforma de medición de CTC (CellSearch®) como predictor pronóstico, ya que aporta información fiable sobre la supervivencia libre de enfermedad en el cáncer de mama [44], colon [53] y próstata [56] metastásicos. Aquellos pacientes con enfermedad metastásica y con una proporción de <5 CTC por cada 7.5 mL de sangre tienen mayor probabilidad de presentar mejor respuesta clínica que los que muestran >5 CTC por cada 7.5 mL de sangre [57]. Actualmente se está evaluando la validez clínica de la cuantificación de CTC para seleccionar la primera línea de tratamiento en el cáncer de mama metastásico positivo para receptores hormonales (MATABREAST trial; NCT01710605). Sin embargo, tal como indica Aceto [58], se han observado fluctuaciones en el número de CTC en pacientes en un estadio de la enfermedad, carga total y perfil metastásico comparables, poniendo en cuestión la utilidad clínica de analizar la presencia y abundancia de CTC. Aún es necesario seguir investigando los factores que influyen en la diseminación, dinámicas y eliminación de las CTC para obtener una imagen más completa y desarrollar herramientas más precisas para su uso e interpretación.

No obstante, las CTs también pueden ser el analito inicial para el análisis posterior de biomarcadores. A este respecto, las CTC pueden aportar información proteómica, epigenética, genómica o transcriptómica en tiempo real. Por ejemplo, se ha desarrollado un

test para detectar en CTC aisladas la expresión de la proteína AR-V7, una variante del receptor androgénico, para seleccionar el tratamiento en pacientes con cáncer de próstata resistente a la castración [59]. Se ha descrito que los perfiles de metilación de genes supresores de tumores detectados a partir de CTC correlacionan con el potencial metastásico y con un peor pronóstico [60]. Además, recientemente se ha desarrollado un sistema de transferencia de proteínas con microfluidos para evaluar los niveles de ocho proteínas en CTC individuales de pacientes con cáncer de mama positivo para receptores de estrógenos [61].

ADN libre circulante

En la sangre periférica tanto de sujetos sanos como de pacientes, circulan libremente pequeños fragmentos de ADN. En el caso de los pacientes oncológicos, una fracción de estas moléculas de ADN libre circulante (cfDNA) corresponden a ADN tumoral circulante (ctDNA). El primer hallazgo documentado de ADN soluble en sangre data de 1948 y fue realizado por Mandel y Metais [62]. Sin embargo, hasta 1977 no se estableció una relación entre los niveles séricos de cfDNA en pacientes oncológicos y su respuesta a terapia [63]. Y tuvimos que esperar hasta 1994 para que se descubriera la presencia de una mutación, del gen KRAS, en el cfDNA extraído del plasma de pacientes con cáncer de próstata [64].

Fuentes de cfDNA y características

Los fragmentos de ADN se liberan al torrente sanguíneo a través de la apoptosis celular y otros procesos de muerte celular como la necrosis, la piroptosis o la autofagia, así como mediante la secreción celular activa [65]. El cfDNA puede proceder tanto de ADN nuclear como mitocondrial [66]. Estos fragmentos de cfDNA circulante poseen unos 166 pares de bases, lo cual equivale a la longitud ocupada por un nucleosoma. Una vez en circulación, la eliminación de cfDNA se produce mediante degradación enzimática (desoxirribonucleasa I, la proteasa activadora del factor de coagulación VII y el factor H), excreción renal, y el metabolismo hepático y pancreático [67]. El balance final entre la liberación y la eliminación determina la semivida del cfDNA y, aunque varía según el individuo y su estado patofisiológico, suele oscilar entre 16 minutos y 2,5 horas [67, 68]. Algunos estudios epigenéticos han demostrado que la huella de nucleosomas circulantes y los patrones de metilación de cfDNA de los individuos sanos están fuertemente correlacionados con los de las células linfoides y mieloides [69, 70], lo que

Pasos del protocolo	Variables/consideraciones
1. Extracción de sangre [75]	<p>Tipo de muestra: el plasma es preferible al suero para evitar la contaminación con ADN genómico.</p> <p>Tubo de extracción: dependerá del tiempo de procesamiento:</p> <ul style="list-style-type: none"> -Tubos EDTA cuando el plasma se va a procesar en 4-6 horas tras la extracción. -Tubos de estabilización celular cuando no es posible el procesamiento rápido (estable hasta ~ 7 días).
2. Centrifugación para el aislamiento de plasma [75]	<p>Protocolo: se precisa un protocolo con dos centrifugados. Primero a baja velocidad (~2500 g), luego a alta velocidad (~14000 g). Aparentemente, la temperatura (temperatura ambiente o 4 °C) no es esencial.</p> <p>* Tras la primera centrifugación, se puede congelar el plasma a -80 °C para su posterior procesamiento.</p>
3. Extracción de cfDNA [75, 76]	<p>Método: existen diferentes kits de aislamiento de cfDNA (de Qiagen, Promega, Applied Biosystems, Zymo Research, Norgen Biotek, EpiGenTek, entre otros). Aspectos a tener en cuenta:</p> <ul style="list-style-type: none"> -Análito: extracción de cfDNA o de ácidos nucleicos totales (cfNA) -Manipulación: manual o automática -Tecnología empleada: Basado en membrana de sílice, partículas o perlas magnéticas, o con columnas, entre otras. <p>*Si se ha congelado el plasma a -8° °CC, el descongelado debe hacerse lentamente en hielo.</p>
4. Cuantificación de cfDNA [75, 76]	<p>Método: la cuantificación de cfDNA se puede realizar mediante:</p> <ul style="list-style-type: none"> -Fluorimetría (Qubit, Quantus, Quant-iT PicoGreen assays) -PCR: PCR cuantitativa, PCR digital
5. Análisis de biomarcadores [12, 81]	<p>Biomarcadores analizados: mutaciones, amplificaciones, fusiones, metilaciones, entre otros.</p> <p>Método: dependiendo de la naturaleza del biomarcador, puede que sea necesario realizar pasos adicionales después del procesamiento (por ejemplo, tratamiento de ADN con bisulfito para la detección de metilación).</p> <ul style="list-style-type: none"> -Análisis de candidatos específicos (qPCR, Digital PCR, entre otros). -Análisis de amplio espectro: Secuenciación de nueva generación (NGS) (secuenciación dirigida, secuenciación del exoma completo, secuenciación del genoma completo, entre otras).

Tabla 1
Variables metodológicas en el procesamiento y análisis de cfDNA.

señala al sistema hematopoyético como la principal fuente de cfDNA.

En los pacientes oncológicos, una proporción de estas moléculas de cfDNA también procede del tumor primario y de tumores secundarios [64]. Aunque inicialmente se pensaba que un mayor nivel de cfDNA en la sangre de los pacientes con cáncer podría ser un biomarcador de cáncer en sí mismo, muchas otras enfermedades han demostrado causar incrementos de cfDNA similares. A este respecto, hay que tener en cuenta algunos aspectos: a) las concentraciones de cfDNA varían enormemente entre individuos y sus condiciones fisiopatológicas, estando elevado no solo en los pacientes con cáncer avanzado, sino también en otros contextos como en las enfermedades autoinmunes, traumatismos, ejercicio extenuante o embarazo; b) en los tumores en estadio más temprano, la cantidad de cfDNA es muy baja, similar a la de los sujetos sanos [71]; c) la fracción de fragmentos de ctDNA en el total de cfDNA es muy pequeña, oscilando entre el 0,01% y más del 10% en función de la carga tumoral [72] y del metabolismo del tumor [73]. Los fragmentos de ctDNA suelen ser más pequeños que los de cfDNA liberado por células sanas. En un estudio reciente se ha demostrado que estas diferencias en los perfiles de fragmentación no solo podrían

usarse en el cribado del cáncer, sino también para determinar el tejido en el que se originó el tumor [74].

Aislamiento del cfDNA circulante

Aunque se puede obtener cfDNA de diferentes fluidos biológicos, hasta la fecha la mayoría de los estudios se han realizado en sangre extraída de venas periféricas. Sin embargo, aún se desconoce si habrá una mayor proporción de ctDNA y por tanto permitiría aumentar el rendimiento de aislamiento, dependiendo del punto de extracción de sangre. A pesar de la intensificación de las investigaciones y los avances logrados, aún no se han establecido protocolos estandarizados ni para la preparación pre-analítica de las muestras tras la extracción de sangre ni para la purificación de cfDNA [75]. Cabe destacar que las variables inherentes a estos pasos pueden afectar a la calidad del analito, comprometiendo la interpretación del resultado final y la comparabilidad de los estudios.

Se han publicado varios estudios en los que se han comparado varias metodologías paso a paso, cuyos resultados han sido recopilados recientemente en diferentes revisiones [45, 75, 76] (Tabla 1). Aunque se puede analizar el

cfDNA tanto en suero como en plasma, es preferible emplear el plasma, con el fin de evitar la contaminación con ADN genómico procedente de la lisis de los glóbulos blancos [77]. Así, la sangre debe extraerse en tubos EDTA, debiendo ser procesada en las primeras 4–6 horas tras la extracción. En caso de que su rápido procesamiento no sea posible, hay que emplear tubos especiales de estabilización celular para evitar la lisis de los leucocitos [78]. Algunos estudios sugieren que un protocolo de centrifugación en dos pasos, primero a baja velocidad y posteriormente a alta velocidad, es el método más efectivo para la separación de plasma y el posterior aislamiento de cfDNA [75]. Un método óptimo de extracción de cfDNA implicaría la purificación de todos los fragmentos de cfDNA evitando el ADN genómico y minimizando la presencia de inhibidores de PCR. Ya existen algunos kits en el mercado para la extracción específica de cfDNA basados en el uso de perlas magnéticas o de columnas de centrifugado con membrana de sílice. Algunos de estos kits son manuales, mientras que otros son sistemas automáticos que minimizan la manipulación de muestras. Aunque se desconocen las variaciones entre los diferentes kits y protocolos, el rendimiento varía según el método de extracción empleado [76]. La concentración de cfDNA se puede determinar mediante el empleo de diferentes metodologías como la fluorometría o técnicas basadas en la PCR [75, 76].

