



ASOCIACIÓN  
BIOQUÍMICA  
ARGENTINA

# ByPC

# Bioquímica y Patología Clínica

Revista de la Asociación  
Bioquímica Argentina

Vol. 88 - Nº1  
Ene.- Abr. de 2024

Ciudad de Bs. As. Argentina  
ISSN 1515-6761 Ed. Impresa  
IISSN 2684-0359 Ed. electrónica

Revista de la Asociación Bioquímica Argentina - Volumen 88 - Nº1 - Enero - Abril de 2024

ByPC Bioquímica y Patología Clínica

El 28 de noviembre despedimos a la Dra. **Regina Luisa Wigdorovitz de Wikinski**, profesional, docente e investigadora que supo abrir caminos, dejar huellas en su andar, demostrando siempre su calidez humana y generosidad. La Dra. Wikinski era Bioquímica, Farmacéutica (FFyB, UBA) y Doctora en Farmacia y Bioquímica (UBA).



## EDITORIAL

- Pág. 20 **Control del cumplimiento las normas éticas en la investigación clínica, una tarea imposterable.**  
*Control of compliance with ethical standards in clinical research, a task that cannot be postponed.*  
Jaime, Kovensky .

## ARTÍCULOS ORIGINALES

- Pág. 22 **Microbiota vaginal y su relación con la infección por el virus del papiloma humano.**  
*Vaginal microbiota and its relationship with human papilloma virus infection.*  
Perazzi, Beatriz Elizabeth; Payalef, Sandra Noemi; Fleider, Laura Alicia; Reyes, Ana Paula Reyes; Maldonado, Verónica Andrea; Losada, Mirta Olga; Xin Chen; Díaz, Lilí Beatriz; Youxiang Wang; Gómez Cherey, Facundo; Tatti, Silvio Alejandro.
- Pág. 31 **Estudio del estado metabólico de una población de deportistas recreacionales de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires.**  
*Study of the metabolic state of a population of recreational athletes from the City of Buenos Aires, Argentina.*  
Aymard, Adrián; Peverini, Agustina; González, Sabrina; Louzán, Silvia; Salkind, Sonia; Blanco, Juan; Redruello, Marcela; Aranda, Claudio; Oneto, Adriana.
- Pág. 39 **Respuesta local y sistémica a la contaminación ambiental aérea en los niveles molecular y funcional: la desnutrición crónica como factor de riesgo.**  
*Local and systemic response to air pollution at the molecular and functional levels: chronic undernutrition as a risk factor.*  
Kurtz, Melisa Lidia; Lezón, Christian; Masci, Ivana; Bonetto, Julián; Maglione, Guillermo Alberto; Boyer, Patricia Mónica; Álvarez, Laura; Tasat, Deborah Ruth.
- Pág. 51 **Análisis cuantitativo de anticuerpos antispike contra el SARS-CoV-2 en pacientes vacunados y no vacunados.**  
*Quantitative analysis of anti-Spike antibodies against SARS-CoV-2 in vaccinated and non-vaccinated patients.*  
Peverini, Agustina; González, Sabrina; Juan, Iara; Maciel Ferradás, María Cecilia; Aranda, Claudio; González, Fernanda.
- Pág. 56 **Estudio comparativo de nuevos métodos para el diagnóstico de SARS-CoV-2: boiling sin extracción de ácidos nucleicos y testeo en pools.**  
*Strategies to optimize diagnostic resources in times of pandemic.*  
Martelli, Antonella; Baffico, María Luz; Cesano Riso, Griselda Raquel; Torres, Magalí; Amaya, Lucas Joel; Echegoyen, Natalia Andrea; Lucero, Alicia María; Videla, Cristina; Martínez, Alfredo Pedro.
- Pág. 62 **Actividad de la creatinfosfoquinasa isoenzima MB, un parámetro intrascendente a la hora de evaluar un infarto de miocardio en el servicio de Urgencias.**  
*Activity of the creatine phosphokinase isoenzyme MB, an insignificant parameter when evaluating an acute coronary syndrome in the emergency department.*  
Seicht, Luis Eduardo; Malarczuk, Elba Cristina.

## REVISIÓN

- Pág. 67 **Biomarcadores en el enfoque de fenotipos de sepsis pediátrica. Aportes desde el laboratorio de urgencias.**  
*Biomarkers in the pediatric sepsis phenotype approach. Contributions from the emergency laboratory.*  
Capecce, Fabrina; Ludueña, Marcia.

## PROGRAMA DE EDUCACIÓN CONTINUA

- Pág. 77 **Cursos A.B.A - Ciclo Lectivo 2023.**



Regina Luisa Wigdorovitz de Wikinski  
Foto: gentileza de su familia

## TAPA

### Regina Luisa Wigdorovitz de Wikinski (1930 - 2023)

El 28 de noviembre, a los 93 años, falleció la Dra. Regina Luisa Wigdorovitz de Wikinski. Despedimos a una profesional, una docente y una investigadora que supo abrir caminos y dejar huellas en su andar, pero, fundamentalmente, despedimos a un ser de gran calidad humana, calidez y generosidad.

La Dra. Wikinski era Bioquímica y Farmacéutica, egresada de la Facultad de Farmacia y Bioquímica (FFyB) de la Universidad de Buenos Aires (UBA) en 1952 y 1959, respectivamente. Obtuvo el título de Doctora en Farmacia y Bioquímica de la misma Universidad en el año 1983.

Tempranamente, la Dra. Wikinski comenzó su carrera docente y en investigación como becaria de posgrado de la UBA trabajando en el tema “Metabolismo de anestésicos locales”, estudio que desarrolló junto al Dr. Jaime Abel Wikinski, con quien formó una familia de 2 hijas, Silvia y Mariana, y 3 nietos, Guillermo, Javier y Florencia, y con quien permaneció casada por más de 60 años hasta su fallecimiento el 2 de julio de 2015. Regina Wikinski completó toda su carrera docente en la UBA pasando por los cargos de Ayudante de Primera, Jefa de Trabajos Prácticos, Profesora Adjunta, Profesora Asociada, Profesora Titular y Profesora Titular Emérita, con un período en el que ejerció el cargo de Profesora Asociada en la Universidad Central de Venezuela.

Fue Directora del Departamento de Bioquímica Clínica de la FFyB de la UBA desde 1986 hasta 1996. Por el convenio firmado entre la FFyB, la Facultad de Medicina y el Hospital de Clínicas “José de San Martín”, el Departamento de Bioquímica Clínica se hizo cargo del Laboratorio Central del Hospital, y la Dra. Wikinski, de la dirección del mismo, cargo que ocupó desde 1986 hasta 1996, y, luego, durante los años 2006 y 2007. Durante su gestión al frente del Departamento de Bioquímica Clínica, emprendió múltiples proyectos desafiantes, como la concentración de los distintos laboratorios periféricos existentes en el Hospital, y, fundamentalmente, persiguió el objetivo de fomentar la formación de posgrado de cada uno de los profesionales que se desempeñaban en el Departamento. Es así que personalmente dirigió distintas tesis doctorales, tesis de maestría y trabajos finales de carreras de especialización.

La Dra. Wikinski fue miembro del Consejo Directivo de la FFyB entre 1990 y 1998 y presidió la Comisión de Investigaciones de la UBA entre 1998 y 2006. También, ocupó el cargo de Vicedecana de la FFyB entre noviembre de 1992 y marzo de 1994 y fue reelecta para el período 1994 - 1998.

Luego, fue elegida Decana de la misma Facultad, función que desempeñó entre marzo de 1998 y marzo de 2002, y fue reelecta para el período 2002 – 2006.

La formación de excelencia de los futuros bioquímicos junto con el continuo progreso y evolución de la profesión bioquímica constituyeron pilares fundamentales de su trabajo, el cual vehiculizó a través de la enseñanza universitaria con dedicación, compromiso y fervor. En este contexto, participó de distintas reformas curriculares impulsando la creación de orientaciones en el plan de estudios de la carrera de Bioquímica y trabajando particularmente en la Orientación de Bioquímica Clínica para la cual ideó una asignatura denominada *Laboratorio Avanzado en Bioquímica Clínica*, reflejo de su pensamiento con respecto a la relevancia de la incorporación de nuevos contenidos y destrezas para la práctica profesional. La Dra. Wikinski también impulsó la creación de carreras de especialización en distintas áreas de la Bioquímica Clínica y ejerció la dirección de la correspondiente al área de Química Clínica. A lo largo de su extensa carrera como docente e investigadora, dictó innumerables cursos de posgrado, además de conferencias y disertaciones en jornadas y congresos nacionales e internacionales.

En el año 2007, la Dra. Wikinski fundó y dirigió el Instituto de Fisiopatología y Bioquímica Clínica (INFIBIOC) de la UBA con el objetivo de impulsar el desarrollo de nuevas herramientas bioquímicas y/o biotecnológicas y de buscar solución a distintos problemas de la bioquímica clínica a través de la formación de recursos humanos y del desarrollo de proyectos de investigación, para luego transferir los conocimientos adquiridos y los avances alcanzados a la práctica clínica. La Dra. Wikinski fue Miembro de la Academia Nacional de Farmacia y Bioquímica y recibió importantes premios y distinciones por los múltiples logros alcanzados.

En el campo de la investigación, la Dra. Regina Wikinski desarrolló la mayor parte de sus trabajos y efectuó importantes aportes en el área de los lípidos, las lipoproteínas y los factores de riesgo y biomarcadores de enfermedad cardiovascular, tarea que desarrolló desde el Laboratorio de Lípidos y Lipoproteínas (actual Laboratorio de Lípidos y Aterosclerosis) fundado por ella en el año 1969. Publicó numerosos trabajos en revistas científicas revisadas por pares e indexadas en bases de datos relevantes, así como en revistas de divulgación. Presentó incontables resúmenes en jornadas y congresos de su especialidad y fue autora de revisiones y editoriales por invitación, además de diversos

capítulos de libros. Esta destacada labor científica la llevó a cabo en paralelo a la formación de recursos humanos, habiendo contribuido muy significativamente a la formación de múltiples profesionales tanto en el aspecto científico como docente y asistencial. La principal línea de investigación desarrollada por la Dra. Wikinski podría ser la relacionada con las lipoproteínas de densidad intermedia (IDL), su cuantificación y su evaluación en distintas condiciones fisiológicas y patológicas a las cuales, al formar parte de los denominados remanentes lipoproteicos, actualmente se les confiere gran importancia por su rol en el proceso de formación y progresión de la placa ateromatosa. Efectuando un análisis retrospectivo, surge que la Dra. Regina Wikinski fue probablemente la primera bioquímica que se dedicó al estudio del metabolismo lipoproteico y a la caracterización de las dislipemias en nuestro país.

En lo personal, luego de haber desarrollado gran parte de mi carrera a su lado con su guía y siguiendo sus consejos desde mis inicios como estudiante y becario de la UBA hasta convertirme en profesor de la FFyB e investigador de CONICET, no puedo menos que sentir un profundo agradecimiento, una sincera admiración y un enorme cariño. A quienes nos formamos a su lado, la Dra. Wikinski nos enseñó sobre lípidos, sobre bioquímica clínica, sobre ciencia, sobre oratoria, sobre pedagogía, pero también nos enseñó cómo escribir un trabajo científico o redactar un informe y hasta nos enseñó ortografía, sin olvidar sus enseñanzas sobre política universitaria y liderazgo. La Dra. Wikinski era una verdadera MAESTRA, con todo lo que ello implica: pasión, amor y dedicación por transmitir los conocimientos y habilidades adquiridos tras toda una vida de estudio y trabajo. Como ella misma nos contó en alguna oportunidad, a su regreso de Venezuela con su familia, donde pasó los tiempos de la dictadura, un diario publicó “[...] Volvieron los maestros [...]” refiriéndose a ella y a su marido, el Dr. Jaime Wikinski. Y ahora, con tristeza y una gran sensación de vacío, pero con el orgullo de llevar parte de su legado, tenemos que decir: “- Se fue LA MAESTRA ...Hasta siempre, Doctora ...”.

### **Dr. Fernando D. Brites**

Profesor Titular de Bioquímica Clínica, FFyB, UBA.

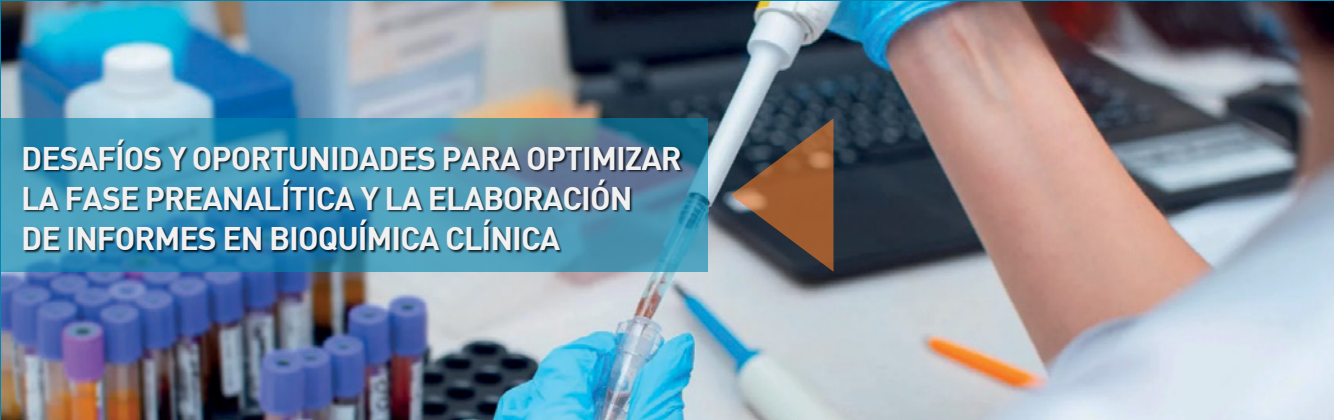
Investigador Principal de CONICET.

Director de Bioquímica y Patología Clínica.



# NUEVOS CURSOS 2024

## DE LA ASOCIACIÓN BIOQUÍMICA ARGENTINA



### DESAFÍOS Y OPORTUNIDADES PARA OPTIMIZAR LA FASE PREANALÍTICA Y LA ELABORACIÓN DE INFORMES EN BIOQUÍMICA CLÍNICA

- Curso virtual asincrónico con evaluación final optativa

• Del 01/04/2024  
al 15/07/2024

• Director:  
Dr. Fernando Brites

• Codirector:  
Dr. Leonardo Gómez Rosso

• Coordinadores:  
Dra. Belén Davico y  
Dr. Ezequiel Lozano Chiappe

• Docentes: Dra. Julia Ariagno (Estudio del Semen), Dr. Germán Astudillo (Parasitología), Dr. Ignacio Bressan (Lab. de HPLC y Espectrometría de Masa), Dr. Fernando Brites (Lípidos y Lipoproteínas), Dr. Gabriel Carballo (Autoinmunidad), Dr. Claudio Carbia (Hematología), Dra. María de la Paz Domínguez (Hemostasia), Dr. Marcelo Fermepín (Virología e Inmunoserología), Dr. Nahuel Fernández (Química General y Nefrológica), Dr. Nicolás Fernández (Monitoreo de drogas), Dr. Mauro Fernández Toscano (Lab. de Hemoterapia), Dr. Leonardo Gómez Rosso (Introducción General), Dra. Silvia González (Medio Interno), Dr. José Jara Aguirre (Normas y Recomendaciones), Dr. Jaime Kovensky (Bacteriología), Dr. José Magariños (Lab. de Urgencias), Dra. Patricia Maidana (Marcadores Oncológicos), Dra. Inés Marcone (Lab. de Pediatría), Dra. Patricia Otero (Endocrinología), Dra. María Silvia Pérez (Lb. De Biología Molecular), Dra. Adriana Rocher (Citología Exfoliativa), Dra. Sandra Rozental (Citogenética), Dra. Gabriela Ruibal (Hidratos de Carbono y Diabetes), Dra. Gabriela Santiso (Micología), Dra. Patricia Sorroche (Proteínas), Dr. David Sosa (Virología e Inmunoserología).



### CALIDAD EN LABORATORIOS DE GENÉTICA FORENSE

- Directores: Dra. Claudia García Bonelli y Dr. César Collino
- Comienzo: Abril 2024



### PRIMER CURSO INTERNACIONAL: CLÍNICA Y LABORATORIO DE ENFERMEDADES AUTOINMUNES

- Directores: Dr. Orlando Gabriel Carballo y Dr. Carlos von Mühlen
- Comienzo: Mayo 2024



### DILEMAS EN LA IDENTIFICACIÓN MORFOLÓGICA DE LAS CÉLULAS DE LA SERIE MIELOIDE EN SANGRE PERIFÉRICA

- Director: Dra. Sandra Ayuso
- Comienzo: Mayo 2024

### COMISIÓN DIRECTIVA

Presidente: Dra. Silvia B. González  
Vicepresidente: Dra. Patricia Otero  
Secretaría: Dra. Viviana Osta  
Tesorera: Dra. Isabel Desimone

1º Vocal Titular: Dra. María José Rial  
2º Vocal Titular: Dr. Eduardo Mormandi  
3º Vocal Titular: Dra. María Rugiero

1º Vocal Suplente: Dr. Alberto Villagra.  
2º Vocal Suplente: Dra. M. de la Paz  
Domínguez  
3º Vocal Suplente: Dra. Alejandra Svartz

### COMISIÓN REVISORA DE CUENTAS

Titular 1º: Dra. Silvia Morilla  
Titular 2º: Dra. Estella Meyer  
Titular 3º: Dra. Silvia Cajiao  
1º Vocal Suplente: Dra. Graciela Astarita  
2º Vocal Suplente: Dra. Claudia Ayuso

### COMISIONES INTERNAS

#### Prensa y Difusión

Presidente: Dra. Rocío Romero  
Secretaría: Dra. Florencia Minotti  
Vocales: Dr. Eduardo Mormandi  
Dra. Fabrina Capece

#### Certificación

Presidente: Dr. Alberto Villagra  
Secretaría: Dra. Viviana Osta  
Vocal: Dra. María José Rial

#### Cursos

Presidente: Dra. Silvia González  
Secretaría: Dra. María Soledad Caldirola  
Vocales: Dra. María José Rial  
Dra. María de la Paz Domínguez  
Dra. Alejandra Svartz  
Dra. Liliana Maggi  
Dra. Rocío Romero  
Dra. Laura Colito

#### Comité Científico Asesor

Dra. Mónica Aixalá  
Dr. Gloria Alvarez  
Dra. Liliana Arias  
Dra. Alicia Blanco  
Dr. Orlando Gabriel Carballo  
Dra. Silvia González  
Dr. César Colino  
Dr. Eduardo Mormandi  
Dr. Jorge Rey  
Dra. María José Rial  
Dra. Sandra Rozental  
Dra. Gabriela Santiso  
Dra. Nora Slobodianik

#### Premios y distinciones

Dra. Alicia Blanco  
Dr. Fernando Brites  
Dra. Nilda Fink  
Dr. Néstor Litwin  
Dr. Miguel Angel De Cristófano

### COMISIÓN DE LA REVISTA

#### Director:

#### Dr. Fernando D. Brites

Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires.  
Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

#### Secretaria Científica:

#### Dra. Fabrina Capece

Hospital General de Niños Pedro Elizalde. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

#### Comité Editorial:

#### Dr. Orlando Gabriel Carballo

Laboratorio Rossi. Instituto Universitario, Hospital Italiano de Buenos Aires. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

#### Dra. Isabel Desimone

Hospital Interzonal General de Agudos Evita, Lanús, provincia de Buenos Aires.  
Universidad Kennedy, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

#### Dr. Jaime Kovensky

Hospital Dr. Arturo Umberto Illia, Ciudad Autónoma de Buenos Aires.  
Carrera de Medicina, Universidad Nacional de la Matanza, provincia de Buenos Aires, Argentina.

#### Dr. Julián Verona

Hospital Municipal Subzonal Dr. Felipe Fossati. Balcarce, provincia de Buenos Aires, Argentina.

#### Asesores:

##### ESPAÑA

Aresio Plaza Lopez  
Luis García de Guadiana Romualdo  
Pablo Daniel Lapunzina Badía  
EEUU  
Carlos Alberto von Mühlen  
CHILE  
Carlos Calvo Monfil,  
URUGUAY  
Dora Ruchanzky  
Fernando Antúnez  
MÉXICO  
Ignacio García de la Torre  
PARAGUAY  
M. Montserrat Blanes González

##### ARGENTINA

Adriana Factorovich  
Alejandra Scaziotta  
Alejandra Ginaca  
Alberto Lazarowski  
Alberto Villagra  
Alicia Arechabala  
Alicia Blanco  
Angela Famiglietti  
Belén Bouzas  
Carlos Vay  
Cesar Collino  
Claudia Ayuso  
Claudia Menghi  
Daniel Bustos  
Eduardo Mormandi  
Fernando Goldbaum  
Gabriel Migliarino  
Gabriela Mendeluk  
Gabriela Santiso  
Gloria Cerrone

Graciela Ponce  
Graciela Ramos  
Jorge Guarlerik  
Jorge Rey  
José Margariños  
Laura Boero  
Leticia Madalena  
María José Rial  
M. Laura D´Ambrosio  
Marta Martinuzzi  
Monica Aixalá  
Nestor Litwin  
Nilda Fink  
Nora Slobodianik  
Patricia Otero  
Patricia Sorroche  
Sara Kauffman  
Silvia González  
Stella Carchio  
Viviana Osta

#### Corrección de estilo:

Lic. Débora Schmer Miranda (Español)  
Lic. María Victoria González Eusevi (Inglés)

#### Secretarios administrativos:

Sr. Gastón Goldberg  
Sr. Jorge Signorelli

# REGLAMENTO DE PUBLICACIONES

## REVISTA BIOQUÍMICA Y PATOLOGÍA CLÍNICA

### ASOCIACIÓN BIOQUÍMICA ARGENTINA

Bioquímica y Patología Clínica (ByPC), Revista de la Asociación Bioquímica Argentina, tiene el objetivo de difundir artículos inéditos y originales relacionados con aplicaciones de la bioquímica clínica en todas sus especialidades en el campo asistencial y de investigación clínica humana, así como en bioquímica animal y vegetal. ByPC está destinada a todos los profesionales de la salud interesados en estas áreas. ByPC se publica cuatrimestralmente en ambos formatos, impreso [ISSN 1515-6761] y electrónico [ISSN 2684-0359], sin costo para los autores y no posee propósitos comerciales.

#### La Comisión de Revista de ByPC está integrada de la siguiente manera:

##### Director:

Dr. Fernando D. Brites

Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). Ciudad de Buenos Aires, Argentina.

##### Secretaria Científica:

Dra. Fabrina Capece

Hospital Pedro Elizalde, Ciudad de Buenos Aires. Ministerio de Salud. Buenos Aires, Argentina.

##### Comité Editor:

Dr. Orlando Gabriel Carballo

Laboratorio Rossi. Instituto Universitario, Hospital Italiano de Buenos Aires. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina

Dra. Isabel Desimone

Hospital Evita, Lanús, provincia de Buenos Aires. Universidad John F. Kennedy. Ciudad de Buenos Aires, Argentina.

Dr. Jaime Kovensky

Hospital Arturo U. Illia, Ciudad de Buenos Aires. Universidad Nacional de la Matanza, provincia de Buenos Aires, Argentina.

Dr. Julián Verona

Hospital Dr. Felipe A. Fossati, provincia de Buenos Aires, Argentina.

##### Correctoras:

Lic. Débora Schmer Miranda [Español]

Lic. María Victoria González Eusevi [Inglés]

##### Secretarios Administrativos:

Sr. Gastón Goldberg

Sr. Jorge Signorelli

Los trabajos enviados a la Revista ByPC deben ser originales y no deben haber sido publicados o estar postulados simultáneamente en otras revistas u órgano de difusión científica nacional o extranjero, tanto en forma impresa como electrónica. Cabe mencionar que se encuentra absolutamente prohibido la copia textual de texto proveniente de otros artículos y para la detección de plagio la Revista utiliza el software plag.es. Para la preparación de manuscritos, se siguen los requerimientos del International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE) disponible en <http://www.icmje.org>. Se pueden consultar guías para publicaciones en <http://www.equator-network.org>, en castellano en <http://www.espanol.equator-network.org>. Una vez aprobada la publicación del trabajo, ByPC retiene los derechos de su reproducción total o parcial. Quienes deseen reproducir material publicado en la revista deben solicitar permiso a ByPC. Igualmente, para incluir material de otras fuentes con derechos de autor en artículos a publicar en la revista, se debe obtener el correspondiente permiso, y adjuntar copia del mismo al artículo propuesto para publicación. Para mayor información respecto a los derechos de los autores, se recomienda consultar el documento disponible en: <http://www.accesoabierto.net/es/node/62>

#### 1. Descripción del proceso de revisión y edición

La modalidad de revisión es por pares académicos a doble ciego. Específicamente, la Comisión de Revista realiza una primera evaluación del trabajo recibido y lo envía a 2 revisores ajenos a la Asociación Bioquímica Argentina, quienes deben ser especialistas reconocidos en el área de incumbencia del trabajo y no deben pertenecer a la misma institución de los autores ni guardar alguna relación conocida con los mismos. Los artículos son enviados a los revisores sin el nombre de los autores, lugar de trabajo, dirección de correspondencia, ni los agradecimientos. Los revisores reciben el trabajo completo acompañado de un formulario guía para la realización de la revisión con tópicos que la Comisión de Revista considera imprescindibles para elaborar el dictamen final. La evaluación efectuada por los revisores debe ser remitida a la Comisión de Revista dentro de los 30 días. El dictamen de los revisores es reservado, así como su identidad, y debe fundamentarse de modo explícito. En caso de discrepancia en el dictamen de los revisores, la Comisión de Revista acudirá a un tercer revisor que cumpla los mismos requisitos que los anteriores. El dictamen es decidido por la Comisión de Revista y es comunicado a los autores. Los resultados del dictamen pueden ser: a) Aceptación sin necesidad de modificaciones adicionales; b) Sugerencia de cambios mayores; c) Sugerencia de cambios menores; y d) Rechazo. Las críticas efectuadas al trabajo, así como un eventual rechazo deben estar debidamente justificados. Los resultados de la evaluación son inapelables. Los autores deberán responder a las sugerencias efectuadas en un plazo no mayor a 30 días, salvo que por la naturaleza de las mismas se requiera de más tiempo. En dicho caso, deberán solicitarlo específicamente al Comisión de Revista.

Una vez que el trabajo ha sido aceptado y se ha efectuado la comunicación a los autores, se procede a la corrección de estilo y ortográfica del mismo, tanto en castellano como en inglés. A continuación, se elabora la prueba de galera, la cual es enviada a los autores, junto con instrucciones para efectuar la corrección de la misma. Los autores cuentan con 5 días hábiles para devolver la prueba de galera corregida.

Posteriormente se procede a la publicación del artículo siendo el auto-archivo posible inmediatamente después (versión post-print corregida). El tiempo transcurrido entre la aceptación del trabajo y la publicación del mismo oscila entre 3 y 5 meses.

#### 2. Requisitos para la remisión de manuscritos

- Doble espacio en todas las partes del manuscrito.
- Empezar cada sección o componente en una nueva página.
- Revisar la secuencia: título; autores; lugares de trabajo; datos del autor de correspondencia; resumen y palabras clave en castellano; título, resumen y palabras clave en inglés americano; introducción; materiales y métodos; resultados; discusión; agradecimientos, referencias bibliográficas, leyendas de las figuras; tablas; y figuras (cada uno en páginas separadas).
- Las ilustraciones no deben ser más grandes que 203 x 254 mm.
- Incluir los permisos para reproducir material publicado previamente o usar ilustraciones que pueden identificar a las personas.
- Incluir las transferencias de derechos de autor y otras solicitudes.

#### 3. Carta

Carta dirigida al Director de la Revista en la cual se solicita la publicación del artículo. Debe contener el título del trabajo, categoría a la cual pertenece (ver ítem 4), nombre y apellido de todos los autores, dirección, teléfonos y dirección de e-mail del autor de contacto, una dirección de e-mail alternativa, una frase con valor de declaración jurada en la que se manifieste que el artículo cumple con todos los requisitos de publicación en ByPC, y que la última versión del manuscrito ha sido leída y aprobada por todos los autores.

La recepción de trabajos se realizará mediante el sistema OJS en la web oficial de la Revista ByPC: <http://revista.aba-online.org.ar/>. No se aplicarán cargos por el envío de artículos ni por procesamiento (APC).

Cualquier duda podrá despejarse ingresando al instructivo o solicitar asistencia a: revista@aba.online.org.ar o revistabypc.aba@gmail.com.

#### 4. Categorías a las cuales deberán ser presentados los trabajos

- a) Artículos originales.
- b) Casos clínicos.
- c) Revisiones.
- d) Cartas al Editor.
- e) Informes.
- f) Guías o Consensos.

#### 5. Preparación de los manuscritos

##### 5.1. Generalidades:

El archivo deberá ser nombrado solamente con el apellido del primer autor y la leyenda "y col." si correspondiese [Ej.: Pérez y col]. El texto debe estar dividido en secciones con los títulos de Introducción, Materiales y Métodos, Resultados y Discusión. Los artículos extensos pueden requerir subtítulos dentro de algunas secciones (especialmente en las secciones de Resultados y Discusión) para aclarar sus contenidos. Debe estar escrito en procesador de texto Word, en tamaño de página A4, con márgenes de al menos 25 mm, empleando letra Arial tamaño 12. Usar doble espacio, incluyendo la página del título, resumen, texto, agradecimientos, referencias bibliográficas, tablas individuales y leyendas. Numerar las páginas consecutivamente empezando con la página del título. Poner el número de la página en la esquina inferior derecha de cada página.

##### 5.2. La primera página debe contener:

- a) El título que debe ser conciso pero informativo.
- b) El apellido y luego, separado por coma, los nombres completos de los autores, lo cual debe ir seguido de punto y coma, y los datos del siguiente autor. A continuación del nombre de cada autor, se debe colocar, a modo de superíndice, el número que haga referencia al lugar de trabajo al que pertenece dicho autor. El autor al cual debe ir dirigida la correspondencia debe ser destacado con un asterisco también a modo de superíndice [Ej.: Ramírez, Juan Carlos<sup>1\*</sup>; Benítez, Laura<sup>2</sup>; Romero, Mario<sup>3</sup>].
- c) Cada lugar de trabajo con el número asignado al autor correspondiente. No se deben emplear abreviaturas. Debe constar primero el nombre del servicio o laboratorio, luego el correspondiente al departamento y por último el de la institución, todo separado por comas y seguido de punto. A continuación, se debe incluir el nombre de la ciudad, la provincia y el país, también separados por comas y con punto final [Ej.: Laboratorio de Lípidos y Aterosclerosis, Departamento de Bioquímica Clínica, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina].
- d) Nombre completo del autor responsable de recibir la correspondencia, su lugar de trabajo, la dirección postal, y la dirección de e-mail.

##### 5.3. La segunda página debe contener:

- a) El resumen en castellano de no más de 250 palabras. Debe estar estructurado de la siguiente manera: introducción, objetivos, materiales y métodos, resultados y conclusiones. Se deben incluir dichos subtítulos de manera explícita. El resumen debe establecer los propósitos del estudio o investigación, procedimientos básicos (selección de los sujetos de estudio o animales de laboratorio; métodos de observación y analíticos), los hallazgos principales y las conclusiones más relevantes. Debería enfatizarse en los aspectos nuevos e importantes del estudio u observaciones. Se recomienda incluir los valores correspondientes a los hallazgos más relevantes acompañados de la forma de expresión de los mismos [Ej.: Media  $\pm$  D.E] y el tratamiento estadístico, si correspondiese. En el resumen no se deben utilizar abreviaturas.

- b) Palabras clave. Los autores deben colocar, e identificar como tales, tres a diez palabras clave o frases cortas que servirán para la indexación cruzada del artículo y deben ser publicadas con el artículo.

##### 5.4. La tercera página debe contener:

- a) Título en inglés americano. Debe cumplir los mismos requisitos que el título en castellano.
- b) Resumen en inglés americano (Abstract). Debe cumplir los mismos requisitos que el resumen en castellano e incluir los siguientes subtítulos: *introduction, objectives, materials and methods, results y conclusions*.
- c) Palabras clave en inglés americano (Key words). Deben cumplir los mismos requisitos que las palabras clave en castellano.

##### 5.5. Las páginas subsiguientes, comenzando cada sección en página aparte, deben contener:

- a) Introducción. En la introducción, se debe expresar el contexto o los antecedentes del estudio (por ejemplo, la naturaleza del problema y su importancia) y enunciar el propósito específico u objetivo de la investigación o la hipótesis que se pone a prueba en el estudio u observación. A menudo, la investigación se centra con más claridad cuando se plantea como pregunta. Tanto los objetivos principales como los secundarios deberán estar claros, y deberá describirse cualquier análisis de subgrupos predefinido. Se deben incluir sólo las referencias que sean estrictamente pertinentes y no añadir datos o conclusiones del trabajo que se presenta.
- b) Materiales y Métodos. Debe describir detalladamente los sujetos experimentales, el equipamiento, los reactivos y los procedimientos utilizados, con la inclusión de las marcas registradas cuando corresponda y referencias al utilizar métodos establecidos. Indicar las consideraciones éticas que correspondan si han participado en el estudio seres humanos (Aprobación por comités de ética y obtención de consentimiento informado). Se recomienda dividir la sección Materiales y Métodos mediante el empleo de subtítulos en el caso de ser demasiado extenso. Incluir una sección de "Análisis de datos" en la cual se describan las formas de expresión de los resultados y los métodos estadísticos empleados, si correspondiese. Estos deben ser descritos con suficiente detalle para permitir que un lector experto con acceso a los datos originales pueda comprobar los resultados que se presentan. Cuando sea posible, cuantificar los hallazgos y presentarlos con los indicadores de medida de error o de incertidumbre adecuados [como los intervalos de confianza]. Evitar basarse únicamente en la comprobación de hipótesis estadísticas, como el uso de valores P, que no dan información sobre la magnitud del efecto. Siempre que sea posible, las referencias sobre el diseño del estudio y los métodos estadísticos deberán corresponder a manuales o artículos clásicos (con los números de página incluidos). Definir también los términos estadísticos, abreviaturas y la mayoría de símbolos. Especificar el *software* utilizado.
- c) Resultados. Presentar los resultados siguiendo una secuencia lógica en el texto, tablas e ilustraciones, y destacando en primer lugar los hallazgos más importantes. No repetir en el texto los datos de las tablas o ilustraciones; resaltar o resumir sólo las observaciones más importantes. Los materiales extra o suplementarios y los detalles técnicos pueden situarse en un anexo donde se puedan consultar para no interrumpir la secuencia del texto. Cuando los datos se resumen en este apartado, los resultados numéricos no sólo deben presentarse los derivados (por ejemplo, porcentajes), sino también los valores absolutos a partir de los cuales se calcularon, y especificar los métodos estadísticos utilizados para analizarlos. Limitar el número de tablas y figuras a las estrictamente necesarias para ilustrar el tema del artículo y para evaluar su grado de apoyo. Usar gráficos como alternativa a las tablas con muchas entradas; no duplicar datos en los gráficos y tablas. Evitar usos no técnicos de términos

estadísticos, como “azar” (que implica un dispositivo de aleatorización), “normal,” “significativo,” “correlaciones” y “muestra”. Cuando sea científicamente adecuado, incluir análisis en función de variables como la edad y el sexo.

- d) **Discusión.** Destacar los aspectos más novedosos e importantes del estudio y las conclusiones que de ellos se deducen, contextualizándolos en el conjunto de las evidencias más accesibles. No repetir en detalle datos u otro material que aparezca en la Introducción o en el apartado de Resultados. En el caso de estudios experimentales, es útil empezar la discusión resumiendo brevemente los principales resultados; a continuación, explorar los posibles mecanismos o explicaciones de dichos hallazgos, comparar y contrastar los resultados con los de otros estudios relevantes, exponer las limitaciones del estudio, y explorar las implicaciones de los resultados para futuras investigaciones y para la práctica clínica. Relacionar las conclusiones con los objetivos del estudio, evitando hacer afirmaciones rotundas y sacar conclusiones que no estén debidamente respaldadas por los datos. En particular, evitar afirmaciones sobre los costes y beneficios económicos a menos que el manuscrito incluya datos económicos con sus correspondientes análisis. Evitar afirmaciones o alusiones a aspectos de la investigación que no se hayan llevado a término. Cabe la posibilidad de establecer nuevas hipótesis cuando tengan base, pero calificándolas claramente como tales.
- e) **Agradecimientos.** Una o más declaraciones deben especificar (a) Las contribuciones que necesitan agradecerse pero que no justifican una autoría, tales como apoyo general por una jefatura de departamento; (b) Agradecimientos al apoyo técnico; (c) Agradecimiento al apoyo financiero y material, que debe especificar la naturaleza del apoyo; (d) Las relaciones que pueden tener un conflicto de intereses. Las personas que han contribuido intelectualmente al artículo, pero cuyas contribuciones no justifican una autoría, pueden ser mencionadas y sus funciones o contribuciones pueden ser descritas -por ejemplo, “asesor científico”, “revisión crítica de los propósitos del estudio”, “recolección de información” o “participación en el ensayo clínico”; tales personas deben haber dado sus permisos para ser mencionadas. Los autores son responsables de obtener los permisos escritos de las personas a quienes se agradece, porque los lectores pueden inferir su endosamiento de la información y conclusiones. La ayuda técnica debe ser agradecida en un párrafo aparte de los agradecimientos de otras contribuciones.

## 6. Aspectos que deben tenerse en cuenta en la redacción del manuscrito (Normas Vancouver actualizadas al 2016)

### 6. 1. Citas bibliográficas:

Es la presentación textual o resumida, de ideas expresadas por otros autores que sirven de apoyo al investigador, se contraponen a lo que él dice o aportan mayor información sobre un tema determinado. Las citas son un tipo de texto incrustado en otro texto.

Las citas en estilo Vancouver por lo general utilizan un sistema de secuencia numérica. Son numeradas consecutivamente en el orden de aparición en el texto. Se identifican con números arábigos entre corchetes, ejemplo [1].

#### a) Tipo de citas

- **Cita directa:** La que se transcribe textualmente. Ejemplo: “La cita textual breve, de menos de cinco renglones, se inserta dentro del texto entre comillas, y el número correspondiente se coloca al final, después de las comillas y antes del signo de Puntuación” [3].
- **Cita corta:** Menos de cinco renglones.
- **Cita larga:** Más de cinco renglones. Se escribe fuera del texto, dejando doble espacio y sangría, entre comillas y en bastardilla.
- **Cita indirecta:** Mención de las ideas de un autor con palabras de quien escribe. Se escribe dentro del texto sin comillas, el número de

la referencia se escribe inmediatamente después de citar su idea. Ejemplo: La mortalidad infantil conduce a empeorar la calidad de vida de Medellín [5].

#### b) Tipo de cita según redacción

- **Cita integral:** Es aquella donde el nombre del autor forma parte de la oración. El nombre se integra dentro del texto. El número de la referencia se escribe después del apellido del autor y antes de citar su idea. Ejemplos:  
Como dice Londoño [5] la mortalidad infantil conduce a empeorar la calidad de vida de Medellín. Cita Indirecta  
Según Sanz Pinyol [1] “Desde el punto de vista de la caracterización de los discursos, en el aula suelen producirse diferentes géneros” Cita directa
- **Cita no integral:** No se menciona el nombre del autor dentro del texto. Ejemplos:  
É la mortalidad infantil conduce a empeorar la calidad de vida de Medellín [5]. Cita Indirecta  
“Desde el punto de vista de la caracterización de los discursos, en el aula suelen producirse diferentes géneros” [1]. Cita directa

### 6. 2. Referencias bibliográficas:

- Conjunto de datos suficientemente detallados que permite identificar un documento. Deben ser numeradas consecutivamente en el orden en que son mencionadas en el texto. Identificar las referencias en el texto, cuadros y leyendas con números arábigos entre corchetes. Las referencias citadas sólo en los cuadros o en las leyendas de las figuras deben ser numeradas de acuerdo con la secuencia establecida por la primera identificación en el texto del cuadro o figura particular.
- Usar el estilo basado en los formatos utilizados por el US National Library of Medicine (NLM) en el Index Medicus. Los títulos de las revistas deben ser abreviados de acuerdo al estilo que utiliza el Index Medicus. Consultar la lista de revistas indizadas en el Index Medicus, publicado anualmente como una separata por la NLM y como una relación en el volumen del mes de enero del Index Medicus.
- Evitar el uso de los resúmenes como referencias. Las referencias a artículos aceptados pero no publicados deben ser designadas como “en prensa” o “en avance”; los autores deben obtener permiso por escrito para citar tales artículos así como la verificación de que ellos han sido aceptados para publicación. La información de los manuscritos remitidos pero no aceptados debe ser citada en el texto como “observaciones no publicadas” con el consentimiento escrito de los autores.
- No citar una “comunicación personal” a menos que proporcione información esencial no disponible de una fuente pública, en cuyo caso el nombre de la persona y la fecha de la comunicación deben ser citados entre paréntesis en el texto. Para los artículos científicos, los autores deben obtener permiso por escrito y confirmación de exactitud de la fuente de la comunicación personal.
- Las referencias deben ser verificadas por el autor o autores en los documentos originales.
- El estilo de Requisitos Uniformes (de Vancouver) se basa principalmente en el estilo estándar ANSI adaptado por la NLM para su base de datos.

#### a) Artículos de revistas

- Mencionar los seis primeros autores seguidos por et al (Nota: la NLM ahora menciona hasta 25 autores; si hay más de 25 autores, la NLM menciona los 24 primeros, luego el último autor seguido de et al): Vega KJ, Pina I, Krevsky B. Heart transplantation is associated with an increased risk for pancreaticobiliary disease. Ann Intern Med 1996;jun 1; 124 (11): 980-3.  
Como una opción, si una revista lleva paginación continua a través de un volumen (como muchas revistas médicas lo hacen), el mes y el número del volumen pueden ser omitidos: Vega KJ, Pina I, Krevsky B. Heart transplantation is associated with an increased risk for pancreaticobiliary disease. Ann Intern Med 1996; 124: 980-3.

- Más de seis autores:  
Parkin DM, Clayton D, Black RJ, Masuyer E, Friedl HP, Ivanov E, et al. Childhood leukaemia in Europe after Chernobyl: 5 year follow-up. *Br J Cancer* 1996; 73: 1006-12.
  - La organización como autor:  
The Cardiac Society of Australia and New Zealand. Clinical exercise stress testing. Safety and performance guide-lines. *Med J Aust* 1996; 164:2824.
  - Sin autor mencionado:  
*Cancer in South Africa* [editorial]. *S Afr Med J* 1994; 84: 14.
  - Artículo no escrito en inglés:  
Ryder TE, Haukeland EA, Solhaug JH. Bilateral inftapatellar seneruptur hos tidligere frisk kv-vinne. *Tdsskr Nor Laegeforen* 1996; 116: 412.
  - Volumen con suplemento:  
Shen M Zhang QF. Risk assesement of nikel carcinogenicity and occupational lung cancer *Environ Health Perspect* 1994; 102 Suppl 1: 275-82.
  - Número con suplemento:  
Paybe DK, Sullivan ME, Massie MJ. Women's psychological reactions to breast cancer. *Semin Oncol* 1996; 23 (1 Suppl 2. 89-97).
  - Volumen con parte:  
Ozben T, Nacirharhan S, Tuncer N. Plasma and urine sialic acid in non-insulin dependent diabetes mellitus. *Ann Clin Biochem* 1995; 32 [Pt 3]: 303-6.
  - Número con parte  
People GH, Mills SM. One Hundred consecutive cases of flap lacerations of the leg in ageing patients. *N Z Med J* 1994;107 (986 PH): 377-8.
  - Número sin volumen  
Turan I, Wredmark T, Fellander-Tsai L. Arthroscopic ankle arthrodesis in rheumatoid arthritis. *Clin Orthop* 1995; (320): 110-4.
  - Sin número, ni volumen:  
Browell DA, Lennard TW. Immunologic status of the cancer patient and the effects of blood transfusion on antitumor responses. *Curr Opin Gen Surg* 1993; 325-33.
  - Compaginación en números romanos:  
Fisher GA, Sikie BI. Drug in clinical oncology and hematology. Introduction. *Hematol Oncol Clin North Am* 1995 Apr 9(2): xi xii.
  - Tipo de artículo indizado tal como es requerido:  
Enzensberger W, Fischer PA. Metronome in Parkinson's disease [carta]. *Lancet* 1996; 347 1337.
- Clement J, De Bock R. Hematological complications of hantavirus nephropathy (HVN) [resumen] *Kidney Int* 1992; 42: 1285.
- Artículo conteniendo una retractación:  
Garcy CE, Schwarzman AL, Rise ML. Ceruloplasmin gene defect associated with epilepsy in EL mice [retraction de Garey CE, Schwarzman AL, Rise ML. In: *Nat Genet* 1994; 6.: 426-31]. *Nat Genet* 1995,11: 104.
  - Artículo retractado:  
Liou GI, Wang M, Matragoon S. Precocious IRBPgene expression during mouse development [retractado en *Invest Ophthalmo Vis Sci* 1994; 35: 31271. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1994; 35: 1083-8.
  - Artículo con errata publicada:  
Hamlim JA, Kahn AM. Herniorraphy in symptomatic patients following inguinal hernia repair [publicado con errata en *West J Med* 1995; 162. 2781]. *West J Med* 1995; 162 28-31.
- b) Libros y otras monografías
- Autor [o autores] personal:  
Ringsven MK, Bond D. Gerontology and leadership skills for nurses. 2nd ed. Albany (NY): Delmar Publisher; 1996.
  - El editor(es), compilador(es) como autor:  
Norman IJ, Redfern SJ, editors. Mental health care for elderly people. New York; Churchill Livingstone; 1996.
  - Una organización como autor y editor:  
Institute of Medicine [US]. Looking at the future of the Medical program. Washington [DC]: The Institute; 1992).
- Un capítulo en un libro:  
Phillips SJ, Whisnant JP Hypertension and stroke. In: Laragh JH, Brenner BM, editors. *Hypertension: pathophysiology, diagnosis, and management*. 2nd ed. New York: Kaven Press; 1995. p. 465-78.
  - Libro de congreso:  
Kimura J, Shibasaki H, editors. Recent advances in clinical neurophysiology. Proceedings of the 10th International Congress of EMG and Clinical Neurophysiology; 199 Oct 1519; Kyoto, Japan. Amsterdam: Elsevier;1996.
  - Ponencia de un congreso:  
Bengtsson S, Solheim BG. Enforcement of data protection, privacy and security in medical informatics. In: Lun KC, Degouler P, Piemme TE, Rienhoff O, editors *MEDINFO 92 m Proceedings of the 7th World Congress on Medical Informatics*; 1992 Sep 6-10, Geneva, Switzerland. Amsterdam: North-Holland; 1992. p. 1561-5.
- c) Informe científico o técnico
- Emitido por la agencia financiante o auspiciadora:  
Smith P, Golladay K Payment for durable medical equipment billed during skilled nursing facility stays. Final report Dallas (TX): Dept. of Health and Human Services (US), Office of Evaluation and Inspections; 1994 Oct. Report N° HHSIGOEI69200860.
  - Emitido por la agencia ejecutante:  
Field MJ, Tranquada RE, FeasleyJC, editors. Health services research: work force and educational issues. Washington: National Academy Press; 1995. Contract N°AHCPR282942008. Sponsored by the Agency for Health Care Policy and Research.
- d) Disertación
- Kaplan SJ. Post-hospital home health care; the elderly's access and utilization [dissertation]. St Louis (MO): Washington Univ; 1995.
- e) Patente
- Larsen CE, Trip R, Johnson CR, inventors; Novoste Corporation, assignance. Methods for procedures related to the electrophysiology of the heart. US patent 5.529,067, 1995 Jun Material publicado.
- f) Artículo de periódico
- Lee G. Hospitalizations tied to ozone pollution: study estimates 5000 admissions annually. *The Washington Post* 1996; jun 21; Sect. A:3 [col5].
- g) Material audiovisual
- HIV+/AIDS: the facts and the future [videocassettel. St Louis (MO): Mosby-Year Book 1995.
- c) Material legal
- h) Ley Pública
- Preventive Health Amendments of 1993, PubL. N° 103-183,107Stat, 2226 [Dec. 14, 1993].
- i) Dispositivo no decretado
- Medical Records Confidentiality Act of 1995, S. 1360, 104th Cong. 1st Sess [1995].
- j) Código de regulaciones federales
- Informed Consent, 42 C.F.R. Sect. 441. 257 [1995].
- k) Material inédito
- En prensa o "en avance":  
Leshner AI. Molecular mechanisms of cocaine addiction. *N Eng J Med*. En prensa 1997
- l) Material electrónico
- Artículo de una revista en formato electrónico:  
Morse SS. Factors in the emergence of infections diseases. *Emerg Infect Dis* [serial on line] 1995 Jan-Mar [cited 1996 Jun 5], 1(1): [24 screens]. Available from: VRL: <http://www.cdc.gov/ncidod/EID/eid.htm>.
  - Monografía en formato electrónico:  
CDI, clinical dermatology illustrated [monograph on CD-ROM]. Reeves JRT, Malbach H, CMEA Multimedia Group, producers. 2nd ed. Version 20. San Diego: CMEA; 1995.
  - Archivo computarizado:  
*Hemodynamics 111: the ups and downs of hemodynamics* [computer

program]. Version 2.2 Orlando (FL): Computerized Educational Systems; 1993.

## 7. Tablas

Todas las tablas deben agruparse a continuación de las leyendas de las figuras, cada una en página separada. Deberán estar numeradas secuencialmente con números romanos, contener un título y aclaraciones al pie de la tabla, si fuese necesario. Al pie de cada tabla debe figurar la aclaración de las abreviaturas empleadas, así como toda la información relacionada con la forma de expresión de los resultados y el tratamiento estadístico que los autores consideren necesaria. Las tablas deben ser comprensibles por sí mismas. Para la elaboración de las tablas, se recomienda utilizar el procesador de texto Word y seleccionar el Estilo de Tabla "Tabla básica 1".

## 8. Figuras

Todas las figuras deben agruparse a continuación de las tablas, cada una en página separada. Deberán estar numeradas secuencialmente con números arábigos. Las fotografías y las figuras podrán tener colores, aunque en el caso de las figuras el fondo debe ser blanco. El título de las figuras no debe incluirse junto a las mismas sino en la sección "Leyendas de Figuras". En dicha leyenda debe incluirse el título de la figura, la aclaración de las abreviaturas empleadas y toda la información relacionada con la forma de expresión de los resultados y el tratamiento estadístico que los autores consideren necesaria. En caso de figuras, fotografías o tablas tomadas de otra publicación, se debe citar la fuente y además enviar el permiso escrito otorgado por el propietario intelectual de dicho material para que el mismo sea publicado en ByPC.

## 9. Revisiones, cartas al editor, informes guías y consensos

Las revisiones, cartas al editor, informes guías y consensos serán usualmente solicitados por el Comité Editorial de la Revista a autores considerados expertos en el campo, la disciplina o la especialidad en cuestión. Sin embargo, serán consideradas para su publicación las que fueran enviadas espontáneamente. Deberán seguir los lineamientos expuestos para la publicación de artículos originales, con la diferencia de que su texto no necesitará contar con resultados y discusión. En el caso particular de las revisiones, deben contener un mínimo de 20 referencias bibliográficas completas y actualizadas a los fines del tema tratado.

## 10. Ortografía y formas de expresión

- Se debe evitar la utilización de palabras en otros idiomas y, cuando ello sea indispensable, deberán ser colocadas en itálica [Ej.: *in vitro*].
- El estadístico "p" debe ser escrito en minúscula.
- En la expresión de los resultados, se debe dejar espacio entre la cifras y los símbolos o las unidades [Ej.:  $p < 0,05$ ;  $32 \pm 2 \text{ g/l}$ ].
- Unidades: se deben emplear las unidades utilizadas más frecuentemente en nuestro medio para cada analito [Ej.: glucosa, urea, ácido úrico, lípidos, lipoproteínas, apoproteínas en mg/dl].
- Las abreviaturas deben ser aclaradas la primera vez que aparecen en el texto ubicándolas entre paréntesis, a pesar de que se trate de abreviaturas ampliamente conocidas [Ej. hemoglobina (Hb)]. A su vez, siempre deben ir seguidas de un punto.
- En la expresión de los resultados, tanto la media como la mediana deben contener la misma cantidad de decimales que sus respectivos desvíos estándar, errores, percentilos o rangos [Ej.  $9,25 \pm 0,78$ ].
- En la expresión de los resultados, la separación entre el entero y los decimales se debe hacer mediante comas y no con puntos lo cual es propio del idioma inglés (3,25), excepto para el resumen en inglés (*Abstract*), en el cual se deben emplear puntos (3.25).
- En el texto, cuando un número aparece al principio de la oración, deberá ser escrito en letras [Ej. Veinte pacientes..].



# REVISTA BIOQUÍMICA Y PATOLOGÍA CLÍNICA

Por favor, tenga a bien responder las siguientes preguntas por SI o por NO y realice todos los comentarios que justifiquen su respuesta. Si lo considera necesario, puede agregar otros ítems no incluidos en el formulario.

Sus comentarios serán remitidos al autor sin identificar la fuente y sus sugerencias serán de gran ayuda para éste y para los editores de la Revista.

## Formulario Guía para la evaluación de manuscritos

SECCIÓN	SI/NO	COMENTARIOS		
<b>Título</b>				
¿Contiene el objeto de estudio y menciona las principales variables estudiadas?				
¿Emplea abreviaturas, acrónimos, símbolos o fórmulas poco conocidas?				
¿Es una representación breve y precisa del contenido del artículo?				
<b>Introducción</b>				
¿Están bien resumidos los antecedentes del tema de estudio y son pertinentes al mismo?				
¿Está claramente definido el objetivo principal?				
<b>Materiales y métodos</b>				
¿La población y / o muestra estudiada está claramente definida?				
¿Se menciona con claridad el diseño metodológico?				
¿Los métodos aplicados están desarrollados con claridad y suficientes detalles?				
¿El tratamiento estadístico es el adecuado?				
<b>Resultados</b>				
¿Los datos están bien presentados?				
¿Las tablas, las figuras y los gráficos son comprensibles?				
¿Existen tablas, gráficos o figuras que deban cambiarse, eliminarse o ser agregados?				
¿Existe duplicación de la información entre el texto, las tablas, las figuras y/o gráficos?				
<b>Discusión</b>				
¿Los resultados son adecuadamente discutidos?				
¿Se confrontan con referencias actualizadas de otros autores pertinentes?				
¿Existen errores de cálculo, interpretación u omisión?				
<b>Conclusiones</b>				
¿Las conclusiones se soportan en los datos obtenidos?				
¿Son correctas y acordes al objetivo planteado para este estudio?				
<b>Referencias bibliográficas</b>				
¿Se mencionan completamente todas las referencias bibliográficas citadas en el trabajo?				
¿Se consignan con el formato establecido para la revista?				
<b>Modificaciones sugeridas y recomendaciones para el/los autor/es</b>				
<b>Comentarios exclusivos para el editor</b>				
Dictamen	Aceptar <input type="checkbox"/>	Aceptar con cambios menores <input type="checkbox"/>	Aceptar con cambios mayores <input type="checkbox"/>	Rechazar <input type="checkbox"/>

# PUBLICATIONS REGULATION

## BIOCHEMICAL AND CLINICAL PATHOLOGY JOURNAL

### BIOCHEMICAL ASSOCIATION ARGENTINA

Biochemistry and Clinical Pathology (ByPC) is the Journal of the Argentine Biochemical Association, it aims to divulge unpublished and original articles related to applications of clinical biochemistry and its specialties like healthcare and human clinical research, as well as in biochemistry animal and vegetable. ByPC is intended for all health professionals interested in these areas. ByPC is published quarterly in both formats, printed [ISSN 1515-6761] and electronic [ISSN 2684-0359], cost free for the authors and has no commercial purposes.

#### **ByPC Magazine Commission Members**

##### **Director:**

Dr. Fernando D. Brites

Pharmacy and Biochemistry Faculty, Buenos Aires University. National Council for Scientific and Technical Research. Buenos Aires City, Argentina.

##### **Scientific Secretary:**

Dr. Fabrina Capece

Pedro Elizalde Children's Hospital. Buenos Aires City. Health Ministry, Buenos Aires province, Argentina.

##### **Editorial Committee:**

Dr. Orlando Gabriel Carballo

Laboratorio Rossi. Instituto Universitario, Hospital Italiano de Buenos Aires. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

Dra. Isabel Desimone

Evita Hospital, Lanús, Buenos Aires province. Kennedy University, Buenos Aires City, Argentina.

Dr. Jaime Kovensky

Dr. Arturo Umberto Illia Hospital, Buenos Aires City, Argentina. La Matanza National University, Buenos Aires province, Argentina.

Dr. Julián Verona

Dr. Felipe Fossati Hospital. Buenos Aires province, Argentina.

##### **Language checker**

Lic. Débora Schmer Miranda (Spanish)

Lic. María Victoria González Eusevi (English)

##### **Administrative Secretaries**

Mr. Gastón Goldberg

Mr. Jorge Signorelli

The works sent to the ByPC magazine must not have been published or be published simultaneously in other magazines and bodies of national or foreign scientific dissemination, in printed and electronic form. It is worth mentioning that textual copying of text from other articles is absolutely prohibited. For the detection of plagiarism the ByPC Magazine uses the plag.es software. For the preparation of manuscripts follow the requirements of the International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE) available at <http://www.icmje.org>. Guides for publications can be consulted at <http://www.equatornetwork.org>, available in Spanish at <http://www.espanol.equator-network.org>. Once the publication of the work has been approved, ByPC retains the rights to its total or partial reproduction. Those who wish to reproduce material published in the magazine must request permission from ByPC. Likewise, to include material from other sources with copyright in articles to be published in the journal, the corresponding permission must be obtained, and a copy of it must be attached to the article proposed for publication. For more information regarding the rights of the authors, it is recommended to consult the document available at <http://www.accesoabierto.net/es/node/62>.

#### **1. Description of the revision and editing process**

The review modality is by double-blind academic peers. Specifically, the Journal Commission carries out a first evaluation of the work received and sends it to two reviewers outside the Argentine Biochemical Association, who must be recognized specialists in the area of responsibility for the work. They must not belong to the same institution as the authors of the article or have any known relationship with them. Articles are sent to the reviewers without the name of the authors, workplace, address of correspondence, nor the thanks, safeguarding anonymity. The reviewers receive the complete work accompanied by a guide form for the review with topics that the Magazine Commission considers essential to prepare the final opinion. The evaluation made by the reviewers must be sent to the Magazine Commission within the following 30 days. The opinion of the reviewers must be explicitly based, it is reserved, as well as their identity. In case of discrepancy in the opinion, the Review Commission will go to a third reviewer who meets the same requirements as the previous ones. The opinion is decided by the Magazine Commission and is communicated to the authors. The results of the opinion can be: a) Acceptance without the need for additional modifications; b) Suggestion of major changes; c) Suggestion of minor changes; and d) Rejection. The criticisms made of the work, as well as an eventual rejection, must be duly justified. The evaluation results are final. The authors must respond to the suggestions made within a period not exceeding 30 days from the receipt thereof, except that due to the nature of the suggestions, a longer period of time is required. In this case, they must specifically request it from the Magazine Commission. Once the work has been accepted and communication has been made to the authors, the style and spelling correction is carried out, in both Spanish and English. Next, the galley test is prepared, which is sent to the authors, along with the instructions to make the correction. The authors have 5 working days to send the corrected galley proof to the Magazine. After the article is published, I feel the possible self-archiving immediately afterwards (post-print version corrected). The time elapsed between accepting the job and publishing it ranges from 3 to 5 months.

#### **2. Requirements for the submission of manuscripts**

- Double space in all parts of the manuscript (double line spacing).
- Start each section or component on a new page.
- Review the sequence: title; authors; work places; details of the author of the correspondence; abstract and keywords in castilian; title, abstract and keywords in American English; introduction; materials and methods; results; discussion; acknowledgments, bibliographic references, figure legends; boards; and figures (each on separate pages).
- Illustrations must be no larger than 203 x 254 mm.
- Include permissions to reproduce previously published material or use illustrations that can identify people.
- Include copyright transfers and other requests.

#### **3. Letter**

Letter addressed to the Director of the Magazine in which the publication of the article is requested. It must contain the title of the work, the category to which it belongs (see item 4), name and surname of all the authors, address, telephone numbers and e-mail address of the contact author, an alternative e-mail address, a phrase with the value of an affidavit stating that the article meets all the publication requirements in ByPC, and that the latest version of the manuscript has been read and approved by all the authors. The works should be done through the OJS system on the official website of the ByPC Magazine: <http://revista.aba-online.org.ar/>. No work will be received outside of this system. There are no item shipping or processing charges [APC]. Any questions can be cleared by entering the instructions or request assistance to [revista@aba-online.org.ar](mailto:revista@aba-online.org.ar) or [revistabypc.aba@gmail.com](mailto:revistabypc.aba@gmail.com). dne

#### 4. Categories to which the works must be submitted

- a) Original articles
- b) Clinical cases
- c) Reviews
- d) Letters to the Editor
- e) Reports
- f) Guides or Consensus

#### 5. Preparation of the manuscripts

##### 5.1. Overview:

The file should be named only with the last name of the first author and the legend "y col." if applicable (Ex.: Pérez et al.). The text should be divided into sections, with the titles of Introduction, Materials and Methods, Results and Discussion. Long articles may require subtitles within some sections (especially in the Results and Discussion sections) to clarify their content. Must be written in Word word processor, in A4 page size, with margins of at least 25 mm, using Arial font size 12. Use double space (double line spacing), including title page, abstract, body text of the manuscript, acknowledgments, bibliographic references, individual tables and legends. Number the pages consecutively starting with the title page. Put the page number in the lower right corner of each page.

##### 5.2. The first page must contain:

- a) The title that must be concise but informative.
- b) The surname and then, separated by a comma, the names of authors' full, which must be followed by a semicolon, and the data of the next author. Following the name of each author, the number that refers to the workplace to which the author belongs, as a superscript. The author to whom the correspondence should be addressed should be highlighted with an asterisk also as a superscript (Ex.: Ramírez, Juan Carlos1\*; Benitez, Laura2; Romero, Mario3).
- c) Each workplace with the number assigned to the corresponding author. Abbreviations should not be used. The name of the service or laboratory must first appear, then the department or section, and finally the institution, all separated by commas and followed by period. Next, the name of the city, province and country must be included, also separated by commas and with an end point (Ex: Lipid and Atherosclerosis Laboratory, Department of Clinical Biochemistry, Faculty of Pharmacy and Biochemistry, University of Buenos Aires, Autonomous City of Buenos Aires, Argentina).
- d) Full name of the author responsible for receiving the correspondence, their place of work, the postal address, and the e-mail address.

##### 5.3. The second page must contain:

- a) The summary in Spanish of no more than 250 words. It must be structured as follows: introduction, objectives, materials and methods, results and conclusions. Such subtitles must be explicitly included. The abstract should establish the purposes of the study or investigation, basic procedures (selection of study subjects or laboratory animals; observation and analytical methods), the main findings and the most relevant conclusions. Emphasis should be placed on new and important aspects of the study or observations. It is recommended to include the values corresponding to the most relevant findings accompanied by the form of expression thereof (Ex.: Mean  $\pm$  SD) and statistical treatment, if applicable. Abbreviations should not be used in the abstract.
- b) Keywords. Authors should place, and identify as such, three to ten keywords or short phrases that will serve to cross-index the article and must be published with the article.

##### 5.4. The third page must contain:

- a) Title in American English. Must meet the same requirements as the title in Spanish.
- b) Summary in American English, titled with the word Abstract. It must meet the same requirements as the abstract in Spanish and include the following subtitles: introduction, objectives, materials and methods, results and conclusions.
- c) Key words in American English (Key words). They must meet the same requirements as the keywords in Spanish.

##### 5.5. Subsequent pages, beginning each section on a separate page, must contain:

- a) Introduction. In the introduction, you should express the context or background of the study (for example, the nature of the problem and its importance) and state the specific or objective purpose of the research or the hypothesis that is tested in the study or observation. Often the research focuses more clearly when asked as a question. Both the primary and secondary objectives should be clear. Only bibliographic references that are strictly relevant should be included and no data or conclusions from the work presented should be added.
- b) Materials and Methods. You should describe in detail the experimental subjects, equipment, reagents, and procedures used, including trademarks where applicable and references when using established methods. Indicate the ethical considerations that apply if human beings have participated in the study (approval by Ethics Committees and obtaining Informed Consent). It is recommended to divide the Materials and Methods section by using subtitles if it is too long. Include a "Data analysis" section in which the forms of expression of the results and the statistical methods used are described, if applicable. These should be described in sufficient detail to allow an expert reader with access to the original data to verify the results presented. Whenever possible, quantify the findings and present them with appropriate measurement indicators of error or uncertainty (such as confidence intervals). Avoid relying solely on the testing of statistical hypotheses, such as the use of P values, which do not give information on the magnitude of the effect. Whenever possible, references to study design and statistical methods should correspond to classic manuals or articles (with page numbers included). Also define statistical terms, abbreviations and most symbols. Specify the software used and the sample size calculation (if applicable).
- c) Results. Present the results following a logical sequence in the text, tables and illustrations, and highlighting the most important findings first. Do not repeat the data in the tables or illustrations in the text; highlight or summarize only the most important observations. Extra or supplementary materials and technical details can be placed in an annex where they can be consulted for non-interrupt the text sequence. Limit the number of tables and figures to those strictly necessary to illustrate the topic of the article and to assess its degree of support. Use graphics as an alternative to tables with many inputs; do not duplicate data in graphs and tables. Avoid non-technical uses of statistical terms, such as "chance" (which implies a randomization device), "normal," "significant," "correlations" and "sample". When scientifically appropriate, include analysis based on variables such as age and sex.
- d) Discussion. To highlight the most novel and important aspects of the study and the conclusions that are deduced from them, contextualizing them in the set of the most accessible evidences. Do not repeat in detail data or other material that appears in the Introduction or in the Results section. In the case of experimental studies, it is useful to start the discussion by briefly summarizing the main results; next, explore the possible mechanisms or explanations of these findings, compare and contrast the results

with those of other relevant studies, expose the limitations of the study, and explore the implications of the results for future research and clinical practice. Relate the conclusions to the objectives of the study, avoiding making clear statements and drawing conclusions that are not properly supported by the data. In particular, avoid claims about economic costs and benefits unless the manuscript includes economic data with its corresponding analyses. Avoid claims or allusions to aspects of the investigation that have not been completed. It is possible to establish new hypotheses when they are based, but clearly qualifying them as such.

e) Acknowledgments. One or more statements must specify (a) Contributions that need to be thanked but do not warrant authorship, such as general support by a department head; (b) Thanks to technical support; (c) Acknowledgment of the financial and material support, which must specify the nature of the support; (d) Relationships that may have a conflict of interest. People who have contributed intellectually to the article, but whose contributions do not justify authorship, can be mentioned and their functions or contributions can be described -for example, "scientific advisor", "critical review of the study's purposes", "information gathering" or "participation in the clinical trial"; such persons must have given their permissions to be mentioned. Authors are responsible for obtaining the written permissions of those whom they are thanked, because readers can infer their endorsement of the information and conclusions. Technical assistance should be appreciated in a paragraph apart from the acknowledgments of other contributions.

## 6. Aspects that must be taken into account in the writing of the manuscript (Vancouver Rules updated to 2016)

### 6. 1. Bibliographic citations:

It is the textual or summarized presentation of ideas expressed by other authors that support the researcher, they are opposed to what he says or provide more information on a given topic. Quotations are a type of text embedded in other text. Vancouver-style dating usually uses a number sequence system. They are numbered consecutively in the order of appearance in the text. They are identified by Arabic numbers in square brackets, example [1].

#### a) Type of appointments

- Direct quote: The one that is transcribed verbatim. Example: "The short textual quotation, of less than five lines, is inserted within the text in quotation marks, and the corresponding number is placed at the end, after the quotation marks and before the Punctuation mark" [3].
- Short appointment: Less than five lines.
- Long appointment: More than five lines. It is written outside the text, leaving double space and indentation, between quotation marks and italics.
- Indirect citation: Mention of the ideas of an author in the words of the writer. It is written inside the text without quotes, the reference number is written immediately after quoting your idea. Example: Infant mortality leads to worsening quality of life in Medellín [5].

#### b) Type of appointment according to wording

- Full quote: It is the one where the author's name is part of the sentence. The name is integrated into the text. The reference number is written after the author's last name and before citing her idea.

Examples:

As Londoño [5] says infant mortality leads to worsening the quality of life in Medellín. Indirect Quote

According to Sanz Pinyol [1] "From the point of view of the char-

acterization of discourses, different genres tend to occur in the classroom" Direct quote

- Non-integral quote: The author's name is not mentioned in the text. Examples:

... infant mortality leads to worsening the quality of life in Medellín [5]. Indirect Quote

"From the point of view of the characterization of discourses, different genres tend to occur in the classroom" [1]. Direct appointment

### 6. 2. Bibliographic references:

- Sufficiently detailed data set to identify a document. They must be numbered consecutively in the order in which they are mentioned in the text. Identify the references in the text, tables and legends with Arabic numbers between square brackets. References cited only in the tables or in the legends of the figures must be numbered according to the sequence established by the first identification in the text of the particular table or figure.
- Use the style based on the formats used by the US National Library of Medicine (NLM) in the Index Medicus. Journal titles should be abbreviated according to the style used by the Index Medicus. Consult the list of journals indexed in the Index Medicus, published annually as a reprint by the NLM and as a relation in the January volume of the Index Medicus.
  - Avoid using abstracts as references. References to accepted but unpublished articles should be designated as "in press" or "in advance"; Authors must obtain written permission to cite such articles as well as verification that they have been accepted for publication. The information of the manuscripts submitted but not accepted must be cited in the text as "unpublished observations" with the written consent of the authors.
  - Do not quote a "personal communication" unless you provide essential information not available from a public source, in which case the name of the person and the date of the communication must be cited in parentheses in the text. For scientific articles, authors must obtain written permission and confirmation of accuracy from the source of the personal communication.
- References must be verified by the author or authors in the original documents.
- The Uniform Requirements (Vancouver) style is based primarily on the ANSI standard style adapted by the NLM for its database.