Biomarcadores en cfDNA, limitaciones actuales y aspectos importantes

Dado que el cfDNA circulante liberado por las células tumorales conserva las características de la célula de origen, la identificación de alteraciones genéticas y epigenéticas específicas en este analito de biopsia líquida se postula como una herramienta de gran potencial en el manejo del cáncer. Tal como se ha mencionado anteriormente, la muestra de cfDNA reflejaría más fidedignamente las características genéticas y epigenéticas del tumor, que la tradicional biopsia de tejido tumoral, representando la heterogeneidad del tumor. Sin embargo, el análisis de cfDNA en pacientes oncológicos presenta algunas limitaciones. Una de ellas es la baja proporción de fragmentos con mutaciones en la muestra total de cfDNA, lo cual limita la capacidad de detección, dando lugar a falsos negativos [72]. Además, se ha demostrado recientemente que algunas mutaciones pueden producirse durante la hematopoyesis clonal, en cuyo lugar no provendrían de las células tumorales, resultando en falsos positivos [79]. De hecho, según una publicación reciente, un alto porcentaje de las

mutaciones de cfDNA halladas tanto en controles como en pacientes oncológicos se produjeron durante la hematopoyesis clonal, lo cual resalta la importancia de procesar simultáneamente cfDNA y ADN extraído de leucocitos del mismo individuo [80]. Por tanto, se debe tener especial cautela a la hora de seleccionar los biomarcadores e interpretar los resultados obtenidos a partir de cfDNA. Las metodologías empleadas para estudiar el material tumoral se pueden dividir en estrategias dirigidas (biomarcadores específicos) y no dirigidas (o de amplio espectro). A la hora de analizar biomarcadores específicos, las tecnologías basadas en la PCR como los sistemas Droplet Digital PCR (ddPCR) y BEAMing (perlas, emulsión, amplificación y magnetismo) han mostrado tener una alta sensibilidad, siendo rápidas y coste-efectivas [81]. Para el análisis de un número variable de biomarcadores, se han diseñado paneles de NGS, como Tam-Seq (secuenciación profunda Tagged Amplicon), Safe-Seq (sistema de secuenciación segura) o CAPP-Seq (caracterización molecular personalizada del cáncer mediante secuenciación profunda) (revisar en [12, 81]). Para identificar nuevos biomarcadores se utilizan tecnologías NGS. NGS tiene la limitación de una menor sensibilidad y de necesitar una mayor cantidad de cfDNA de partida [81]. Además de la enorme cantidad de estudios publicados en este campo y de los esfuerzos realizados por la comunidad científica en las últimas décadas, hasta la fecha la FDA solo ha aprobado tres tests que utilizan cfDNA como analito. Tal como se ha mencionado anteriormente, la primera biopsia líquida basada en cfDNA aprobada fue una prueba diagnóstica complementaria. El test Cobas de mutaciones en EGFR v2 (Roche Molecular System, Inc) se basa en la detección de 42 mutaciones en los exones 18, 19, 20 y 21 en el gen EGFR incluyendo L858R, las deleciones del exón 19, y mutación en T790M por PCR en cfDNA extraído de plasma y se lleva a cabo en 4 horas. Este test está aprobado para la identificación de mutaciones en EGFR en pacientes con cáncer de pulmón no microcítico avanzado o metastásico (NSCLC), siendo en caso positivo adecuado para aplicar terapias dirigidas a EGFR [16]. Otra prueba de cfDNA aprobada por la FDA es la prueba Epi proColon (Epigenomics AG) para el cribado del cáncer colorrectal (CRC). Este test está diseñado para la detección mediante PCR en tiempo real de la metilación en el promotor del gen SEPT9 en cfDNA extraído de plasma tras conversión con bisulfito. El proceso lleva unas 10 horas. Se ha asociado la metilación del promotor de SEPT9 con el cáncer colorrectal [82]. Para su aplicación directa, las respectivas compañías (Roche

Molecular System and Epigenomics AG) han desarrollado kits que incluyen todo el material e instrucciones necesarias para su ejecución, desde cómo preparar la muestra a cómo interpretar los resultados. Mientras que un resultado positivo es diagnóstico y útil para el manejo de los pacientes, un resultado negativo de estas pruebas de biopsia líquida puede no ser concluyente. Finalmente, el kit ClonoSEQ basado en las técnicas de PCR-multiplex y NGS, que fue aprobado por la FDA en septiembre de 2018, se emplea para monitorizar cambios de la carga tumoral a lo largo del tiempo en respuesta al tratamiento o durante la remisión, tanto en pacientes con leucemia linfoblástica como con mieloma múltiple [83]. Estos tests analizan las mutaciones en distintos receptores de inmunoglobulinas y regiones del genoma que suelen mostrar traslocaciones y así llegar a detectar una sola célula cancerígena entre un millón de células [83].

Aplicaciones y limitaciones actuales de la biopsia líquida en el cáncer

A pesar de los progresos realizados en el manejo del cáncer, esta enfermedad sigue siendo objeto de gran preocupación clínica. Algunas de las dificultades no resueltas siguen siendo el diagnóstico temprano, la estratificación precisa de los pacientes, la selección de tratamientos, el seguimiento de la respuesta al tratamiento y la detección de enfermedad residual mínima y riesgo de recurrencia (Figura 2). Para abordar estos aspectos, las herramientas basadas en las biopsias líquidas están demostrando poseer un gran potencial, habiendo atraído la atención de los inversores, aparte de la de los investigadores [8, 10]. No obstante, aún queda un largo camino por recorrer, ya que muy pocos tests han recibido la autorización o la designación de dispositivo innovador de la FDA (Tablas 2 y 3).

Existen evidencias de que la eficiencia de las terapias antitumorales, incluida la quimioterapia, las terapias dirigidas o los inhibidores de puntos de control inmunitario mejora sustancialmente cuando la carga tumoral es baja, lo cual subraya la importancia de desarrollar métodos de detección temprana. A este respecto, la biopsia líquida es una técnica prometedora para el cribado y diagnóstico temprano del cáncer. Sin embargo, quedan algunas limitaciones por solventar antes de que esta técnica pueda ser incorporada a la práctica clínica [11]. Tal como se ha mencionado anteriormente, uno de los principales obstáculos en el diagnóstico temprano basado en la biopsia líquida es que la presencia de analitos tumorales en los fluidos biológicos de estos pacientes es casi indetectable.

Además, aún hay que mejorar en la identificación del órgano de origen y solventar el elevado índice de falsos positivos (sobrediagnóstico) y de falsos negativos (infradiagnóstico) que se producen debido a factores técnicos (selección de biomarcadores, procesamiento de muestras, sensibilidad limitada) y biológicos (tumores no diseminados o hematopoyesis clonal de potencial indeterminado) [11, 17, 79]. A este respecto, la sensibilidad y especificidad de las técnicas podrían aumentar combinando el análisis de distintos biomarcadores en diferentes analitos del mismo paciente [9, 84]. Por ejemplo, con el análisis de sangre CancerSEEK se pueden detectar cuatro tipos comunes de cáncer evaluando en paralelo ocho proteínas y una serie de mutaciones específicas en la misma muestra de sangre [84].

Una vez confirmado el diagnóstico del cáncer, la estratificación del paciente y la selección del tratamiento dependerán de una precisa caracterización molecular del tumor. Así, además de ser mínimamente invasivas, las biopsias líquidas ofrecen la ventaja frente a las biopsias de tejido de ofrecer un retrato más completo del tumor, lo que teóricamente permitirá un análisis más preciso. En este contexto, se están realizando estudios para identificar las mutaciones o patrones de expresión génica susceptibles de ser diana terapéutica. Por ejemplo, la FDA aprobó la prueba Cobas EGFR Mutation test v2 (Roche Molecular System, Inc) para distinguir a los pacientes con NSCLC que se beneficiarán de la terapia dirigida a EGFR [16], mientras que

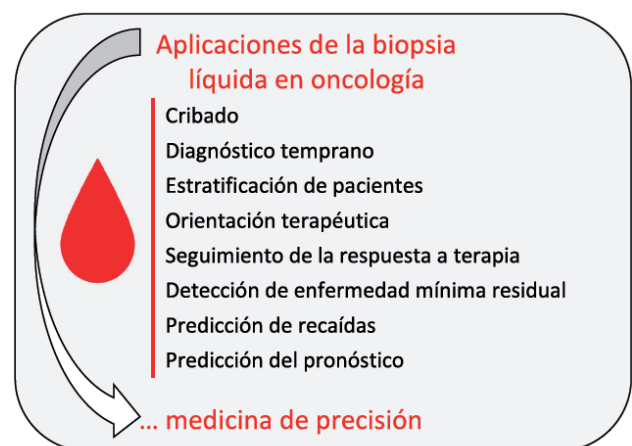


Figura 2
Resumen de las aplicaciones de la biopsia líquida en el manejo del cáncer.

Guardan360 (Guardant Health) examina un panel de 73 genes en cfDNA para facilitar la selección de tratamiento. Del mismo modo, estudios en curso sugieren que los niveles de PD-L1 en exosomas podrían ser predictivos en la terapia anti-PD-1 [85].

Realizar un seguimiento de la respuesta a terapia, así como la detección temprana de las recurrencias es esencial para ganar tiempo y poder administrar rápidamente una segunda terapia oncológica. Las biopsias líquidas también ofrecen la ventaja de permitir la toma de muestras longitudinales para un seguimiento preciso y continuado. Los analitos tumorales deberían disminuir tras la resección quirúrgica total o durante el curso del tratamiento curativo. Si en la fase diagnóstica se identifican biomarcadores tumorales concretos o CTC, estos podrán ser determinados durante el seguimiento y representarán una señal de alarma en el caso de detectarlos. Del mismo modo, algunos estudios demuestran que la detección persistente de analitos tumorales es

predictiva de un alto riesgo de recaída en distintos tipos de tumores [72, 86, 87]. El test ClonoSEQ aprobado por la FDA detecta restos residuales de enfermedad en el caso de la leucemia linfoblástica o en el mieloma múltiple tras la finalización de la terapia inicial [83].