#### a) Journal articles

- Mention the first six authors / es followed by et al (Note: the NLM now mentions up to 25 authors; if there are more than 25 authors, the NLM mentions the first 24, then the last author / a followed by et al): Vega KJ, Pina I, Krevsky B. Heart transplantation is associated with an increased risk for pancreatobiliary disease. *Ann Intern Med* 1996 Jun 1; 124 [11]: 980-3. As an option, if a journal carries continuous paging through a volume (as many medical journals do), the month and volume number may be omitted: Vega KJ, Pina I, Krevsky B. Heart transplantation is associated with an increased risk for pancreatobiliary disease. *Ann Intern Med* 1996; 124: 980-3.
- More than six authors: Parkin DM, Clayton D, Black RJ, Masuyer E, Friedl HP, Ivanov E, et al. Childhood leukaemia in Europe after Chernobyl: 5 year follow-up. *Br J Cancer* 1996; 73: 1006-12.
- The organization as author: The Cardiac Society of Australia and New Zealand. Clinical exercise stress testing. Safety and performance guide-lines. *Med J Aust* 1996; 164: 2824.
- Without mentioned author: Cancer in South Africa [editorial]. *S Afr Med J* 1994; 84: 14.
- Article not written in English:

- Ryder TE, Haukeland EA, Solhaug JH. Bilateral infatpatellar sen-  
eruptur hos tidligere frisk kv-vinne. *Tdsskr Nor Laegeforen* 1996;  
116: 412.
- Volume with supplement:  
Shen M Zhang QF. Risk assesement of nikel carcinogenicity and  
occupational lung cancer *Environ Health Perspect* 1994; 102 Sup-  
pl 1: 275-82.
  - Number with supplement:  
Paybe DK, Sullivan ME, Massie MJ. Women's psychological reac-  
tions to breast cancer. *Semin Oncol* 1996; 23 [1 Suppl 2: 89-97].
  - Volume with part:  
Ozben T, Nacirarhan S, Tuncer N. Plasma and urine sialic acid in  
non-insulin dependent diabetes mellitus. *Ann Clin Biochem* 1995;  
32 [Pt 3]: 303-6.
  - Number with part  
People GH, Mills SM. One Hundred consecutive cases of flap lacera-  
tions of the leg in aging patients. *N Z Med J* 1994; 107 [986 PH]:  
377-8.
  - Number without volume  
Turan I, Wredmark T, Fellander-Tsai L. Arthroscopic ankle arthrodi-  
esis in rheumatoid arthritis. *Clin Orthop* 1995; [320]: 110-4.
  - No number, no volume:  
Browell DA, Lennard TW. Immunologic status of the cancer patient  
and the effects of blood transfusion on antitumor responses. *Curr  
Opin Gen Surg* 1993; 325-33.
  - Collation in Roman numerals:  
Fisher GA, Sikie BI. Drug in clinical oncology and hematology. Intro-  
duction. *Hematol Oncol Clin North Am* 1995 Apr 9 [2]: xi xii.
  - Type of article indexed as required:  
Enzensberger W, Fischer PA. Metronome in Parkinson's disease  
[letter]. *Lancet* 1996; 347 1337.  
Clement J, De Bock R. Hematological complications of hantavirus  
nephropathy (HVN) [abstract] *Kidney Int* 1992; 42: 1285.
  - Article containing a retraction:  
Garcy CE, Schwarzman AL, Rise ML. Ceruloplasmin gene defect as-  
sociated with epilepsy in EL mice [retraction of Garey CE, Schwarz-  
man AL, Rise ML. In: *Nat Genet* 1994; 6: 426-31]. *Nat Genet* 1995,  
11: 104.
  - Retracted article:  
Liou GI, Wang M, Matragoon S. Precocious IRBP gene expression  
during mouse development [retracted in *Invest Ophthalmol Vis Sci*  
1994; 35: 31271. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1994; 35: 1083-8.
  - Article with errata published:  
Hamlim JA, Kahn AM. Herniorraphy in symptomatic patients follow-  
ing inguinal hernia repair [published with typo in *West J Med* 1995;  
162: 2781]. *West J Med* 1995; 162 28-31.
- b) Books and other monographs
- Personal author [or authors]:  
Ringsven MK, Bond D. *Gerontology and leadership skills for nurses*.  
2nd ed. Albany (NY): Delmar Publisher; nineteen ninety six.
  - The editor [s], compiler [s] as author:  
Norman IJ, Redfern SJ, editors. *Mental health care for elderly peo-  
ple*. New York; Churchill Livingstone; nineteen ninety six.
  - An organization as author and editor:  
Institute of Medicine (US). *Looking at the future of the Medical pro-  
gram*. Washington (DC): The Institute; 1992].
  - A chapter in a book:  
Phillips SJ, Whisnant JP. Hypertension and stroke. In: Laragh JH,  
Brenner BM, editors. *Hypertension: pathophysiology, diagnosis, and  
management*. 2nd ed. New York: Kaven Press; 1995. p. 465-78.
  - Congress book:  
Kimura J, Shibasaki H, editors. *Recent advances in clinical neu-  
rophysiology. Proceedings of the 10th International Congress of  
EMG and Clinical Neurophysiology*; 199 Oct 1519; Kyoto, Japan.  
Amsterdam: Elsevier; 1996.
  - Presentation of a congress:  
Bengtsson S, Solheim BG. Enforcement of data protection, pri-  
vacy and security in medical informatics. In: Mon KC, Degouler P,  
Piemme TE, Rienhoff O, editors *MEDINFO 92 m Proceedings of the  
7th World Congress on Medical Informatics*; 1992 Sep 6-10, Ge-  
neva, Switzerland. Amsterdam: North-Holland; 1992. p. 1561-5.
- c) Scientific or technical report
- Issued by the funding or sponsoring agency:  
Smith P, Golladay K. Payment for durable medical equipment billed  
during skilled nursing facility stays. Final report Dallas (TX): Dept.  
of Health and Human Services (US), Oficce of Evaluation and In-  
spections; 1994 Oct. Report N ° HHSIGOEI69200860.
  - Issued by the executing agency:  
Field MJ, Tranquada RE, Feasley JC, editors. *Health services re-  
search: work force and educational issues*. Washington: National  
Academy Press; 1995. Contract No. AHCPR282942008. Sponsored  
by the Agency for Health Care Policy and Research.
- d) Dissertation
- Kaplan SJ. Post-hospital home health care; the elderly's access  
and utilization [dissertation]. St Louis (MO): Washington Univ;  
nineteen ninety five.
- e) Patent
- Larsen CE, Trip R, Johnson CR, inventors; Novoste Corporation, as-  
signance. Methods for procedures related to the electrophysiol-ogy  
of the heart. US patent 5,529,067, 1995 Jun Published material.
- f) Newspaper article
- Lee G. Hospitalizations tied to ozone pollution: study estimates  
5000 admissions annually. *The Washington Post* 1996; Jun 21;  
Sect. A: 3 [col5].
- g) Audiovisual material
- HIV + / AIDS: the facts and the future [videocassetel. St Louis  
(MO): Mosby-Year Book 1995.
- c) Legal material
- h) Public Law
- Preventive Health Amendments of 1993, Publ. No. 103-183,107  
Stat, 2226 [Dec. 14, 1993].
- i) Device not decreed
- Medical Records Confidentiality Act of 1995, S. 1360, 104th Cong.  
1st Sess [1995].
- j) Code of Federal Regulations
- Informed Consent, 42 C.F.R. Sect. 441. 257 [1995].
- k) Unpublished material
- In press or "in advance":  
Leshner AI. Molecular mechanisms of cocaine addiction. *N Eng J  
Med*. In press 1997
- l) Electronic material
- Article of a magazine in electronic format:  
Morse SS. Factors in the emergence of infections diseases. *Emerg In-  
fect Dis* [serial on line] 1995 Jan-Mar [cited 1996 Jun 5], 1 [1]: [24  
screens]. Available from: VRL: <http://www.cdc.gov/ncidod/EID/eid.htm>.
  - Monograph in electronic format:  
CDI, clinical dermatology illustrated [monograph on CD-ROM].  
Reeves JRT, Malbach H, CMEA Multimedia Group, producers. 2nd  
ed. Version 20. San Diego: CMEA; nineteen ninety five.
  - Computerized file:  
Hemodynamics 111: the ups and downs of hemodynamics [com-  
puter program]. Version 2.2 Orlando (FL): Computerized Educati-  
onal Systems; 1993.

## 7. Tables

All tables should be grouped after the legends of the figures, each  
on a separate page. They should be sequentially numbered with Ro-  
man numerals, contain a title and clarifications at the bottom of the

table, if necessary. At the bottom of each table should be the clarification of the abbreviations used, as well as all the information related to the form of expression of the results and the statistical treatment that the authors consider necessary. Tables must be understandable by themselves. For the elaboration of the tables, it is recommended to use the Word word processor and select the Table Style "Basic Table 1".

## 8. Figures

All figures should be grouped after the tables, each on a separate page. They must be numbered sequentially with Arabic numerals. Photographs and figures may have colors, although in the case of figures the background must be white. The title of the figures should not be included with them but in the section "Legends of Figures". This legend should include the title of the figure, the clarification of the abbreviations used and all the information related to the form of expression of the results and the statistical treatment that the authors consider necessary. In the case of figures, photographs or tables taken from another publication, the source must be cited and the written permission granted by the intellectual owner of said material must also be sent so that it can be published in ByPC.

## 9. Reviews, letters to the editor, guide reports and consensus

Reviews, letters to the editor, guide reports and consensus will usually be requested by the Editorial Committee of the Journal from authors considered experts in the field, discipline or specialty in question. However, they will be considered for your. Reviews, letters to the editor, guide reports and consensus will usually be requested by the Editorial Committee of the Journal from authors considered experts in the field, discipline or specialty in question. However, those that were sent spontaneously will be considered for publication. They must follow the guidelines set forth for the publication of original articles, with the difference that their text will not need to have results and discussion. In the particular case of the reviews, they must contain a minimum of 20 complete and updated bibliographic references for the purposes of the topic covered.

## 10. Spelling and forms of expression

- The use of words in other languages should be avoided and, when this is essential, they should be placed in italics (eg *in vitro*).
- The "p" statistic must be written in lowercase.
- In the expression of the results, space must be left between the figures and the symbols or units (eg:  $p < 0.05$ ;  $32 \pm 2 \text{ g/l}$ ).
- Units: the units most frequently used in our environment must be used for each analyte (eg glucose, urea, uric acid, lipids, lipoproteins, apoproteins in mg / dl).
- Abbreviations must be clarified the first time they appear in the text, placing them in parentheses, despite the fact that they are widely known abbreviations (eg hemoglobin (Hb)). In turn, they should always be followed by a point.
- In the expression of the results, both the mean and the median must contain the same number of decimals as their respective standard deviations, errors, percentiles, or ranges (eg  $9.25 \pm 0.78$ ).
- In the expression of the results, the separation between the integer and the decimals must be done with commas and not with dots, which is typical of the English language (3.25), except for the English summary (Abstract) which points should be used (3.25).
- In the text, when a number appears at the beginning of the sentence, it must be written in letters (Ex. Twenty patients ..).



Please, answer the following questions YES or NO and make all the comments that justify your answer.

If you consider it necessary, you can add other items not included in the form. Your comments will be forwarded to the author without identifying the source and your suggestions will be of great help to him / her and to the editors of the Journal.

### Guidance form for manuscript evaluation

SECTION	YES/NO	COMMENTS
<b>Title</b>		
Does it contain the object of study and mention the main variables studied?		
Do you use little-known abbreviations, acronyms, symbols, or formulas?		
Is it a brief and accurate representation of the content of the article?		
<b>Introduction</b>		
Are the background of the study topic well summarized and relevant to it?		
Is the main objective clearly defined?		
<b>Materials and methods</b>		
Is the population and / or sample studied clearly defined?		
Is the methodological design clearly mentioned?		
Are the applied methods developed clearly and in sufficient detail?		
Is the statistical treatment appropriate?		
<b>Results</b>		
Is the data well presented?		
Are the tables, figures and charts understandable?		
Are there tables, charts, or figures that need to be changed, removed, or added?		
Is there duplication of information between text, tables, figures and / or graphics?		
<b>Discussion</b>		
Are the results adequately discussed?		
Are they confronted with updated references from other relevant authors?		
Are there errors in calculation, interpretation or omission?		
<b>Conclusions</b>		
Are the conclusions supported by the data obtained?		
Are they correct and consistent with the objective set for this study?		
<b>Bibliographic references</b>		
Are all bibliographic references cited in the work fully mentioned?		
Are they reported in the format established for the magazine?		

# Control del cumplimiento las normas éticas en la investigación clínica, una tarea impostergable

Si bien los experimentos que realizaron los médicos nazis durante la segunda guerra mundial no son el primer ejemplo de ensayos nocivos con sujetos humanos sin su consentimiento, no tenían precedentes en cuanto al alcance, proporción de daños y sufrimiento a los que se sometió a dichos sujetos. En diciembre de 1946, el Tribunal de Crímenes de Guerra en Nüremberg acusó a 20 médicos y 3 administradores por su participación voluntaria en la tortura sistemática, la mutilación y la matanza de prisioneros durante los experimentos. Dictaminó que los acusados habían subvertido los principios éticos de la profesión médica y científica y violado reiterada y deliberadamente los derechos de los sujetos humanos. El tribunal condenó las acciones de estos acusados como crímenes de lesa humanidad. En el veredicto de agosto de 1947, los jueces incluyeron una sección llamada “Experimentos médicos permisibles”. Esta sección se conoció como el *Código de Nüremberg* y fue el primer código internacional de ética de la investigación. A esta iniciativa, la siguió la declaración de la Asociación Médica Mundial conocida como la *Declaración de Helsinki*, redactada en 1964, que tuvo sucesivas enmiendas (Tokio 1975, Venecia 1983, Hong Kong 1989, Sudáfrica 1996, Edimburgo 2000, Tokio 2004 y Brasil 2013).

En 1966, H.K. Beecher publicó un estudio en *New England Journal of Medicine* titulado «La ética y la investigación clínica». El autor revisó unos 22 estudios que, en su opinión, habían sido realizados violando los principios de la Declaración de Helsinki por investigadores establecidos y respetados y que fueron publicados en revistas científicas prestigiosas. Las fallas más frecuentemente señaladas fueron un diseño del estudio cuestionable y la falta de consentimiento informado.

El estudio Beecher tuvo un impacto importante en el público general, y poco después (en su mayoría, a través de la prensa), se fueron descubriendo otros casos de investigaciones cuestionables. Entre ellos, el más conocido fue el estudio longitudinal de Tuskegee, que tenía como objetivo estudiar la evolución natural de la sífilis. Este estudio había sido iniciado en 1932 con 300 participantes afroamericanos, de escaso nivel educativo, y 300 controles. Cuando se comenzó con la producción industrial de la penicilina en 1943, y esta estuvo disponible para el público general a principios de los años 1950, los investigadores no informaron a los participantes con sífilis y continuaron la observación pasiva hasta 1966, año en que se realizó una auditoría local del estudio. Se identificaron varias faltas graves a la ética, y los auditores recomendaron el cese inmediato del estudio y, en un mayor nivel, se mostraron a favor de un sistema de regulación federal de la investigación científica

en seres humanos.

A partir de allí, comienza un enorme debate que culminó con el *Informe Belmont* de 1979, redactado por la Comisión Nacional para la Protección de los Sujetos Humanos de Investigación Biomédica y Comportamental de E.E.U.U. Este es el documento base que contiene los principios éticos que deben regir una investigación científica: respeto a las personas, beneficencia y justicia.

En la mayoría de las investigaciones en las que se emplean sujetos humanos, el respeto a las personas exige que los sujetos ingresen a la investigación voluntariamente y con la información adecuada. Sin embargo, en algunos casos, la aplicación del principio no es obvia, ya que no todo ser humano es capaz de autodeterminación. El poder de autodeterminación madura a la largo de la vida del individuo, y algunos de estos pierden este poder completamente o en parte a causa de enfermedad, de disminución mental o de circunstancias que restringen severamente su libertad. El respeto por los que no han llegado a la madurez y por los incapacitados puede requerir que se les proteja hasta que alcancen ese estado o mientras dure la incapacidad.

Se trata a las personas de manera ética no solo respetando sus decisiones y protegiéndolas de daño, sino también esforzándose por asegurar su bienestar. Esta forma de proceder cae dentro del ámbito del principio de beneficencia, entendida como la obligación de “maximizar los beneficios posibles y disminuir al mínimo los posibles daños.” (*Informe Belmont*, 1978:8)

La justicia entraña un principio mucho más difícil de precisar que los anteriores, pues trata de la equidad, de quién debe ser el beneficiario de la investigación y quién debe sufrir las cargas. Para respetarla, habrá que asegurar que los beneficios resultantes de la investigación puedan ser usufructuados por toda la sociedad. De igual manera, será necesario velar por que los sujetos reclutados para una investigación no provengan sistemáticamente de grupos vulnerables por causas sociales, étnicas, religiosas o judiciales.

Por su parte, el Consejo Internacional de Organizaciones de las Ciencias Médicas (CIOMS), en 1982, trabajó en el documento *Propuesta de Pautas Éticas Internacionales para la Investigación Biomédica en Seres Humanos* en colaboración con la OMS, revisado y reeditado en 1993 y 2002. Estas pautas son conocidas como *Guías de la CIOMS-OMS*. La finalidad del documento era proteger a los posibles participantes de la investigación.

El cumplimiento de estos principios debe estar sostenido y regulado por normas de índole nacional que permitan monitorearlos, de forma de no permitir la realización de

aquellas investigaciones que los vulneren y que habiliten acciones judiciales que castiguen a quienes realicen investigaciones que, en sus proyectos, enuncien la aplicación de prácticas acordes con estos principios, pero que, en su implementación, no las lleven a cabo.

En Argentina, el primer proyecto de regulación en la temática data de 1990, proyecto que fuera presentado para la Ley 11044 de la Provincia de Buenos Aires, que permaneció por diez años aprobada, pero sin reglamentarse hasta 2008 [Decreto reglamentario 3385/08]. Fue recién en 1997 cuando se implementó la normativa de la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología [Anmat, 5330/97], que estableció como requisito la aprobación de las investigaciones por parte de un comité de ética independiente.

En los años que siguieron, varias provincias promulgaron leyes referidas a la bioética y a la ética en la investigación con seres humanos hasta culminar con la Ley 3301/2009 y el Decreto Reglamentario n.º 58 de 2011 de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires.

Aún no se cuenta con una ley en el ámbito nacional que legisle sobre esta temática y solo disponemos de una serie de resoluciones y disposiciones: la Resolución del Ministerio de Salud de la Nación n.º 1480/112, que aprueba la *Guía para la investigación clínica con seres humanos*; la Resolución del Ministerio de Salud de la Nación n.º 610/073, que establece la competencia del INCUCAI para regular sobre la aplicación de células de origen humano para su uso en seres humanos; la disposición ANMAT n.º 6677/104, que aprueba el «Régimen de buena práctica clínica para estudios de farmacología clínica» (*ib.*), que deroga su antecesora y pionera disposición 5330/97; la Disposición ANMAT n.º 969/97, que aprueba el «Régimen aplicable a los estudios clínicos de tecnología médica» (*ib.*), y la resolución 1002/2016, que establece la creación del Comité Nacional Asesor en Ética en la Investigación. Este comité está conformado por referentes de los comités provinciales de ética en investigación – u organismos similares – de cada provincia y cuenta para su asistencia y actualización permanente, con el apoyo de comisiones técnicas asesoras conformadas por expertos en investigación y en ética en investigación.

Este conjunto de regulaciones vigentes, que presentan un grado interesante de diversidad y laxitud, si bien tienen diferente rango normativo, establecen requisitos que deben ser cumplidos para llevar a cabo una investigación clínica; sin embargo, su cumplimiento y aplicación son aun sumamente heterogéneos e insuficientes. Las razones para ello estriban en que las instancias en que se ha delegado la evaluación, aprobación o rechazo y el monitoreo de las investigaciones que involucran a seres humanos, los comités institucionales de ética, tienen aún una heterogeneidad importante en cuanto a su conformación y al nivel académico de formación en ética, hecho que se suma a falencias administrativas derivadas de la falta de presupuesto y de integrantes con dedicación exclusiva a la tarea.

Otra cuestión pendiente, que seguro amerita un consenso entre todos los actores implicados, es que las investigaciones están sujetas al cumplimiento de estas normas, y la definición de investigación, en la mayoría de ellas, no deja claro si aplican solo a aquellas que estiman la eficacia clínica de nuevos tratamientos o métodos diagnósticos o si también involucran aquellas que evalúan la implementación de tratamientos o métodos diagnósticos ya autorizados por la autoridad competente, pero diferentes de los utilizados hasta el momento de comenzar el estudio en una institución. Esta diferencia no es menor, dado que esta modificación de los tratamientos o métodos de diagnóstico puede redundar en una menor eficacia clínica o en daños y efectos adversos no deseados.

Los bioquímicos, en nuestra actividad asistencial y de investigación aplicada, estamos atravesados por todas estas cuestiones. A ello se suma el hecho de que, por nuestra formación, somos de los profesionales de salud en el ámbito asistencial con más robusta formación en metodología de la investigación; por ello, es importante que, desde la formación de grado y en la formación de posgrado, esta temática tome la envergadura que merece. Es, además, fundamental que todas las entidades bioquímicas estén involucradas y presentes en el debate de la actualización del marco regulatorio, así como también, en las instancias de control del cumplimiento de las normas vigentes.

#### • Dr. Jaime Kovensky

**Jefe Dto. Servicios Centrales Diagnóstico y Tratamiento**  
Hospital de Quemados Arturo U. Illia, Ciudad Autónoma de Buenos Aires

**Especialista en Bioquímica Clínica**  
Área Bacteriología Clínica

**Prof. adjunto, Carrera de Medicina**  
Universidad Nacional de la Matanza

**Comité Editorial Revista Bioquímica y Patología Clínica**  
Asociación Bioquímica Argentina

## ARTÍCULO ORIGINAL

# Microbiota vaginal y su relación con la infección por el virus del papiloma humano

## *Vaginal microbiota and its relationship with human papilloma virus infection.*

Perazzi, Beatriz Elizabeth<sup>1,2</sup>; Payalef, Sandra Noemi<sup>1,2</sup>; Fleider, Laura Alicia<sup>3</sup>; Reyes, Ana Paula Reyes<sup>1,2</sup>; Maldonado, Verónica Andrea<sup>3</sup>; Losada, Mirta Olga<sup>1,2</sup>; Xin Chen<sup>4</sup>; Díaz, Lilí Beatriz<sup>5</sup>; Youxiang Wang<sup>4</sup>; Gómez Cherey, Facundo<sup>3</sup>; Tatti, Silvio Alejandro<sup>3</sup>.

<sup>1</sup>Laboratorio de Bacteriología Clínica, Departamento de Bioquímica Clínica, Hospital de Clínicas "José de San Martín", Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad de Buenos Aires. CABA, Argentina.

<sup>2</sup>Instituto de Fisiopatología y Bioquímica Clínica (INFIBIOC), Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires. CABA, Argentina.

<sup>3</sup>División Ginecología y Obstetricia, Hospital de Clínicas "José de San Martín". Universidad de Buenos Aires CABA, Argentina.

<sup>4</sup>Atila BioSystems. Silicon Valley, Estados Unidos.

<sup>5</sup>Departamento de Patología, Hospital de Clínicas "José de San Martín". Universidad de Buenos Aires CABA, Argentina.

\*Contacto: Perazzi, Beatriz Elizabeth, Lavalleja 2726 (1824), Lanús Oeste, Buenos Aires, Argentina; beatrizperazzi@gmail.com.

**Resumen** **Objetivos:** Determinar la prevalencia de infección por el virus del papiloma humano de alto riesgo (VPH-ar) en distintos grupos etarios y según grado de lesión. Establecer la prevalencia de vaginosis bacteriana, candidiasis y trichomoniasis en los grupos estudiados y caracterizar las especies de lactobacilos según el tipo de lesión. Evaluar la disfunción vaginal mediante los estados vaginales básicos por balance del contenido de la vagina en pacientes infectadas por el virus del papiloma humano, según tipo de lesión, en comparación con pacientes control no infectadas. **Materiales y Métodos:** Se llevó a cabo un estudio transversal. Se realizó un examen clínico y se tomó una muestra para estudio de estados vaginales básicos y cultivo. La identificación de especies se realizó por MALDI TOF-MS. Se determinaron los tipos de VPH-ar con *qPCR multiplex*. Se utilizó test de chi cuadrado y Fisher y se consideró significativo  $p < 0,05$ . **Resultados:** Se estudiaron 741 pacientes divididas en 3 grupos: grupo 1 (18 - 24 años)  $n = 138$ ; grupo 2 (25 - 50 años)  $n = 456$  y grupo 3 (>50 años)  $n = 147$ . Además, las pacientes fueron subdivididas en VPH negativas, VPH positivas sin lesión, con lesión intraepitelial escamosa de bajo grado (L-SIL), con lesión intraepitelial escamosa de alto grado / carcinoma de cuello uterino (H-SIL/CC). El VPH16 fue el tipo de VPH-ar más asociado con H-SIL/CC (grupo 1: 63,6%, grupo 2: 43,8% y grupo 3: 100%). La prevalencia de estados vaginales básicos de desbalance en H-SIL/CC fue para el grupo 1 de 72,7% ( $p = 0,03$ ), para el grupo 2 de 53,1% ( $p = 0,05$ ) y no se detectaron casos en el grupo 3. La patología más prevalente fue la vaginosis bacteriana en los tres grupos ( $p < 0,001$ ). En el grupo 1, el 54,2% de las pacientes VPH16+ tuvo vaginosis bacteriana asociada ( $p = 0,054$ ). Las pacientes con H-SIL/CC tuvieron una prevalencia de: 21,4% de *Lactobacillus crispatus*, 42,9% de *L. jensenii* y 14,3% de *L. iners*. **Conclusiones:** El VPH16 fue el tipo más prevalente en el grupo 1 y en el grupo 2. Se observó mayor desbalance de la microbiota en pacientes H-SIL/CC en el grupo 1 y el grupo 2 y una baja prevalencia de *L. crispatus*, a la vez que un incremento de *L. jensenii* y *L. iners*.

**Palabras clave:** prevalencia, *Papillomaviridae*, virus del papiloma humano 16, vaginosis bacteriana, candidiasis vulvovaginal, enfermedades vaginales, desbalance vaginal, trichomoniasis, *Lactobacillus*.

**Abstract** **Objectives:** i) to determine the prevalence of high-risk Human Papilloma Virus (hrHPV) infection in different age groups and according to the degree of lesion; ii) to establish the prevalence of bacterial vaginosis, candidiasis and trichomoniasis in the groups studied and to characterize the species of lactobacilli according to the type of lesion; and iii) to assess vaginal dysfunction through the balance of vaginal content by basic vaginal states in HPV-positive patients by lesion type compared to a control without infection. **Materials and Methods:** Cross-sectional study. Patients were clinically examined and samples were collected for the study of basic vaginal states and culture. Species were identified by MALDI TOF. hrHPV types were determined by multiplex qPCR. Chi square and Fisher tests were used, considering  $p < 0.05$  as significant. **Results:** A total of 741 patients were studied. They were divided into three groups: Group 1 (18-24 years)  $n=138$ , Group 2 (25-50 years)  $n=456$  and Group 3 (>50 years)  $n=147$ . They were also divided into HPV negative patients, HPV positive without lesion, Low Grade Squamous Intraepithelial Lesion (L-SIL), and High-Grade Squamous Intraepithelial Lesion/ Cervical Cancer (H-SIL/CC). HPV16 was the hrHPV type most associated with H-SIL/CC (Group 1: 63.6%, Group 2: 43.8% and Group 3 100%). The prevalence of basic vaginal states of unbalance in H-SIL/CC was: Group 1: 72.7% ( $p=0.03$ ), Group 2: 53.1% ( $p=0.05$ ) and Group 3: no cases. In the three groups, the most prevalent infection was bacterial vaginosis ( $p < 0.001$ ). In Group 1, 54.2% of the HPV16 patients had associated bacterial vaginosis ( $p=0.054$ ). Patients with H-SIL/CC had a prevalence of 21.4% of *Lactobacillus crispatus*, 42.9% of *L. jensenii*, and 14.3% of *L. iners*. **Conclusions:** HPV16 was the most prevalent type in Groups 1 and 2. Results also showed a higher unbalanced microbiota in H-SIL/CC patients in Groups 1 and 2 and a low prevalence of *L. crispatus* and an increase in *L. jensenii* and *L. iners*.

**Key Words:** Prevalence, Papillomaviridae, Human papillomavirus 16, Bacterial Vaginosis, Vulvovaginal Candidiasis, Vaginal Diseases, Vaginal Unbalance, Trichomoniasis, *Lactobacillus*.

## Introducción

La vagina y las comunidades bacterianas que allí residen son un ejemplo de ecosistema finamente equilibrado. El huésped proporciona beneficios a las comunidades bacterianas en forma de nutrientes, algunos de los cuales provienen de las células descamadas y otros, de las secreciones glandulares. Las comunidades bacterianas juegan un papel protector contra infecciones del tracto genital inferior, tales como vaginosis bacteriana (VB), candidiasis, infecciones de transmisión sexual (ITS) e infecciones del tracto urinario (ITU). Los lactobacilos son las especies más abundantes en las comunidades vaginales, en las mujeres en edad reproductiva; benefician al huésped, ya que son capaces de producir ácido láctico, que reduce el pH vaginal y protege de microorganismos potencialmente dañinos<sup>1</sup>.

La microbiota no es constante a lo largo de la vida de la mujer; varía desde el nacimiento, con un predominio de lactobacilos en la primera semana de vida; luego, hasta la menarca, la vagina es colonizada por microbiota intermedia, correspondiente a bacterias de localización intestinal y de piel. En la pubertad, como consecuencia de la maduración del eje hipotálamo-hipofiso-gonadal, vuelven a predominar especies de lactobacilos y, en menor proporción, una gran variedad de especies de bacterias aerobias y anaerobias, e inclusive de levaduras. Es entonces admisible reconocer la influencia de la estimulación hormonal, principalmente de origen estrogénico, en la colonización vaginal, con un predominio de microbiota lactobacilar<sup>2,3</sup>.

En las mujeres adultas sanas, el pH se encuentra entre 3,5 y 4,5; y a su vez, las especies predominantes de lactobacilos mantienen el pH bajo a través de su actividad de fermentación de glucógeno, que protege el área contra la invasión de microorganismos indeseables<sup>4</sup>. Recientemente, los métodos moleculares han demostrado la presencia de *Lactobacillus crispatus*, *L. gasseri*, *L. jensenii* y *L. iners* como gérmenes más comunes<sup>5</sup>.

Existen, además, diversos factores que pueden influenciar la composición del microbioma vaginal, los que se dividen en no modificables (raza/etnia, edad, ciclo menstrual) y en modificables (utilización de distintos métodos anticonceptivos,

comportamiento sexual, duchas vaginales, tabaquismo y dieta)<sup>6</sup>. Es conocido el hecho de que un microbioma vaginal balanceado puede prevenir las infecciones del tracto genital inferior, mientras que la falta de lactobacilos favorece el desarrollo de VB y la adquisición de ITS como herpes virus, virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) y virus papiloma humano (VPH)<sup>7,8</sup>.

Evidencia reciente sugiere que el estado del microbioma podría influenciar el desarrollo del cáncer, situación que ya ha sido caracterizada para el microbioma gastrointestinal<sup>9</sup>.

En cuanto a la relación entre el cáncer ginecológico y el desbalance del microbioma, el ejemplo más claro encontrado hasta este momento es el desarrollo de tumores VPH relacionados. La infección por VPH es extremadamente común: el 50% de las mujeres menores de 30 años tendrá una prueba de VPH positiva en un periodo de 3 años<sup>10</sup>. Asimismo, la presencia de este virus podría seleccionar el ecosistema microbiano vaginal acompañante. Un estudio demuestra que las mujeres con infección y con VPH presentaron en sus microbiomas aumento del contenido de *L. gasseri* y *Gardnerella vaginalis*<sup>11</sup>. En cambio, los microbiomas balanceados demuestran mayor cantidad de *L. crispatus*<sup>12,13</sup>.

Factores mecánicos como las duchas vaginales o las relaciones sexuales y factores biológicos como la VB<sup>14,15</sup> o ITS<sup>16</sup> alteran el microambiente vaginal y han sido identificados como cofactores en la persistencia de la infección por VPH.

Esto sugiere que factores adicionales actúan en conjunto con el VPH para influenciar el desarrollo de cáncer cervical.

Los objetivos de este trabajo fueron: 1) Determinar la prevalencia de VPH de alto riesgo (VPH-ar) en distintos grupos etarios y según grado de lesión, 2) Establecer la prevalencia de VB, candidiasis y trichomoniasis en los grupos estudiados y caracterizar las especies de lactobacilos, según el tipo de lesión y 3) Evaluar la disfunción vaginal mediante los estados vaginales básicos (EVB) por metodología del balance del contenido vaginal (BACOVA) en pacientes VPH positivas, según tipo de lesión, en comparación con un control.

**Tabla I.** Prevalencia de los distintos tipos de virus del papiloma humano de alto riesgo, en función de los grupos etarios estudiados.

	Grupo de 18-24 años		Grupo de 25-50 años		Grupo mayor de 50 años	
	N	%	N	%	N	%
VPH 16	24	17,4	49	10,7	9	6,1
VPH 18	7	5,1	5	1,1	5	3,4
VPH 45	0	0	3	0,7	2	1,4
VPH 31,33	14	10,1	24	5,3	1	0,7
VPH 52,58	9	6,5	16	3,5	2	1,4
VPH 66	6	4,3	7	1,5	4	2,7
Otros tipos	19	13,8	49	10,7	20	13,6
Negativo	59	42,8	303	66,5	104	70,7
TOTAL	138	100	456	100	147	100

► VPH, virus del papiloma humano

## Materiales y Métodos

Se realizó un estudio consecutivo, descriptivo, de corte transversal. Se examinaron pacientes entre 18 y 85 años, con inicio de relaciones sexuales, atendidas en el Programa de Prevención, Diagnóstico, Terapéutica y Vacunación en el Tracto Genital Inferior, entre octubre del 2015 y junio del 2021. Este trabajo fue aprobado por el Comité de Ética del Hospital y todas las pacientes dieron su consentimiento informado.

La población estudiada se clasificó en los siguientes grupos etarios: grupo 1 (18 - 24 años), grupo 2 (25 - 50 años) y grupo 3 (>50 años). A su vez, cada grupo etario se subdividió en: pacientes VPH negativas [grupo control], pacientes VPH positivas sin lesión, pacientes con lesión intraepitelial escamosa de bajo grado (L-SIL), pacientes con lesión intraepitelial escamosa de alto grado / carcinoma de cuello uterino (H-SIL/CC).

Los criterios de exclusión fueron: uso de antibióticos (ATB) locales o sistémicos dentro de los 15 días previos a la consulta; embarazadas, malformaciones genitales; pacientes en tratamiento con corticoides o quimioterapia; sin inicio de relaciones sexuales y quienes no tuvieran abstinencia sexual dentro de las 48 h previas al estudio.

En el consultorio, previa firma del consentimiento informado, se recabaron los datos para completar la historia clínica. Se tomó muestra exo y endocervical para citología, (con espátula de Ayre y *cytobrush*).

Se realizó colposcopia a todas las pacientes con un aumento de 16x, previa aplicación de un spray de ácido acético sobre el cuello uterino. Los datos recabados de la colposcopia fueron catalogados de acuerdo con la clasificación de la International Federation of Colposcopy and Cervical Pathology [versión 2011]<sup>17</sup>.

Las citologías fueron coloreadas con la técnica de Papanicolaou, la cual se informó según la clasificación de Bethesda [versión 2014]<sup>18</sup>. Las muestras histológicas fueron in-

formadas de acuerdo con la clasificación propuesta por el LAST (*Lower Anogenital Squamous Terminology*) Project<sup>19</sup>. A todas las pacientes se les realizó examen clínico y toma de fondo de saco vaginal para el estudio microbiológico por metodología convencional y estudio de los EVB mediante BACOVA.

El estudio microbiológico del contenido vaginal incluyó los siguientes exámenes:

1. Extendidos para coloración de Gram y May-Grunwald Giemsa prolongada
2. Observación en fresco con 1 ml de solución fisiológica (SF)
3. Determinación de pH de la secreción vaginal
4. Observación en fresco con 1 ml de KOH al 10 % y prueba de aminas
5. Cultivo en medio líquido (tioglicolato modificado) para *T. vaginalis*, con incubación de 7 días a 37°C en atmósfera de 5 % de CO<sub>2</sub><sup>20</sup>.
6. Cultivo en agar base Columbia con 5% de sangre humana y en agar Man Rogosa, con incubación de 48 h a 37°C en atmósfera de 5 % de CO<sub>2</sub>, conservando la muestra en medio de Stuart.

La detección de candidiasis se realizó a través de la observación en fresco con solución fisiológica (SF) y con KOH al 10 % y por cultivo en agar Sabouraud y agar sangre. La investigación de *T. vaginalis* se realizó a través de la observación microscópica directa con SF, la coloración de May-Grunwald Giemsa prolongada y el cultivo en tioglicolato modificado<sup>21,22</sup>. El diagnóstico de VB se realizó utilizando el criterio de Nugent<sup>22</sup>. El estudio del BACOVA incluyó el análisis morfológico del contenido vaginal en función de la relación del valor numérico (VN) y la reacción inflamatoria vaginal (RIV), y se identificaron 5 EVB: microbiota normal (I), microbiota normal más reacción inflamatoria (II), microbiota intermedia (III), VB (IV) y vaginitis microbiana inespecífica (V)<sup>23</sup>.

Para el aislamiento de las distintas especies de lactobaci-

**Tabla II.** Prevalencia de los distintos tipos de virus del papiloma humano de alto riesgo, en función del grado de lesión intraepitelial escamosa en el grupo de 18-24 años.

	Sin lesión		LSIL		H-SIL/CC	
	N	%	N	%	N	%
VPH 16	10	9,6	7	30,4	7	63,6
VPH 18	5	4,8	1	4,4	1	9,1
VPH 45	0	0	0	0	0	0
VPH 31,33	10	9,6	4	17,4	0	0
VPH 52,58	7	6,8	2	8,7	0	0
VPH 66	6	5,8	0	0	0	0
Otros tipos	15	14,4	3	13,0	1	9,1
Negativo	51	49,0	6	26,1	2	18,2
Total	104	100	23	100	11	100

► LSIL, lesión intraepitelial escamosa de bajo grado; H-SIL/CC, lesión intraepitelial escamosa de alto grado / carcinoma de cuello uterino; VPH, virus del papiloma humano.

los, se utilizó el agar sangre y el agar Man Rogosa, y la identificación se realizó mediante espectrometría de masa BDTM Bruker MALDI-TOF (desorción/ionización láser asistida por matriz, con detector de iones por tiempo de vuelo), utilizando una base de datos que incluyó más de 90 especies de lactobacilos y considerando un  $score \geq 1,7$  para nivel de especie<sup>24</sup>, método validado contra secuenciación del gen ADNr 16S (método de referencia)<sup>25</sup>.

Para la detección de VPH-ar, a las muestras de las pacientes se le realizó una prueba de *PCR real time multiplex*, AmpFire Multiplex HPV Assays (catalog number: MHPVF1618-100), que detecta la presencia de 15 tipos de VPH-ar y, simultáneamente, de VPH-16 y 18 en una reacción más un control interno (gen de -globina humana) con detección fluorescente isotérmica en tiempo real. Las sondas específicas para VPH-16, VPH-18, VPH-ar no 16/18 [31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68] y el control interno se marcaron con CY5, ROX, FAM y HEX, respectivamente. La falta de una curva de amplificación exponencial en el canal HEX se interpretó como un resultado no válido<sup>26</sup>.

#### Análisis de datos

Para comparar las prevalencias de los EVB y de las especies de lactobacilos, de candidiasis, VB y trichomoniasis en los distintos grupos etarios y subgrupos, atendiendo a la lesión intraepitelial que la paciente presentó y de acuerdo con el tipo de VPH-ar, se utilizó el test de chi cuadrado ( $\chi^2$ ), *Odds Ratio* y el test de Fisher. Se consideró significativo un valor de  $p < 0,05$ . El análisis estadístico fue realizado con el *software Epi Data® versión 7.2.2.6* (Centers for Disease Control and Prevention, U.S. Department of Health & Human Services).

#### Resultados

Se estudiaron 741 pacientes divididas en 3 grupos etarios: grupo 1 (18-24 años) (media=21,6; IC95% 21,7-21,9; n=138), grupo 2 (25-50 años) (media=35,2; IC95% 34,5-

35,8; n=456) y grupo 3 (mayor de 50 años) (media=62,17; IC95% 60,7-63,6; n=147). Para el análisis de los resultados, se excluyeron las muestras de las pacientes en las que no hubo amplificación del gen control en el test de detección del VPH-ar.

La prevalencia de infección por VPH-ar en las pacientes del estudio se muestra en la tabla I. Las prevalencias de los distintos tipos de VPH-ar en función de las lesiones intraepiteliales escamosas se presentan en las tablas II, III y IV. En el grupo 1, el VPH16 se asoció al 63,6 % (7/11) de las lesiones H-SIL/CC. En el grupo 2, el VPH 16 se asoció al 43,8 % de las lesiones H-SIL/CC (14/32). En el grupo 3, se detectó un caso de VPH16 asociado a H-SIL/CC.

La prevalencia de EVB de desbalance del contenido vaginal (III, IV y V) en el grupo 1, fue la siguiente: subgrupo VPH negativas: 35,3 % (18/51); subgrupo VPH positivas sin lesión intraepitelial: 35,8 % (19/53; OR=1,02; p=0,56); subgrupo L-SIL: 52,2 % (12/23; OR=2,0; p=0,13) y subgrupo H-SIL/CC 72,7 % (8/11; OR=4,89; p=0,03).

La prevalencia de EVB de desbalance del contenido vaginal (III, IV y V) en el grupo 2 fue la siguiente: subgrupo VPH negativas: 35,8% (101/282); subgrupo VPH positivas sin lesión intraepitelial: 35,2 % (38/108; OR=0,99; p=0,53); subgrupo L-SIL: 55,9% (19/34; OR=2,28; p=0,01) y subgrupo H-SIL/CC 53,1% (17/32; OR=2,63; p=0,05).

La prevalencia de EVB de desbalance del contenido vaginal (III, IV y V) en el grupo 3 fue la siguiente: subgrupo VPH negativas: 20 % (20/100; subgrupo VPH positivas sin lesión intraepitelial: 24,3 % (9/37; p=0,37); subgrupo L-SIL: 16,7% (1/6; p=0,66). No se detectaron casos de desbalance en el grupo H-SIL/CC. Todos los grupos presentaron mayores prevalencias de VB (34,0 %, 31,1 % y 15,3 %) que de candidiasis (22,7 %, 21,2 % y 6,7 %) y de trichomoniasis (2,8 %, 3,6 % y 1,3 %), respectivamente, por lo que estas diferencias resultaron estadísticamente significativas para los tres grupos estudiados ( $p = < 0,001$ ).

**Tabla III.** Prevalencia de los distintos tipos de virus del papiloma humano de alto riesgo, en función del grado de lesión intraepitelial escamosa en el grupo de 25-50 años.

	Sin lesión		LSIL		H-SIL/CC	
	N	%	N	%	N	%
VPH 16	26	6,7	9	26,5	14	43,8
VPH 18	3	0,8	2	5,9	0	0
VPH 45	3	0,8	0	0	0	0
VPH 31,33	17	4,3	4	11,8	3	9,4
VPH 52,58	11	2,8	3	8,8	2	6,2
VPH 66	6	1,5	1	2,9	0	0
Otros tipos	42	10,8	2	5,9	5	15,6
Negativo	282	72,3	13	38,2	8	25
TOTAL	390	100	34	100	32	100

► LSIL, lesión intraepitelial escamosa de bajo grado; H-SIL/CC, lesión intraepitelial escamosa de alto grado / carcinoma de cuello uterino; VPH, virus del papiloma humano.

La prevalencia de VB, candidiasis y trichomoniasis de acuerdo con el VPH-ar se observa en la tabla V.

El análisis de prevalencia de VB en el grupo 1 fue el siguiente: VPH-negativo 27,5 % (14/51); VPH positivo sin lesión 34,0 % (18/53; OR=1,35; p=0,24); L-SIL 43,5 % (10/23; OR=2,03; p=0,09); H-SIL/CC 54,5 % (6/11; OR=3,17; p=0,05), mientras que en el grupo 2 fue: VPH negativo 30,4 % (85/280); VPH positivo sin lesión 25 % (27/108; OR=0,69; p=0,07); L-SIL 52,9 % (18/34; OR=2,58; p=0,01); H-SIL/CC 43,7 % (14/32; OR=1,78; p=0,06). En el grupo 3, fue: VPH negativo 14 % (14/100); VPH positivo sin lesiones 18,9 % (7/37; OR=1,43; p=0,24); L-SIL 16,7 % (1/6; OR=1,53; p=0,34); no se detectaron casos de VB en pacientes con H-SIL/CC.

El análisis de prevalencia de candidiasis en el grupo 1 fue el siguiente: VPH negativo 25,5 % (13/51); VPH positivo sin lesión 28,3 % (15/53; OR=1,15; p=0,38); L-SIL 17,4 % (4/23; OR=0,62; p=0,23); no se detectaron casos de infección por candidiasis en pacientes H-SIL/CC. En el grupo 2, la prevalencia fue: VPH negativo 21,8 % (61/280); VPH positivo sin lesiones 25,9 % (28/108; OR=1,25; p=0,19); L-SIL 20,6 % (7/34; OR=0,93; p=0,45); H-SIL/CC 12,5 % (4/32; OR=0,51; p=0,11). En el grupo 3 fue: VPH negativo 8 % (8/100); VPH positivo sin lesiones 2,7 % (1/37; OR=0,32; p=0,15); L-SIL 16,7 % (1/6; OR=2,3; p=0,25); no se detectaron casos de infección por candidiasis en pacientes H-SIL/CC.

El análisis de prevalencia de trichomoniasis en el Grupo 1 fue: VPH negativo 5,9 % (3/51) y H-SIL/CC 9,1 % (1/11; OR=1,16; p=0,34). No se detectaron casos de infección por trichomoniasis en VPH positivos sin lesiones y L-SIL. En el grupo 2, la prevalencia fue: VPH negativo 2,6 % (10/280); VPH positivo sin lesiones 2,8 % (3/108; OR=0,77; p=0,37); L-SIL 11,8 % (4/34; OR=3,6; p=0,05); no se detectaron casos de infección por trichomoniasis en pacientes con H-SIL/CC. El grupo 3 fue VPH negativo 2 % (2/100). No se detectaron casos de infección por trichomonas en los otros grupos estudiados.

De 741 muestras totales del estudio, se detectó micro-

biota lactobacilar en 479 muestras (grupo 1 n=82; grupo 2 n=283 y grupo 3 n=114), de las cuales se pudieron caracterizar 253 lactobacilos cultivables. La frecuencia de las diferentes especies de lactobacilos encontradas en las pacientes del estudio, según el tipo de lesión por VPH se observa en la tabla VI. *Lactobacillus jensenii* presentó una prevalencia de 42,9 % en pacientes con H-SIL/CC, con respecto a un 24,8 % en el grupo control (OR=2,27; p=0,08). *Lactobacillus iners* presentó una prevalencia de 14,3 % en pacientes con H-SIL/CC, con respecto a un 4,1 % en el grupo control (OR=3,86; p=0,09). Las pacientes con H-SIL/CC tuvieron una prevalencia de 21,4 % de *L. crispatus*.

## Discusión

Existe evidencia sólida de que la infección por VPH es necesaria, pero no, suficiente para el desarrollo del carcinoma de cuello uterino. Se han identificado más de 200 tipos de VPH, en la actualidad, 40 de los cuales están asociados a infecciones del tracto anogenital, y solamente algunos, con la carcinogénesis cervical (principalmente, el tipo VPH-16)<sup>27</sup>. El principal factor en la carcinogénesis cervical es la infección transformante por VPH, aunque el resto de los factores permanecen sin dilucidar. Uno de los factores que ha cobrado mayor importancia actualmente es el microbioma que acompaña la infección por VPH.

Según González *et al*<sup>28</sup> refirieron, hay una prevalencia de la infección por VPH-ar en la Argentina, en adolescentes, de 42,2 %. En nuestro trabajo, el 57,2 % de las pacientes del grupo de 18-24 años tuvo infección por VPH-ar, al momento del reclutamiento. En cambio, la prevalencia en el grupo de mujeres 25-50 años fue de 33,6 % y en las mujeres mayores de 50 años, de 29,3 %.

En Latinoamérica y el Caribe, la prevalencia de VPH-16 en las pacientes con diagnóstico de H-SIL/CC histológico fue de 46,5 % y en la Argentina, del 48,5 %<sup>29</sup>. En nuestra casuística, la prevalencia de VPH-16 en las pacientes con H-SIL/CC cervical

**Tabla IV.** Prevalencia de los distintos tipos virales de VPH de alto riesgo en función del grado de lesión intraepitelial escamosa en el grupo de mayores de 50 años.

	Sin lesión		LSIL		H-SIL/CC	
	N	%	N	%	N	%
VPH 16	7	5,0	1	16,7	1	100
VPH 18	5	3,6	0	0	0	0
VPH 45	2	1,4	0	0	0	0
VPH 31,33	0	0	1	16,7	0	0
VPH 52,58	2	1,4	0	0	0	0
VPH 66	4	2,8	0	0	0	0
Otros tipos	18	12,9	2	33,3	0	0
Negativo	102	72,9	2	33,3	0	0
TOTAL	140	100	6	100	1	100

► LSIL, lesión intraepitelial escamosa de bajo grado; H-SIL/CC: lesión intraepitelial escamosa de alto grado / carcinoma de cuello uterino; VPH, virus del papiloma humano.

fue de 63,6 % en el grupo 1 y de 43,8 % en el grupo 2.

La composición de la microbiota, a su vez, es influenciada por numerosos factores: la etnia es el principal factor intrínseco que se asocia con la composición del microbioma, tal es así que las mujeres caucásicas y asiáticas muestran mayor prevalencia de colonización por lactobacilos, en comparación con las hispánicas y afroamericanas<sup>30</sup>.

El cáncer cervical es una enfermedad de larga data, y existen etapas previas a ella durante las cuales las condiciones del entorno cervical y vaginal como la acidez vaginal y el patrón de citoquinas, que transita desde un patrón proinflamatorio hasta finalmente conducir a un estado de inmunosupresión local, se modifican.

La literatura que explora la relación entre la vaginosis bacteriana y el VPH es consistente: los estudios longitudinales demuestran una mayor asociación de este patógeno con el aumento de la incidencia de la infección y disminución del *clearance* del VPH<sup>31</sup>.

Adicionalmente, se ha propuesto que el microambiente vaginal y el perfil de citoquinas juegan un rol en la generación de las lesiones intraepiteliales escamosas<sup>31</sup>. Por ejemplo, la infección por *Fusobacterium* spp. podría desempeñar un papel clave en el desarrollo de un microambiente inmunosupresor, caracterizado por citoquinas antiinflamatorias (perfil de citoquinas Th2) como IL-4 y TGF- $\beta$ 1, en células de cuello uterino transformadas por VPH<sup>32</sup>, lo cual favorecería la evasión del sistema inmune y la persistencia de la infección<sup>31</sup>.

En el grupo 1 de este estudio, el 54,2 % de las pacientes infectadas por VPH-16 tuvieron una VB asociada. Esto puede deberse a que la infección por VPH puede alterar el metabolismo de la mucosa vaginal<sup>33</sup>, la inmunidad del huésped<sup>34</sup> o ambos, lo que da lugar a cambios en la estructura del ecosistema vaginal. Lee *et al*<sup>35</sup> reportan que los epitelios vaginales infectados por VPH presentan una disminución en la producción de glucógeno, el cual es fuente de energía para los lactobacilos responsables de la disminución del pH vaginal. Las citoquinas proinflamatorias, las especies reactivas del oxígeno, la integración del ADN viral y la inflamación crónica que ocurren en la infección por VPH pueden provocar cambios en el entorno de la mucosa vaginal, lo que da lugar a cambios en la microbiota vaginal<sup>36</sup>.

En la cohorte estudiada, todos los grupos etarios tenían una mayor prevalencia de VB que de candidiasis y trichomoniasis. Estos hallazgos también fueron informados por Abdul-Aziz *et al*.<sup>37</sup> en Yemen, quienes reportaron una prevalencia de VB del 27,2 %, de candidiasis del 6,8 % y de trichomoniasis del 0,9 % en pacientes en edad reproductiva, con un aumento en pacientes menores de 25 años del 39,6 % para VB y del 9,9 % para candidiasis. Sin embargo, dado que la prevalencia de infecciones por estos patógenos varía de un país a otro, Bucemi *et al*.<sup>38</sup> en Argentina, reportaron una prevalencia de VB de 25,6 % y de candidiasis de 17,4 %, mientras que Kamara *et al*.<sup>39</sup> en Jamaica, describieron una prevalencia de VB del 44,1 % de candidiasis del 30,7 % y de trichomoniasis del 18 %.

**Tabla V.** Prevalencia de vaginosis bacteriana, candidiasis y trichomoniasis en todos los grupos etarios de acuerdo con cada tipo de virus del papiloma humano de alto riesgo.

	Patógeno vaginal	VPH 16 (N = 24)		VPH 18 (N = 7)		VPH 45 (N = 0)		VPH 31, 33 (N = 14)		VPH 52, 58 (N = 9)		VPH 66 (N = 6)		Otros tipos (N = 19)		Negativo (N = 59)	
		N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
Grupo 1 18 - 24 años	Vaginosis bacteriana	13	54,2	3	42,9	0	-	3	21,4	1	11,1	1	16,7	8	42,1	19	32,2
	Candidiasis	2	8,3	2	28,6	0	-	6	42,9	1	11,1	1	11,1	7	36,8	13	22,0
	Trichomoniasis	1	4,2	0	0	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	3	5,1
Grupo 2 25 - 50 años	Vaginosis bacteriana	17	34,7	1	20	1	33,3	10	41,7	6	37,5	3	42,9	13	26,5	94	31,0
	Candidiasis	8	16,3	1	0	2	66,7	4	16,7	3	18,7	3	42,9	17	34,7	61	20,1
	Trichomoniasis	1	2,0	0	-	2	66,7	2	8,3	0	-	0	-	0	-	12	4,0
Grupo 3 Mayores de 50 años	Vaginosis bacteriana	2	22,2	1	20	0	-	0	-	0	-	2	50	3	15	15	14,4
	Candidiasis	0	-	0	-	0	-	1	100	0	-	1	25	0	-	8	7,7
	Trichomoniasis	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	2	1,9

► VPH, virus del papiloma humano.

La candidiasis es la infección fúngica más frecuente del tracto genital inferior, aunque en la mayoría de los casos se trata de una colonización asintomática. Sin embargo, hay algunas especies de levaduras altamente virulentas que causan la degradación de la membrana basal del epitelio vaginal con la consiguiente invasión endógena y la respuesta inflamatoria que la acompaña. Ese epitelio dañado favorece la entrada de otras ITS como el VPH. Estos hallazgos fueron observados por Kero *et al.*<sup>40</sup>, quienes demostraron que la candidiasis puede ser un factor de riesgo para la adquisición de la infección por VPH, pero no para la persistencia viral. En nuestro estudio, debido a la baja prevalencia de candidiasis por tipo viral, no existe asociación entre el tipo específico de VPH-ar y este patógeno. En la literatura no se hace referencia a la asociación de candidiasis con un tipo específico de VPH-ar.

En el grupo 3, debido al reducido número de pacientes de la muestra, no se puede objetivar la relación entre VB, candidiasis y los diferentes tipos de VPH-ar. En nuestra casuística, encontramos una prevalencia baja de trichomoniasis (menos del 4%), por lo que no podría estar relacionada con ningún tipo de VPH-ar en particular. Esta baja prevalencia se debe a que se estudiaron poblaciones tanto sintomáticas como asintomáticas. Abdul Aziz *et al.*<sup>37</sup> informaron hallazgos similares y describieron una prevalencia de trichomoniasis del 0,9 %. En cambio, Kamara *et al.*<sup>39</sup> informaron una prevalencia de trichomoniasis del 18 %. Estas disparidades en la prevalencia podrían deberse a condiciones socioeconómicas distintas y a diferencias étnicas.

Audirac *et al.*<sup>32</sup> demostraron por metagenómica que el microbioma vaginal es notablemente diferente en cada una de las etapas de la infección por VPH. Las pacientes con carcinoma cervical mostraron mayor predominio de microbiota

anaerobia en comparación con el control negativo, que tuvo mayor predominio de microbiota lactobacilar.

En nuestro estudio, las pacientes con H-SIL/CC presentaron una elevada prevalencia del desbalance del contenido vaginal: en el grupo 1 de 72,7 % y en el grupo 2 de 53,1 %. Resultados similares fueron descritos por Mitra *et al.*<sup>36</sup>, quienes detectaron una disminución de la microbiota lactobacilar en el 33 % de las pacientes con H-SIL/CC y en el 40 % de las pacientes con carcinoma invasor. Estos hallazgos sugieren que la disminución de lactobacilos en las pacientes infectadas por VPH puede correlacionarse con la presencia de una enfermedad clínicamente significativa. Asimismo, Gillet *et al.*<sup>12</sup> demostraron que la presencia de VB en una paciente aumenta el riesgo 1,51 [IC95% 1,24-1,83;  $p < 0,05$ ] de tener una lesión intraepitelial escamosa, indicando una asociación positiva entre las dos condiciones. En el grupo 3, debido al escaso número de pacientes con lesión L-SIL y H-SIL/CC, no se llegan a objetivar los mismos hallazgos que en los grupos 1 y 2 en relación a la microbiota vaginal.

En nuestro estudio, las pacientes con H-SIL/CC presentaron una elevada prevalencia de VB: en el grupo 1, de 54,5 % y en el 2, de 43,7 % y una baja prevalencia de candidiasis, respectivamente (0 y 12,5 %). Esta disminución de la prevalencia de candidiasis observada en las pacientes con H-SIL/CC puede deberse a la disminución de la microbiota lactobacilar registrada en este grupo de pacientes<sup>41</sup>.

Sabemos que la proteína E5 es fundamental para la replicación del VPH, sin embargo, esta molécula es muy sensible a los cambios de pH. Un medio ambiente de pH bajo, promovido por el ácido láctico puede considerarse protector. El ácido láctico es un compuesto quiral, con un isómero D y L. El isómero D es producido predominantemente por *L. crispatus*, *L.*

**Tabla VI.** Frecuencia de las diferentes especies de lactobacilos encontradas en las pacientes del estudio, según tipo de lesión del virus del papiloma humano relacionada.

Especie de <i>Lactobacillus</i>	VPH positivo sin lesión (N=76)	LSIL (N=18)	H-SIL/CC (N=14)	VPH negativo (Control) (N=145)
<i>L. crispatus</i>	19	7	3	34
<i>L. gasseri</i>	29	6	3	64
<i>L. jensenii</i>	20	4	6	36
<i>L. iners</i>	5	0	2	6
<i>L. vaginalis</i>	0	0	0	4
<i>L. salivarius</i>	2	0	0	1
<i>L. fermentum</i>	0	1	0	0
<i>L. paracasei</i>	1	0	0	0

► LSIL, lesión intraepitelial escamosa de bajo grado; H-SIL/CC, lesión intraepitelial escamosa de alto grado / carcinoma de cuello uterino; VPH, virus del papiloma humano.

*jensenii* y *L. gasseri*. Sin embargo, el isómero L es producido por *L. iners*, el epitelio vaginal *per se* y bacterias anaerobias responsables de la vaginosis. El isómero D producido por *L. crispatus* aumenta la viscosidad del moco cervical, lo cual es un factor de protección adicional<sup>36</sup>. El subgrupo H-SIL/CC presentó una disminución en la prevalencia de *L. crispatus* (21,4%), en coincidencia con lo descripto por Gao *et al.*<sup>7</sup> para la población asiática y por Dareng *et al.*<sup>42</sup> para la población africana. Asimismo, en nuestro trabajo, se observó una alta prevalencia de *L. jensenii* (42,9%), lo cual predispondría a estas pacientes a la disfunción vaginal.

Estos resultados se corresponden con los descriptos por Clarke *et al.*<sup>43</sup>, quienes relataron que la elevación del pH se asociaba con un mayor riesgo de infección por VPH, dado que se observó que *L. crispatus* es capaz de acidificar el medio vaginal a un pH menor que 4,0, mientras que otros como *L. gasseri* alcanzan un pH más elevado que oscila entre 4,4 y 5,0<sup>36</sup>.

Como conclusión, se detectó una elevada prevalencia de infección por VPH-ar en el grupo de 18-24 años. El VPH-16 fue el tipo más prevalente tanto en este grupo como en el de 25-50 años. Se observó mayor desbalance de la microbiota vaginal en las pacientes con lesiones intraepiteliales escamosas que en los controles en el grupo de 18-24 años y el grupo de 25-50 años, especialmente, en el grupo de H-SIL/CC, donde se encontró una baja prevalencia de *L. crispatus* (especie protectora) y un incremento de *L. jensenii* y *L. iners*, especies que poseen un menor rol protector de la disfunción vaginal. Por lo tanto, es importante caracterizar las especies de lactobacilos, dado que el incremento de las no protectoras, en concordancia con el incremento de VB en este grupo de pacientes, alteran el microambiente vaginal, actúan como potenciales cofactores en la persistencia de una infección por VPH e incrementan el riesgo de adquirir otras infecciones de transmisión sexual.

### Conflicto de intereses

Los autores declaran no poseer conflictos de interés.

### Referencias Bibliográficas

- Ma B, Forney LJ, Ravel J. Vaginal microbiome: rethinking health and disease. *Annu Rev Microbiol* 2012; 66: 371-89.
- Muhleisen AL, Herbst-Kralovetz MM. Menopause and the vaginal microbiome. *Maturitas* 2016; 91:42-50.
- Petricevic L, Domig KJ, Nierscher FJ, Krondorfer I, Janitschek C, Kneifel W, *et al.* Characterization of the oral, vaginal and rectal Lactobacillus flora in healthy pregnant and postmenopausal women. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2012; 160(1):93-9.
- Cauci S, Driussi S, De Santo D, Penacchioni P, Iannicelli T, Lanzafame P, *et al.* Prevalence of bacterial vaginosis and vaginal flora changes in peri- and postmenopausal women. *J Clin Microbiol* 2002; 40(6):2147-52.
- Ravel J, Gajer P, Abdo Z, Schneider GM, Koenig SS, McCulle SL, *et al.* Vaginal microbiome of reproductive-age women. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011;108 Suppl 1(Suppl 1):4680-7. Kaur M. Microbiota in vaginal health and pathogenesis of recurrent vulvovaginal infections: a critical review. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*.2020;19(1):5.
- Behbakht K, Friedman J, Heimler I, Aroutcheva A, Simoes J, Faro S. Role of the vaginal microbiological ecosystem and cytokine profile in the promotion of cervical dysplasia: a case-control study. *Infect Dis Obstet Gynecol* 2002;10(4):181-6.
- Gao W, Weng J, Gao Y, Chen X. Comparison of the vaginal microbiota diversity of women with and without human papillomavirus infection: a cross-sectional study. *BMC Infect Dis* 2013; 13:271.
- Champer M, Wong AM, Champer J, Brito IL, Messer PW, Hou JY, *et al.* The role of the vaginal microbiome in gynaecological cancer. *BJOG* 2018; 125(3):309-15.
- Moscicki AB. Human papillomavirus disease and vaccines in adolescents. *Adolesc Med State Art Rev* 2010 ;21(2):347-63, x-xi.
- Silva J, Cerqueira F, Medeiros R. Chlamydia trachomatis infection: implications for HPV status and cervical cancer. *Arch Gynecol Obstet* 2014; 289(4):715-23.
- Oh HY, Kim BS, Seo SS, Kong JS, Lee JK, Park SY, *et al.* The association of uterine cervical microbiota with an increased risk for cervical intraepithelial neoplasia in Korea. *Clin Microbiol Infect* 2015; 21(7):674.e1-9.
- Gillet E, Meys JF, Verstraelen H, Bosire C, De Sutter P, Temmerman M, *et al.* Bacterial vaginosis is associated with uterine cervical human papillomavirus infection: a meta-analysis. *BMC Infect Dis* 2011; 11:10.
- Seo SS, Oh HY, Lee JK, Kong JS, Lee DO, Kim MK. Combined effect of diet and cervical microbiome on the risk of cervical intraepithelial neoplasia. *Clin Nutr* 2016; 35(6):1434-41.
- Guo YL, You K, Qiao J, Zhao YM, Geng L. Bacterial vaginosis is conducive to the persistence of HPV infection. *Int J STD AIDS* 2012; 23(8):581-4.
- Vriend HJ, Bogaards JA, van Bergen JE, Brink AA, van den Broek IV, Hoebe CJ, *et al.* Incidence and persistence of carcinogenic genital human papillomavirus infections in young women with or without *Chlamydia trachomatis* co-infection. *Cancer Med* 2015;4(10):1589-98.
- Torres-Poveda K, Bahena-Román M, Madrid-González C, Burguete-García AI, Bermúdez-Morales VH, Peralta-Zaragoza O, *et al.* Role of IL-10 and TGF- $\beta$ 1 in local immunosuppression in HPV-associated cervical neoplasia. *World J Clin Oncol* 2014;5(4):753-63.
- Bornstein J, Bentley J, Bösze P, Girardi F, Haefner H, Menton M, *et al.* 2011 Colposcopic terminology of the International Federation for Cervical Pathology and Colposcopy. *Obstet Gynecol* 2012;120(1):166-72.
- Nayar R, Wilbur DC. The Pap test and Bethesda 2014. *Cancer Cytopathol* 2015; 123(5):271-81.
- Darragh TM, Colgan TJ, Cox JT, Heller DS, Henry MR, Luff RD, *et al.* The Lower Anogenital Squamous Terminology Standardization Project for HPV-Associated Lesions: background and consensus recommendations from the College of American Pathologists and the American Society for Colposcopy and Cervical Pathology. *Arch Pathol Lab Med* 2012; 136(10):1266-97.
- Poch F, Levin D, Levin S, Dan M. Modified thioglycolate medium: a simple and reliable means for detection of *Trichomonas vaginalis*. *J Clin Microbiol* 1996; 34(10):2630-1.
- Perazzi BE, Menghi CI, Coppolillo EF, Gatta C, Eliseth MC, de Torres RA, *et al.* Prevalence and comparison of diagnostic methods for *Trichomonas vaginalis* infection in pregnant women in Argentina. *Korean J Parasitol* 2010; 48(1):61-5.
- Nugent RP, Krohn MA, Hillier SL. Reliability of diagnosing bacterial vaginosis is improved by a standardized method of gram stain interpretation. *J Clin Microbiol*. 1991;29(2):297-301. Proyecto BACOVA, Programa PROSAR, Fundación Bioquímica Argentina. Manual de Procedimientos BACOVA 2012. Disponible en: <http://www.fba.org.ar/PROSAR>
- Jorgensen JH, Pfaller MA, Carrol KC, Funke G, Landry ML, Richter SS, Warnock DW, editors. *Manual of Clinical Microbiology*. 11th edition. Washington DC, ASM Press, 2015.
- Karas M, Krüger R. Ion formation in MALDI: the cluster ionization mechanism. *Chem Rev*. 2003; 103(2):427-40.
- Tang YW, Lozano L, Chen X, Querec TD, Katabi N, Moreno-Docón A, *et al.* An Isothermal, Multiplex Amplification Assay for Detection and Genotyping of Human Papillomaviruses in Formalin-Fixed, Paraffin-Embedded Tissues. *J Mol Diagn* 2020; 22(3):419-28.
- Kyrgiou M, Mitra A, Moscicki AB. Does the vaginal microbiota play a role in the development of cervical cancer? *Transl Res* 2017; 179:168-82.
- González JV, Deluca GD, Liotta DJ, Correa RM, Basiletti JA, Colucci MC,

- et al; MALBRAN HPV Surveillance Study Group. Baseline prevalence and type distribution of Human papillomavirus in sexually active non-vaccinated adolescent girls from Argentina. *Rev Argent Microbiol* 2021; 53(1):11-9.
28. Ciapponi A, Bardach A, Glujovsky D, Gibbons L, Picconi MA. Type-specific HPV prevalence in cervical cancer and high-grade lesions in Latin America and the Caribbean: systematic review and meta-analysis. *PLoS One* 2011; 6(10):e25493.
29. Mitra A, MacIntyre DA, Marchesi JR, Lee YS, Bennett PR, Kyrgiou M. The vaginal microbiota, human papillomavirus infection and cervical intraepithelial neoplasia: what do we know and where are we going next? *Microbiome* 2016; (1):58.
30. Lewis FMT, Bernstein KT, Aral SO. Vaginal Microbiome and Its Relationship to Behavior, Sexual Health, and Sexually Transmitted Diseases. *Obstet Gynecol* 2017; 129(4):643-54.
31. Audirac-Chalifour A, Torres-Poveda K, Bahena-Román M, Téllez-Sosa J, Martínez-Barnetche J, Cortina-Ceballos B, López-Estrada G, Delgado-Romero K, Burguete-García AI, Cantú D, García-Carrancá A, Madrid-Marina V. Cervical Microbiome and Cytokine Profile at Various Stages of Cervical Cancer: A Pilot Study. *PLoS One* 2016; 11(4):e0153274.
32. Hillier SL, Lau RJ. Vaginal microflora in postmenopausal women who have not received estrogen replacement therapy. *Clin Infect Dis* 1997;25 Suppl S123-6.
33. Scott M, Stites DP, Moscicki AB. Th1 cytokine patterns in cervical human papillomavirus infection. *Clin Diagn Lab Immunol* 1999; 6(5):751-5.
34. Lee JE, Lee S, Lee H, Song YM, Lee K, Han MJ, et al. Association of the vaginal microbiota with human papillomavirus infection in a Korean twin cohort. *PLoS One* 2013; 8(5):e63514.
35. Mitra A, MacIntyre DA, Lee YS, Smith A, Marchesi JR, Lehne B, et al. Cervical intraepithelial neoplasia disease progression is associated with increased vaginal microbiome diversity. *Sci Rep* 2015; 5:16865.
36. Abdul-Aziz M, Mahdy MAK, Abdul-Ghani R, Alhilali NA, Al-Mujahed LKA, Alabsi SA, et al. Bacterial vaginosis, vulvovaginal candidiasis and trichomonal vaginitis among reproductive-aged women seeking primary healthcare in Sana'a city, Yemen. *BMC Infect Dis* 2019;19(1):879.
37. Buscemi L, Arechavala A, Negroni R. Estudio de las vulvovaginitis agudas en pacientes adultas, sexualmente activas, con especial referencia a la candidiasis, en pacientes del hospital de infecciosas Francisco J. Muñiz [Study of acute vulvovaginitis in sexually active adult women, with special reference to candidosis, in patients of the Francisco J. Muñiz Infectious Diseases Hospital]. *Rev Iberoam Micol* 2004; 21(4):177-81.
38. Kamara P, Hylton-Kong T, Brathwaite A, Del Rosario GR, Kristensen S, Patrick N, et al. Vaginal infections in pregnant women in Jamaica: prevalence and risk factors. *Int J STD AIDS* 2000; 11(8):516-20.
39. Kero K, Rautava J, Syrjänen K, Grenman S, Syrjänen S. Association of asymptomatic bacterial vaginosis with persistence of female genital human papillomavirus infection. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2017; 36(11):2215-9.
40. Murta EF, Souza MA, Araújo Júnior E, Adad SJ. Incidence of *Gardnerella vaginalis*, *Candida* sp. and human papilloma virus in cytological smears. *Sao Paulo Med J* 2000;118(4):105-8.
41. Dareng EO, Ma B, Famooto AO, Akarolo-Anthony SN, Offiong RA, Olaniyan O, Dakum PS, et al. Prevalent high-risk HPV infection and vaginal microbiota in Nigerian women. *Epidemiol Infect* 2016;144:123-37
42. Clarke MA, Rodriguez AC, Gage JC, Herrero R, Hildesheim A, Wacholder S, et al. A large, population-based study of age-related associations between vaginal pH and human papillomavirus infection. *BMC Infect Dis* 2012; 12:33.

## ARTÍCULO ORIGINAL

# Estudio del estado metabólico de una población de deportistas recreacionales de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires

*Study of the metabolic state of a population of recreational athletes from the City of Buenos Aires, Argentina*  
Aymard, Adrián<sup>1\*</sup>; Peverini, Agustina<sup>1</sup>; González, Sabrina<sup>1</sup>; Louzán, Silvia<sup>1</sup>; Salkind, Sonia<sup>1</sup>; Blanco,<sup>2</sup> Juan; Redruello, Marcela<sup>2</sup>; Aranda, Claudio<sup>1</sup>; Oneto, Adriana<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio Análisis Clínicos Buenos Aires, TCba Laboratorio. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

<sup>2</sup>Área Cardiología, TCba Centro Diagnóstico. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

\*Contacto: Aymard, Adrián. TCba Laboratorio, Salguero 560 2do piso, C1177AEJ, adrianaymard@hotmail.com

## Resumen

**Introducción:** Se vincula la actividad física con un conjunto de beneficios relacionados con la mejora de la calidad de vida. **Objetivos:** Este trabajo permite conocer el estado metabólico de una población de deportistas recreacionales de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires, según la intensidad del entrenamiento y el tipo de deporte practicado. **Materiales y métodos:** Se evaluaron 1663 deportistas recreacionales, clasificados según actividad e intensidad. Se registraron edad, presión arterial, VO<sub>2</sub> pico, frecuencia cardíaca, índice de masa corporal, colesterol total, triglicéridos, colesterol unido a las lipoproteínas de alta densidad, colesterol unido a las lipoproteínas de baja densidad y glucosa. **Resultados:** Las medias obtenidas de los parámetros estudiados no superan el rango de referencia. Según los datos individuales por deportista, se observan parámetros alterados, lo que permite clasificarlos en: metabólicamente sanos y metabólicamente no sanos. Más del 60 % de los deportistas puede definirse como *metabólicamente sano*. Según la intensidad de entrenamiento, se observa una relación directamente proporcional entre el aumento de la intensidad y la mejora del estado metabólico. **Conclusiones:** La respuesta generada por el ejercicio sobre los parámetros bioquímicos asociados al síndrome metabólico es un efecto beneficioso en el control de los mismos y es relevante cuando la intensidad es más elevada, independientemente del tipo de actividad que se desarrolle. El índice de masa corporal puede ser un buen parámetro para proyectar ciertas alteraciones en el perfil metabólico, pero no es posible estandarizar este criterio.