Observaciones finales y cuestiones por resolver

En las últimas décadas, la biopsia líquida se postula como una prometedora herramienta mínimamente invasiva para el manejo del cáncer. El término “biopsia líquida” abarca un amplio abanico de conceptos, ya que incluye conceptos como fluidos biológicos, analitos, biomarcadores, tecnologías y aplicaciones. En estas décadas se están logrando grandes avances y se ha generado nuevo conocimiento que está conformando la base para el desarrollo de pruebas basadas en la biopsia líquida. Sin embargo, la falta de homogeneidad en los protocolos y la competitividad en este campo no permiten afirmar con certeza si estas pruebas de

Kit/test	Compañía	Estado FDA	Alteración detectada/ tecnología	Aplicación	Otros datos
TCellSearch Circulating Tumor Cell Kit [15]	Menarini Silicon Biosystems	Aprobado por la FDA (Agosto 2013)	Cuantificación de células tumorales circulantes (CTC) de origen epitelial: Enriquecimiento positivo con EpCAM y detección de citoqueratinas 8, 18, y/o 19.	Pronóstico del cáncer de mama, colorrectal y de próstata	La sensibilidad de este kit dependerá de la positividad de las CTC para el marcador de superficie EpCAM, así como para las citoqueratinas 8, 18, y/o 19.
Epi proColon DNA-methylation blood test [82]	Epigenomics AG	Aprobado por la FDA (Abril 2016)	Detección de citosinas metiladas en el gen <i>SEPTIN9</i> en ctDNA mediante PCR a tiempo real.	Cribado del cáncer de colon	La compañía ha desarrollado un kit para evaluar la metilación de <i>SEPTIN9</i> , con un tiempo de espera de unas 32 horas. Según la literatura científica, su sensibilidad oscila entre el 69% y el 72%.
Cobas EGFR Mutation Test v2 [16]	Roche Diagnostics	Aprobado por la FDA (Junio 2016)	Detección de 42 mutaciones definidas en el gen del receptor del factor de crecimiento epidérmico (<i>EGFR</i>) por PCR a tiempo real	Orientar en la selección de tratamiento en el cáncer de pulmón no microcítico	Este test permite la detección de mutaciones en cfDNA en menos de 4 horas (12). 75% de sensibilidad y 98% de especificidad.
ClonoSEQ [83]	Adaptive Biotechnologies	Aprobado por la FDA (Septiembre 2016)	Detección de reordenamientos de las inmunoglobulinas y regiones que suelen presentar translocaciones mediante PCR-multiplex y secuenciación de alto rendimiento (NGS).	Detección de enfermedad mínima residual en leucemia linfoblástica o en mieloma múltiple	ClonoSeq detecta una sola célula tumoral entre un millón de células. El procesamiento de datos lleva entre 7 y 14 días.

Tabla 2
Pruebas de biopsia líquida aprobadas por la FDA.

biopsia líquida se podrán incorporar pronto a la práctica clínica. Además, aún quedan algunas cuestiones por resolver. Se han publicado múltiples protocolos, con distintos pasos y condiciones, para aislar los mismos analitos a partir de muestras de biopsia líquida. ¿Es posible desarrollar un único protocolo de aislamiento para cada componente del “circuloma” tumoral? Esto ayudaría a estandarizar e interpretar los resultados. La mayoría de los estudios diagnósticos se han realizado comparando a pacientes oncológicos con controles sanos, aunque en la práctica real, el cribado se realizaría en pacientes con diferentes patologías no oncológicas. ¿Conservarán los test su especificidad calculada? Además, también se han descrito tumores que no liberan analitos a los fluidos biológicos [17, 18]. ¿Existen realmente estos tumores? y, en caso afirmativo, ¿en qué proporción? En caso de que existieran, podría aumentar el número de falsos negativos y complicar así la interpretación de los resultados de estos tests. ¿Cuál es el umbral de sensibilidad de una prueba de biopsia líquida para que ésta sea considerada útil? Con respecto al sobrediagnóstico, antes de considerar válido un test, ¿cuál sería el tamaño muestral y las características de los individuos testados como controles necesarios? A pesar de estas cuestiones y otras que quedan por resolver, los estudios revisados e incluidos en este estudio subrayan el gran potencial de la biopsia líquida en el campo de la medicina de precisión en oncología. Estas cuestiones quedarán pronto resueltas gracias al esfuerzo que están realizando investigadores de todo el mundo por aportar nuevo conocimiento y aplicaciones, lo que permitirá la traslación a la práctica clínica de estas tecnologías mínimamente invasivas que revolucionarán el manejo de los pacientes oncológicos.

Financiación de la investigación: Este estudio ha sido financiado por: CIBERehd; Instituto de Salud Carlos III (ISCIII) cofinanciado por el “Fondo Europeo de Desarrollo Regional” (FEDER) “Una manera de hacer Europa” (códigos de ayuda PI19/00613 y PI16/01126); MINECO/ AEI/FEDER,UE [SAF2016-75972-R]; la Consejería de Salud del Gobierno de Navarra (códigos de ayuda 2018-055 y 2017- 058); HEPACARE Project de la Fundación La Caixa; la beca postdoctoral AECC (a MA) de la Fundación Científica de la AECC (POSTD18014AREC); las contribuciones de la Fundación Eugenio Rodríguez Pascual, la Fundación Echebano, la Fundación Mario Losantos y la Fundación M Torres; y la contribución de D. Eduardo Ávila y D. Sergio Durá.

Contribución de los autores: Todos los autores han aceptado la responsabilidad del contenido completo de sus manuscritos presentados y de las presentaciones aprobadas.

Conflicto de intereses: Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Referencias

1. Programme UNE, Organisation IL. Safety WHO& IP on C. Biomarkers in risk assessment: validity and validation. World Health Organization; 2001.
2. Henry LN, Hayes DF. Cancer biomarkers. *Mol Oncol* 2012;6: 140–6. <https://doi.org/10.1016/j.molonc.2012.01.010>.
3. Kumar M, Sarin SK. Biomarkers of diseases in medicine n.d.
4. Duffy MJ. Tumor markers in clinical practice: a review focusing on common solid cancers. *Med Princ Pract* 2013;22:4–11. <https://doi.org/10.1159/000338393>.
5. Patel JN. Cancer pharmacogenomics, challenges in implementation, and patient-focused perspectives. *Pharmacogenomics Personalized Med* 2016;9:65–77. <https://doi.org/10.2147/pgpm.s62918>.
6. Gerlinger M, Rowan AJ, Horswell S, Larkin J, Endesfelder D, Gronroos E, et al. Intratumor heterogeneity and branched evolution revealed by multiregion sequencing. *N Engl J Med* 2012; 366:883–92. <https://doi.org/10.1056/nejmoa1113205>.
7. McGranahan N, Swanton C. Clonal heterogeneity and tumor evolution: past, present, and the future. *Cell* 2017;168:613–28. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.01.018>.
8. Siravegna G, Marsoni S, Siena S, Bardelli A. Integrating liquid biopsies into the management of cancer. *Nat Rev Clin Oncol* 2017; 14:531–48. <https://doi.org/10.1038/nrclinonc.2017.14>.
9. Marrugo-Ramírez J, Mir M, Samitier J. Blood-Based cancer biomarkers in liquid biopsy: a promising non-invasive alternative to tissue biopsy. *Int J Mol Sci* 2018;19:2877. <https://doi.org/10.3390/ijms19102877>.
10. Mattox AK, Bettegowda C, Zhou S, Papadopoulos N, Kinzler KW, Vogelstein B. Applications of liquid biopsies for cancer. *Sci Transl Med* 2019;11:eaay1984. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aay1984>.
11. Chen M, Zhao H. Next-generation sequencing in liquid biopsy: cancer screening and early detection. *Hum Genom* 2019;13:34. <https://doi.org/10.1186/s40246-019-0220-8>.

12. Palmirotta R, Lovero D, Cafforio P, Felici C, Mannavola F, Pellè E, et al. Liquid biopsy of cancer: a multimodal diagnostic tool in clinical oncology. *Ther Adv Med Oncol* 2018;10: 1758835918794630. <https://doi.org/10.1177/1758835918794630>.
13. Rubis G, Krishnan S, Bebawy M. Liquid biopsies in cancer diagnosis, monitoring, and prognosis. *Trends Pharmacol Sci* 2019;40:172–86. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2019.01.006>.
14. Schaffner F, Merlin J-L, Bubnoff N von, editors. *Tumor liquid biopsies*. vol. 215. Cham: Springer; 2020.
15. Wit S de, Dalum G van, Terstappen LWMM. Detection of circulating tumor cells. *Science* 2014;2014:1–11. <https://doi.org/10.1126/science.1255111>.
16. Kwapisz D. The first liquid biopsy test approved. Is it a new era of mutation testing for non-small cell lung cancer? *Ann Transl Med* 2017;5:46–46. <https://doi.org/10.21037/atm.2017.01.32>.
17. Stetson D, Ahmed A, Xu X, Nuttall BR, Lubinski TJ, Johnson JH, et al. Orthogonal comparison of four plasma NGS tests with tumor suggests technical factors are a major source of assay discordance. *Jco Precis Oncol* 2019;1–9. <https://doi.org/10.1200/po.18.00191>.
18. Abbosh C, Birkbak NJ, Swanton C. Early stage NSCLC — challenges to implementing ctDNA-based screening and MRD detection. *Nat Rev Clin Oncol* 2018;15:577–86. <https://doi.org/10.1038/s41571-018-0058-3>.
19. Pinsky PF, Prorok PC, Kramer BS. Prostate cancer screening — a perspective on the current state of the evidence. *N Engl J Med* 2017;376:1285–9. <https://doi.org/10.1056/nejmsb1616281>.
20. Bhardwaj M, Gies A, Werner S, Schrotz-King P, Brenner H. Blood-Based protein signatures for early detection of colorectal cancer: a systematic review. *Clin Transl Gastroenterol* 2017;8:e128. <https://doi.org/10.1038/ctg.2017.53>.
21. Bhardwaj M, Gies A, Weigl K, Tikk K, Benner A, Schrotz-King P, et al. Evaluation and validation of plasma proteins using two different protein detection methods for early detection of colorectal cancer. *Cancers* 2019;11:1426. <https://doi.org/10.3390/cancers11101426>.
22. Torrano V, Royo F, Peinado H, Loizaga-Iriarte A, Unda M, Falcón-Perez JM, et al. Vesicle-MaNiA: extracellular vesicles in liquid biopsy and cancer. *Curr Opin Pharmacol* 2016;29:47–53. <https://doi.org/10.1016/j.coph.2016.06.003>.
23. Melo SA, Luecke LB, Kahlert C, Fernandez AF, Gammon ST, Kaye J, et al. Glypican-1 identifies cancer exosomes and detects early pancreatic cancer. *Nature* 2015;523:177–82. <https://doi.org/10.1038/nature14581>.
24. Kahlert C, Melo SA, Protopopov A, Tang J, Seth S, Koch M, et al. Identification of double-stranded genomic DNA spanning all chromosomes with mutated KRAS and p53 DNA in the serum exosomes of patients with pancreatic cancer. *J Biol Chem* 2014;289:3869–75. <https://doi.org/10.1074/jbc.c113.532267>.
25. Madhavan B, Yue S, Galli U, Rana S, Gross W, Müller M, et al. Combined evaluation of a panel of protein and miRNA serum exosome biomarkers for pancreatic cancer diagnosis increases sensitivity and specificity. *Int J Canc* 2014;136:2616–27. <https://doi.org/10.1002/ijc.29324>.
26. Re MD, Biasco E, Crucitta S, Derosa L, Rofi E, Orlandini C, et al. The detection of androgen receptor splice variant 7 in plasma-derived exosomal RNA strongly predicts resistance to hormonal therapy in metastatic prostate cancer patients. *Eur Urol* 2016;71:680–7. <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2016.08.012>.
27. Li Q, Shao Y, Zhang X, Zheng T, Miao M, Qin L, et al. Plasma long noncoding RNA protected by exosomes as a potential stable biomarker for gastric cancer. *Tumor Biol* 2014;36:2007–12. <https://doi.org/10.1007/s13277-014-2807-y>.
28. Ashworth, TR. A case of cancer in which cells similar to those in the tumours were seen in the blood after death. *Med J Aus n.d.*;14: 146–7.
29. Racila E, Euhus D, Weiss AJ, Rao C, McConnell J, Terstappen LWMM, et al. Detection and characterization of carcinoma cells in the blood. *Proc Natl Acad Sci Unit States Am* 1998;95:4589–94. <https://doi.org/10.1073/pnas.95.8.4589>.
30. Krishnan SR, Luk F, Brown RD, Suen H, Kwan Y, Bebawy M. Isolation of human CD138(+) microparticles from the plasma of patients with multiple myeloma. *Neoplasia New York N Y* 2016;18: 25–32. <https://doi.org/10.1016/j.neo.2015.11.011>.
31. Chambers AF, Groom AC, MacDonald IC. Dissemination and growth of cancer cells in metastatic sites. *Nat Rev Canc* 2002;2: 563–72. <https://doi.org/10.1038/nrc865>.
32. Yu M, Bardia A, Wittner BS, Stott SL, Smas ME, Ting DT, et al. Circulating breast tumor cells exhibit dynamic changes in epithelial and mesenchymal composition. *Sci New York N Y* 2013;339:580–4. <https://doi.org/10.1126/science.1228522>.
33. Wang W-C, Zhang X-F, Peng J, Li X-F, Wang A-L, Bie Y-Q, et al. Survival mechanisms and