**Palabras clave:** actividad física, obesidad, parámetros bioquímicos, metabólicamente sano.

## Abstract

**Introduction:** Physical activity is associated with several benefits related to improving the quality of life. **Objectives:** This work aimed to know the metabolic state of a population of recreational athletes from the City of Buenos Aires, Argentina, according to the intensity of training and the type of sport practiced and the relationship between training and the type of sport practiced. **Materials and methods:** A total of 1663 recreational athletes were evaluated, classifying them according to the activity performed and its intensity. The age, blood pressure, VO<sub>2</sub> peak, heart rate, body mass index, and total levels of cholesterol, triglycerides, high-density lipoprotein cholesterol, low-density lipoprotein cholesterol, and glucose were recorded. **Results:** The means obtained for the parameters studied did not exceed the reference range. According to the individual data of each athlete, some altered parameters were observed. These allowed them to be classified as metabolically healthy and not metabolically healthy. More than 60% of athletes were defined as metabolically healthy. Depending on the intensity of training, a directly proportional relationship between the increase in intensity and the improvement of the metabolic state was observed. **Conclusions:** The response generated by exercise on the biochemical parameters associated with metabolic syndrome has a beneficial effect in controlling them, and is relevant when the intensity of the activity is higher, regardless of the type of activity developed. The body mass index can be a good parameter to project certain alterations in the metabolic profile, but this criterion cannot be standardized.

**Keys words:** physical activity, obesity, biochemical parameters, metabolically healthy.

## Introducción

La actividad física y la práctica deportiva son herramientas fundamentales para el desarrollo de una vida saludable. Existen amplias evidencias científicas que vinculan estas actividades con un conjunto de beneficios relacionados con la salud, la prevención de enfermedades crónicas no transmisibles y la mejora de la calidad de vida. Esto se debe a que el ejercicio regula una serie de procesos fisiológicos a través de diferentes mecanismos entre los que se destacan la modulación de los lípidos plasmáticos, la elevación del colesterol C-HDL, la regulación del metabolismo de la glucosa y el mantenimiento de la tensión arterial. En este sentido, ciertos parámetros fisiológicos y bioquímicos se asocian a la severidad de determinadas enfermedades y su medición permite conocer el estado de salud de un individuo.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) define el índice de masa corporal (IMC) como “un indicador simple de la relación entre el peso y la talla que puede utilizarse para identificar sobrepeso y obesidad en los adultos”. Este parámetro no suele diferenciar la masa muscular de la grasa corporal, pero sirve a fin de estimar el rango de peso saludable para los individuos.

Para evaluar el estado de salud de deportistas recreacionales, se sugiere la realización del apto físico deportivo, que consta de una serie de exámenes clínicos y de laboratorio que permiten valorar la condición de un deportista para desarrollar la actividad cuidando su salud y con mínimo riesgo<sup>1</sup>.

El objetivo de este trabajo es conocer el estado metabólico y observar la relación entre el entrenamiento físico y el tipo de deporte practicado con los parámetros definidos asociados al síndrome metabólico de una población de deportistas recreacionales de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires. Es interés de los autores plantear la relación entre IMC y el perfil metabólico de esta población.

**Tabla I.** Valores de referencia establecidos por *Adult Treatment Panel III* para síndrome metabólico.

### Valores de referencia (ATP III)

C-LDL	Menor que 130 (mg/dL)
CT	Menor que 200 (mg/dL)
C-HDL	Mayor que 40 (mg/dL)
TG	Menor que 150 (mg/dL)
G	70 - 110 (mg/dL)
P Arterial	80 - 130 (mmHg)

► ATP III, *Adult Treatment Panel III*; C-LDL, colesterol unido a las lipoproteínas de baja densidad; CT, colesterol total; C-HDL, colesterol unido a las lipoproteínas de alta densidad; TG, triglicéridos; G, glucosa; P Arterial, presión arterial.

**Tabla II.** Valores de referencia establecidos por la Organización Mundial de la Salud para el índice de masa corporal.

IMC (OMS)	Normal	18,5 - 24,9
	Sobrepeso	25,0 - 29,9
	Obesidad	> 30,0

► IMC, índice de masa corporal; OMS, Organización Mundial de la Salud.

## Materiales y métodos

Se realizó un estudio descriptivo, exploratorio, de corte transversal, que evaluó a varones mayores de 18 años, deportistas amateurs o recreacionales, que concurrieron a nuestro centro de salud durante enero - diciembre de 2019 para el chequeo anual, con el fin de obtener el apto físico deportivo. Se distribuyeron por actividad deportiva (gimna-

**Tabla III.** Parámetros bioquímicos evaluados en el grupo de deportistas, diferenciados por actividad.

Deporte	n	G (mg/dL) media ± DS	C-HDL (mg/dL) media ± DS	C-LDL (mg/dL) media ± DS	COL (mg/dL) media ± DS	TG (mg/dL) media ± DS
Artes marciales - boxeo – <i>crossfit</i>	183	86,9 ± 7,7	48,0 ± 9,6	112,4 ± 29,5	180,3 ± 35,2	99,6 ± 61,4
Ciclismo	104	89,0 ± 11,6	48,8 ± 11,0	121,0 ± 30,9	191,2 ± 37,5	99,7 ± 50,8
Fútbol	531	87,8 ± 8,1	47,9 ± 9,7	113,7 ± 30,0	182,9 ± 35,8	106,8 ± 85,8
Natación	80	87,7 ± 7,8	47,7 ± 8,8	118,7 ± 33,4	188,0 ± 40,8	107,8 ± 51,6
<i>Running</i>	176	88,1 ± 7,65	50,0 ± 11,6	117,3 ± 27,9	187,4 ± 32,2	100,9 ± 48,3
<i>Rugby</i>	141	85,9 ± 7,2	47,2 ± 8,3	101,7 ± 28,7	165,9 ± 34,1	87,1 ± 45,6
Gimnasio	374	86,9 ± 7,9	47,0 ± 10,1	115,7 ± 28,4	182,2 ± 33,7	102,2 ± 61,9
Básquet	47	87,0 ± 6,2	49,7 ± 8,9	100,0 ± 23,4	167,6 ± 27,5	89,3 ± 41,2
<i>Hockey</i>	27	88,0 ± 4,9	50,0 ± 10,6	95,0 ± 22,7	163,0 ± 26,7	82,0 ± 42,0

► C-LDL, colesterol unido a las lipoproteínas de baja densidad; COL, colesterol total; C-HDL, colesterol unido a las lipoproteínas de alta densidad; TG, triglicéridos; G, glucosa; n, número de deportistas.

**Tabla IV.** Variables fisiológicas evaluadas en el grupo de deportistas, diferenciadas por actividad.

Deporte	n	Edad [años] media ± DS	IMC media ± DS	PAD basal (mmHg) media ± DS	PAS Basal (mmHg) media ± DS	FC basal media ± DS	FC máxima media ± DS	VO <sub>2</sub> pico (ml/min/kg) media ± DS
Artes marciales - boxeo – <i>crossfit</i>	183	34,3 ± 8,8	26,2 ± 3,0	75,5 ± 8,0	116,7 ± 10,0	67 ± 12,3	173 ± 13,4	53,0 ± 10,3
Ciclismo	104	38,7 ± 9,9	26,4 ± 3,4	76,2 ± 7,1	118,4 ± 16,2	67 ± 11,9	172 ± 11,7	52,0 ± 9,7
Fútbol	531	33,7 ± 9,1	26,0 ± 3,4	74,5 ± 7,7	116,9 ± 10,4	67 ± 13,2	172 ± 14,0	53,0 ± 10,2
Natación	80	36,8 ± 10,2	25,7 ± 3,3	75,2 ± 7,5	116,7 ± 10,8	69 ± 13,5	172 ± 11,9	50,0 ± 11,6
<i>Running</i>	176	38,8 ± 9,6	25,8 ± 3,2	74,9 ± 6,6	116,4 ± 13,0	68 ± 12,2	172 ± 11,5	54,0 ± 10,4
<i>Rugby</i>	141	24,6 ± 8,6	26,6 ± 3,8	74,3 ± 7,3	118,3 ± 11,4	67 ± 12,3	183 ± 13,8	54,0 ± 10,1
Gimnasio	374	34,4 ± 10,4	26,5 ± 4,6	75,5 ± 8,3	118,0 ± 10,9	70 ± 12,9	173 ± 12,4	49,0 ± 11,1
Básquet	47	30,5 ± 10,3	24,7 ± 4,2	74,9 ± 8,0	114,4 ± 11,5	69 ± 11,8	174 ± 12,3	52,0 ± 10,7
<i>Hockey</i>	27	27,0 ± 8,6	24,0 ± 1,9	71,3 ± 5,9	115,6 ± 9,6	62 ± 13	173 ± 13,9	59,0 ± 7,0

► IMC, índice de masa corporal; PAD, presión arterial diastólica; PAS: presión arterial sistólica; FC, frecuencia cardíaca; VO<sub>2</sub> pico, volumen oxígeno pico; n, número de deportistas.

sio, fútbol, *running*, *hockey*, *crossfit*/boxeo/artes marciales, *rugby*, ciclismo, natación y básquet).

Se clasificó la intensidad de la actividad física en leve, moderada e intensa, según la percepción subjetiva de los deportistas. A partir de la entrevista, revisión médica y ergometría, se registraron datos de edad, peso, talla, presión arterial diastólica (TAD) y sistólica (TAS) en reposo y máxima (TAM), frecuencia cardíaca basal y máxima y VO<sub>2</sub> pico, que representa la máxima tolerancia al ejercicio. El índice de masa corporal (IMC) fue obtenido a partir de la fórmula peso/talla<sup>2</sup>. La frecuencia de entrenamiento mínima exigida fue de 3 veces por semana, con una duración de al menos 60 minutos. Se excluyeron del estudio aquellos deportistas que se encontraban bajo medicación y con patologías metabólicas ya diagnosticadas.

Como variables bioquímicas se midieron: colesterol total (CT), triglicéridos (TG), colesterol unido a las lipoproteínas de alta densidad (C-HDL), colesterol unido a las lipoproteínas de baja densidad (C-LDL) y glucosa (G) en Advia 1800, Siemens. La muestra sanguínea de cada deportista fue recolectada después de 12 horas de ayuno y procesada dentro de la rutina diaria del laboratorio. Los resultados se compararon con los valores de referencia (VR) establecidos para el síndrome metabólico (SM) por *Adult Treatment Panel III* (ATPIII) y para el IMC por la OMS (Tablas I y II).

Se definieron dos grupos basados en ATPIII, considerando la alteración de menos de 3 parámetros (menos 3PA) y tres o más parámetros (3 o más PA). A partir de estos resultados, se definieron dos grupos de comparación: me-

**Tabla V.** Porcentaje de individuos que presentan parámetros alterados, clasificados por menos de 3 o 3, o más parámetros alterados, según distintos deportes.

Deporte	n	% Menos 3 PA	% 3 o más PA
Artes marciales - boxeo – <i>crossfit</i>	183	75	25
Ciclismo	104	68	32
Fútbol	531	72	28
Natación	80	63	37
<i>Running</i>	176	68	32
<i>Rugby</i>	141	85	15
Gimnasio	374	71	29
Básquet	47	89	11
<i>Hockey</i>	27	93	7

► PA, parámetros alterados; n, número de deportistas.

**Tabla VI.** Porcentaje de individuos, según índice de masa corporal por deporte.

Deporte	n	% IMC N	% IMC S	% IMC O
Artes marciales - boxeo - <i>crossfit</i>	183	40	50	10
Ciclismo	104	40	48	12
Fútbol	531	42	46	12
Natación	80	41	50	9
<i>Running</i>	176	43	48	9
<i>Rugby</i>	141	37	45	18
Gimnasio	374	44	37	19
Básquet	47	55	34	11
<i>Hockey</i>	27	67	33	0

► IMC, índice de masa corporal; N, normopeso; S, sobrepeso; O, obeso; n, número de deportistas.

tabólicamente sano (MetS) y metabólicamente no sano (MetNS), según tuvieran hasta tres o tres inclusive, o más de tres parámetros alterados, respectivamente. Se comparó cada una de las actividades deportivas, por parámetros individuales y se agrupó a los deportistas según fueran MetS o MetNS.

El análisis estadístico realizado fue de tipo descriptivo de cada una de las variables, y se expresaron los resultados en promedio  $\pm$  desviación *standard*. Se utilizó el Test T (Student) para muestras independientes, con nivel de significancia  $p < 0,05$ . La relación de las variables se evaluó por regresión logística (SPSS-25.0//GraphPad Prism 8//InfoStat).

Los autores declaran que en este trabajo no se han realizado experimentos con seres humanos ni animales, y se han seguido los protocolos correspondientes al centro de salud sobre la publicación y confidencialidad de los datos de los pacientes.

## Resultados

Se evaluaron 1663 varones deportistas, distribuidos según actividad: gimnasio (374), fútbol (531), *running* (176), *hockey* (27), *crossfit*/boxeo/artes marciales (183), *rugby* (141), ciclismo (104), natación (80), y básquet (47).

Las variables bioquímicas evaluadas y los datos obtenidos en la entrevista médica previa se presentan en las Tablas III y IV, según la actividad deportiva realizada. Se puede observar que las medias obtenidas se encuentran todas dentro del rango de referencia correspondiente.

Las pruebas ergométricas se detuvieron por agotamiento muscular y alcanzaron, en todos los casos, valores superiores a los 13 METS (*metabolic equivalent of task*), que representan la carga de trabajo tolerada (valor máximo alcanzado: 20 Mets). Un umbral de 10 METS es considerado un objetivo para quienes comienzan a realizar actividad física y es fácilmente alcanzado por los deportistas en las

**Tabla VII.** Clasificación de obesos metabólicamente sanos y normopesos metabólicamente no sanos, según actividad deportiva, expresada en porcentaje y número de individuos.

Deporte	OMetS % (n)	NMetNS % (n)
Artes marciales - boxeo - <i>crossfit</i>	8,2 (15)	1,6 (3)
Ciclismo	9,6 (10)	2,9 (3)
Fútbol	8,8 (48)	0,8 (4)
Natación	8,8 (7)	1,3 (1)
<i>Running</i>	8,0 (14)	1,1 (2)
<i>Rugby</i>	16,3 (23)	0 (0)
Gimnasio	16,0 (60)	1,0 (4)
Básquet	10,6 (5)	2,0 (1)
<i>Hockey</i>	0 (0)	0,0 (0)

► OMetS, obesos metabólicamente sanos; NMetNS, normopesos metabólicamente no sanos; n, número de deportistas.

**Tabla VIII.** Porcentaje de deportistas por intensidad del entrenamiento y deporte, según IMC y PA.

Deporte	n	Edad	Intensidad	IMC	%Menos 3 PA	%3 o más PA	%IMC N	%IMC S	%IMC O
<i>Artes marciales - boxeo – crossfit</i>	5	41	Leve	24,5	80%	20%	60%	40%	0%
	93	35	Moderada	26,7	90%	10%	37%	48%	15%
	81	33	Intensa	25,7	94%	6%	45%	49%	6%
Ciclismo	12	38	Leve	27,0	92%	8%	34%	58%	8%
	61	39	Moderada	26,4	85%	15%	39%	48%	13%
	29	39	Intensa	26,3	93%	7%	45%	45%	10%
Fútbol	72	36	Leve	27,7	72%	28%	22%	49%	29%
	360	34	Moderada	25,9	92%	8%	44%	45%	11%
	81	32	Intensa	25,3	96%	4%	45%	49%	6%
Natación	12	35	Leve	25,0	75%	25%	42%	41%	17%
	54	37	Moderada	26,0	87%	13%	41%	52%	7%
	13	36	Intensa	25,1	100%	0%	46%	46%	8%
Running	20	36	Leve	27,6	90%	10%	25%	55%	20%
	114	39	Moderada	28,5	95%	5%	45%	47%	8%
	40	39	Intensa	25,1	100%	0%	48%	47%	5%
Rugby	1	40	Leve	26,6	100%	0%	0%	100%	0%
	39	28	Moderada	26,7	92%	8%	36%	41%	23%
	96	23	Intensa	26,5	100%	0%	35%	48%	17%
Gimnasio	61	34	Leve	27,4	89%	11%	31%	44%	25%
	264	37	Moderada	26,2	92%	8%	49%	33%	18%
	38	32	Intensa	26,6	92%	8%	32%	50%	18%
Básquet	4	31	Leve	26,5	100%	0%	25%	75%	0%
	29	33	Moderada	25,0	97%	3%	45%	45%	10%
	14	26	Intensa	23,7	93%	7%	86%	0%	14%
Hockey	3	30	Moderada	25,1	33%	67%	33%	67%	0%
	24	27	Intensa	23,9	100%	0%	71%	29%	0%

► IMC, índice de masa corporal; N, normopeso; S, sobrepeso; O, obeso; PA, parámetros alterados, n, número de deportistas. No se registran sujetos que realicen Hockey con intensidad leve.

pruebas de esfuerzo. El  $\text{VO}_2$  pico medio obtenido es superior a 49,0 ml/min/kg en todas las disciplinas, con un mínimo individual de 45,5 ml/min/kg y un máximo de 70,0 ml/min/kg.

Analizando los datos individuales de los deportistas, se observa que, más allá de presentar en conjunto medias dentro del rango de referencia, existen parámetros individuales por fuera del rango (parámetros individuales alterados: PA).

En la Tabla V, se muestran las diferentes categorías deportivas, según menos de 3 o 3 o más PA, basadas en

la definición ATPIII. Se observa que, en todos los casos, la mayoría de los deportistas (más de un 60 %) puede definirse como *MetS*. El deporte que presenta mayor porcentaje de deportistas con más de tres parámetros alterados es la natación.

El parámetro bioquímico individual que se presenta alterado en un mayor porcentaje de individuos es el CT (31,01 %), seguido por C-HDL (20,80 %) y TG (15,36 %). La variable menos alterada es la glucosa, con 1,43 %. Esta observación se correlaciona con el efecto beneficioso que genera la realización de cualquier deporte sobre el meta-

**Tabla IX.** Asociación entre intensidad de la actividad y cantidad de parámetros alterados.

Intensidad	OR	Wald Chi*	p
Leve	2,99	4,57	<0,0001*
Moderada	1,00	1,3x10-5	0,9971

► OR, Odd Ratio; PA, parámetros alterados; \*p< 0,05, significativo; condición de referencia de intensidad: intensa; variables dependientes dicotómicas, menos 3 PA, 3 o más PA; condición de referencia, menos 3 PA.

bolismo de los hidratos de carbono y la regulación de la glucosa.

La Tabla VI muestra la categorización según IMC, por deporte y por porcentaje de individuos.

A partir del análisis y comparación de los resultados de IMC vs. PA, puede observarse que hay un grupo de individuos que se definen como 0, según IMC, pero no presentan más de 3 PA, por lo que pueden clasificarse como obesos metabólicamente sanos (OMetS). Además, aquellos deportistas que presentan IMC normal, pero tienen más de 3 parámetros alterados pueden definirse como normal metabólicamente no sano (MetNS). En todas las actividades deportivas, este grupo no supera el 3% (Tabla VII).

Analizando las diferentes actividades deportivas, según la intensidad de entrenamiento, se observa que, en todos los grupos, existe una relación inversamente proporcional entre el aumento de la intensidad y el porcentaje de PA. En todos los casos, cuando la actividad es clasificada como intensa, el porcentaje de deportistas MetS es superior a 90%. En el caso del *hockey*, que no tiene deportistas que realicen actividad de intensidad leve, no se observan individuos clasificados como obesos, según IMC (Tabla VIII).

A partir del análisis estadístico de los datos que dieron lugar a la Tabla VIII, se evidencia que aquellos deportistas que realizan una actividad con intensidad leve, independientemente del tipo de deporte que practiquen, tienen 3 veces más probabilidades que los deportistas que realizan actividad intensa de tener 3 o más parámetros del metabolismo alterados (Tabla IX). A su vez, aquellos sujetos que practican una actividad con intensidad leve y presentan sobrepeso u obesidad tienen de 2,6 a 3 veces más probabilidades de ser NMetS que aquellos que lo hacen de forma intensa (Tabla X).

## Discusión

Se puede definir salud como un reflejo del bienestar físico global, mental y social, que supera el hecho de ausencia de enfermedad. La salud no es estable en el transcurso del tiempo y puede ser modificada por acciones nutricionales o actividad física. La OMS expresa que la salud conforma un conjunto de situaciones que derivan en el bienestar de la persona<sup>2</sup>.

Este trabajo describe el estado metabólico de un grupo de deportistas recreacionales y para ello utiliza el IMC como referencia de condición de obesidad y los valores del Panel III de Tratamiento de Adultos del Programa Nacional de Educación sobre el Colesterol (ATP-III) para definir la situación del individuo metabólicamente sano<sup>3</sup>. De este modo, se señala la presencia de tres o más de los cinco criterios recogidos como indicadores de alteración. En este estudio, todos los individuos siguen programas de entrenamiento y presentan una condición física adecuada, demostrable a partir de los datos fisiológicos obtenidos, por lo que es esperable que su perfil metabólico también lo sea. Sin embargo, resultados individuales pueden marcar diferencias con este concepto.

Del análisis, surge la presencia de deportistas con buen perfil metabólico, pero con obesidad. La obesidad metabólicamente sana (OMetS) es un concepto reciente que describe un fenotipo de pacientes obesos que parecen estar protegidos contra las alteraciones metabólicas; es decir, individuos que tienen IMC elevado, pero carecen de parámetros bioquímicos y fisiológicos alterados. Por ello, para definir OMetS es posible excluir el síndrome metabólico, usando las clasificaciones de ATP-III<sup>4-7</sup>. El reconocimiento del sedentarismo como factor de riesgo cardiovascular y el efecto beneficioso del ejercicio regular para el organismo motivan la promoción de la actividad física dentro de la población en favor de la salud y la prevención de enfermedades. La respuesta en el perfil metabólico

**Tabla X.** Asociación entre intensidad de la actividad, IMC y cantidad de parámetros alterados.

Asociación	OR	Wald Chi*	p
Leve con sobrepeso	2,93/1,72	24,35/8,60	<0,0001*/0,0034*
Leve con obesidad	2,68/2,68	19,88/21,50	<0,0001*/<0,0001*
Moderada con sobrepeso	1,03/1,76	0,02/9,44	0,8845/0,0021*
Moderada con obesidad	1,02/2,95	0,01/26,96	0,9084/<0,0001*

► OR, Odd Ratio; PA, parámetros alterados; \*p< 0,05, significativo; condición de referencia de intensidad, intensa; condición de referencia IMC, normopeso; variables dependientes dicotómicas, menos 3 PA, 3 o más PA; condición de referencia, menos 3 PA.

después de una sesión de ejercicio físico, así como los efectos de un programa de entrenamiento, es diferente según el tipo de ejercicio, la intensidad, la frecuencia, la duración de la sesión y el tiempo de permanencia. No todo ejercicio o actividad deportiva tiene los mismos efectos en el perfil metabólico. Muchas veces se utiliza del mismo modo la interpretación del efecto de diferentes actividades deportivas, pero esta se presenta en varias modalidades muy diferentes entre sí, así como también los factores que limitan dichos efectos en función de cuál sea el ejercicio y sus diferentes especialidades. Esto plantea una gran dificultad a la hora de evaluarlos de acuerdo con las diferentes exigencias de la preparación deportiva, atendiendo a sus características bioenergéticas. Considerando las distintas metodologías de entrenamiento, se pueden agrupar las actividades en deportes de fuerza y fuerza rápida (levantamiento de pesas, saltos y lanzamientos); deportes de combate (boxeo, *kickboxing*); deportes de *endurance* (medio fondo y fondo; natación, ciclismo en carretera); deportes de características intermitentes (fútbol, voleibol, baloncesto), entre otros. Comparar los efectos de deportes diferentes en el perfil metabólico puede resultar realmente difícil, ya que, aunque predomine la misma vía energética, las características intrínsecas del entrenamiento y, en especial, la intensidad del mismo pueden diferir sustancialmente<sup>8</sup>.

En este trabajo, las diferentes actividades deportivas realizadas presentan respuestas individuales en los parámetros medidos, pero la tendencia general es la de la protección y disminución de los factores de riesgo metabólicos, independientemente del IMC. Dentro de este contexto, debemos destacar que, según datos de la OMS, alrededor del 13 % de los adultos, mundialmente, presenta obesidad y más del 39 %, sobrepeso [OMS, 2016]<sup>9</sup>. La obesidad se ha convertido en el factor de riesgo en salud modificable, más importante y se la considera una enfermedad crónica, de origen multifactorial, que presenta una gran cantidad de fenotipos<sup>10</sup>. Para su desarrollo, se involucran la susceptibilidad genética, metabólica, endocrinológica, los estilos de vida (íntimamente relacionados con la actividad física) y el entorno, con influencia de diversos determinantes subyacentes como la condición económica, la educación, la cultura, la urbanización y las condiciones sociopolíticas. Algunos autores describen la existencia de pacientes con obesidad que se encontrarían protegidos de las anormalidades metabólicas, a los que clasifican como pacientes con obesidad metabólicamente sanos, y estiman que, aproximadamente entre un 10 y 20 %, no presentan complicaciones metabólicas como riesgo cardiovascular<sup>11,12</sup>. En este estudio, se encontró un grupo menor, pero que debe ser tenido en cuenta, de deportistas metabólicamente sanos que presentan obesidad. La utilización adecuada de los sustratos energéticos a partir de la realización de actividad física colabora en disminuir el riesgo y mejorar la calidad de vida, pero se debe tener en cuenta que la obesidad aumenta el riesgo de desarrollar patologías. En ese sentido, es importante observar el

equilibrio entre la acción del tejido adiposo y el muscular. El músculo es un órgano, también con características endocrinas, subestimado en el papel que cumple en la salud y la enfermedad<sup>13</sup>. Sin embargo, el paciente con obesidad, sin importar el fenotipo, parece tener mayor riesgo de progresión de las enfermedades crónicas. La condición de *metabólicamente sano*, que se pierde al asociarse principalmente a hipertrigliceridemia, nivel bajo de C-HDL y desregulación del metabolismo de la glucosa, podría no sostenerse en el tiempo, a medida que la edad avanza. En consecuencia, presentar obesidad ofrece una situación de riesgo cardiovascular de por sí. De acuerdo con los diferentes autores, el fenotipo metabólicamente sano puede alcanzar hasta el 30 % en los pacientes que presentan obesidad, lo que, en algunos casos, puede retardar el inicio del tratamiento nutricional por no contar con complicaciones metabólicas. Es importante considerar que el fenotipo del paciente con obesidad metabólicamente sano puede estar relacionado con su edad y conforme avance el grado de obesidad o aumente la edad, se pueden desarrollar complicaciones metabólicas<sup>14</sup>. Ante este panorama, es indispensable saber que la actividad física mejora la calidad de vida de todos los individuos: el sistema muscular interactúa con otros órganos por medio de sus mioquinas, mejorando la condición de ese paciente y retrasa la aparición de disfunciones metabólicas asociadas a la obesidad.

Se requieren más estudios en donde se evalúen de modo longitudinal la evolución del fenotipo, la respuesta a intervenciones nutricionales y el desarrollo general del individuo para corroborar que el estado inicial de OMetS se mantiene a lo largo del paso de los años.

En conclusión, la observación de los resultados obtenidos evidencia que la respuesta generada por el ejercicio sobre los parámetros bioquímicos asociados al síndrome metabólico produce un efecto beneficioso en el control de los mismos, el IMC guarda una relación adecuada con el perfil metabólico. Estos aspectos son más relevantes cuando la intensidad del entrenamiento es mayor, independientemente del tipo de actividad que se desarrolle. Deben considerarse también aspectos individuales, por lo que es necesario que cada deportista sea evaluado en su contexto para asegurar su cuidado y control. El IMC puede ser un buen indicador a tener en cuenta para definir posibles alteraciones en los parámetros metabólicos, pero no es mandatorio, ya que la fisiología junto con factores externos y ambientales no permite estandarizar este criterio.

### Agradecimientos

Al personal del Laboratorio del Área Preanalítica por la recolección de muestras para su proceso; al Área de Química Clínica del laboratorio y al Servicio de Cardiología de TCba por las facilidades otorgadas para la recolección de datos y a la Dirección de TCba Laboratorio por la facilitación de recursos y apoyo integral para la realización del trabajo.

## Conflictos de interés

Los autores declaran no presentar ningún conflicto de interés.

## Referencias bibliográficas

1. Navarrete Mejia PJ, Loayza Alarico MJ, Velazco Guerrero JC, Huatuco Collantes ZA, Meza RA. Índice de masa corporal y niveles séricos de lípidos. *Horiz Med.* 2016;2(16):13-8.
2. Sandoval AEP, Arencibia ELP. Actividad física en la prevención y tratamiento de la enfermedad cardiometabólica. La dosis de ejercicio cardiosaludable. Ministerio de sanidad, política social e igualdad. España, 2011. Disponible en: [https://fundadeps.org/wp-content/uploads/eps\\_media/recursos/documentos/267/libro\\_ejercicio\\_cardiosaludable\\_CSD.pdf](https://fundadeps.org/wp-content/uploads/eps_media/recursos/documentos/267/libro_ejercicio_cardiosaludable_CSD.pdf)
3. Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults. Executive summary of the third report of the national cholesterol education program (NCEP) expert panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults (adult treatment panel III). *JAMA.* 2001;285(19):2486-97.
4. Pajuelo RJ, Arbañil HH, Gonzales JS, Gamarra GD, Torres AH, Pando R. Obeso metabólicamente normal. *An Fac Med.* 1975;2:113-8.
5. Osadnik K, Osadnik T, Lonnie M, Lejawa M, Reguła R, Fronczek M, et al. Metabolically healthy obese and metabolic syndrome of the lean: the importance of diet quality. Analysis of MAGNETIC cohort. *Nutr J.* 2020;19(1):19.
6. Fernández-Travieso JC. Incidencia actual de la obesidad en las enfermedades cardiovasculares. [Spanish]. *Revista CENIC Ciencias Biológicas.* 2016;47(1):1-11.
7. Loje-López C, Gutiérrez-Zevallos J, Gonzales-Rojas A. Prevalencia de obesidad metabólicamente sana en estudiantes de Medicina de la Universidad Nacional de Trujillo. *Horiz Med (Lima).* 2021;21(4): e1378.
8. Boraita A. La práctica deportiva mejora el perfil lipídico plasmático, pero ¿a cualquier intensidad? *Rev Esp Cardiol.* 2004;57(6):495-8.
9. Organización Mundial de la Salud. Obesidad y sobrepeso. [Internet]. 9 Junio 2021. [Consultado 22 septiembre 2022]. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/es/>
10. Moreno GM. Definición y clasificación de la obesidad. *Rev Méd Clín Condes.* 2012;2:124-8.
11. Primeau V, Coderre L, Karelis AD, Brochu M, Lavoie M-E, Messier V, et al. Characterizing the profile of obese patients who are metabolically healthy. *Int J Obes.* 2011;35(7):971-81.
12. Borrás JLG, Gilbert JC. ¿Existe el obeso sano? *Endocrinología y Nutrición.* 2014;1:47-51.
13. Pedersen B, Akertstrom T, Nielsen A, Fischer C. Rol de las mioquinas en el ejercicio y el metabolismo. *J Appl Physiol.* 2007;(103):1093-8.
14. Martínez A. Obesidad y salud, ¿en realidad existe el paciente obeso metabólicamente sano? *RESPYN.* 2017;16(2):44-45.

## ARTÍCULO ORIGINAL

# Respuesta local y sistémica a la contaminación ambiental aérea en los niveles molecular y funcional: la desnutrición crónica como factor de riesgo

*Local and systemic response to air pollution at the molecular and functional levels: chronic undernutrition as a risk factor.*

Kurtz, Melisa Lidia <sup>1\*</sup>; Lezón, Christian <sup>2</sup>; Masci, Ivana <sup>1</sup>; Bonetto, Julián <sup>1</sup>; Maglione, Guillermo Alberto <sup>1</sup>; Boyer, Patricia Mónica <sup>2</sup>; Álvarez, Laura <sup>3</sup>; Tasat, Deborah Ruth <sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Bio-Toxicología Ambiental, Instituto de Tecnologías Emergentes y Ciencias Aplicadas, Escuela de Ciencia y Tecnología, Universidad Nacional de San Martín-CONICET, Buenos Aires.

<sup>2</sup>Facultad de Odontología, Universidad de Buenos Aires, Ciudad Autónoma de Buenos Aires.

<sup>3</sup>Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires, Ciudad Autónoma de Buenos Aires.

\*Contacto: Kurtz, Melisa Lidia; Laboratorio de Bio-Toxicología Ambiental, Instituto de Tecnologías Emergentes y Ciencias Aplicadas, ECyT, UNSAM-CONICET. Martín de Irigoyen 3100, [1653] San Martín, Buenos Aires, Argentina; mkurtz@unsam.edu.ar

## Resumen

**Introducción:** La desnutrición y la contaminación del aire causan graves problemas de salud pública a nivel mundial, y los niños son una de las subpoblaciones más vulnerables. Sin embargo, los mecanismos que vinculan estos dos estresores no han sido aún dilucidados. Investigamos el efecto de la exposición a cenizas residuales del petróleo (ROFA) en la respuesta inmune pulmonar y en la vasculatura, en un modelo de desnutrición crónica (DC). **Métodos:** Durante 4 semanas, ratas macho destetadas fueron alimentadas con una dieta restringida al 20 % (DC) o *ad libitum* (control-C). DC y C se instilaron intranasalmente con (1 mg/kg de peso corporal) ROFA. 24 h después de la exposición. Se evaluaron en cultivo de macrófagos alveolares (MA): viabilidad celular, actividad fagocítica, respuesta oxidativa y citoquinas proinflamatorias. En la aorta torácica, se evaluaron CYP1A1, eNOS, TGFβ1, canal de calcio tipo L e IL-6, IL-10 y parámetros contráctiles. **Resultados:** La respuesta de MA-DC a ROFA mostró cambios en el metabolismo oxidativo y la producción de citoquinas que afectan sustancialmente la respuesta inmune. La exposición a ROFA aumentó los niveles de CYP1A1 y TGF-β1 y disminuyó los niveles de eNOS y de canales de calcio en la vasculatura. La capacidad contráctil y la relajación disminuyeron en ratas DC. **Conclusión:** En general, los animales DC no lograron estimular la respuesta inflamatoria y desintoxicante a ROFA. Asimismo, provocó un aumento en la resistencia vascular y una disminución en la distensibilidad de la aorta, lo que podría, consecuentemente, provocar episodios agudos de insuficiencia cardiovascular en escenarios de contaminación ambiental.

**Palabras clave:** contaminación aérea, desnutrición, material particulado, macrófagos alveolares, vasculatura, metabolismo oxidativo, citoquinas.