- influence factors of circulating tumor cells. *BioMed Res Int* 2018;2018:6304701. <https://doi.org/10.1155/2018/6304701>.
34. Allard WJ, Matera J, Miller MC, Repollet M, Connelly MC, Rao C, et al. Tumor cells circulate in the peripheral blood of all major carcinomas but not in healthy subjects or patients with nonmalignant diseases. *Clin Canc Res* 2004;10:6897–904. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CRC-04-0378>.
 35. Meng S, Tripathy D, Frenkel EP, Shete S, Naftalis EZ, Huth JF, et al. Circulating tumor cells in patients with breast cancer dormancy. *Clin Canc Res* 2004;10:8152–62. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CRC-04-1110>.
 36. Micalizzi DS, Maheswaran S, Haber DA. A conduit to metastasis: circulating tumor cell biology. *Gene Dev* 2017;31:1827–40. <https://doi.org/10.1101/gad.305805.117>.
 37. Fehm T, Sagalowsky A, Clifford E, Beitsch P, Saboorian H, Euhus D, et al. Cytogenetic evidence that circulating epithelial cells in patients with carcinoma are malignant. *Clin Cancer Res Official J Am Assoc Cancer Res* 2002;8:2073–84.
 38. Armstrong A, Marengo M, Oltean S, Kemeny G, Bitting R, Turnbull J, et al. Circulating tumor cells from patients with advanced prostate and breast cancer display both epithelial and mesenchymal markers. *Mol Canc Res* 2011;9:997–1007. <https://doi.org/10.1158/1541-7786.mcr-10-0490>.
 39. Miyamoto D, Zheng Y, Wittner B, Lee R, Zhu H, Broderick K, et al. RNA-Seq of single prostate CTC implicates noncanonical Wnt signaling in antiandrogen resistance. *Science* 2015;349:1351–6. <https://doi.org/10.1126/science.aab0917>.
 40. Aceto N, Bardia A, Miyamoto DT, Donaldson MC, Wittner BS, Spencer JA, et al. Circulating tumor cell clusters are oligoclonal precursors of breast cancer metastasis. *Cell* 2014;158:1110–22. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.07.013>.
 41. Cheung KJ, Padmanaban V, Silvestri V, Schipper K, Cohen JD, Fairchild AN, et al. Polyclonal breast cancer metastases arise from collective dissemination of keratin 14-expressing tumor cell clusters. *Proc Natl Acad Sci Unit States Am* 2016;113:E854–63. <https://doi.org/10.1073/pnas.1508541113>.
 42. Liu X, Taftaf R, Kawaguchi M, Chang Y-F, Chen W, Entenberg D, et al. Homophilic CD44 interactions mediate tumor cell aggregation and polyclonal metastasis in patient-derived breast cancer models. *Canc Discov* 2018;9:CD-18-0065. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.cd-18-0065>.
 43. Aceto N, Toner M, Maheswaran S, Haber DA. En route to metastasis: circulating tumor cell clusters and epithelial-to-mesenchymal transition. *Trends Cancer* 2015;1:44–52. [tps://doi.org/10.1016/j.trecan.2015.07.006](https://doi.org/10.1016/j.trecan.2015.07.006).
 44. Suo Y, Xie C, Zhu X, Fan Z, Yang Z, He H, et al. Proportion of circulating tumor cell clusters increases during cancer metastasis. *Cytometry Part J Int Soc Anal Cytol* 2016;91:250–3. <https://doi.org/10.1002/cyto.a.23037>.
 45. Geurickx E, Hendrix A. Targets, pitfalls and reference materials for liquid biopsy tests in cancer diagnostics. *Mol Aspect Med* 2019. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2019.10.005>.
 46. Yap K, Cohen EN, Reuben JM, Khoury JD. Circulating tumor cells: state-of-the-art update on technologies and clinical applications. *Curr Hematol Malig R* 2019;14:353–7. <https://doi.org/10.1007/s11899-019-00531-x>.
 47. Ferreira MM, Ramani VC, Jeffrey SS. Circulating tumor cell technologies. *Mol Oncol* 2016;10:374–94. <https://doi.org/10.1016/j.molonc.2016.01.007>.
 48. Bankó P, Lee SY, Nagygyörgy V, Zrínyi M, Chae CH, Cho DH, et al. Technologies for circulating tumor cell separation from whole blood. *J Hematol Oncol* 2019;12:48. <https://doi.org/10.1186/s13045-019-0735-4>.
 49. Kolinsky MP, Stoecklein N, Lambros M, Gil V, Rodrigues DN, Carreira S, et al. Recent results in cancer research. *Recent Results Cancer Res Fortschritte Der Krebsforschung Progres Dans Les Recherches Sur Le Cancer* 2019;215:57–76. https://doi.org/10.1007/978-3-030-26439-0_3.
 50. Pantel K, Denève E, Nocca D, Coffy A, Vendrell J-P, Maudelonde T, et al. Circulating epithelial cells in patients with benign colon diseases. *Clin Chem* 2011;58:936–40. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2011.175570>.
 51. Lara O, Tong X, Zborowski M, Chalmers JJ. Enrichment of rare cancer cells through depletion of normal cells using density and flow-through, immunomagnetic cell separation. *Exp Hematol* 2004;32:891–904. <https://doi.org/10.1016/j.exphem.2004.07.007>.
 52. Yang L, Lang JC, Balasubramanian P, Jatana KR, Schuller D, Agrawal A, et al. Optimization of an enrichment process for circulating tumor cells from the blood of head and neck cancer patients through depletion of normal cells. *Biotechnol Bioeng* 2009;102:521–34. <https://doi.org/10.1002/bit.22066>.
 53. Harouaka RA, Nisic M, Zheng S-Y. Circulating tumor cell enrichment based on physical properties. *J Lab Autom* 2013;18:455–68. <https://doi.org/10.1177/2211068213494391>.

54. Cross SE, Jin Y-S, Rao J, Gimzewski JK. Nanomechanical analysis of cells from cancer patients. *Nat Nanotechnol* 2007;2:780–3. <https://doi.org/10.1038/nnano.2007.388>.
55. Gossett DR, Tse HTK, Lee SA, Ying Y, Lindgren AG, Yang OO, et al. Hydrodynamic stretching of single cells for large population mechanical phenotyping. *P Natl Acad Sci Usa* 2012;109:7630–5. <https://doi.org/10.1073/pnas.1200107109>.
56. Nguyen N-V, Jen C-P. Impedance detection integrated with dielectrophoresis enrichment platform for lung circulating tumor cells in a microfluidic channel. *Biosens Bioelectron* 2018;121: 10–8. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2018.08.059>.
57. Toss A, Mu Z, Fernandez S, Cristofanilli M. CTC enumeration and characterization: moving toward personalized medicine. *Ann Transl Med* 2014;2:108. <https://doi.org/10.3978/j.issn.2305-5839.2014.09.06>.
58. Aceto N. Fluctuating numbers of circulating tumor cells in cancer patients and the meaning of zero counts. *Oncotarget* 2019;10: 2658–9. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.26850>.
59. Scher HI, Lu D, Schreiber NA, Louw J, Graf RP, Vargas HA, et al. Association of AR-V7 on circulating tumor cells as a treatment-specific biomarker with outcomes and survival in castration-resistant prostate cancer. *Jama Oncol* 2016;2:1441. <https://doi.org/10.1001/jamaoncol.2016.1828>.
60. Chimonidou M, Strati A, Tzitzira A, Sotiropoulou G, Malamos N, Georgoulas V, et al. DNA methylation of tumor suppressor and metastasis suppressor genes in circulating tumor cells. *Clin Chem* 2011;57:1169–77. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2011.165902>.
61. Sinkala E, Sollier-Christen E, Renier C, Rosàs-Canyelles E, Che J, Heirich K, et al. Profiling protein expression in circulating tumour cells using microfluidic western blotting. *Nat Commun* 2017;8:14622. <https://doi.org/10.1038/ncomms14622>.
62. Mandel P, Metais P. [Not available]. *Comptes Rendus Des Séances De La Société De Biologie Et De Ses Fil* 1948;142:241–3.
63. Leon SA, Shapiro B, Sklaroff DM, Yaros MJ. Free DNA in the serum of cancer patients and the effect of therapy. *Cancer Res* 1977;37: 646–50.
64. Sorenson GD, Pribish DM, Valone FH, Memoli VA, Bzik DJ, Yao SL. Soluble normal and mutated DNA sequences from single-copy genes in human blood. *Cancer Epidemiology Biomarkers Prev Publ Am Assoc Cancer Res Cosponsored Am Soc Prev Oncol* 1994; 3:67–71.
65. Stroun M, Maurice P, Vasioukhin V, Lyautey J, Lederrey C, Lefort F, et al. The origin and mechanism of circulating DNA. *Ann Ny Acad Sci* 2006;906:161–8. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2000.tb06608.x>.
66. Yu M. Circulating cell-free mitochondrial DNA as a novel cancer biomarker: opportunities and challenges. *Mitochondr Dna* 2012; 23:329–32. <https://doi.org/10.3109/19401736.2012.696625>.
67. Kustanovich A, Schwartz R, Peretz T, Grinshpun A. Life and death of circulating cell-free DNA. *Canc Biol Ther* 2019:1–11. <https://doi.org/10.1080/15384047.2019.1598759>.
68. Yu SCY, Lee SWY, Jiang P, Leung TY, Chan KCA, Chiu RWK, et al. High-resolution profiling of fetal DNA clearance from maternal plasma by massively parallel sequencing. *Clin Chem* 2013;59: 1228–37. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2013.203679>.
69. Snyder MW, Kircher M, Hill AJ, Daza RM, Shendure J. Cell-free DNA comprises an in vivo nucleosome footprint that informs its tissues-of-origin. *Cell* 2016;164:57–68. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.11.050>.
70. Moss J, Magenheimer J, Neiman D, Zemmour H, Loyfer N, Korach A, et al. Comprehensive human cell-type methylation atlas reveals origins of circulating cell-free DNA in health and disease. *Nat Commun* 2018;9:5068. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-07466-6>.
71. Bettgowda C, Sausen M, Leary R, Kinde I, Agrawal N, Bartlett B, et al. Detection of circulating tumor DNA in early and late stage human malignancies. *Neuro Oncol* 2014;16:iii7. <https://doi.org/10.1093/neuonc/nou206.24>.
72. Diehl F, Schmidt K, Choti MA, Romans K, Goodman S, Li M, et al. Circulating mutant DNA to assess tumor dynamics. *Nat Med* 2008;14:985–90. <https://doi.org/10.1038/nm.1789>.
73. Morbelli S, Alama A, Ferrarazzo G, Coco S, Genova C, Rijavec E, et al. Circulating tumor DNA reflects tumor metabolism rather than tumor burden in chemotherapy-naïve patients with advanced non-small cell lung cancer: (18)F-fdg PET/CT study. *J Nucl Medicine Official Publ Soc Nucl Medicine* 2017;58:1764–9. <https://doi.org/10.2967/jnumed.117.193201>.
74. Cristiano S, Leal A, Phallen J, Fiksel J, Adleff V, Bruhm DC, et al. Genome-wide cell-free DNA fragmentation in patients with cancer. *Nature* 2019;570:385–9. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1272-6>.
75. Trigg RM, Martinson LJ, Parpart-Li S, Shaw JA. Factors that influence quality and yield of circulating-free DNA: a systematic review of

- the methodology literature. *Heliyon* 2018;4:e00699. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2018.e00699>.
76. Markus H, Contente-Cuomo T, Farooq M, Liang WS, Borad MJ, Sivakumar S, et al. Evaluation of pre-analytical factors affecting plasma DNA analysis. *Sci Rep-Uk* 2018;8:7375. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-25810-0>.
 77. Chan KCA, Yeung S-W, Lui W-B, Rainer TH, Lo YMD. Effects of preanalytical factors on the molecular size of cell-free DNA in blood. *Clin Chem* 2005;51:781–4. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2004.046219>.
 78. Sorber L, Zwaenepoel K, Jacobs J, Winne KD, Casteren KV, Augustus E, et al. Specialized blood collection tubes for liquid biopsy: improving the pre-analytical conditions. *Mol Diagn Ther* 2019;1–12. <https://doi.org/10.1007/s40291-019-00442-w>.
 79. Hu Y, Ulrich B, Supplee J, Kuang Y, Lizotte PH, Feeney N, et al. False positive plasma genotyping due to clonal hematopoiesis. *Clin Canc Res* 2018;24:clincanres.0143.2018. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-18-0143>.
 80. Razavi P, Li BT, Brown DN, Jung B, Hubbell E, Shen R, et al. Highintensity sequencing reveals the sources of plasma circulating cell-free DNA variants. *Nat Med* 2019;25:1928–37. <https://doi.org/10.1038/s41591-019-0652-7>.
 81. Elazezy M, Joosse SA. Techniques of using circulating tumor DNA as a liquid biopsy component in cancer management. *Comput Struct Biotechnol J* 2018;16:370–8. <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2018.10.002>.
 82. Lamb YN, Dhillon S. Epi proColon® 2.0 CE: a blood-based screening test for colorectal cancer. *Mol Diagn Ther* 2017;21: 225–32. <https://doi.org/10.1007/s40291-017-0259-y>.
 83. ClonoSEQ cleared for residual cancer testing. *Canc Discov* 2018; 8:OF6–OF6. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.cd-nb2018-136>.
 84. Cohen JD, Li L, Wang Y, Thoburn C, Afsari B, Danilova L, et al. Detection and localization of surgically resectable cancers with a multi-analyte blood test. *Science* 2018;359:926–30. <https://doi.org/10.1126/science.aar3247>.
 85. Chen G, Huang AC, Zhang W, Zhang G, Wu M, Xu W, et al. Exosomal PD-L1 contributes to immunosuppression and is associated with anti-PD-1 response. *Nature* 2018;560:382–6. <https://doi.org/10.1038/s41586-018-0392-8>.
 86. Tie J, Wang Y, Tomasetti C, Li L, Springer S, Kinde I, et al. Circulating tumor DNA analysis detects minimal residual disease and predicts recurrence in patients with stage II colon cancer. *Sci Transl Med* 2016;8:346ra92. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aaf6219>.
 87. Olsson E, Winter C, George A, Chen Y, Howlin J, Tang M-HE, et al. Serial monitoring of circulating tumor DNA in patients with primary breast cancer for detection of occult metastatic disease. *EMBO Mol Med* 2015;7:1034–47. <https://doi.org/10.15252/emmm.201404913>.
 88. BioTech FDA Grants breakthrough device designation to BioTeche's ExoDx prostate IntelliScore (EPI) test. 2017.
 89. Outlook PT. FDA grants Breakthrough device designation to LAM's novel liver cancer detection test. 2010.
 90. Sheridan C. Investors keep the faith in cancer liquid biopsies. *Nat Biotechnol* 2019;37:972–4. <https://doi.org/10.1038/d41587-019-00022-7>.

ÁREA SANITARIA DEL SURESTE ESPAÑOL- EL EJIDO (ALMERIA) UN ENTORNO PECULIAR



Por:

**Dr. Cristobal Avivar
Oyonarte**

Director Área Integrada
de Laboratorios APES
Hospital de Poniente
Presidente de la
Sociedad Andaluza de
Análisis Clínicos
(SANAC)



En este número de la revista se incluye un artículo sobre un caso clínico de hemoglobinopatía diagnosticado en el Área Integrada de laboratorios del Hospital de Poniente de El Ejido, provincia de Almería, Andalucía (España).

Considero interesante hacer esta breve nota de la zona donde se encuentra ubicado nuestro Hospital y la población que atiende, que es a la que debe dar cobertura sanitaria. Nuestro centro está situado en el sureste de España, zona a la que algunos denominan “mar de plástico” (objeto de una importante serie televisiva) debido al gran número y densidad de invernaderos y que, en Google Earth, se pueden observar como un espejo, como una gran mancha blanca. Estos invernaderos están dedicados a la agricultura intensiva, especialmente hortalizas, razón de la expansión económica de la zona, tan significativa, que también se le denomina “la despensa de Europa”.

Para cultivar estos productos hace falta abundante mano de obra y es donde la inmigración ha encontrado una óptima zona de trabajo. Para hacernos una idea de su envergadura, con datos del año 2019, en España el porcentaje de extranjeros residentes era del 10,3 %, en la provincia de Almería del 19,3 %, y, en nuestra área geográfica de El Ejido,

suponen hasta el 47% de sus residentes, procedentes de hasta 100 nacionalidades distintas, con predominio del África Subsahariana y el Magreb.

Esta situación conlleva unas condiciones muy especiales en cuanto a la atención sanitaria de la población de nuestra área. De ahí surge la importante y potente Unidad multidisciplinar de Medicina Tropical con la que cuenta nuestro centro (que pertenece a nuestra Área Integrada de laboratorios, dentro de la Unidad de Microbiología), para estudio y detección rápida de patologías poco frecuentes en nuestro medio, tanto de enfermedades emergentes como reemergentes, con su principal enfoque en patología infecciosa y parasitaria. A ello se le une que, al tratarse que ésta población que cultiva estos invernaderos son en una gran mayoría inmigrantes procedentes de zonas endémicas de malaria, debido a ello estos pacientes son portadores de patología eritrocitaria que, como selección natural, le confiere protección frente a la parasitación por Plasmodium. Entre esta patología se encuentran las hemoglobinopatías, como talasemias, los distintos tipos de anemia falciforme, o las debidas a mutaciones menos frecuentes, habiendo diagnosticado hasta la fecha en dicha población, más de 2.700 casos de hemoglobinopatías.