## Abstract

**Introduction:** Malnutrition and air pollution are known to cause serious public health problems worldwide, and children are one of the most vulnerable subpopulations. However, the mechanism linking undernutrition and air pollution exposure still remains unclear. The present study sought to investigate the effects of exposure to Residual Oil Fly Ash (ROFA) both locally on lung immune response and systemically on the vasculature, in a rat chronic undernutrition (DC) model. **Methods:** To achieve DC animals, male weanling rats were fed a diet restricted by 20% compared to *ad libitum* intake (control-C) for 4 weeks. DC and control rats were intranasally instilled with ROFA (1 mg/kg BW) 24 h after exposure the animals were euthanized. Lung alveolar macrophages (AM) were isolated by bronchoalveolar lavage, and cell viability, phagocytic activity, oxidative response and pro-inflammatory cytokine release were evaluated in cultured AM. The thoracic aorta was also isolated, and molecular (CYP1A1, eNOS, TGFβ1, Calcium channel type L and IL-6, IL-10) and contractile parameters were evaluated. **Results:** DC altered AM response to ROFA by modifying oxidative metabolism and cytokine production, substantially affecting immune responsiveness to air pollutants. Regarding the vasculature, we showed that ROFA increased CYP1A1 and TGF-β1 levels and decreased eNOs levels and calcium channels. The contraction and relaxation capacity of DC rats showed an important decrease. **Conclusions:** In general, DC animals failed to activate the inflammatory and detoxifying response to ROFA. Acute exposure to ROFA was followed by an increase in vascular resistance and a decrease in vessel distensibility, which may in turn increase cardiovascular failure.

**Key words:** Air pollution, undernutrition, particulate matter, alveolar macrophages, vasculature, oxidative metabolism, cytokines.

## Introducción

La malnutrición, en todas sus formas, es mundialmente la principal causa de problemas de salud.<sup>1</sup> La Organización Mundial de la Salud (OMS) define la malnutrición como “las carencias, los excesos o los desequilibrios de la ingesta de energía y/o nutrientes de una persona” y estima que alrededor del 45 % de las muertes de menores de 5 años está relacionado con la desnutrición, en su mayoría, en los países de ingresos bajos y medianos.<sup>2</sup>

En nuestro país, la malnutrición por defecto global de nutrientes o por insuficiencia de alimento se presenta en niños y adolescentes con consecuencias negativas en el crecimiento global, desarrollando una condición de desnutrición crónica. Según la última *Encuesta Nacional de Nutrición y Salud* del Ministerio de Salud de la Nación, la prevalencia de la desnutrición crónica en menores de 5 años es de 8 %, cifra que es más alta en poblaciones en situación de vulnerabilidad social.<sup>3</sup> Patrones alimentarios inadecuados como consecuencia del insuficiente acceso a alimentos en cantidad y calidad, y prácticas familiares relativas a la alimentación saludable son responsables del deterioro del crecimiento longitudinal y del retraso en el desarrollo puberal en niños y adolescentes, con importantes alteraciones metabólicas y neuroendócrinas secundarias al estrés nutricional.<sup>4</sup>

En nuestro laboratorio, hemos descrito un modelo de desnutrición crónica en ratas macho de destete, el cual recrea una entidad clínica observada en niños con retraso del crecimiento que consumen dietas deficientes en la energía global necesaria para lograr una ganancia de peso corporal y un crecimiento longitudinal adecuados.<sup>5</sup> Este tipo de desnutrición se manifiesta por un déficit de los índices antropométricos peso/edad y talla/edad con un peso/talla e indicadores bioquímicos de malnutrición dentro de límites normales.<sup>6</sup> Por otra parte, varios trabajos muestran los efectos de la privación nutricional sobre la estructura y función pulmonar, vía de entrada principal de los contaminantes aéreos al organismo, sobre todo en etapas de crecimiento.<sup>7,8</sup>

La contaminación aérea en las áreas urbanas es una problemática relevante de salud pública. La contaminación

aérea está compuesta por gases (CO, NO<sub>x</sub>, SO<sub>x</sub>) y material particulado (MP) que, en su mayoría, provienen de emisiones vehiculares e industriales. De acuerdo con su diámetro aerodinámico, la OMS clasificó el MP en partículas gruesas (2.5-10 μm), partículas finas (0,1-2,5 μm) y partículas ultrafinas (menores de 0,1 μm), denominadas *MP 10*, *MP 2,5* y *MP 0,1*, respectivamente.<sup>9</sup> Respecto de la composición química, el MP urbano generalmente presenta un núcleo carbonoso, trazas metálicas y compuestos orgánicos volátiles adsorbidos en su superficie: hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) y bifenilospoliclorados (PCB); reconocidos como compuestos carcinogénicos por IARC).<sup>10,11</sup>

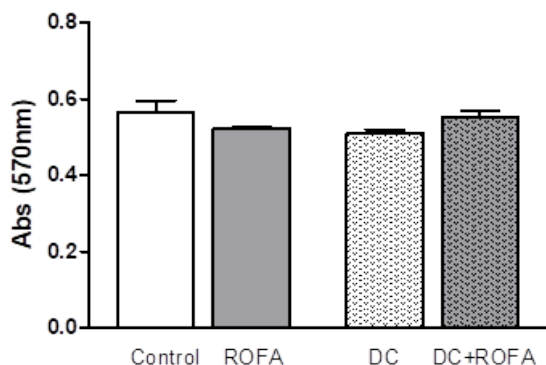
La vía principal de entrada del MP al organismo es la inhalación y el tracto respiratorio, mucosa respiratoria y fagocitos pulmonares son su blanco preferencial. En los macrófagos alveolares (MA), el MP induce la liberación de mediadores como especies reactivas del oxígeno (ROS) y del nitrógeno (NOS), interleuquinas pro y antiinflamatorias (IL-1, IL-6, TNF-α e IL-10, respectivamente), factores mitogénicos y quimiocinas.<sup>12,13</sup> En esta respuesta biológica, se activan caminos de señalización intracelular y factores de transcripción como NFκB y Nrf2 implicados en la respuesta celular de tipo inflamatoria y en la regulación de genes antioxidantes (detoxificantes de fase II).<sup>14,15</sup> Si bien la inhalación es el principal mecanismo por el cual ingresan los contaminantes aéreos al organismo, es conocido que, además de los efectos pulmonares, el MP también puede provocar efectos adversos a el nivel sistémico y en órganos a distancia (corazón, vasos, hígado, cerebro, etc.). La translocación de partículas ultrafinas a través de la barrera alvéolo-capilar y/o los mediadores liberados por las células pulmonares que pasan a circulación tienen su primer blanco de acción en la vasculatura. Diversos trabajos han mostrado que el MP se asocia con múltiples condiciones patológicas, tales como disfunción endotelial, vasoconstricción e incremento de la presión arterial, así como también favorece el desarrollo y progresión de la placa aterogénica.<sup>16,17</sup>

Aún cuando todos los habitantes de las grandes ciudades se encuentran expuestos al MP aéreo, sus efectos

**Tabla 1.** Análisis de parámetros zoométricos en animales controles (C) y animales con desnutrición crónica (DC).

Parámetro	Control (media ± EE)	DC (media ± EE)
Peso corporal (g)	253,4 ± 7,2	144,0 ± 2,9***
Longitud corporal (cm)	21,3 ± 0,2	18,8 ± 0,1***
Peso del fémur (g)	0,648 ± 0,023	0,440 ± 0,015***
Longitud del fémur (mm)	27,05 ± 0,15	23,73 ± 12,00***
Peso de la tibia (g)	0,420 ± 0,015	0,273 ± 0,013***
Longitud de la tibia (mm)	28,70 ± 0,14	25,52 ± 0,13***

► Los datos se expresan como media ± error estándar (EE); \*\*\*p < 0,001.

**Figura 1.** Viabilidad celular de macrófagos alveolares.

► Los histogramas representan la viabilidad celular evaluada por MTT de los grupos experimentales. C, controles; DC, con desnutrición crónica; ROFA, expuestos al material particulado; DC + ROFA, con desnutrición crónica y expuestos al material particulado. Los datos representan la media  $\pm$  error estándar.

dependen no sólo de las características fisicoquímicas de las partículas en suspensión/contaminantes, sino también del individuo en el cual impactan. Al respecto, los niños, los mayores de 65 años y los individuos con fallas cardiorrespiratorias previas son considerados subgrupos susceptibles a sus efectos adversos. Particularmente en niños y adultos jóvenes, la exposición a la contaminación aérea se asocia a cambios en marcadores subclínicos de aterosclerosis como la rigidez arterial y el aumento del espesor de la íntima-media carotídea y puede predisponer al desarrollo temprano de patologías cardiovasculares.<sup>18</sup>

Los niños son una subpoblación de riesgo, probablemente, debido a que presentan inmadurez en sus mecanismos de defensa e inhalan un volumen mayor de aire por unidad de peso corporal que los adultos.<sup>19</sup> La OMS estimó que 600000 niños murieron en 2016 por causas pulmonares asociadas a la contaminación atmosférica y que cerca del 93 % de los niños y niñas del mundo respira aire con niveles de contaminación que ponen en grave peligro su salud y su crecimiento.<sup>20</sup> Sin embargo, son limitadas las referencias sobre cómo afecta el MP a individuos con enfermedades de base no transmisibles, tales como las vinculadas con la malnutrición.

Estudios previos de nuestro laboratorio mostraron que animales con desnutrición crónica (DC), expuestos en forma aguda a cenizas residuales de la combustión del petróleo (ROFA, por sus siglas en inglés, *Residual Oil Fly Ash*) un suceso de la contaminación ambiental aérea, presentan alteraciones en pulmón, hígado y corazón. En el pulmón, se evidenció aumento del proceso inflamatorio, caracterizado por el reclutamiento de células polimorfonucleares y la reducción del espacio alveolar. En el hígado, se observó aumento de linfocitos en el parénquima hepático e incremento del número de hepatocitos binucleados, parámetro

relacionado con la regeneración hepática que representa una respuesta al daño tóxico tisular iniciado por estímulos xenobióticos o dietarios. Con respecto al corazón, la exposición a ROFA alteró el metabolismo oxidativo, que condujo a la peroxidación de lípidos en los animales desnutridos.<sup>21</sup> Estos resultados sugieren que el estado nutricional podría jugar un papel clave en la capacidad de respuesta a los contaminantes del aire.

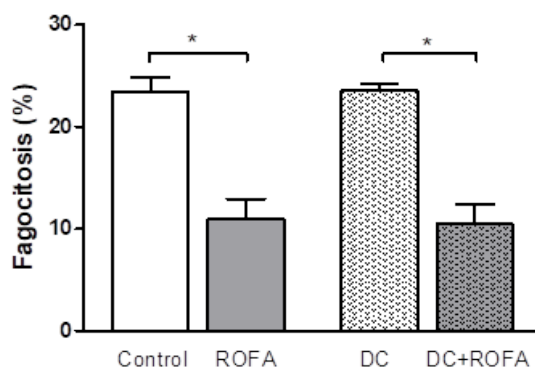
En este contexto, el objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la exposición aguda a cenizas residuales del petróleo (ROFA) tanto localmente, en la respuesta inmune pulmonar, como sistémicamente en la vasculatura, en un modelo de desnutrición crónica (DC) en ratas. Para ello, se analizaron parámetros relacionados con el metabolismo oxidativo y el proceso inflamatorio, así como también, parámetros moleculares y funcionales.

## Materiales y Métodos

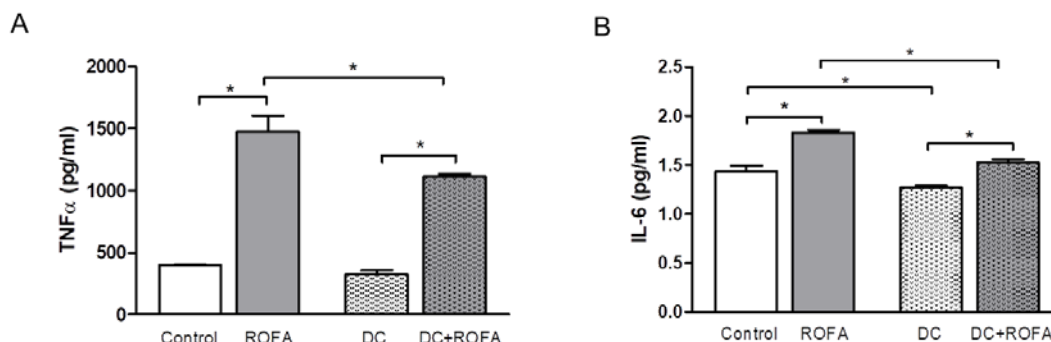
### Animales

Se emplearon ratas macho de la cepa Wistar de destete (21-23 días de edad) provenientes del Bioterio Central de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad de Buenos Aires. Los animales se mantuvieron en condiciones estándares de luz, temperatura y humedad y se alimentaron con una dieta balanceada para roedores, presentada bajo la forma de cilindros prensados con la siguiente composición (g/100 g): proteínas, 22,7; lípidos, 7,09; fibra, 6; Ca, 1,3; P, 0,8; cenizas, 6,5; agua, 7,96; dextrina, hasta 100g. Todos los experimentos se realizaron siguiendo las normas de la *Guía para el cuidado y uso de los animales de experimentación*, de acuerdo con el NIH (Res. 8023).

### 1- Modelo experimental de desnutrición crónica (DC)

**Figura 2.** Actividad fagocítica de macrófagos alveolares.

► Los histogramas representan el porcentaje de fagocitosis de los grupos experimentales. C, controles; DC, con desnutrición crónica; ROFA, expuestos al material particulado; DC + ROFA, con desnutrición crónica y expuestos al material particulado. Los datos representan la media  $\pm$  error estándar, \* $p < 0,05$ .

**Figura 3.** Producción de citoquinas proinflamatorias por macrófagos alveolares.

► Los histogramas representan los niveles del (A) factor de necrosis tumoral (TNF- $\alpha$ ) y (B) interleuquina 6 (IL-6), dosados en sobrenadantes de cultivo de macrófagos alveolares de los grupos experimentales. C, controles; DC, con desnutrición crónica; ROFA, expuestos al material particulado; DC + ROFA, con desnutrición crónica y expuestos al material particulado. Los histogramas muestran la media  $\pm$  error estándar, \* $p < 0,05$ .

Al momento del destete, las ratas fueron distribuidas aleatoriamente en 2 grupos según el consumo de alimento: control (C) y desnutrido crónico (DC). El grupo C recibió una dieta estándar en condiciones de libre demanda, mientras que el grupo DC recibió un 80 % de la dieta consumida por C, durante 4 semanas.

La cantidad de comida fue corregida por el peso corporal (ingesta de alimentos en gramos, por 100g/peso corporal por día). El peso corporal y la longitud fueron registrados a lo largo de todo el experimento.

## 2- Recolección y caracterización de material particulado

Las cenizas residuales de la combustión del petróleo (ROFA) se recolectaron en la planta industrial petrolífera de Mystic River, Everett, MA, USA y fueron donadas por el Dr. J. Godleski, de la Escuela de Salud Pública de Harvard, Boston, MA, USA. Estas partículas son ampliamente utilizadas en toxicología ambiental como sucedáneo de la contaminación ambiental aérea.<sup>22-25</sup>

ROFA fue previamente caracterizada morfológica y químicamente por microscopía electrónica de barrido y espectroscopía dispersiva de rayos X.<sup>25,26</sup> Las partículas de ROFA son morfológicamente heterogéneas, con trazas de metales (hierro, vanadio y níquel) en su composición.

## 3- Exposición animal a ROFA: protocolo experimental

Después de 4 semanas de tratamiento dietario, los animales fueron instilados intranasalmente<sup>27,28</sup> con ROFA (1 mg/kg de peso corporal) o con *buffer* fostato salino estéril (PBS-vehículo), conformando 4 subgrupos (n = 15 por grupo): control, ROFA, DC, DC + ROFA. La dosis de ROFA fue seleccionada sobre la base de trabajos previos.<sup>21-24,26,29</sup> La eutanasia se realizó 24 horas después de la instilación intranasal con una sobredosis de ketamina/xilazina. Inmediatamente, se realizó 1) el lavado bronquioalveolar (LBA) a fin de obtener cultivos primarios de macrófagos alveo-

lares (MA) como modelo para los estudios *in vitro* y 2) se resecó la aorta torácica para los estudios funcionales y bioquímicos.

## 4- Estudios en Macrófagos Alveolares (MA)

### 4.1 Aislamiento de MA y cultivo celular

Los MA de animales de los cuatro grupos experimentales (C, ROFA, DC y DC + ROFA) se obtuvieron mediante el BAL, según Tasat y del Rey.<sup>30</sup> Brevemente, las tráqueas se canularon y perfundieron con 1 ml de PBS frío (libre de  $\text{Ca}^{2+}$  y  $\text{Mg}^{2+}$ , pH 7,2-7,4). Con el fin de obtener una cantidad óptima de células, el lavado con PBS 1X se repitió 12 veces. La suspensión celular se centrifugó durante 10 minutos a 800xg a 4°C y el precipitado celular se resuspendió en PBS. El recuento de células totales se realizó en cámara de Neubauer, bajo microscopio de contraste de fases. De acuerdo con criterios morfológicos, se determinó que más del 95 % de las células del LBA correspondió a MA. Las células se sembraron en placas de 24 pocillos en medio RPMI-1640 (Gibco, Thermo Fisher Scientific Inc.) con 10 % de suero fetal bovino (SFB), penicilina (100UI/ml) y estreptomocina (10  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) en una densidad de  $0,125 \times 10^6$  células/ml. Luego de 20 - 30 minutos, las células no adheridas fueron removidas y se adicionó medio fresco. Los cultivos se mantuvieron por 24 h en estufa a 37°C y atmósfera de 5 % de  $\text{CO}_2$ .

### 4.2 Viabilidad celular

El metabolismo celular se evaluó mediante el ensayo colorimétrico del 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil-bromuro de tetrazolio (MTT). Luego de 24 h de la siembra, el medio de cultivo de los MA fue removido y se adicionó 0,5 ml de medio fresco, suplementado con 50  $\mu\text{l}$  de MTT (4 mg/ml). Las células se incubaron por 3 h y los cristales de formazan se solubilizaron con SDS 10 %. La absorbancia correspondiente a cada muestra se midió a 570 nm.

#### 4.3 Ensayo de fagocitosis

La capacidad fagocítica de los MA provenientes de los animales C, ROFA, DC y DC + ROFA se determinó empleando esferas de látex de 2,2  $\mu\text{m}$  de diámetro. Brevemente, luego de 24 h de incubación, se agregaron al medio de cultivo esferas de látex opsonizadas con suero fetal bovino en una relación 1:10, durante 1 h a 37°C. Después, se lavó para remover las esferas no fagocitadas y las células fueron fijadas con paraformaldehído al 4 %. La capacidad fagocítica fue evaluada bajo microscopía óptica (Leica DM500) y se cuantificó el porcentaje de fagocitosis. Se contó un mínimo de 100 células por pocillo y al menos tres pocillos por grupo.

#### 4.4 Producción del factor de necrosis tumoral $\alpha$ (TNF $\alpha$ ) e interleuquina-6 (IL-6)

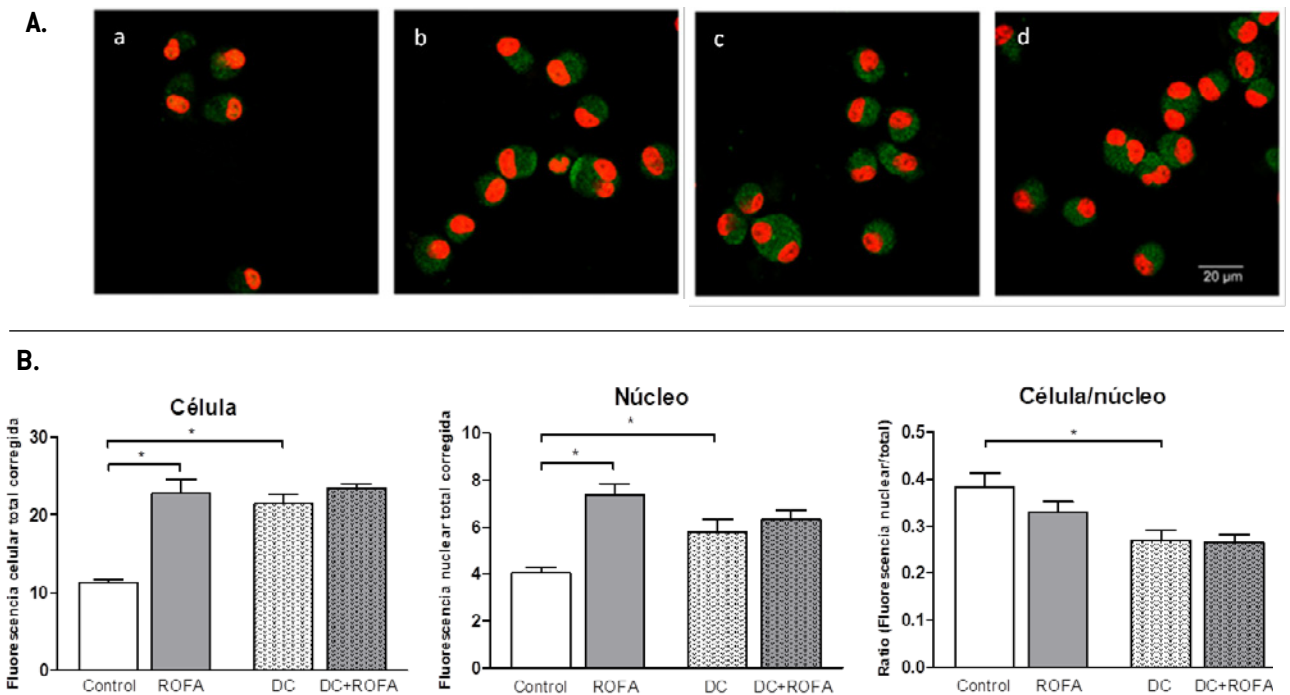
La secreción de las citoquinas proinflamatorias TNF $\alpha$  e IL-6 por MA fue evaluada en el medio de cultivo utilizando un ensayo inmunoabsorbente, ligado a enzimas (ELISA), siguiendo las instrucciones del fabricante. La absorbancia fue medida a 450 nm (longitud de onda de corrección 620 nm) en un lector de placa (BioRad, Benchmark).

#### 4.5 Determinación inmunocitoquímica de la activación del sistema de defensa antioxidante

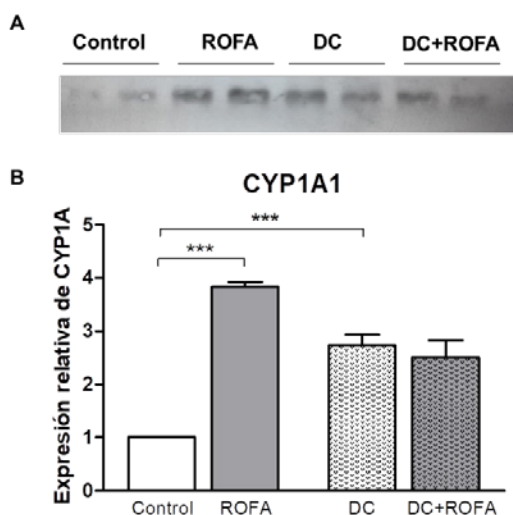
La activación del sistema de defensa antioxidante se evaluó mediante inmunocitoquímica, utilizando un anticuer-

po contra el factor nuclear eritroide similar al factor 2 (Nrf2) [Santa Cruz Biotechnology, Dallas, TX]. Las células fueron fijadas con paraformaldehído al 4 %, permeabilizadas con Tritón<sup>®</sup> X-100 (0,1 %) y se incubaron durante 12 - 14 h con el anticuerpo Nrf2 (1:250) diluido en seroalbúmina bovina (BSA 1%) y 0,03 % de Tritón<sup>®</sup> X-100 en PBS 1X. Luego, las células se lavaron 2 veces con PBS 1X y se incubaron con un anticuerpo secundario durante 1 h (Anti-rabbit- FITC Thermo Fisher Scientific Inc.). Para observar el núcleo de las células, se realizó una contratinción con TO-PRO<sup>™</sup>-3 Iodide (Thermo Fisher Scientific Inc.) por 10 min. Las células fueron observadas bajo microscopía confocal (Leica SP5 AOBs). Para cuantificar el nivel y localización de Nrf2, la fluorescencia celular total corregida (FCTC), la fluorescencia total nuclear corregida (FNTC) y la relación fluorescencia nuclear/fluorescencia celular total fueron analizadas según McCloy et al.<sup>31</sup> El análisis se llevó a cabo utilizando el programa *Image J version 1.53e*. Las células y el núcleo fueron manualmente delimitados y el área, la intensidad integrada y el valor medio de gris fueron determinados. Para obtener la FCTC y la FNTC, los valores fueron corregidos por la fluorescencia de fondo, midiendo la misma área y fluorescencia de sectores sin células, adyacentes a las células evaluadas, y este valor fue sustraído de la densidad integrada de la fluorescencia celular total y la fluorescencia nuclear.

**Figura 4.** Expresión y localización celular del factor nuclear eritroide 2 [Nrf2] en macrófagos alveolares.



► A) Microfotografías representativas de la localización inmunocitoquímica de Nrf2 en animales controles (a), con desnutrición crónica (b) y expuestos al material particulado, ROFA (c y d, respectivamente). Se observan las células marcadas con anticuerpo Nrf2-FITC (verde) y tinción nuclear de contraste empleando ToPro<sup>™</sup> (rojo). B) Cuantificación de la fluorescencia para Nrf2 en la totalidad de la célula, en el núcleo y su relación núcleo/célula total de animales. C, controles; DC, con desnutrición crónica; ROFA, expuestos al material particulado; DC + ROFA, con desnutrición crónica y expuestos al material particulado. Los histogramas muestran la media  $\pm$  error estándar, \* $p < 0,05$ .

**Figura 5.** Expresión del citocromo P450 1A1 (CYP1A1) en aorta.

► La fotografía del Western Blot [A] y el gráfico de barras [B] representan los niveles de CYP1A1 de los grupos experimentales. C, controles; DC, con desnutrición crónica; ROFA, expuestos al material particulado; ROFA y DC + ROFA, con desnutrición crónica y expuestos al material particulado. Los histogramas muestran la media  $\pm$  error estándar, \*\*\* $p < 0,001$ ,  $n = 5 - 7$  animales por grupo.

## 5- Estudios en aorta

### 5.1 Parámetros moleculares

Luego de 24 h de exposición a ROFA se reseco la aorta torácica y se determinaron los siguientes parámetros bioquímicos: citoquinas (IL-6, IL-10 y TNF $\alpha$ ) por ELISA; citocromo P450 familia 1 subfamilia 1 A miembro 1 (CYP1A1); factor de crecimiento transformante  $\beta 1$  (TGF $\beta 1$ ) y óxido nítrico sintasa endotelial (eNOS) por Western Blot y canal de calcio tipo L por RT-PCR.

#### 5.1.1 Producción de citoquinas

La producción de las citoquinas IL-6, IL-10 y TNF $\alpha$  se evaluó en los sobrenadantes de los homogenatos de aorta de los cuatro grupos experimentales utilizando el ensayo de ELISA, como se describe en el ítem 4.4.

#### 5.1.2 Determinación de CYP1A1, TGF $\beta 1$ y eNOS

CYP1A1, TGF- $\beta 1$  y eNOS fueron evaluados por Western Blot. Las proteínas totales de una alícuota de homogenato de aorta se separaron en un gel de acrilamida 10 - 12 % (SDS-PAGE), en un equipo Mini - Protean III (BioRad). Una vez efectuada la electroforesis, las proteínas fueron transferidas a membranas de PVDF. Las membranas se bloquearon durante 1 h a 4 °C con leche descremada en polvo al 5 % en *buffer* TTBS (10 mM Tris-HCl, pH 8,0, 0,5% Tween 20, 150 mM NaCl) y se incubaron durante 10 -12 h a 4° C con el anticuerpo primario específico anti- $\beta$ -actina (1:500, Sigma-Aldrich Co), anti-TGF- $\beta 1$ , CYP1A1 o eNOS (1:500 Abcam Inc). Luego se las lavó 3 veces con TTBS y se incubaron con un anticuerpo secundario asociado a la enzima peroxidasa

(1:1000 Sigma-Aldrich Co). Las membranas nuevamente se lavaron 3 veces y la marcación se detectó con quimioluminiscencia (ECL- Amersham Biosciences Inc., UK). Las bandas fueron cuantificadas usando el programa *Image J* (1.50i, Wayne Rasband, National Institutes of Health, USA).

#### 5.1.3 Determinación del canal de calcio tipo L (CCTL)

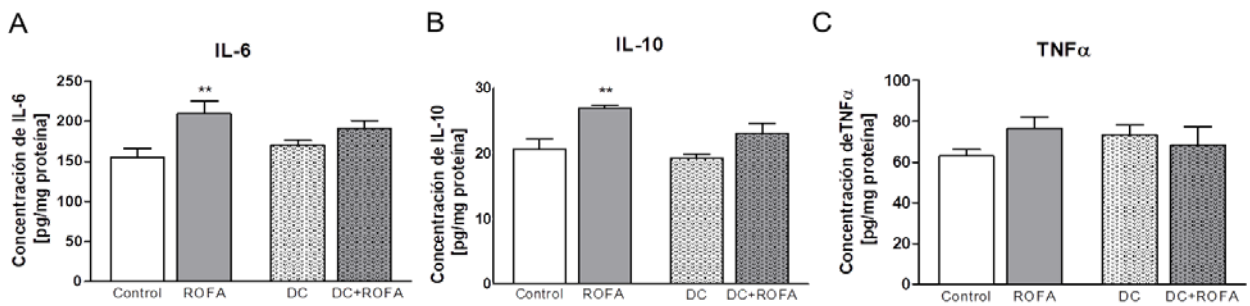
La expresión del CCTL fue evaluada por RT-PCR. El ARN total de las aortas fue extraído con TRIzol (Life Technologies, Inc.-BRL, Grand Island, NY). El ADN copia (ADNc) se sintetizó incubando 2  $\mu$ g del ARN extraído de las aortas, con cebadores de hexámeros al azar (Invitrogen), cada uno de los 4 dNTP (Invitrogen) y 200 unidades de la transcriptasa reversa MMLV (Promega, Buenos Aires, Argentina). El ADNc (2 $\mu$ l) se utilizó para llevar a cabo la amplificación (PCR) empleando Taq Polimerasa (GoTaq Polymerase, Promega) y cebadores específicos para CCTL: sentido: 5'-CCTTCAAGACTGTGTTCAAAGC-3' y antisentido: 5'-TCCTCCACATACCC GT-3'. La gliceraldehído 3-fosfato deshidrogenasa (GAPDH) se usó como control interno y se utilizaron los siguientes cebadores: sentido: 5'-ACCCAGAAGACTGTGGATGG-3' y antisentido: 5'-CACATTGGGGGTAGGAACAC-3'. Los productos de la amplificación fueron separados en un gel de agarosa al 1 % y teñidos con bromuro de etidio. La densidad de las bandas fue cuantificada utilizando un analizador de imágenes (*Image Quant 5.2*) y normalizada a GAPDH.

#### 5.2. Ensayo de contractibilidad. Medición de la tensión isométrica

Se resecaron las aortas, se sumergieron en solución de Krebs (4,7 mM KCl, 1,17 mM Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 130 mM NaCl, 1,16 mM MgSO<sub>4</sub>, 24,0 mM HCO<sub>3</sub>Na, 2,5 mM CaCl<sub>2</sub> y 6 mM glucosa) y se cortaron en anillos de 3 - 4 mm. Para el montaje, tres anillos de aorta se fijaron en sus extremos con alambres de plata y fueron puestos en un baño de órganos con solución de Krebs-Henseleit (20 ml) a 37° C continuamente suplementado con carbógeno. El alambre inferior estaba unido a una varilla vertical sumergida en el baño de órganos; el otro, a un transductor isométrico de 50 g (TSD125, BIOPACTM) conectado a un equipo de adquisición de datos (MP-100, BIOPACTM) y este, a la computadora donde se registró la señal. Se aplicó una fuerza pasiva de 2 g y la preparación se estabilizó durante 1 h, lavando cada 15 min, antes de iniciar las mediciones. Las mediciones se analizaron con el programa *Labtech Notebook Pro* (Laboratory Technology, Wilmington, MA, EE. UU.).

Para evaluar la respuesta contráctil de la aorta, se agregaron secuencialmente dosis acumulativas (4x10<sup>-8</sup> a 4x10<sup>-4</sup>) de noradrenalina (NA) al baño de órganos. Para normalizar las medidas de los diferentes segmentos aórticos, se utilizó el peso del tejido aórtico húmedo, en gramos.

Para comenzar la prueba, una vez que se colocaron y estabilizaron los segmentos aórticos, se utilizó una solución de KCL (80 mM) para generar contracciones máximas, cuando se despolarizaron las células del músculo liso vas-

**Figura 6.** Perfil de citoquinas inflamatorias en aorta.

► [A-B-C] muestra los niveles de interleuquina 6 (IL-6), interleuquina 10 (IL-10) y factor de necrosis tumoral alfa (TNF) de los grupos experimentales. C, controles; DC, con desnutrición crónica; ROFA, expuestos al material particulado; ROFA y DC + ROFA, con desnutrición crónica y expuestos al material particulado. Los histogramas muestran la media  $\pm$  error estándar, \*\*\* $p < 0,001$ ,  $n = 5 - 7$  animales por grupo.

cular (VSMC). Posteriormente, se evaluó la relajación aórtica antes de la liberación de acetilcolina (ACh) de la aorta precontraída con NA. Al llegar a la meseta de contracción, se analizaron las concentraciones acumuladas de ACh ( $10^{-8}$  -  $10^{-4}$  M). La máxima relajación se expresó como porcentaje de la máxima contracción obtenida con NA.

## 6- Análisis estadístico

Todos los ensayos fueron realizados por triplicado para cada condición experimental y en tres experimentos independientes. Los datos de cada grupo fueron comparados utilizando ANOVA de dos factores y postest de Bonferroni. Los histogramas muestran la media  $\pm$  error estándar. La significancia estadística está indicada por un  $p < 0,05$ .

## Resultados

En línea con estudios realizados previamente en nuestro laboratorio<sup>21</sup>, los animales que recibieron la dieta de restricción calórica (DC), luego de cuatro semanas evidenciaron una disminución significativa en el peso y la longitud corporal total, así como también en fémur y tibia, respecto del grupo control (Tabla 1).

### Evaluación *ex-vivo* de la respuesta de MA-DC expuestos a ROFA

Se estudió la respuesta funcional de MA obtenidos por medio de LBA para los cuatro grupos estudiados. Se determinaron los siguientes parámetros: viabilidad celular, capacidad fagocítica, producción de citoquinas proinflamatorias y activación del sistema de defensa antioxidante.

#### 1.1. Viabilidad celular

La exposición a ROFA no alteró la viabilidad de los MA de ninguno de los grupos (Control, ROFA, DC y DC + ROFA) de animales estudiados (Figura 1).

#### 1.2. Actividad fagocítica

Para determinar la capacidad funcional de los MA obtenidos de los grupos control, ROFA, DC y DC + ROFA, se evaluó su actividad fagocítica. Como se evidencia en la Figura 2, la

exposición a ROFA produjo una disminución en la actividad fagocítica tanto en los animales C como DC ( $p < 0.05$ ).

#### 1.3. Producción de citoquinas proinflamatorias

La secreción de citoquinas proinflamatorias de los cultivos de MA obtenidos de los grupos control, ROFA, DC y DC + ROFA se observa en la Figura 3. ROFA indujo un incremento significativo de los niveles de TNF $\alpha$  para C y DC ( $p < 0.05$ ). Cabe notar que el incremento de los niveles de TNF $\alpha$  fue menor en el grupo DC + ROFA en comparación con C + ROFA ( $p < 0.05$ , Figura 3A). Asimismo, el tratamiento con ROFA indujo un incremento significativo de los niveles de IL-6. Esta respuesta siguió un patrón similar al evidenciado por TNF $\alpha$  ( $p < 0.05$ , Figura 3B).

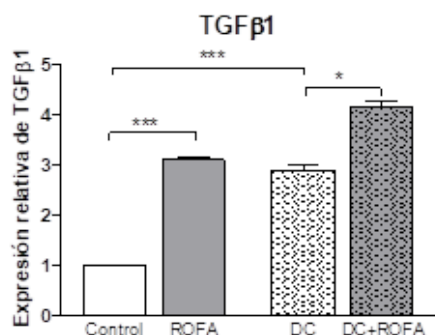
#### 1.4. Activación del factor nuclear antioxidante Nrf2

En respuesta al estrés oxidativo, la vía del Nrf2 se activa y desencadena una respuesta antioxidante que permite mantener la homeostasis redox celular. Es por ello que evaluamos el nivel de expresión del factor de transcripción Nrf2 e identificamos inmunocitoquímicamente su localización celular. Las Figuras 4A y 4B muestran imágenes representativas de la localización de Nrf2 y la cuantificación de su fluorescencia, respectivamente.