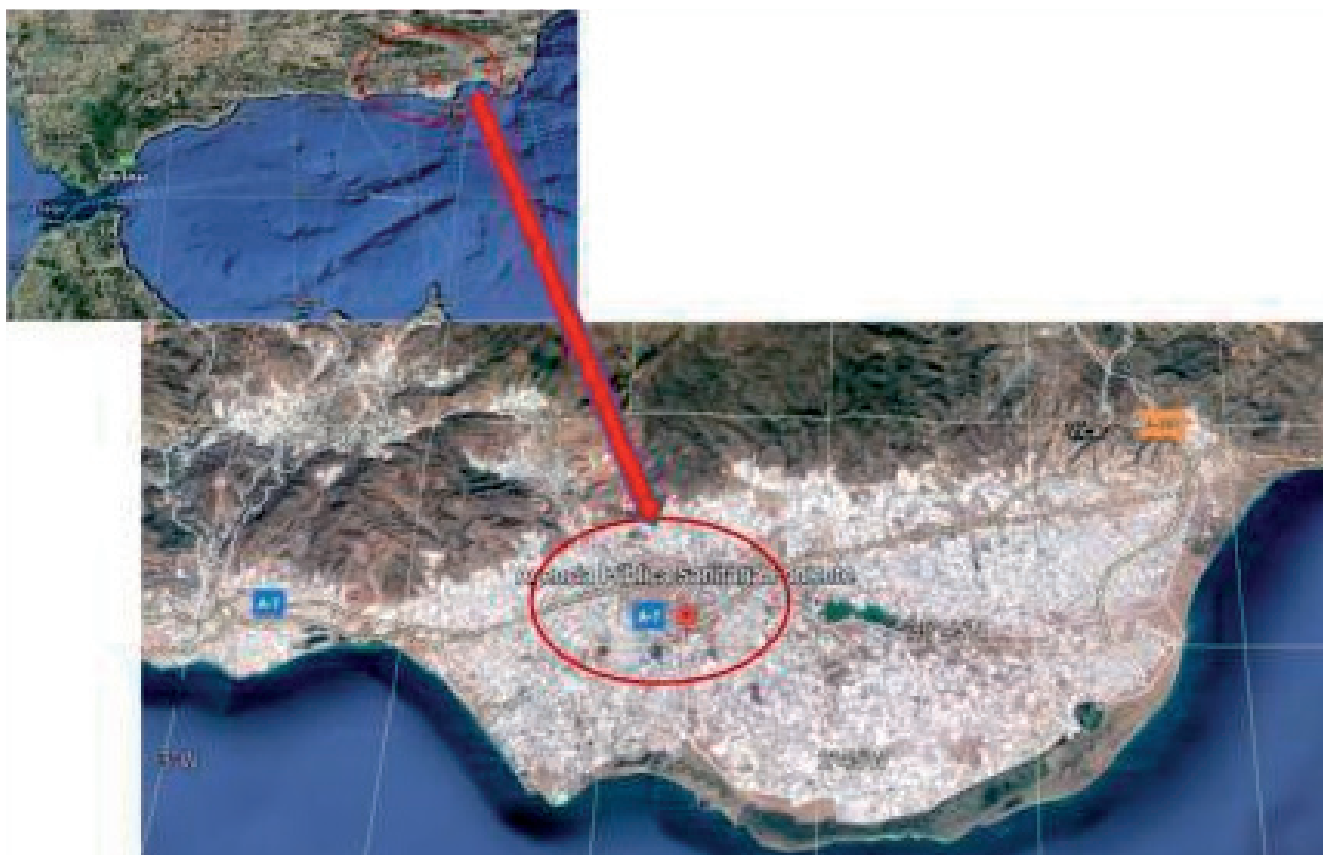


Imagen de Google Earth, en la que podemos observar esa mancha blanca en el sur de España, como un mar de plástico, inmerso en el marcamos la zona donde se ubica el Hospital de Poniente



Fotografía de la zona donde podemos ver el pueblo de EL Ejido rodeado de invernaderos



Imagen de Google Earth

REPORTE DE ACTIVIDADES CONFEDERACIÓN LATINOAMERICANA DE BIOQUÍMICA CLÍNICA (COLABIOCLI)

El artículo n° 1 del Estatuto Orgánico de la Confederación Latinoamericana de Bioquímica Clínica, define a la entidad como "Una institución profesional de carácter científico, académico y gremial, privado e internacional, sin fines de lucro, que agrupará entidades formadas por profesionales universitarios que se dediquen a la Bioquímica Clínica o profesiones similares, creadas o por crearse, en América Latina, o en otros países con idioma latino, sin propósitos políticos, raciales o religiosos, y sus afiliados tendrán los derechos y obligaciones que se establezcan en sus estatutos" este párrafo define con precisión las actividades que debe desarrollar la entidad Latinoamericana.

Desde hace unos meses, América Latina es el epicentro de la pandemia del coronavirus, que avanza sin freno por el continente. Hasta diciembre de 2020, se han registrado un total de 13.189.470 casos de COVID-19 en América Latina y el Caribe. Brasil es el país más afectado por esta pandemia con más de 6,4 millones de casos confirmados. Argentina se ubica en segundo lugar, con alrededor de 1,44 millones de infectados. México, por su parte, ha registrado un total de 1.133.613 casos. Entre los países más afectados por el nuevo tipo de coronavirus en América Latina también se encuentran Colombia, Perú, Chile y Ecuador. La pobreza, la desnutrición, la crisis económica, social y política que atraviesan los países latinoamericanos hacen que la propagación del virus SARS CoV-2 en pleno invierno suponga todo un cóctel explosivo en una región ya desestabilizada.

Todos estos factores, sumados a la pobreza y las crisis sociales, preceden a la pandemia. "Los problemas eran preexistentes a la pandemia y el coronavirus los ha hecho más potentes y evidentes. La región estuvo viviendo una crisis de la democracia, donde las instituciones no eran capaces de dar soluciones efectivas, eficientes y a la altura de las demandas de los ciudadanos.

Si bien es cierto que el virus saltó primero a Europa desde Asia, hizo que una buena parte de los gobiernos latinoamericanos ante un frágil sistema sanitario, decretaran el confinamiento y cerraran fronteras, con el objetivo de proteger

Por:

Dr. Álvaro Justiniano
Grosz

Presidente de
COLABIOCLI



los inconsistentes sistemas sanitarios, en cambio, las restricciones desiguales o rotatorias, las dificultades para controlar los movimientos de la población y el estrés sobre los sistemas sanitarios han catapultado las cifras de contagios y muertes en estos países. Aunque con diferencias, la mayoría de los países cuentan con una "capacidad limitada" en sus sistemas sanitarios, pues los medios tecnológicos o equipos vitales como son los respiradores escasean. Hay una enorme desigualdad dentro de los propios países en el acceso a la salud. Otra dificultad añadida consiste en la capacidad de contabilizar los datos de la enfermedad ante la falta de recursos, lo que hace que muchas cifras sean "poco fiables".

Si en España el coronavirus afectó en los peores meses de la pandemia a personas mayores de 65 años, el perfil del paciente latinoamericano difiere mucho y está ahondando la brecha económica y social del continente, lo cierto es que hay tres factores que marcarán la hoja de ruta: la corrupción política, la reaparición de los militares como actores políticos y el aumento del crimen organizado. "Los desafíos inmediatos no se van a limitar con la post-pandemia, que ya de por sí es un desafío inmenso, dado que nos encontramos con una recesión económica muy profunda y graves dificultades para responder sin cambiar nuestra estructura productiva", y todo en un marco de tensión social que podría agravarse cuando se estabilice la situación.

La pandemia trae un enorme peso social, un aumento de la desigualdad y mayor pobreza, ahora bien, nuestra entidad no está al margen de esta situación y si bien en el campo de la virtualidad nos permitió interconectarnos más, intercambiar experiencias, desarrollar proyectos, programas de actualización, actividades de capacitación continua y a muchos de los países les permitió avanzar en algunos espacios del laboratorio clínico y su rol en el diagnóstico, en muchos otros postergó los planes, impidió desarrollar acciones que pudieran mejorar las condiciones no solo sanitarias, sino también una agenda orientada a generar el liderazgo de las instituciones en temas muy importantes como los

marcos regulatorios que permitan incorporar la medicina de laboratorio en ciertos países a programas de evaluación externa de la calidad, acreditación de laboratorios, inserción de los jóvenes profesionales y otros. A pesar de ello, nuestra entidad, en esta difícil situación pudo encontrar mecanismos adecuados para poder desarrollar actividades que sirvieran de instrumento para coadyuvar a los países durante un año complicado para la región, bajo este contexto se puede presentar un comunicado detallado en este reporte de las actividades efectuadas por la Confederación Latinoamericana de Bioquímica Clínica:

Informe de Actividades “Confederación Latinoamericana de Bioquímica Clínica” 2020

Nº	ACTIVIDAD	FECHA	TEMAS
1.-	Reunión comité ejecutivo COLABIOCLI – vía <i>on line</i>	03 de noviembre 2019	1.- Transmisión del cargo de presidente saliente: Dra. Stella Raymondo (Uruguay) entrante: Dr. Álvaro Justiniano Grosz (Bolivia).
2.-	Participación de presidencia de COLABIOCLI en los 50 ^a aniversario de AEFA – España Reunión del comité ejecutivo de la COLABIOCLI en Cochabamba – Bolivia Reuniones mensuales de comité ejecutivo vía <i>on line</i>	22 - 23 de noviembre 2019	1.- Participación en Actos protocolarios 2.- Carta de Intención de Portugal para reingresar en COLABIOCLI. 3.- Reunión SEQC ^{ML} firma de convenio de Cooperación con COLABIOCLI. 4.- Concesión de una beca para un profesional de América Latina, que incluye la estancia para un becario de Latinoamérica en España con gastos y pasajes financiados durante tres meses en España, en convenio a través de la Fundación José Luis Castaño.
3.-		14, 15 y 16 de enero 2020	1.- Informe de la presidente de COLABIOCLI saliente (Past president) Dra. Stella Raymondo. 2.- Entrega documentación pertinente gestión: 2017 – 2019. 3.- Elaboración del plan estratégico de la COLABIOCLI 2020 – 2022. 4.- Aprobación de reglamentos internos del funcionamiento - nuevo Comité Ejecutivo de COLABIOCLI. 5.- Aprobación ingreso de Portugal a COLABIOCLI.
4.-	Reuniones mensuales de comité ejecutivo vía <i>on line</i>	27 de febrero 2020 25 de marzo 2020 22 de abril 2020 25 de mayo 2020	1.- Becas COLABIOCLI: tres becarios financiados con fondos IFCC – COLABIOCLI. 2.- Reglamento de otorgamiento del Programa de Evaluación Externa de la Calidad (PEEC) para países miembros de COLABIOCLI en Latinoamérica.

<p>4.- Reuniones mensuales de comité ejecutivo vía <i>on line</i></p>	<p>24 de junio 2020 22 de julio 2020 25 de agosto 2020 30 de septiembre 2020 26 de octubre 2020 25 de noviembre 2020 15 de diciembre 2020</p>	<p>3.- Reglamento de pasantías para jóvenes menores de 40 años. 4.- Reglamento de auspicios y avales COLABIOCLI. 5.- Base de datos para el programa latinoamericano de capacitación. 6.- Becas a países latinoamericanos miembros de COLABIOCLI:</p> <p>6.1. Diplomado virtual en control de calidad en análisis clínicos, tres becarios: Paraguay, Costa Rica y Uruguay. 6.2. Diplomado virtual en bacteriología clínica y pruebas de susceptibilidad antimicrobiana, tres becarios: Panamá, Paraguay y Bolivia. 6.3. Diplomado internacional gestión de la calidad analítica según ISO 15189, tres becarios: Uruguay, Costa Rica y Panamá. 6.4. Diplomado internacional de uroanálisis, tres becarios: Paraguay, Bolivia y Uruguay. 6.5. Diplomado internacional de hematología diagnóstica, tres becarios: Guatemala, Panamá y Costa Rica. 6.6. Diplomado virtual de patología clínica por laboratorio clínico (3ra. Generación), tres becarios: Uruguay, Costa Rica y Bolivia. 6.7. Curso en línea de técnicas y tinciones para el diagnóstico de las hemoparasitosis transmitidas por vectores, tres becarios: Costa Rica, Bolivia y Panamá. 6.8. Curso de micosis en vías urinarias, tres becarios por designarse. 6.9. Curso Micología Médica, tres becarios por designarse.</p> <p>7.- Congreso Latinoamericano COLABIOCLI México 2021 redefinición de la nueva fecha 2022. 8.- Información y Coordinación permanente responsable regional ante IFCC. 9.- Construcción de la nueva página web. Actualización de la plataforma de cursos. 10.- Diez becas para profesionales latinoamericanos en convenio con AEFA-España curso de verificación de métodos analíticos cuantitativos.</p>
<p>5.- Reuniones para organizar congreso México 2022 – vía <i>on line</i></p>	<p>2 de abril 2020 9 de abril 2020 20 de mayo 2020 30 de junio 2020</p>	<p>Formación de:</p> <p>1.- Comisiones administrativas. 2.- Comisiones Académicas Científicas. 3.- Comisiones logística e infraestructura.</p>

5.- Reuniones para organizar congreso México 2022 – vía <i>on line</i>	31 de julio 2020 26 de agosto 2020 29 de septiembre 2020 22 de octubre 2020 18 de noviembre 2020	4.- Comisiones de publicidad y difusión. 5.- Plan de actividades para el congreso. 6.- Elaboración programa preliminar. 7.- Ajustes programa científico congreso. 8.- Estrategia de difusión del evento. fraestructura.
6.- Aprobación del plan estratégico de COLABIOCLI 2020 - 2022	22 de abril 2020	<p>1.- Presentación del plan estratégico. Nueve pilares del plan:</p> <ul style="list-style-type: none"> a) Fortalecimiento de la imagen Institucional. b) Fortalecimiento de las asociaciones miembros de COLABIOCLI. c) Énfasis en la participación de jóvenes profesionales. <ul style="list-style-type: none"> a. 4.- Promover el fortalecimiento de las normativas y marcos regulatorios. Nacionales, tendientes al reconocimiento de sistemas de gestión de la calidad en los laboratorios. d) Fortalecer estructuras nacionales que promuevan la mejora continua de la calidad. e) Fortalecer el rol de los profesionales bioquímicos clínicos, profesionales en el laboratorio clínico o sus equivalentes como parte del equipo de salud. f) Identificar temas de agenda para ampliar los alcances del laboratorio. g) Desarrollar programas de capacitación continua, facilitando el acceso de los diferentes países. h) Fortalecer las relaciones con universidades e instituciones científicas. <p>2.- Elaboración de presupuesto COLABIOCLI 2020 –2022.</p> <p>3.- Formación de grupos:</p> <ul style="list-style-type: none"> a) Pre analítico. b) Acreditación de laboratorios. c) Bioética. d) Comisión académica gremial y de gestión. <p>4.- Propuesta de creación de la fuerza de trabajo de los jóvenes profesionales.</p>
7.- Pronunciamento de la COLABIOCLI de manera oficial en cuanto al apoyo permanente a los profesionales bioquímicos	06 de mayo 2020 03 de julio 2020	Documentos publicados en la página web y página de Facebook de COLABIOCLI.

7.- y títulos equivalentes que trabajan en los laboratorios de análisis clínicos en momentos de pandemia, ponderando su rol protagonista en el diagnóstico y apoyo en el manejo de pacientes con COVID 19, valorando su rol y su trabajo en los momentos de pandemia.	31 de julio 2020 26 de agosto 2020 29 de septiembre 2020 22 de octubre 2020 18 de noviembre 2020	4.- Comisiones de publicidad y difusión. 5.- Plan de actividades para el congreso. 6.- Elaboración programa preliminar. 7.- Ajustes programa científico congreso. 8.- Estrategia de difusión del evento. fraestructura.
8.- Fortalecimiento de la entidad en las redes sociales, así como lanzamiento de la nueva página web y su plataforma Moodle.	10 de julio 2020	Página de Facebook. Página web COLABIOCLI.
9.- Lanzamiento de los conversatorios COLABIOCLI en convenio con el colegio de bacteriólogos de Colombia.	8 de julio 2020 29 de julio 2020 5 de agosto 2020 26 de agosto 2020 2 septiembre 2020 23 de septiembre 2020 7 de octubre 2020 28 de octubre 2020 4 de noviembre 2020 25 de noviembre 2020	1.- Conferencia: respuesta de los laboratorios de salud pública ante la pandemia COVID-19 en Latinoamérica. 2.- Planificación estratégica del laboratorio clínico post pandemia. 3.- El rol del laboratorio en tiempos de pandemia. 4.- El rol de los profesionales bioquímicos, desafíos antes, y después de la pandemia. 5.- Bioseguridad en el marco de la post pandemia. 6.- Desafíos para la formación profesional, herramienta de formación virtual. 7.- La docencia universitaria, su vinculación con la calidad en tiempos de virtualidad. 8.- Los jóvenes profesionales del laboratorio clínico los desafíos a partir del COVID 19. 9.- Indicadores de gestión en el laboratorio clínico. 10.- Seguridad y calidad en la producción de plasma hiperinmune en pacientes con COVID 19.
10.- Curso de gestión de calidad y buenas prácticas de laboratorio, versión foros y conversatorios.	20 de junio 2020 17 de septiembre 2020 22 de octubre 2020 19 de noviembre 2020 10 diciembre 2020	1.- Gestión de la calidad – propuestas para una formación interdisciplinaria de los profesionales de la salud. 2.- Desafíos de la evaluación académica en la virtualidad. 3.- Gestión del riesgo: estrategias para desarrollar prácticas virtuales de laboratorio clínico. 4.- Propuestas de temas para agenda 2021 del taller de gestión de calidad.
11.- Sociedad Brasileira de Análisis Clínicos (SBAC) digital – COLABIOCLI.	14 de agosto 2020 23 de septiembre 2020 21 de octubre 2020 25 de noviembre 2020 26 de noviembre 2020	50 becarios de cada país miembro de la COLABIOCLI participaron en este importante evento virtual de la sociedad brasileira de análisis clínicos. Se abordaron temas de actualidad Enfermedad por COVID 19. Conferencia del profesor Lippi G de la Universidad de Verona – Italia.

<p>12.- XIII Congreso Uruguayo de Bioquímica Clínica y la Asociación Bioquímica Uruguay.</p>	<p>15 al 17 de octubre 2020</p>	<p>Mesa redonda denominada el espacio COLABIOCLI : Visión y desafíos de los profesionales bioquímicos y títulos equivalentes de América Latina y el Caribe. 1.- Visión de COLABIOCLI y su plan estratégico. 2.- Características de la formación profesional y rol de los profesionales bioquímicos o títulos equivalentes de américa latina y el caribe 3.- Cómo se enfrentan los jóvenes profesionales a la realidad actual" 4.- Incorporación de los temas de liderazgo, planificación estratégica y calidad en la docencia universitaria de carreras de bioquímica y títulos equivalentes. Preguntas y conclusiones.</p>
<p>13.- Congreso virtual del Colegio Nacional de Bacteriólogos de Colombia. El desafío de innovar.</p>	<p>14 al 17 de noviembre 2020</p>	<p>COLABIOCLI auspicio del congreso.</p>
<p>14.- Entrevista al presidente de COLABIOCLI con la revista Bioingeniería de Noruega.</p>	<p>Agosto 2020</p>	<p>Cómo Latinoamérica enfrenta la pandemia desde los laboratorios clínicos. Rol de los profesionales.</p>
<p>15.- Reunión virtual de presidentes de entidades nacionales</p>	<p>12 de junio de 2020</p>	<p>Temario: 1.- Plan estratégico COLABIOCLI 2020 – 2022. 2.- Programa Latinoamericano de capacitación. 3.- Grupos de trabajo y comisiones de COLABIOCLI. 4.- Congreso COLABIOCLI México 2022. 5.- Becas COLABOCLI – becas virtuales. 6.- Reglamento Programa Nacional de Control de Calidad (PNCQ) 7.- Becas España. 8.- Varios.</p>
<p>16.- Webinar Asociación de Químicos y Biólogos de Guatemala y COLABIOCLI</p>	<p>11 de noviembre 2020</p>	<p>Hemoglobina glicosilada: aspectos analíticos e importancia para el diagnóstico y control de la diabetes mellitus</p>
<p>17.- Webinar modalidad conversatorio con Colegio de Microbiólogos de Costa Rica</p>	<p>3 de diciembre 2020</p>	<p>Liderazgo y desarrollo sostenible de los laboratorios clínicos y el papel de los jóvenes profesionales.</p>
<p>18.- Reunión virtual de presidentes de entidades nacionales miembros de COLABIOCLI.</p>	<p>15 de diciembre 2020</p>	<p>Temario: 1. Informe económico y balance de cuentas. 2. Informe Comité Ejecutivo COLABIOCLI. 3. Informe representante regional COLABIOCLI ante IFCC. 4. Presentación nuevo representante regional COLABIOCLI ante IFCC.</p>

18.-			5. Congreso México 2021. 6. Convenio COLABIOCLI-PNCQ 7. Asuntos varios.
19.-	Convenio COLABIOCLI– PNCQ de la Sociedad Brasileira de Análisis Clínicos.	01 de octubre 2020	1.- Firma convenio con PNCQ para dotar de manera gratuita de 30 programas básicos del programa por país, anualmente. Cada país paga el transporte de los materiales de control en base a un reglamento de programa de evaluación externa de la calidad donde cada país podrá acceder a través de su entidad nacional afiliada a COLABIOCLI.
20.-	Lanzamiento del convenio COLABIOCLI - PNCQ de la Sociedad Brasileira de Análisis Clínicos Webinar gratuito.	17 de diciembre 2020	1.- Tema: importancia de los Programas de Evaluación Externa de la Calidad. 2.- Implementación de los controles internos de la calidad en los laboratorios clínicos.
21.-	Reunión con responsable de fuerza de trabajo Task Force Youngs TF-YS – IFCC y los jóvenes profesionales de Latinoamérica	18 de noviembre 2020	1.- Creación del grupo de jóvenes profesionales en Latinoamérica 2.- Curso de liderazgo para entidades miembros de COLABIOCLI en Latinoamérica.
22.-	Entrevistas Radio el Microscopio	Enero 2020 Julio 2020 Septiembre 2020	1.- Plan Estratégico COLABIOCLI. 2.- Avances e informe de actividades COLABIOCLI. 3.- Cómo enfrentamos la pandemia en Latinoamérica, una visión desde la COLABIOCLI.