Al comparar MA-C y MA-DC no expuestos, se observa un incremento significativo en la inmunomarcación de Nrf2 para MA-DC (Figura 4A-a vs. c), que presenta un aumento de la expresión tanto en el nivel celular como en el nivel nuclear ( $p < 0.05$ , Figura 4B). Sin embargo, la relación de fluorescencia núcleo/célula total en MA-DC muestra que la activación antioxidante de Nrf2 fue menor que en los MA-C (Figura 4B).

La exposición a ROFA en los MA-C ocasionó una clara inducción de Nrf2, tanto en el nivel celular total como nuclear (Figuras 4A-b y 4B) con respecto a los MA-C no expuestos a ROFA (Figuras 4A-a y 4B). No se observaron cambios significativos en la expresión o en la localización celular de Nrf2 entre MA-DC y DC + ROFA (Figuras 4A-c y d, y Figura 4B).

**Figura 7.** Expresión del factor de crecimiento transformante  $\beta 1$  (TGF- $\beta 1$ ) en aorta.



► El gráfico de barras representa los niveles de TGF- $\beta 1$  de los grupos experimentales. C, controles; DC, con desnutrición crónica; ROFA, expuestos al material particulado; ROFA y DC + ROFA, con desnutrición crónica y expuestos al material particulado. Los histogramas muestran la media  $\pm$  error estándar, \* $p < 0,05$ , \*\*\* $p < 0,001$ ,  $n = 5 - 7$  animales por grupo.

## 2. Efectos de la exposición a ROFA en la vasculatura de animales DC

### 2.1 Parámetros moleculares vasculares

#### 2.1.1 Citocromo P450 1A1 (CYP1A1)

Como se muestra en la Figura 5, en las ratas control, ROFA aumentó los niveles de CYP1A1 con respecto a las ratas no expuestas (283 %,  $p < 0,001$ ), mientras que los animales desnutridos expuestos no mostraron cambios en la expresión de CYP1A1.

#### 2.1.2 Perfil de citoquinas

La Figura 6 muestra el perfil de citoquinas en homogenatos de aorta, en donde se observó que la exposición a ROFA, en las ratas C, indujo aumento significativo de IL-6 e IL-10 (35 % y 30 %, respectivamente,  $p < 0,05$ ), sin observarse cambios en los niveles de TNF $\alpha$ . Los animales DC expuestos a ROFA no mostraron variaciones en los niveles de ninguna de las citoquinas evaluadas.

#### 2.1.3 Factor de crecimiento transformante $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$ )

Como se muestra en la Figura 7, los animales DC presentan mayores niveles de los TGF- $\beta 1$  en aorta que los animales de C ( $p < 0,001$ ). La instilación con ROFA indujo un aumento significativo en la expresión de TGF- $\beta 1$  en ambos grupos de animales. Sin embargo, cabe destacar que la inducción de TGF- $\beta 1$  en los animales expuestos a ROFA fue menor en el grupo DC en comparación con el grupo C (41 %  $p < 0,05$  vs. 216 %  $p < 0,001$ , respectivamente).

#### 2.1.4 Óxido nítrico sintasa endotelial (eNOS)

Se evaluó la expresión de la eNOS en las aortas de los cuatro grupos experimentales y se observó que la expresión de esta enzima está disminuida en aortas de animales DC con respecto a C (Figura 8  $p < 0,001$ ). La instilación con ROFA provocó una reducción significativa de la eNOS tanto

para el grupo C como para el DC, siendo este mayor para el grupo control (Figura 8,  $p < 0,001$ ).

#### 2.1.5 Canales de calcio tipo L (CCTL)

Al analizar los niveles de expresión de CCTL, se encontró un patrón similar a la expresión de eNOS (Figura 9). La expresión de CCTL en aortas de animales DC fue menor que en grupo C ( $p < 0,005$ ). Asimismo, la exposición a ROFA indujo una reducción en los grupos C y DC ( $p < 0,001$ ).

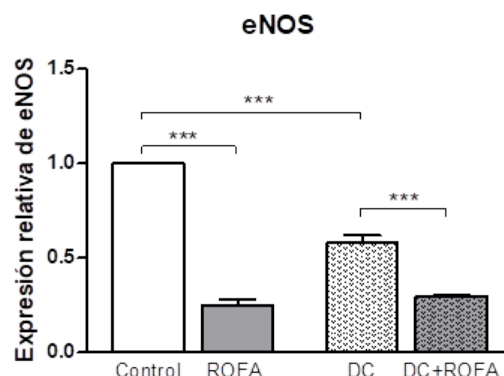
### 2.2 Parámetros funcionales: contractibilidad aórtica

Con el objetivo de analizar la función arterial, se evaluó el tono vascular de los anillos de aorta (endotelio y músculo liso) en respuesta a la NA y Ach. Los animales DC presentaron una respuesta contráctil a la NA menor respecto de los animales controles. La exposición a ROFA provocó una disminución de la contractibilidad de la aorta en el grupo control, sin embargo, este efecto no se evidenció en los animales DC (Figura 10 A). Respecto de la relajación vascular, la instilación de ROFA provocó una reducción en la capacidad de relajación en respuesta a la Ach tanto en el grupo C como en el DC. En el grupo de animales DC + ROFA, se observó una marcada desaceleración de la relajación y se alcanzó un porcentaje final de relajación menor respecto del grupo control expuesto a ROFA (Figura 10 B).

## Discusión

Mundialmente la exposición a la contaminación aérea (gases y material particulado-MP) en los actuales escenarios, es casi inevitable. El impacto del MP sobre la salud depende tanto de sus características intrínsecas (tamaño aerodinámico, composición química), de la concentración y tiempo de exposición a las mismas como de las características del individuo sobre el cual impactan. Las partículas suspendidas en el aire pueden ingresar al organismo a través

**Figura 8.** Expresión la enzima óxido nítrico sintasa endotelial (eNOS) en aorta.



► El gráfico de barras representa los niveles de eNOS de los grupos experimentales. C, controles; DC, con desnutrición crónica; ROFA, expuestos al material particulado; ROFA y DC + ROFA, con desnutrición crónica y expuestos al material particulado. Los histogramas muestran la media  $\pm$  error estándar, \*\*\* $p < 0,001$ ,  $n = 5 - 7$  animales por grupo.

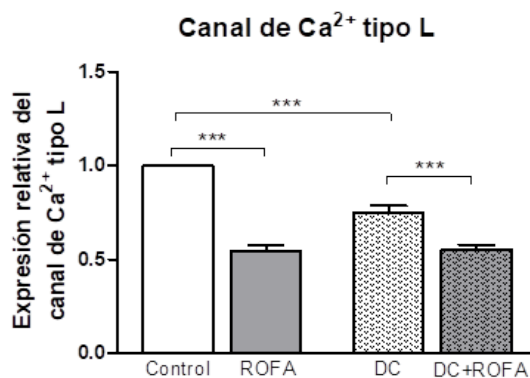
de tres vías principales: respiratoria, digestiva y dérmica, comprometiendo la salud humana.<sup>33</sup> La ruta predominante es la respiratoria y los macrófagos alveolares (MA) son la primera línea de defensa del organismo.<sup>34</sup>

Según la Organización Mundial de la Salud<sup>20</sup>, los niños son especialmente vulnerables a los efectos de la contaminación del aire, ya que presentan una mayor tasa de inhalación y sus mecanismos de defensa están aún inmaduros. Además, los niños son altamente susceptibles a la malnutrición. Las restricciones en la dieta pueden dar como resultado retraso en el crecimiento del niño asociado a una mayor morbilidad por infecciones respiratorias<sup>35</sup>, así como un mayor riesgo de padecer en la edad adulta enfermedades crónicas relacionadas con desórdenes metabólicos, hipertensión y otras patologías cardiovasculares.<sup>36</sup> Además, la restricción dietaria exagera la vulnerabilidad de los individuos a los efectos adversos de la contaminación ambiental sobre la salud.<sup>37-39</sup> Aun así, existen pocos estudios que asocien la desnutrición infantil y la contaminación ambiental aérea. En este contexto, investigamos los efectos de la exposición a MP aéreo y desnutrición en un modelo experimental murino.

Numerosos trabajos han demostrado que el estrés oxidativo y los procesos inflamatorios son las vías de señalización a través de las cuales tanto la contaminación como la malnutrición ejercen sus efectos adversos sobre el organismo. Además, algunos estudios muestran que la desnutrición afecta de manera diferente el metabolismo oxidativo y la inflamación provocados por la contaminación ambiental.<sup>40,41</sup>

La toxicidad del MP está relacionada con un incremento en la generación de especies reactivas del oxígeno (ROS), la expresión de citoquinas pro y antiinflamatorias (IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$  e IL-10), factores mitogénicos, quimiocinas<sup>13,42</sup> y la activación de células inflamatorias como macrófagos y neutrófilos.<sup>43</sup> En concordancia, nuestros resultados muestran que en macrófagos alveolares (MA) provenientes de ratas, expuestos a ROFA en cultivo, la producción de las citoquinas proinflamatorias IL-6 y TNF aumenta. Sin embargo, esta respuesta resultó atenuada en los MA provenientes de animales desnutridos (DC). Los metales presentes en las partículas aéreas son conocidos inductores de la generación de ROS.<sup>44,45</sup> En particular, la ROFA presenta en su composición metales tales como el vanadio, aluminio, etc.<sup>46</sup> En este sentido, en un estudio previo, mostramos que la exposición aguda a ROFA indujo en pulmón, mediante un aumento de la producción de ROS y una disminución de la capacidad de las enzimas antioxidantes SOD y CAT, desbalance redox resultante en un desequilibrio del metabolismo oxidativo celular.<sup>21</sup> La vía de señalización antioxidante Nrf2/Keap1/ARE celular se activa en respuesta a estresores con el fin de contrarrestar un posible daño oxidativo. Diversos estudios revelan la participación de Nrf2 en el balance energético celular y esta función está íntimamente ligada al estatus nutricional.<sup>47,48</sup> En este estudio, observamos que los MA-DC

Figura 9. Expresión del canal de calcio tipo L (CCTL) en aorta.

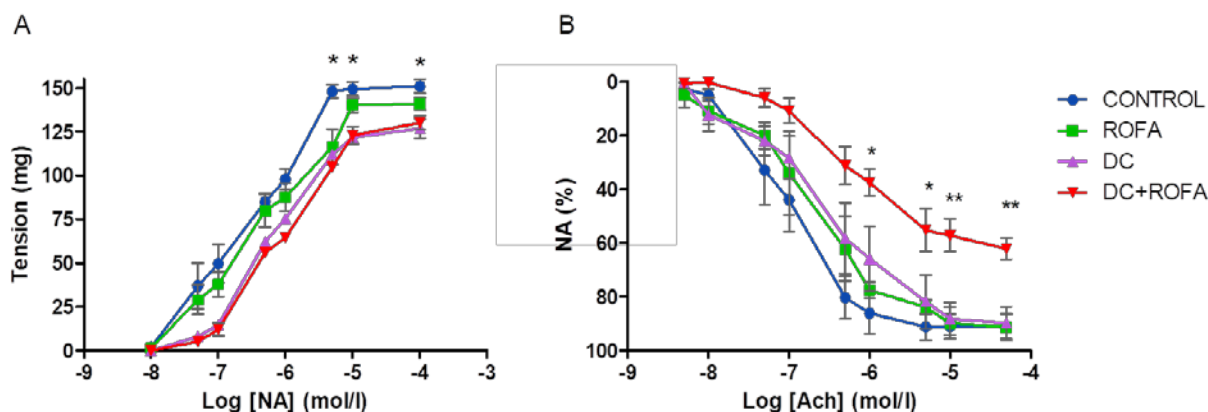


► El gráfico de barras representa los niveles de CCTL de los grupos experimentales. C, controles; DC, con desnutrición crónica; ROFA, expuestos al material particulado; ROFA y DC + ROFA, con desnutrición crónica y expuestos al material particulado. Los histogramas muestran la media  $\pm$  error estándar, \*\*\*  $p < 0,001$ ,  $n = 5-7$  animales por grupo.

presentaron basalmente mayores niveles de Nrf2 que los MA-C tanto en el citoplasma como en el núcleo. El aumento de Nrf2 podría ser parte de la respuesta frente al estado prooxidante que presentan en el pulmón los animales con desnutrición crónica, lo que fue evidenciado en trabajos previos como aumento del anión superóxido en células del LBA y alteraciones en enzimas antioxidantes tisulares.<sup>21</sup> Luego de la exposición a ROFA, aumentan la expresión y translocación nuclear de Nrf2 en los MA-C, mientras que en MA-DC, no se modifican los niveles de Nrf2 citoplasmático ni su translocación. Este fenómeno podría deberse a que los niveles basales de Nrf2 en MA-DC son más elevados, lo que podría representar una menor capacidad de respuesta a un xenobiótico.

El MP actúa no solo localmente sobre el sistema respiratorio, sino también alcanza órganos a distancia como corazón, hígado, cerebro, etc.<sup>49-52</sup> El MP puede atravesar la barrera alvéolo-capilar ingresando al sistema vascular para luego distribuirse en el organismo. Por ello, siendo la vasculatura un blanco de su acción, estudiamos el efecto de ROFA en los niveles molecular y funcional en la aorta. Como se mencionó anteriormente, la exposición a la contaminación del aire induce en las vías respiratorias la liberación de mediadores oxidantes e inflamatorios, con la consiguiente disfunción endotelial y aumento posterior de la presión arterial. En este sentido, la contaminación del aire juega un papel crucial desencadenando la disfunción endotelial.

La función endotelial fundamental se basa en un delicado equilibrio entre la formación y la degradación del óxido nítrico (NO). Este metabolito es clave para muchas funciones de la vasculatura como la regulación del tono vascular, el mantenimiento de la coagulación y la fluidez de la sangre, la producción de moléculas que regulan la función inflamatoria y la reparación vascular. La disfunción endotelial es un

**Figura 10.** Evaluación de contractilidad aortica.

► El tono vascular se evaluó en anillos de aorta de los grupos experimentales C, controles; DC, con desnutrición crónica; ROFA, expuestos al material particulado; ROFA y DC + ROFA, con desnutrición crónica y expuestos al material particulado. Se determinó la capacidad de contracción en respuesta a noradrenalina –NA (A) y la relajación en respuesta a acetilcolina– Ach (B). La línea celeste corresponde al grupo C; la verde, a ROFA; la lila, a DC y la roja, a DC + ROFA. \*\* $p < 0,01$ , \* $p < 0,05$ . N = 3 - 4 animales por grupo.

sello distintivo de la enfermedad cardiovascular (CVD), ya que puede afectar negativamente la rigidez arterial y provocar hipertensión persistente. En concordancia, en este modelo de desnutrición crónica, la exposición a ROFA indujo en la vasculatura respuestas moleculares y funcionales alteradas.

En cuanto a los resultados moleculares, la respuesta del sistema vascular a la exposición a ROFA se evaluó mediante el CYP1A1, enzima que juega un papel importante tanto en la activación metabólica como en la detoxificación. Cabe notar que los niveles de los citocromos P450 dependen del tipo de dieta de restricción calórica utilizada. Lee, JH et al. (2004), empleando una dieta de restricción proteica, encuentran disminución de las isoformas CYP1A2, CYP2C11, CYP2E1 y CYP3A1/2<sup>53</sup>, mientras que, en nuestro modelo de restricción calórica, donde no hay alteración en la proporción de los componentes dietarios, observamos un aumento de CYP1A1 en los animales DC. Sin embargo, en los animales DC expuestos a ROFA no se registraron cambios respecto de los niveles basales, lo que revela menor capacidad de respuesta que la observada en los animales controles.

La evaluación de las citoquinas IL-6 y IL-10 aumentó en respuesta a la exposición a ROFA en la vasculatura, coincidiendo con la respuesta observada en otros órganos como el pulmón<sup>54</sup> y en las células vasculares.<sup>55</sup> En los DC la respuesta inflamatoria, independientemente de la exposición a partículas, se mantuvo en los mismos niveles que los basales.

TGF- $\beta$ 1 es una citoquina pleiotrópica que vascularmente juega un rol importante tanto en condiciones fisiológicas como patológicas. En este trabajo, observamos cómo la desnutrición aumenta los niveles basales de TGF- $\beta$ 1. Sin embargo, en ambos grupos (C y DC), la exposición a ROFA aumenta significativamente la expresión de esta citoquina. TGF- $\beta$ 1 ejerce sus efectos tanto sobre las células endotelia-

les como sobre las fibras musculares lisas de la vasculatura.<sup>56</sup> El NO es generado principalmente por la enzima óxido nítrico sintasa endotelial (eNOS) y es uno de los agentes vasoactivos más importantes producidos por el endotelio, que induce la relajación del músculo liso vascular e inhibe la activación y agregación plaquetaria. En este contexto, observamos que la expresión de eNOS está disminuida en aortas de animales DC con respecto a C. La exposición a ROFA indujo reducción de los niveles de eNOs en ambos grupos, independientemente de sus niveles basales. Se ha demostrado que TGF- $\beta$ 1 puede regular negativamente la producción de NO.<sup>57</sup> En concordancia, este trabajo muestra por primera vez cómo la exposición a ROFA aumenta los niveles de TGF- $\beta$ 1 y disminuye la eNOS vascular tanto en el grupo C como DC.

La concentración de  $Ca^{+2}$  intracelular es otro de los factores que intervienen en la función contráctil vascular. El canal de  $Ca^{+2}$  tipo L es uno de los marcadores del fenotipo contráctil en las células del músculo liso vascular. El patrón de expresión de esta molécula resultó semejante al descrito para eNOS e indica una disminución del canal en los DC, lo que podría afectar la función contráctil vascular.

Recientemente, algunos estudios han demostrado que la exposición a la contaminación del aire induce hipertensión asociada con vasorrelajación disminuida, inducida por acetilcolina en ratones.<sup>58,59</sup> En concordancia con estas observaciones, encontramos que la exposición a ROFA redujo significativamente la capacidad de contracción y relajación aórtica en ratas, procesos que se vieron más afectados en el grupo DC en comparación con los controles. Estos resultados se podrían interpretar como una menor capacidad de respuesta en el grupo desnutrido.

En conclusión, mostramos que los animales DC no lograron activar la respuesta inflamatoria y detoxificante a ROFA. En relación con la capacidad contráctil del sistema vascu-

lar, se observa una franca disminución, así como un cambio fenotípico hacia un tipo celular más indiferenciado. Nuestros resultados sugieren que la desnutrición aumentaría el riesgo de enfermedad cardiovascular a través de la disfunción endotelial en escenarios de contaminación ambiental.

### Agradecimientos

Los autores agradecen a los Dres. Verónica Delfosse y Diego Viale por la asistencia técnica y la cuantificación de la fluorescencia del Nrf2.

Este trabajo fue parcialmente subsidiado por la Agencia Nacional de Promoción de la Ciencia y la Tecnología, Argentina; PICT 2017-1309 y PICT 2017-4549, con subsidios de la Universidad de Buenos Aires UBACyT 20020170100001BA y de la Sociedad Argentina de Biología (Jóvenes investigadores 2021).

### Conflictos de interés

Los autores declaran no poseer conflictos de intereses.

### Referencias bibliográficas

1. Swinburn BA, Kraak VI, Allender S, Atkins VJ, Baker PI, Bogard JR et al. The Global Syndemic of Obesity, Undernutrition, and Climate Change: The Lancet Commission report. *Lancet*. 2019;393(10173):791-846.
2. Organización Mundial de la Salud. Malnutrición. [Internet]. OMS. 2021 Jun 9. [Consultado 10 Abril 2022]. Disponible en: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/malnutrition>
3. Ministerio de Salud y Desarrollo Social de la Nación. 2º Encuesta Nacional de Nutrición y Salud [ENNYS 2]. Resumen ejecutivo 2019. [Internet]. Argentina: Ministerio de Salud y Desarrollo Social de la Nación. Septiembre 2019. [Consultado 10 Abril 2022]. Disponible en: [https://bancos.salud.gob.ar/sites/default/files/2020-01/encuesta-nac-nutricion-salud\\_resumen-ejecutivo.pdf](https://bancos.salud.gob.ar/sites/default/files/2020-01/encuesta-nac-nutricion-salud_resumen-ejecutivo.pdf)
4. Ministerio de Salud de la Nación. Encuesta Nacional de Nutrición y Salud [ENNYS]. [Internet]. Argentina: Ministerio de Salud y Desarrollo Social de la Nación. 2007. [Consultado 10 Abril 2022]. Disponible en: [https://bancos.salud.gob.ar/recurso/encuesta-nacional-de-nutricion-y-salud\\_documento-de-resultados-2007](https://bancos.salud.gob.ar/recurso/encuesta-nacional-de-nutricion-y-salud_documento-de-resultados-2007)
5. Friedman SM, Rodríguez PN, Olivera MI, Bozzini C, Norese F, Gamba CA et al. Enanismo por desnutrición: cronodinamia de los procesos metabólicos en ratas. *Medicina [B Aires]*. 1998;58(3):282-6.
6. Lifshitz F, Pintos PM, Lezón CE, Macri EV, Friedman SM, Boyer PM. Dyslipidemia is not associated with cardiovascular disease risk in an animal model of mild chronic suboptimal nutrition. *Nutr Res*. 2012;32(1):52-8.
7. Sahebajani H. Nutrition and lung structure and function. *Exp Lung Res*. 1993;19(2):105-24.
8. Arbex MA, Santos Ude P, Martins LC, Saldiva PH, Pereira LA, Braga AL. Air pollution and the respiratory system. *J Bras Pneumol*. 2012;38(5):643-55.
9. World Health Organization. Regional Office for Europe. Air quality guidelines: global update 2005: particulate matter, ozone, nitrogen dioxide and sulfur dioxide. [Internet]. Copenhagen: World Health Organization. Regional Office for Europe; 2006 [Consultado 10 Abril 2022]. Disponible en: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/107823>
10. Martin S, Dawidowski L, Mandalunis P, Cereceda-Balic F, Tasat DR. Characterization and biological effect of Buenos Aires urban air particles on mice lungs. *Environ Res*. 2007;105(3):340-9.
11. Loomis D, Grosse Y, Lauby-Secretan B, El Ghissassi F, Bouvard V, Benbrahim-Tallaa L et al. International Agency for Research on Cancer Monograph Working Group IARC. The carcinogenicity of outdoor air pollution. *Lancet Oncol*. 2013;14(13):1262-3.
12. González-Flecha B. Oxidant mechanisms in response to ambient air particles. *Mol Aspects Med*. 2004;25(1-2):169-82.
13. Hiraiwa K, van Eeden SF. Contribution of lung macrophages to the inflammatory responses induced by exposure to air pollutants. *Mediators Inflamm*. 2013;2013:619523.
14. Zhang H, Liu H, Davies KJ, Sioutas C, Finch CE, Morgan TE et al. Nrf2-regulated phase II enzymes are induced by chronic ambient nanoparticle exposure in young mice with age-related impairments. *Free Radic Biol Med*. 2012;52(9):2038-46. Erratum in: *Free Radic Biol Med*. 2014;77:388.
15. Churg A, Xie C, Wang X, Vincent R, Wang RD. Air pollution particles activate NF-kappaB on contact with airway epithelial cell surfaces. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2005;208(1):37-45.
16. Pope CA 3rd, Bhatnagar A, McCracken JP, Abplanalp W, Conklin DJ, O'Toole T. Exposure to Fine Particulate Air Pollution Is Associated With Endothelial Injury and Systemic Inflammation. *Circ Res*. 2016;119(11):1204-1214.
17. Brook RD, Urch B, Dvornch JT, Bard RL, Speck M, Keeler G et al. Insights into the mechanisms and mediators of the effects of air pollution exposure on blood pressure and vascular function in healthy humans. *Hypertension*. 2009;54(3):659-67.
18. Lenters V, Uiterwaal CS, Beelen R, Bots ML, Fischer P, Brunekreef B et al. Long-term exposure to air pollution and vascular damage in young adults. *Epidemiology*. 2010;21(4):512-20.
19. Salvi SS, Kumar A, Puri H, Bishnoi S, Asaf BB, Ghorpade D et al. Association between air pollution, body mass index, respiratory symptoms, and asthma among adolescent school children living in Delhi, India. *Lung India*. 2021;38(5):408-415.
20. Organización Mundial de la Salud. Contaminación atmosférica y salud infantil: prescribir aire limpio. Resumen. [Internet]. 2018. Disponible en: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/275548>.
21. Kurtz ML, Astort F, Lezon C, Ferraro SA, Maglione GA, Orona NS et al. Oxidative stress response to air particle pollution in a rat nutritional growth retardation model. *J Toxicol Environ Health A*. 2018;81(20):1028-1040.
22. Orona NS, Ferraro SA, Astort F, Morales C, Brites F, Boero L et al. Acute exposure to Buenos Aires air particles (UAP-BA) induces local and systemic inflammatory response in middle-aged mice: A time course study. *Environ Pollut*. 2016;208(Pt A):261-270.
23. Marchini T, Magnani ND, Paz ML, Vanasco V, Tasat D, González Maglio DH et al. Time course of systemic oxidative stress and inflammatory response induced by an acute exposure to Residual Oil Fly Ash. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2014;274(2):274-82.
24. Delfosse VC, Tasat DR, Gioffré AK. In vivo short-term exposure to residual oil fly ash impairs pulmonary innate immune response against environmental mycobacterium infection. *Environ Toxicol*. 2015;30(5):589-96.
25. Ghio AJ, Silbajoris R, Carson JL, Samet JM. Biologic effects of oil fly ash. *Environ Health Perspect*. 2002;110(Suppl 1):89-94.
26. Ferraro SA, Yakisich JS, Gallo FT, Tasat DR. Simvastatin pretreatment prevents ambient particle-induced lung injury in mice. *Inhal Toxicol*. 2011;23(14):889-96.
27. Leong BK, Coombs JK, Sabaitis CP, Rop DA, Aaron CS. Quantitative morphometric analysis of pulmonary deposition of aerosol particles inhaled via intratracheal nebulization, intratracheal instillation or nose-only inhalation in rats. *J Appl Toxicol*. 1998;18(2):149-60.
28. Southam DS, Dolovich M, O'Byrne PM, Inman MD. Distribution of intranasal instillations in mice: effects of volume, time, body position, and anesthesia. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2002;282(4):L833-9.
29. Magnani ND, Marchini T, Vanasco V, Tasat DR, Alvarez S, Evelson P. Reactive oxygen species produced by NADPH oxidase and mitochondrial dysfunction in lung after an acute exposure to residual oil fly ashes. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2013;270(1):31-8.
30. Tasat DR, de Rey BM. Cytotoxic effect of uranium dioxide on rat alveolar macrophages. *Environ Res*. 1987;44(1):71-81.
31. McCloy RA, Rogers S, Caldon CE, Lorca T, Castro A, Burgess A. Partial inhibition of Cdk1 in G2 phase overrides the SAC and decouples mitotic events. *Cell Cycle*. 2014;13(9):1400-12.
32. Tasat DR, Lezón CE, Astort F, Pintos PM, Macri EV, Friedman SM et al.

- mRNA of cytokines in bone marrow and bone biomarkers in response to propranolol in a nutritional growth retardation model. *Pharmacol Rep.* 2014;66(5):867-73.
33. Oberdörster G, Maynard A, Donaldson K, Castranova V, Fitzpatrick J, Ausman K, et al. Principles for characterizing the potential human health effects from exposure to nanomaterials: elements of a screening strategy. *Part Fibre Toxicol.* 2005;2:8.
  34. Byrne AJ, Mathie SA, Gregory LG, Lloyd CM. Pulmonary macrophages: key players in the innate defence of the airways. *Thorax.* 2015;70(12):1189-96.
  35. Aguayo VM, Menon P. Stop stunting: improving child feeding, women's nutrition and household sanitation in South Asia. *Matern Child Nutr.* 2016;12 [Suppl 1]:3-11.
  36. Gluckman PD, Hanson MA, Cooper C, Thornburg KL. Effect of in utero and early-life conditions on adult health and disease. *N Engl J Med.* 2008;359(1):61-73.
  37. Bharatraj DK, Yathapu SR. Nutrition-pollution interaction: An emerging research area. *Indian J Med Res.* 2018;148(6):697-704.
  38. Miller CN, Rayalam S. The role of micronutrients in the response to ambient air pollutants: Potential mechanisms and suggestions for research design. *J Toxicol Environ Health B Crit Rev.* 2017;20(1):38-53.
  39. Kordas K, Lönnnerdal B, Stoltzfus RJ. Interactions between nutrition and environmental exposures: effects on health outcomes in women and children. *J Nutr.* 2007;137(12):2794-7.
  40. Petriello MC, Newsome BJ, Dziubla TD, Hilt JZ, Bhattacharyya D, Hennig B. Modulation of persistent organic pollutant toxicity through nutritional intervention: emerging opportunities in biomedicine and environmental remediation. *Sci Total Environ.* 2014;491-492:11-6.
  41. Hennig B, Ettinger AS, Jandacek RJ, Koo S, McClain C, Seifried H et al. Using nutrition for intervention and prevention against environmental chemical toxicity and associated diseases. *Environ Health Perspect.* 2007;115(4):493-5.
  42. Tao F, Gonzalez-Flecha B, Kobzik L. Reactive oxygen species in pulmonary inflammation by ambient particulates. *Free Radic Biol Med.* 2003;35(4):327-40.
  43. Knaapen AM, Borm PJ, Albrecht C, Schins RP. Inhaled particles and lung cancer. Part A: Mechanisms. *Int J Cancer.* 2004;109(6):799-809.
  44. Guan L, Rui W, Bai R, Zhang W, Zhang F, Ding W. Effects of Size-Fractionated Particulate Matter on Cellular Oxidant Radical Generation in Human Bronchial Epithelial BEAS-2B Cells. *Int J Environ Res Public Health.* 2016;13(5):483.
  45. Rui Chen, Hong Yin, Ivan S. Cole, Shirley Shen, Xingfan Zhou, Yuqian Wang et al. Exposure, assessment and health hazards of particulate matter in metal additive manufacturing: A review. *Chemosphere.* 2020. Volume 259.
  46. Ferraro S, Orona N, Villalón L, Saldiva PH, Tasat DR, Berra A. Air particulate matter exacerbates lung response on Sjögren's Syndrome animals. *Exp Toxicol Pathol.* 2015;67(2):125-31.
  47. Tebay LE, Robertson H, Durant ST, Vitale SR, Penning TM, Dinkova-Kostova AT. Mechanisms of activation of the transcription factor Nrf2 by redox stressors, nutrient cues, and energy status and the pathways through which it attenuates degenerative disease. *Free Radic. Biol. Med.* 2015;88(Pt B):108-146.
  48. Vasconcelos AR, Dos Santos NB, Scavone C, Munhoz CD. Nrf2/ARE Pathway Modulation by Dietary Energy Regulation in Neurological Disorders. *Front Pharmacol.* 2019;10:33.
  49. Oberdörster G, Sharp Z, Atudorei V, Elder A, Gelein R, Lunts A et al. Extrapulmonary translocation of ultrafine carbon particles following whole-body inhalation exposure of rats. *J Toxicol Environ Health A.* 2002;65(20):1531-43.
  50. Brook RD, Franklin B, Cascio W, Hong Y, Howard G, Lipsett M et al. Expert Panel on Population and Prevention Science of the American Heart Association. Air pollution and cardiovascular disease: a statement for healthcare professionals from the Expert Panel on Population and Prevention Science of the American Heart Association. *Circulation.* 2004;109(21):2655-71.
  51. Brook RD. Cardiovascular effects of air pollution. *Clin Sci (Lond).* 2008;115(6):175-87.
  52. Nemmar A, Vanbilloen H, Hoylaerts MF, Hoet PH, Verbruggen A, Nemery B. Passage of intratracheally instilled ultrafine particles from the lung into the systemic circulation in hamster. *Am J Respir Crit Care Med.* 2001;164(9):1665-8.
  53. Lee JH, Suh OK, Lee MG. Pharmacokinetic changes in drugs during protein-calorie malnutrition: correlation between drug metabolism and hepatic microsomal cytochrome P450 isozymes. *Arch Pharm Res.* 2004;27(7):693-712.
  54. Orona N, Astort F, Maglione GA, Ferraro SA, Martin M, Morales C et al. Hazardous effects of urban air particulate matter acute exposure on lung and extrapulmonary organs in mice. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 2020;190:110120.
  55. Hu H, Wu J, Li Q, Asweto C, Feng L, Yang X et al. Fine particulate matter induces vascular endothelial activation via IL-6 dependent JAK1/STAT3 signaling pathway. *Toxicol Res (Camb).* 2016;5(3):946-953.
  56. Perrella MA, Jain MK, Lee ME. Role of TGF-beta in vascular development and vascular reactivity. *Miner Electrolyte Metab.* 1998;24(2-3):136-43.
  57. Park JH, Kim M, Yim B, Park CY. Nitric oxide attenuated transforming growth factor- induced myofibroblast differentiation of human keratocytes. *Sci Rep.* 2021;11(1):8183.
  58. Kopf PG, Scott JA, Agbor LN, Boberg JR, Elased KM, Huwe JK et al. Cytochrome P4501A1 is required for vascular dysfunction and hypertension induced by 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. *Toxicol Sci.* 2010;117(2):537-46.
  59. Zhang J, Chen R, Zhang G, Wang Y, Peng J, Hu R, et al. PM2.5 increases mouse blood pressure by activating toll-like receptor 3. *Ecotoxicol Environ Saf.* 2022;234:113368.

## ARTÍCULO ORIGINAL

# Análisis cuantitativo de anticuerpos antispike contra el SARS-CoV-2 en pacientes vacunados y no vacunados

*Quantitative analysis of anti-Spike antibodies against SARS-CoV-2 in vaccinated and non-vaccinated patients.*

Peverini, Agustina<sup>1\*</sup>; González, Sabrina<sup>1</sup>; Juan, Lara<sup>1</sup>; Maciel Ferradás, María Cecilia<sup>1</sup>; Aranda, Claudio<sup>1</sup>; González, Fernanda<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de análisis clínicos Buenos Aires, TCba Laboratorio. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

\*Contacto: Peverini, Agustina. Laboratorio de análisis clínicos Buenos Aires, TCba Laboratorio, Salguero 560 2do piso, C1177AEJ; agustinapeverini@gmail.com

## Resumen

**Introducción:** A finales del 2020, comenzó la campaña de vacunación contra el virus SARS-CoV-2. Las primeras vacunas aplicadas fueron Sputnik V, AstraZeneca y Sinopharm, con una eficacia de 97,6 %, 66,7 % y 79,3 %, respectivamente. **Objetivos:** Determinar y comparar las concentraciones de anticuerpos totales *antispike* en pacientes no vacunados y vacunados con primera y segunda dosis, infectados y no infectados. **Materiales y métodos:** Se analizaron muestras de pacientes que concurren al laboratorio durante el 2021. Se clasificaron en grupos según las dosis, el tipo de vacuna recibida y el estado de infección. **Resultados:** Las medianas de anticuerpos de los no vacunados y vacunados con una sola dosis resultaron las siguientes: 250,0 U/ml para vacunados infectados; 90,6 U/ml para vacunados no infectados; 51,9 U/ml para no vacunados infectados y 0,4 U/ml para no vacunados no infectados. Todos los pacientes vacunados con primeras dosis, infectados alcanzaron una concentración de 250,0 U/ml. Los no infectados presentaron diferencias según el tipo de vacuna recibida [Sputnik V (114,2 U/ml), AstraZeneca (35,4 U/ml), Sinopharm (16,6 U/ml)]. Todos los subgrupos con dos dosis alcanzaron una concentración de 250,0 U/ml, excepto aquellos no infectados vacunados con Sinopharm/Sinopharm (113,4 U/ml). **Conclusión:** Los pacientes vacunados, COVID-19 positivo presentaron mayor concentración de anticuerpos que los no infectados. Aquellos con una sola dosis, no infectados evidenciaron diferencias en la concentración, dependiendo de la vacuna recibida. Los pacientes vacunados con dos dosis, independientemente del estado de infección y del esquema aplicado, alcanzaron la máxima concentración, excepto aquellos que habían recibido Sinopharm/Sinopharm.