Podríamos seguir hablando de COVID-19, la pandemia y el impacto que ha tenido en nuestra profesión, pero entendemos que debemos mirar hacia adelante, analizar nuestros proyectos y ver cómo mejoramos nuestras actuaciones.

Hacemos un llamamiento a los **jóvenes profesionales**, para que se conviertan en los nuevos líderes de las entidades nacionales y

sean quienes contribuyan a mejorar nuestra profesión como parte fundamental del equipo de salud.

El Comité Ejecutivo de la COLABIOCLI quiere dar las gracias a todos por la contribución y el trabajo realizado durante este año, ya que **sin vuestro apoyo no habríamos conseguido lo que hicimos en momentos tan difíciles.**

1. ¿Cómo define la trazabilidad en el laboratorio clínico?

Al establecer el concepto de trazabilidad aceptado internacionalmente, se puede demostrar la veracidad de los resultados analizados para las muestras de pacientes y se puede garantizar la calidad de estos resultados. Queremos lograr un vínculo entre el ensayo de rutina que se utiliza para analizar una muestra de paciente y un método más preciso y específico y, si es posible, una conexión directa entre este procedimiento de medición más preciso y específico a la unidad Sistema Internacional de Unidades (SI, por sus siglas en francés) del mensurando. Las herramientas que necesitamos para construir una cadena de trazabilidad en el laboratorio clínico son, por un lado, calibradores y materiales de referencia certificados, para que la información de la unidad del SI se pueda transmitir. Y se requieren procedimientos de medición que midan claramente el mensurando solicitado.

Se han desarrollado cadenas de trazabilidad completas para mensurandos como la creatinina o la glucosa en suero que se pueden utilizar en la práctica. Sin embargo, para la mayoría de los mensurandos, estos sistemas de medición de referencia todavía deben configurarse. Las cadenas de trazabilidad para estos mensurandos terminan con materiales de referencia, calibradores o sistemas de medición a nivel del fabricante de insumos para diagnóstico in vitro (IVD).

2. Podría describir la importancia de la trazabilidad en el laboratorio clínico.

Los resultados de los exámenes de laboratorio clínico hacen una contribución importante al diagnóstico y la terapia de los pacientes. Es fundamental que estos resultados sean exactos y comparables independientemente del tiempo y el lugar, es responsabilidad del laboratorio proporcionar estos resultados exactos teniendo en cuenta la precisión y la veracidad.

Con base en la convicción de que los resultados de la medicina de laboratorio pueden mejorarse mediante la trazabilidad y la estandarización, muchos grupos de trabajo internacionales desarrollan sistemas de medición de referencia basados en la norma internacional ISO 17511 "Dispositivos médicos para diagnóstico in vitro - requisitos para establecer la trazabilidad

Por:

Dra. Anja Kessler

Chair del Comité de Trazabilidad en Medicina del Laboratorio (C-TLM) de la *International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (IFCC)*



metrológica de los valores asignados a calibradores, materiales de control de veracidad y muestras humanas". El estado actual del sistema se resume en la base de datos del Comité Conjunto de Trazabilidad en Medicina de Laboratorio (JCTLM) (<https://www.bipm.org/jctlm/>). Esta base de datos enumera todos los materiales de referencia aprobados, los procedimientos de medición de referencia y los laboratorios que ofrecen el servicio de medición a los sistemas de referencia establecidos.

La implementación de sistemas de medición de referencia y la trazabilidad requieren muchas manos amigas: los institutos de metrología y la comunidad científica, los fabricantes y, por último, pero no menos importante, los propios laboratorios clínicos. Los laboratorios deben validar sus métodos con especial cuidado y deben garantizar la exactitud para la seguridad del paciente.

3. Cómo ve el estado de la trazabilidad de los resultados en el laboratorio clínico latinoamericano.

Los científicos y profesionales del laboratorio clínico de América Latina se interesaron en el concepto de trazabilidad desde muy temprano y trabajan activamente para implementarlo en sus países. Hace unos 7 años tuve la oportunidad de participar en un taller en Chile sobre el tema de la gestión de la calidad en la medicina de laboratorio. Allí presenté ejemplos sobre el tema de la trazabilidad. Los participantes de todos los países de América Latina discutieron las ideas con gran entusiasmo. Durante las siguientes visitas, se fortaleció mi impresión de que mis colegas de COLABIOCLI querían establecer el tema de la "trazabilidad" en la práctica no solo en el laboratorio, sino también a través de esquemas de Evaluación de Calidad Externa

(EQA) y cooperación con institutos de metrología. Hoy, sendos miembros de Argentina y México, así como un miembro correspondiente de Uruguay, están representados en el Comité Internacional de Trazabilidad en Medicina de Laboratorio (C-TLM) de la International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (IFCC) y contribuyen al continuo desarrollo e implementación.

4. ¿Qué recomendaría sobre este tema a los profesionales que realizan labores en el laboratorio clínico?

Establecer la trazabilidad no es solo una tarea de los fabricantes de IVD, científicos e institutos metrológicos. Los profesionales de los laboratorios clínicos de rutina tienen la tarea de cuestionar la realización de sus análisis. Incluso si un laboratorio no está acreditado, siempre se debe monitorear la calidad del trabajo. El uso de

materiales de control con certificado de trazabilidad juega un papel importante en el control de calidad interno del laboratorio y debe formar parte de la gestión de calidad diaria. Además, la participación regular en programas de EQA (con valores asignados preferiblemente trazables) proporciona al profesional información útil para encontrar puntos débiles o para recibir confirmación de que el análisis está funcionando satisfactoriamente.

La introducción del concepto de trazabilidad no es una tarea nacional o individual. La cooperación de las diversas partes interesadas, como los institutos de metrología, la comunidad científica, los fabricantes de IVD y, por último, pero no menos importante, los propios laboratorios clínicos, es crucial para que el concepto de trazabilidad se pueda implementar en la medicina de laboratorio en el futuro.



IFCC

International Federation
of Clinical Chemistry
and Laboratory Medicine



COMITÉ DE REDACCIÓN



Dr. Raúl Girardi
Fundación Bioquímica Argentina
raul.girardi@fba.org.ar
Argentina



Dr. Enrique Abraham Marcel
Sociedad Cubana de Patología Clínica
abrahamm@infomed.sld.cu
Cuba



Dra. Alejandra Arias
Confederación Unificada Bioquímica de la República Argentina
aariasar@yahoo.com.ar
Argentina



Prof. Dra. María Montserrat Blanes González
Asociación de Bioquímicos del Paraguay
montseblanes0612@gmail.com
Paraguay



María Jezabel Vite Casanova
Colegio Mexicano de Ciencias del Laboratorio Clínico A.C.
mjvitec@prodigy.net.mx
México



Dr. Antonio Rider Pérez
Asociación Española del Laboratorio Clínico
presidencia@aefa.es; aefa@aefa.es
España



Dra. Alejandra Cano Huizar
Federación Nacional de Químicos Clínicos CONAQUIC A.C.
qfb_ale@yahoo.com; presidencia@conaquic.com
México



Dra. Mª del Patrocinio Chueca
Sociedad Española de Medicina de Laboratorio
patrochueca@gmail.com
España



Dr. Roberto García
Fundación Bioquímica Argentina (FBA).
rgarcia@fba.org.ar
Argentina



Licda. Zoila Rita García
Colegio Dominicano de Bioanálisis
zoriga27@hotmail.com
República Dominicana



Dra. Alba Cecilia Garzón
Colegio Nacional de Bacteriólogos de Colombia
albacgarzon@hotmail.com
Colombia



Lic. Santiago Fares Taie
Chair de la Fuerza de Trabajo de
Jóvenes Científicos de la IFCC
sfarestaie@hotmail.com



Lic. Álvaro Justiniano Cortez
Sociedad Boliviana de Bioquímica Clínica
Bolivia



Dra. Beatriz Mina G.
Sociedad Boliviana de Bioquímica Clínica.
beatrizmina477@hotmail.com
Bolivia



Dra. Elizabeth Guillén
Asociación de Bioquímicos del Paraguay
megbarua@gmail.com
Paraguay



Mgter. Yaremi Juárez
Colegio Nacional de Laboratoristas Clínicos (CONALAC)
sede@conalac.com.pa
Panamá



Dr. Ana María Piana
Asociación de Bioquímicos del Uruguay
anapiana23@gmail.com
Uruguay



PharmD, MSc, EuSpLM Henrique Reguengo
Sociedade Portuguesa de Medicina de Laboratorio
henrique.reguengo.sqc@chporto.min-saude.pt
Portugal



Dr. Amadeo Sáez Alquezar
Programa Nacional de Controle de Qualidade da Sociedade
Brasileira de Análises Clínicas
amadeo62@gmail.com
Brasil



Dr. Xavier Fuentes Arderiu
Emérito Fundador
2461xfa@gmail.com
España



Dr. Alvaro Justiniano Grosz
Sociedad Boliviana de Bioquímica Clínica
laboratoriosmedicomp@hotmail.com
Bolivia



Dra. María del Carmen Pasquel
Sociedad Ecuatoriana de Bioquímica Clínica
mariapasquelc@yahoo.com
Ecuador



Dr. Cristóbal Avivar Oyonarte
Presidente Sociedad Andaluza de Análisis Clínicos
y Medicina de Laboratorio
cristobal.avivar@epho.es; crisavivar67@gmail.com
España



IFCC
International Federation
of Clinical Chemistry
and Laboratory Medicine

Publicado por

División de Comunicaciones y Publicaciones de IFCC (CPD, por sus siglas en inglés)

Editor

Dr. Raúl Girardi. Chair del Grupo de Trabajo de Iberoamérica de Nomenclatura y traducciones. (WG-IANT). Director General Revista Diagnóstico *In Vitro*. Rincón Ibero-Americano. La Plata, Buenos Aires. Argentina

Circulación

La revista Diagnóstico *In Vitro* (DIV), se distribuye a todos los miembros de IFCC registrados para recibirla on-line y a todos los auspiciantes de IFCC.

Frecuencia

Cada 4 meses
Febrero 2021
Junio 2021
Octubre 2021

Si desea publicar artículos de investigación, noticias, novedades y eventos referidos a las Ciencias y Medicina de Laboratorio en esta revista Diagnóstico *In Vitro* (DIV) enviar a:

Raúl Girardi
IFCC Rincón Iberoamericano (RIA)
E mail: ria@ifcc.org

 [rincon iberoamericano ifcc](#)

 [@ RIA_IFCC](#)

El contenido de esta revista no puede ser reproducido parcial o totalmente sin la autorización de la División de Comunicaciones y Publicaciones (CPD por sus siglas en inglés) de IFCC.