**Palabras clave:** virus SARS-CoV-2, vacunas, concentración de anticuerpos *antispike*, infectados, no infectados.

## Abstract

**Introduction:** The vaccination campaign against the SARS-CoV-2 virus began at the end of 2020. The first vaccines applied were Sputnik V, AstraZeneca and Sinopharm, with efficacies of 97.6 %, 66.7 % and 79.3 % respectively. **Objectives:** We performed a comparison of total anti-spike antibody concentrations in unvaccinated people and people vaccinated with the first dose and second dose, in both infected and uninfected patients. **Materials and methods:** A total of 1567 samples from patients who attended our laboratory [Laboratorio de Análisis Clínicos Buenos Aires, Argentina] during 2021 were analyzed. Patients were classified into groups according to the dose, type of vaccine received and infection status. **Results:** The median antibodies of the unvaccinated patients and those vaccinated with a single dose were: 250.0 U/ml Vaccinated Infected, 90.6 U/ml Vaccinated Not Infected, 51.9 U/ml Not Vaccinated Infected and 0.4 U/ml Not Vaccinated Not Infected. All patients vaccinated with the first dose and infected reached a concentration of 250.0 U/ml. Those not infected presented differences according to the type of vaccine received [Sputnik V (114.2 U/ml), AstraZeneca (35.4 U/ml), Sinopharm (16.6 U/ml)]. The subgroups with two doses reached a concentration of 250.0 U/ml, except those uninfected vaccinated with Sinopharm/Sinopharm (113.4 U/ml). **Conclusion:** All SARS-CoV-2-infected patients receiving any vaccine showed higher anti-spike antibody levels than the vaccinated uninfected group. Patients immunized with a single dose who did not develop the infection presented significant differences in the concentration of antibodies depending on the vaccine administered. In contrast, the whole population who completed the two-dose schedule, regardless of the infection status and the scheme applied, reached the maximum concentration of antibodies except with the Sinopharm/Sinopharm combination.

**Key words:** SARS-CoV-2 virus, vaccines, concentration of anti-Spike antibodies, infected, uninfected.

## Introducción

A fines de diciembre de 2019, en la ciudad de Wuhan, en China, fue detectado un alto número de cuadros de “neumonía de causa desconocida”. Con el aumento exponencial de los mismos y su distribución a otras regiones, el 11 de febrero de 2020 la Organización Mundial de la Salud designa dicha afección como *Enfermedad por Coronavirus 2019 (COVID-19)* y comienza a considerarla como pandemia.

El agente causal de la COVID-19 es el virus del SARS-CoV-2 (*Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2*, por comparación con su antecesor, SARS-CoV) con el que la mayoría de las personas infectadas experimenta una enfermedad respiratoria leve a moderada y se recupera sin necesidad de un tratamiento especial. Sin embargo, existen formas graves que requieren de atención médica inmediata e incluso internación, a las que son más susceptibles las personas mayores y aquellas con afecciones médicas subyacentes como enfermedades cardiovasculares, diabetes, enfermedades respiratorias crónicas o cáncer. Los síntomas más frecuentes incluyen fiebre, tos, cansancio, pérdida del gusto u olfato, dolor de garganta, dolor de cabeza, diarrea y ojos rojos o irritados. En los cuadros clínicos más graves, se suma la dificultad para respirar o falta de aire, neumonía, pérdida del habla o movilidad, confusión y dolor de pecho.<sup>1</sup>

Desde el inicio de la pandemia a la actualidad, se ha avanzado en el conocimiento sobre las características del virus, su comportamiento, evolución y manejo clínico de la infección. Si bien se encuentran en desarrollo medicamentos específicos para el tratamiento de la enfermedad, e incluso algunos han sido recientemente aprobados en ciertos países, la solución efectiva basada en la evidencia por comparación con otras enfermedades es la vacunación a través de la cual no solo se reduce el número de contagios, sino también se disminuyen significativamente la morbilidad y la mortalidad.

Argentina dio inicio a la Campaña Nacional de Vacunación contra la COVID-19 el 29 de diciembre de 2020. El propósito de la misma fue vacunar al 100 % de la población objetivo en forma escalonada y progresiva, de acuerdo con la disponibilidad de vacunas y la priorización de riesgo para disminuir la morbimortalidad y el impacto socioeconómico ocasionados por el SARS-CoV-2 en el país. La definición de la población objetivo a vacunar se ha considerado en un marco bioético, adoptando criterios basados en el riesgo de desarrollar una enfermedad grave y/o complicaciones por COVID-19 y la probabilidad de mayor exposición no evitable al virus como estrategia para incidir en la cadena de transmisión.<sup>2</sup>

Las primeras vacunas en administrarse fueron Sputnik V (Sp), AstraZeneca (Az) y Sinopharm (Sn). Con el tiempo, se fueron incorporando el resto de las vacunas actualmente disponibles [Moderna (Md), CanSino, Pfizer-BioNTech]. Luego de tres meses de iniciada la campaña de vacunación, se continuó con la aplicación de una segunda dosis. La eficacia reportada con ambas dosis fue de 97,6 % (Sp), 66,7 % (Az) y 79,3 % (Sn).

Alternativamente, el Ministerio de Salud admitió el uso de esquemas vacunales con las combinaciones Sp/Az, Sp/Md, Az/Md, teniendo en cuenta estudios sobre inmunogenicidad y seguridad de los esquemas heterólogos de vacunación contra COVID-19.<sup>3</sup>

Los objetivos de este estudio son: (a) determinar y comparar la concentración de anticuerpos totales *antispikes* (Ac) en pacientes ambulatorios vacunados con primera dosis y no infectados (VNI), vacunados con primera dosis e infectados (VI), no vacunados no infectados (NVNI) y no vacunados infectados (NVI); (b) evaluar la diferencia de Ac en pacientes ambulatorios infectados y no infectados que recibieron dos dosis.

## Materiales y métodos

Se analizaron muestras individuales de suero de pacientes que concurren al Laboratorio de análisis clínicos Buenos Aires (LACba) en los períodos abril - junio (no vacunados y vacunados con una sola dosis) y octubre - diciembre (vacunados con dos dosis) del año 2021.

En el momento de la admisión, los pacientes completaron un cuestionario con antecedentes de contacto estrecho, síntomas relacionados con COVID-19, resultado de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) o test de antígeno, tipo de vacuna recibida, número de dosis y fechas en las que fueron administradas.

Se confeccionó una base de datos y se los clasificó según estado de infección y vacunación (cantidad de dosis, tipo de vacuna y esquema recibido).

Cabe destacar que los pacientes seleccionados concurren al laboratorio luego de 21 días de la vacunación, ya fuera de la primera o de la segunda dosis. Además, se descartaron pacientes que recibieron una dosis de CanSino, Johnson & Johnson, Pfizer-BioNTech, CureVac y Sinovac, ya que no eran poblaciones representativas.

La cuantificación de anticuerpos de los distintos grupos y subgrupos se realizó por electroquimioluminiscencia (Cobas E600 Roche). El valor de corte utilizado fue de 0,8 U/ml y el intervalo de cuantificación empleado, 0,8 - 250,0 U/ml, ambos indicados por el fabricante. Se realizó un análisis estadístico mediante el *software GraphPad Prism 8.0.2*, basado en las pruebas de Kolmogorov-Smirnov y Kruskal-Wallis.

Se compararon los niveles de Ac determinados en VNI, VI, NVNI y NVI. Luego, la comparación de medianas de Ac se realizó en los subgrupos obtenidos según tipo y dosis de vacunas. Se calcularon las medianas de las concentraciones de anticuerpos de los distintos grupos y subgrupos, ya que no presentaban distribución normal por la prueba de Kolmogorov-Smirnov.

Los autores declaramos que para esta investigación no se han realizado experimentos en seres humanos ni animales y hemos seguido los protocolos de nuestro centro de trabajo sobre la publicación y confidencialidad de los datos de pacientes.

**Tabla I.** Subclasificación de los grupos VNI y VI según vacuna recibida.

Vacuna	Dosis	VNI	VI
AstraZeneca	1	Az - (n=42)	Az + (n=16)
Sinopharm	1	Sn - (n=97)	Sn + (n=28)
Sputnik V	1	Sp - (n=236)	Sp + (n=66)

► VNI, vacunados no infectados; VI, vacunados infectados; Az-, AstraZeneca, COVID-19 negativo; Az+, AstraZeneca, COVID-19 positivo; Sn-, Sinopharm, COVID-19 negativo; Sn+, Sinopharm, COVID-19 positivo; Sp-, Sputnik V, COVID-19 negativo; Sp+, Sputnik V, COVID-19 positivo.

**Resultados**

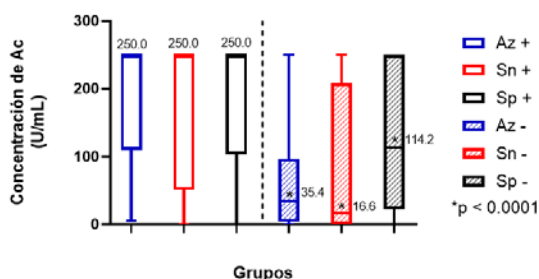
De las 1567 muestras totales analizadas, 848 pertenecían a pacientes no vacunados, 572, a vacunados con una sola dosis y 147, a pacientes vacunados con dos dosis. Las mismas se clasificaron en los grupos VNI (n: 450), VI (n: 122), NVNI (n: 304) y NVI (n: 544). Los grupos VNI y VI fueron subclasificados según el tipo de vacunas recibidas [Tabla I]. Además, se clasificaron los pacientes que recibieron dos dosis según el esquema recibido y el estado de infección [Tabla II].

Las medianas de las concentraciones de anticuerpos de los grupos VNI, VI, NVNI y NVI resultaron significativamente ( $p < 0,0001$ ) distintas, según Kruskal-Wallis [Tabla III].

Las medianas de Ac para los subgrupos definidos según vacuna recibida y estado de infección fueron significativamente ( $p < 0,0001$ ) diferentes para Az-, Sn-, Sp-; mientras que para Az+, Sn+, Sp+ no presentaron diferencias significativas [Figura 1].

De las medianas de las concentraciones de anticuerpos de los grupos Az Az -, Sn Sn -, Sp Sp -, Sp Md -, Az Az +, Sn Sn +, Sp Sp+, Sp Md +, solo resultó significativamente inferior ( $p < 0,001$ ) el valor determinado para Sn Sn - respecto de los otros grupos COVID-19 negativos [Az Az -, Sp Sp -, Sp Md -] [Figura 2].

**Figura 1.** Niveles de anticuerpos (medianas) en los subgrupos definidos según vacuna recibida e infección.



► Az-, AstraZeneca, COVID-19 negativo; Az+, AstraZeneca, COVID-19 positivo; Sn-, Sinopharm, COVID-19 negativo; Sn+, Sinopharm, COVID-19 positivo; Sp-, Sputnik V, COVID-19 negativo; Sp+, Sputnik V, COVID-19 positivo; Ac, anticuerpos antispike; \* $p < 0,0001$ .

**Tabla II.** Grupos de pacientes vacunados con dos dosis según el esquema recibido.

Vacuna	Dosis	No infectados	Infectados
AstraZeneca	2	Az Az - (n=36)	Az Az + (n=10)
Sinopharm	2	Sn Sn - (n=12)	Sn Sn + (n=10)
Sputnik V	2	Sp Sp - (n=39)	Sp Sp + (n=13)
Sputnik V	1	Sp Md - (n=17)	Sp Md + (n=10)
Moderna	2		

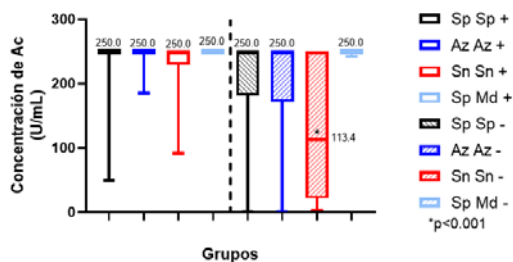
► Az Az-, dos dosis de AstraZeneca, COVID-19 negativo; Az Az+, dos dosis de AstraZeneca, COVID-19 positivo; Sn Sn-, dos dosis de Sinopharm, COVID-19 negativo; Sn Sn+, dos dosis de Sinopharm, COVID-19 positivo; Sp Sp-, dos dosis de Sputnik V, COVID-19 negativo; Sp Sp+, dos dosis de Sputnik V, COVID-19 positivo; Sp Md-, una dosis de Sputnik V y una dosis de Moderna, COVID-19 negativo; Sp Md+: Una dosis de Sputnik V y una dosis de Moderna, COVID-19 positivo.

**Discusión**

La pandemia de COVID-19 llevó a un aumento y a una aceleración en la velocidad de desarrollos científicos que puedan servir como herramienta para reducir su impacto, con la atención centrada en las vacunas, los medicamentos específicos y los métodos de laboratorio tanto para la detección de SARS-CoV-2 como para la medición de la respuesta inmune generada.

La respuesta humoral a la infección por SARS-CoV-2 comienza a evidenciarse entre 1 y 3 semanas posteriores al inicio de los síntomas. En personas con infección moderada y severa, se cree que se alcanza una respuesta inmune humoral más robusta, con altos títulos y persistencia. En pacientes leves o asintomáticos, los niveles de Ac circulantes son frecuentemente bajos e incluso puede no detectarse la presencia de anticuerpos con posterioridad a la infección. En general, luego del reconocimiento antigénico de los componentes virales, ambas inmunoglobulinas (IgM e IgG) aumentan casi simultáneamente.

**Figura 2.** Medianas de la concentración de anticuerpos en los diferentes subgrupos.



► Az Az-, dos dosis de AstraZeneca, COVID-19 negativo; Az Az+, dos dosis de AstraZeneca, COVID-19 positivo; Sn Sn-, dos dosis de Sinopharm, COVID-19 negativo; Sn Sn+, dos dosis de Sinopharm, COVID-19 positivo; Sp Sp-, dos dosis de Sputnik V, COVID-19 negativo; Sp Sp+, dos dosis de Sputnik V, COVID-19 positivo; Sp Md-, una dosis de Sputnik V y una dosis de Moderna, COVID-19 negativo; Sp Md+, una dosis de Sputnik V y una dosis de Moderna, COVID-19 positivo; Ac, anticuerpos antispike; \* $p < 0,001$ .

**Tabla III.** Medianas de las concentraciones de anticuerpos.

	VNI (n:450)	VI (n:122)	NVNI (n:304)	NVI (n:544)
Anticuerpos (U/ml) (percentilos 2,5-97,5%)	90,6* (10,3 - 250,0)	250,0* (100,6 - 250,0)	0,4* (0,4 - 45,6)	51,9* (7,66 - 169,2)

► \* $p < 0,0001$ ; VNI, vacunados no infectados; VI, vacunados infectados; NVNI, no vacunados no infectados; NVI, no vacunados infectados.

te; IgM decae más rápidamente, en promedio, luego de las tres primeras semanas; IgG alcanza su punto máximo entre las 3 y 7 semanas después del inicio de los síntomas y se mantiene por al menos 8 semanas.<sup>4</sup>

El tiempo de persistencia de los anticuerpos generados en respuesta al SARS-CoV-2 sigue siendo objeto de estudio y puede variar según el método utilizado para su detección y cuantificación. Algunos autores indican que sería de por lo menos 6 a 8 meses con posterioridad a la infección mientras que otros reportan que entre el 5 y 10% de las personas no desarrollan niveles de IgG detectables luego de haber cursado la enfermedad.<sup>5,6</sup> Además, diversos estudios señalan que las personas vacunadas producen anticuerpos con una cinética similar a la alcanzada en la infección natural por el virus.<sup>7</sup> Es por ello que aquí hemos seleccionado solo a aquellos pacientes que fueron vacunados al menos 21 días antes de la toma de muestra tanto para la primera como para la segunda dosis.

Luego de la infección, se desarrollan anticuerpos dirigidos principalmente contra la proteína de la nucleocápside (N) y la proteína *spike* (S) del virus SARS-CoV-2. Ambas estimulan una respuesta humoral temprana.

Actualmente, se considera que se alcanza una protección efectiva contra la COVID-19 cuando se logra generar una potente respuesta inmune dirigida a la proteína viral S. Si bien el estudio de neutralización es el indicado para evidenciar su efecto sobre la replicación viral, los anticuerpos dirigidos contra la proteína S suelen denominarse comúnmente *anticuerpos neutralizantes*, ya que su unión al RBD (*receptor binding domain*) en la proteína *spike* bloquearía el acoplamiento del virus con el receptor celular y, por lo tanto, sería capaz de neutralizar la infectividad viral.<sup>8</sup>

Por lo mencionado anteriormente, el método que utilizamos para la cuantificación de los anticuerpos es un inmunoensayo que permite la detección selectiva de anticuerpos totales contra la proteína *spike* del SARS-CoV-2 (Elecsys® Anti-SARS-CoV-2 S, Roche). El mismo reporta una especificidad del 99,98 % y una sensibilidad de 98,30 % a los 21 días del hisopado positivo, que asciende a 100 % al día 28.<sup>9</sup>

Analizando los resultados obtenidos, pudimos observar que aquellos pacientes inmunizados con una dosis y que no cursaron la infección, presentaron diferencias significativas en la concentración de anticuerpos en función de la vacuna recibida: mayor para la vacuna Sputnik V, seguida por AstraZeneca y, por último, Sinopharm.

Por otra parte, se verifica que la totalidad de los pacientes vacunados con una sola dosis que cursan infección por SARS-

CoV-2 presenta mayores concentraciones de anticuerpos respecto de los no infectados. Esto mismo fue evidenciado en el trabajo de Rajat Ujjainia y col<sup>10</sup>, quienes evaluaron el porcentaje de anticuerpos neutralizantes en pacientes seropositivos y seronegativos de COVID-19, vacunados y no vacunados con AstraZeneca, a lo largo del tiempo. Además, describieron que los pacientes previamente infectados alcanzaron el máximo título de anticuerpos a la cuarta semana luego de la primera dosis, mientras que los pacientes que no padecieron la enfermedad alcanzaron la máxima respuesta a los 28 días después de la segunda dosis. En nuestro caso, todos los pacientes con segunda dosis, independientemente del estado de infección, alcanzaron la máxima concentración de anticuerpos capaz de ser detectada por el método utilizado, excepto aquellos no infectados inmunizados con dos dosis de Sinopharm.

Se concluye que todos los pacientes vacunados que cursaron la infección por SARS-CoV-2 presentaron una mayor concentración de anticuerpos *antispikes* que los que no la cursaron. Aquellos pacientes inmunizados con una sola dosis que no cursaron la infección presentaron diferencias significativas en la concentración de anticuerpos, dependiendo de la vacuna recibida. En cambio, todos los pacientes vacunados con dos dosis, independientemente del estado de infección y del esquema aplicado, alcanzaron la máxima concentración de anticuerpos, excepto con el esquema Sinopharm/Sinopharm. Destacamos la importancia de cumplir con el esquema de vacunación sugerido por los especialistas para lograr inmunogenicidad.

### Conflictos de interés

Los/as autores/as declaran no tener conflictos de interés.

### Referencias bibliográficas

1. Coronavirus disease (COVID-19). World Health Organization (WHO). [Internet]. [Consultado 5 dic 2022]. Disponible en: <https://www.who.int/health-topics/coronavirus>
2. Dosis adicional al esquema primario y dosis de refuerzo (booster). Campaña Nacional de Vacunación contra la COVID-19. [Internet]. 10 nov 2021. [Consultado 5 dic 2022]. Disponible en: <https://bancos.salud.gov.ar/sites/default/files/2021-11/lineamientos-tecnicos-COVID-19-booster.pdf>
3. UK Health Security Agency, COVID-19 vaccination programme Information for healthcare practitioners.
4. Sethuraman N, Jeremiah SS, Ryo A. Interpreting Diagnostic Tests for SARS-CoV2. JAMA. 2020;323(22):2249-51.
5. Petersen LR, Sami S, Vuong N, Pathela P, Weiss D, Morgenthau BM. Lack of antibodies to SARS-CoV-2 in a large cohort of previously infected persons. Clin Infect Dis. 2021;73(9):e3066-73
6. Kaufman HW, Chen Z, Meyer WA 3rd, Wohlgenuth JG. Insights from patterns of SARS-CoV-2 immunoglobulin G serology test results from

- a national clinical laboratory, United States, March-July 2020. *Popul Health Manag.* 2021;24(S1):S35-42.
7. Collier AY, Yu J, McMahan K, Liu J, Chandrashekar A, Maron JS et al. Differential Kinetics of Immune Responses Elicited by Covid-19 Vaccines. *N Engl J Med.* 2021;385(21):2010-2012.
  8. Suthar MS, Zimmerman MG, Kauffman RC, Mantus G, Linderman SL, Hudson WH, et al. Rapid generation of neutralizing antibody responses in COVID-19 patients. *Cell Rep Med.* 2020;23;1(3):100040.
  9. Elecsys® Anti-SARS-CoV-2 S [Internet]. *Diagnostics.* [Consultado 5 dic 2022]. Disponible en: <https://diagnostics.roche.com/global/en/products/params/elecsys-anti-sars-cov-2-s.html>
  10. Ujjainiya R, Tyagi A, Sardana V, Naushin S, Bhatheja N, Kumar K. Effect Monitoring and Insights from Vaccination program of Healthcare Workforce from a tertiary level hospital in India against SARS-CoV-2. New Dheli. 2021;medRxiv. Disponible en: <https://pesquisa.bvsalud.org/global-literature-on-novel-coronavirus-2019-ncov/resource/pt/ppmedrxiv-21252621>

## ARTÍCULO ORIGINAL

# Estudio comparativo de nuevos métodos para el diagnóstico de SARS-CoV-2: *boiling* sin extracción de ácidos nucleicos y testeo en pools

*Strategies to optimize diagnostic resources in times of pandemic.*

Martelli, Antonella<sup>1</sup>; Baffico, María Luz<sup>1</sup>; Cesano Riso, Griselda Raquel<sup>1</sup>; Torres, Magalí<sup>1</sup>; Amaya, Lucas Joel<sup>1</sup>; Echegoyen, Natalia Andrea<sup>1</sup>; Lucero, Alicia María<sup>1</sup>; Videla, Cristina<sup>1</sup>; Martínez, Alfredo Pedro<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Análisis Clínicos, Centro de Educación Médica e Investigaciones Clínicas (CEMIC). Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

\*Contacto: Martelli, Antonella. Departamento de Análisis Clínicos, CEMIC, CP 1431. Correo electrónico: amartelli@cemic.edu.ar

## Resumen

**Introducción:** La OMS declara la pandemia por SARS-CoV-2 en marzo de 2020. A partir de ese momento, se transforma en el *gold standard* para su diagnóstico la PCR en tiempo real (rt PCR). Ante la demanda excesiva de reactivos y la falta de los mismos, se ensayan alternativas para optimizarlos. **Objetivo:** Comparar métodos de extracción de ácidos nucleicos: el método tradicional versus la inactivación con calor (*boiling*) y el procesamiento individual versus la realización de mezclas de muestras (*pooling*) en el diagnóstico de SARS-CoV-2. **Materiales y métodos:** Se usaron hisopados nasofaríngeos en medio de transporte para virus o en agua libre de RNasas. Se llevaron a cabo extracción y purificación de ácidos nucleicos por columnas, inactivación de muestras por calentamiento (*boiling*) y realización de mezclas de muestras de acuerdo con la estrategia de *pool* en matriz. **Resultados:** no se evidenciaron diferencias significativas de Ct tanto en las muestras inactivadas por *boiling* como en los *pools* de muestras con respecto a los resultados obtenidos por el procedimiento habitual. **Discusión:** La adopción de estas estrategias permitió optimizar recursos de extracción y tiempo en el diagnóstico de SARS-CoV-2. La realización de *pools* en formato de matriz se podría aplicar en poblaciones con baja prevalencia de la infección y, por el contrario, la inactivación por *boiling* se podría utilizar en épocas de alta prevalencia.

**Palabras clave:** pandemia, *pools*, rt PCR, *boiling*, optimización.

## Abstract

**Introduction:** In March 2020, the WHO declared the SARS-CoV-2 pandemic, with real-time PCR (rt-PCR) being the gold standard for its diagnosis. Given the excessive demand for reagents and their lack, alternatives were tested to optimize them. **Objective:** To compare methods that allow optimizing resources in the diagnosis of SARS-CoV-2: nucleic acid extraction by the traditional method versus heat inactivation (*boiling*) and individual processing versus performing sample mixtures (*pooling*). **Materials and methods:** Nasopharyngeal swabs in transport medium for viruses or in RNase-free water were used for the comparison. Nucleic acids were extracted and purified by columns. Samples were inactivated by heating (*boiling*). Sample pools were obtained according to the matrix pool strategy. **Results:** No significant differences in Ct were observed in samples inactivated by boiling or in sample pools, respect to the results obtained by the traditional procedure. **Discussion:** The adoption of these strategies allowed optimizing extraction resources and time in the diagnosis of SARS-CoV-2. The realization of pools in matrix format could be applied in populations with low prevalence of infection, whereas inactivation by boiling could be used in times of high prevalence.

**Key words:** pandemic, *pools*, rt PCR, *boiling*, optimization.

## Introducción

En diciembre de 2019, un nuevo virus respiratorio emerge e impacta en todo el mundo. En marzo de 2020, se declara la situación de pandemia por este nuevo coronavirus, SARS-CoV-2, con la necesidad de tomar medidas sanitarias, entre ellas, aumentar masivamente los testeos en población sintomática, así como en asintomática, para evitar lo más eficientemente posible la propagación de este virus.

El método recomendado por la OMS para el diagnóstico de SARS-COV-2, considerado el *gold standard* es la PCR en tiempo real (rt PCR) en hisopado nasofaríngeo. La rt PCR consta de 3 pasos principales: inactivación de la muestra, extracción y purificación de ácidos nucleicos y, por último, la PCR propiamente dicha y detección del producto amplificado. Cada uno de estos pasos requiere diferentes insumos y reactivos, cuya demanda aumentó en forma abrupta en el contexto de pandemia ocasionando la falta generalizada de estos recursos.

Esta situación se convirtió en la principal dificultad para responder a las exigencias del diagnóstico y modificó los tiempos de entrega de resultados. Con el objeto de enfrentar la falta de recursos y disminuir los costos, se estudiaron nuevas alternativas y algoritmos diagnósticos a fin de lograr dar respuestas a las exigencias creadas por la pandemia.

La realización de pruebas en grupo ha sido ampliamente utilizada en serología y banco de sangre; adaptarlas a las PCR para diagnóstico de SARS-CoV-2 permitiría disminuir los tiempos de respuesta junto con un ahorro en el consumo de reactivos.

Objetivo: Comparar la extracción de ácidos nucleicos por el método tradicional versus la inactivación con calor (*boiling*) y el procesamiento individual versus la realización de mezclas de muestras (*pooling*), en el diagnóstico de SARS-CoV-2, de manera tal de poder prescindir de algunos reactivos y optimizar la utilización de otros para afrontar la gran demanda provocada por la pandemia.

## Materiales y métodos

Recolección de muestras: se recolectaron hisopados nasofaríngeos en tubo estéril con 2 mL de medio de transporte para virus universal o en 2 mL de agua libre de RNAsas.

Extracción y purificación de ácidos nucleicos: se realizó a través de método manual con columnas *Quick-RNA Viral Kit* de ZYMO RESEARCH.

Inactivación por calentamiento (*boiling*): se llevó a cabo el calentamiento durante 5 minutos a 95°C en termobloque. Se tomaron 18 muestras (8 detectables y 10 no detectables) recolectadas en agua libre de RNAsas, previamente extraídas y testeadas por el protocolo convencional, se inactivaron por el método de *boiling* y luego, se les realizó la PCR eliminando el paso de extracción.

Mezcla de muestras (*pooling*): se realizaron mezclas de acuerdo con una estrategia de pool en matriz. Cada matriz comprende 25 muestras dispuestas en un esquema de 5 filas por 5 columnas, como se puede observar en la Figura 1. Con cada fila y con cada columna se realizó un *pool* conformado por 5 muestras, tomando alícuotas iguales de cada una hasta llegar a un volumen final de 200 uL. De esta manera, por cada matriz se hicieron 10 extracciones y 10 PCR. Cada muestra se realizó por duplicado porque se encontraba formando parte de 2 *pools* en simultáneo: el de su fila y el de su columna.

Se elaboraron 10 matrices en total utilizando 250 muestras testeadas previamente, 240 negativas y 10 positivas con distintos valores de Ct. Se colocó una muestra positiva en cada matriz, en una posición al azar. La muestra positiva fue detectada mediante la intersección de la fila y columna positivas en la matriz.

Detección por rt PCR: se utilizó el kit AltoStar Sars-CoV-2 1.5 RUO de alta, que detecta específicamente los genes de las proteínas E y S de Sars-CoV-2. Se consideraron detectables aquellas muestras con un *cycle threshold* (Ct) < 38,

**Tabla I.** Comparación entre resultados de Ct por procedimiento habitual de extracción y purificación versus inactivación por calor, sin extracción, en muestras positivas.

Muestra	Ct gen E (extracción)	Ct gen E ( <i>Boiling</i> )	$\Delta$ Ct	Ct gen S (Extracción)	Ct gen S ( <i>Boiling</i> )	$\Delta$ Ct
1	25,88	28,84	2,96	25,31	28,79	3,48
2	26,55	27,04	0,49	25,46	26,90	1,44
3	22,43	23,00	0,57	21,56	23,22	1,66
4	18,77	20,52	1,75	17,12	21,62	4,5
5	26,57	28,77	2,2	26,01	27,99	1,98
6	24,68	24,98	0,3	24,03	23,91	-0,12
7	23,23	20,66	-2,57	22,53	20,32	-2,21
8	22,53	25,33	2,8	22,77	24,99	2,22

► Ct, *cycle threshold*,  $\Delta$ Ct, diferencia entre el Ct *boiling* y el Ct extracción; media de  $\Delta$ Ct gen E=1,70 (desvío estándar=0,66); media de  $\Delta$ Ct gen S=2,20 (desvío estándar=0,53).

**Tabla II.** Valores de Ct obtenidos para el gen E en las muestras individuales y en los *pools* de fila y columna de cada matriz.

Gen E	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	M10
Ct muestra	19,08	21,7	23,47	23,59	24,70	25,74	25,95	26,71	28,18	29,27
Ct <i>pool</i> fila	22,74	25,05	23,36	25,35	24,08	23,33	26,78	27,25	26,8	26,87
Ct <i>pool</i> columna	22,06	25,08	25,3	23,45	24,63	24,92	27,61	27,57	27,45	26,6

► Ct, *cycle threshold*. Cada matriz se expresa como M seguida de un número del 1 al 10.  $\Delta Ct = [Ct \text{ pool fila/columna}] - [Ct \text{ muestra}]$ ; media de  $\Delta Ct$  final = 0,32 (desvío estándar = 2,14); media de  $\Delta Ct$  columna = 0,63 (desvío estándar = 1,87).

para ambos genes. Por otro lado, a aquellas muestras con Ct < 38 para solo uno de los dos genes, se las consideró indeterminadas. Por último, se consideraron no detectables aquellas muestras que no presentaron curva de fluorescencia o que tuvieron un Ct > 38 ya fuera para uno o ambos genes.

Para las rt PCR se utilizó el termociclador z480 de Roche.

## Resultados

### Detección de SARS-CoV-2 en HNF sin extracción

Los resultados obtenidos se pueden observar en la Tabla I. En la Figura 2, se pueden visualizar las diferencias halladas entre los Ct.

Para analizar la diferencia entre las muestras con y sin extracción de ácidos nucleicos, se calculó, en las muestras positivas, la diferencia de Ct para cada uno de los genes detectados, y a ese valor se lo llamó  $\Delta Ct$ . La medida de los  $\Delta Ct$  para cada uno de los genes estudiados fue de 1,70 para el gen E y de 2,20 para el gen S, con desvíos estándar de 0,66 y 0,53, respectivamente.

Se utilizaron 10 muestras negativas, que resultaron no detectables independientemente del paso de extracción/inactivación utilizado. Se obtuvo total concordancia en la interpretación clínica de las muestras estudiadas.

### Detección de SARS-CoV-2 en mezclas de muestras (*pooling*)

Los valores de Ct de las muestras individuales y de los *pools* realizados (de fila y columna de cada matriz) se encuentran en las Tablas II y III. En los gráficos (Figuras 3 y 4), se pueden observar para cada gen estudiado las diferencias de Ct entre las muestras individuales y los *pools*.

También se calculó la media de los  $\Delta Ct$  para cada uno de los genes con respecto a los *pools*. Para el gen E, se obtuvieron medias de  $\Delta Ct$  de 0,32 y 0,63 para los respectivos *pools* de fila y columna, con desvíos estándar de 2,14 y 1,87. Para el gen S, se realizaron los mismos cálculos y se obtuvieron medias de  $\Delta Ct$  de 0,16 y 0,41, con desvíos estándar de 2,38 y 2,04. El procedimiento por el cual se realizaron las matrices y la forma de detección de los positivos se esquematiza abajo (Figura 1).

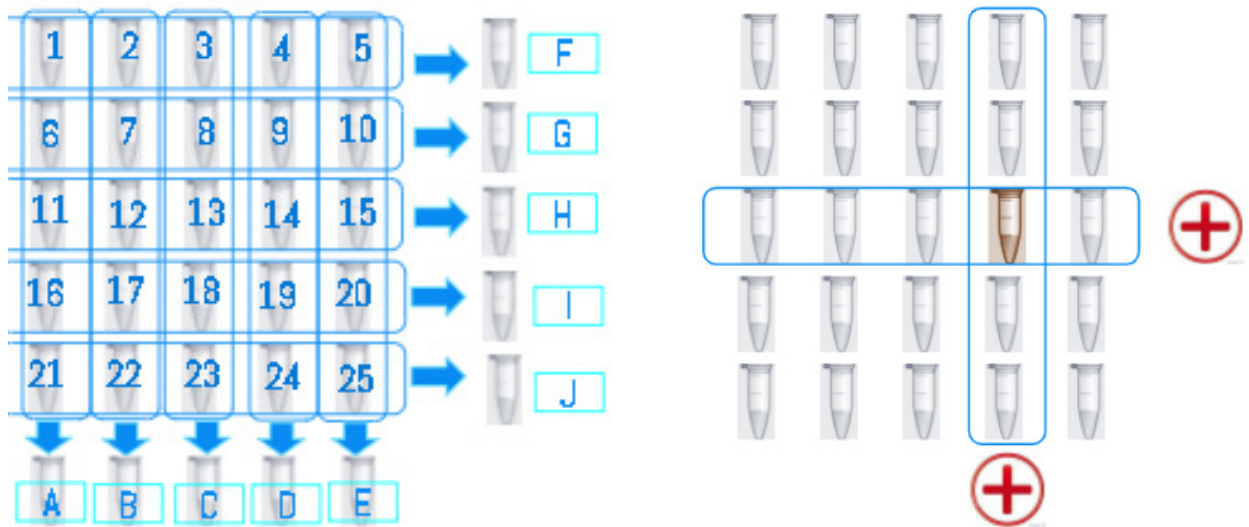
## Discusión

En primer lugar, se probó sustituir la extracción por *boiling* en las muestras obtenidas con agua. Se sabe que esta técnica se utilizó en otros trabajos<sup>1-3</sup> y también se utiliza como parte del protocolo de amplificación isotérmica desarrollado en nuestro país, Neokit. En concordancia con estos trabajos, se obtuvieron buenos resultados. Las diferencias

**Tabla III.** Valores de Ct obtenidos para el gen S en las muestras individuales y en los *pools* de fila y columna de cada matriz.

Gen S	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	M10
Ct <i>pool</i> muestra	18,27	21,07	22,85	23,87	25,21	25,74	25,25	26,22	27,68	28,67
Ct <i>pool</i> fila	21,57	25,5	22,66	24,77	23,52	22,66	26,27	26,63	26,34	26,55
Ct <i>pool</i> columna	21,27	24,72	24,61	22,75	23,98	24,47	26,87	26,94	27,04	26,29

► Cada matriz se expresa como M seguida de un número del 1 al 10.  $\Delta Ct = [Ct \text{ pool fila/columna}] - [Ct \text{ muestra}]$ ; media de  $\Delta Ct$  final = 0,16 (desvío estándar = 2,38); media de  $\Delta Ct$  columna = 0,41 (desvío estándar = 2,04).

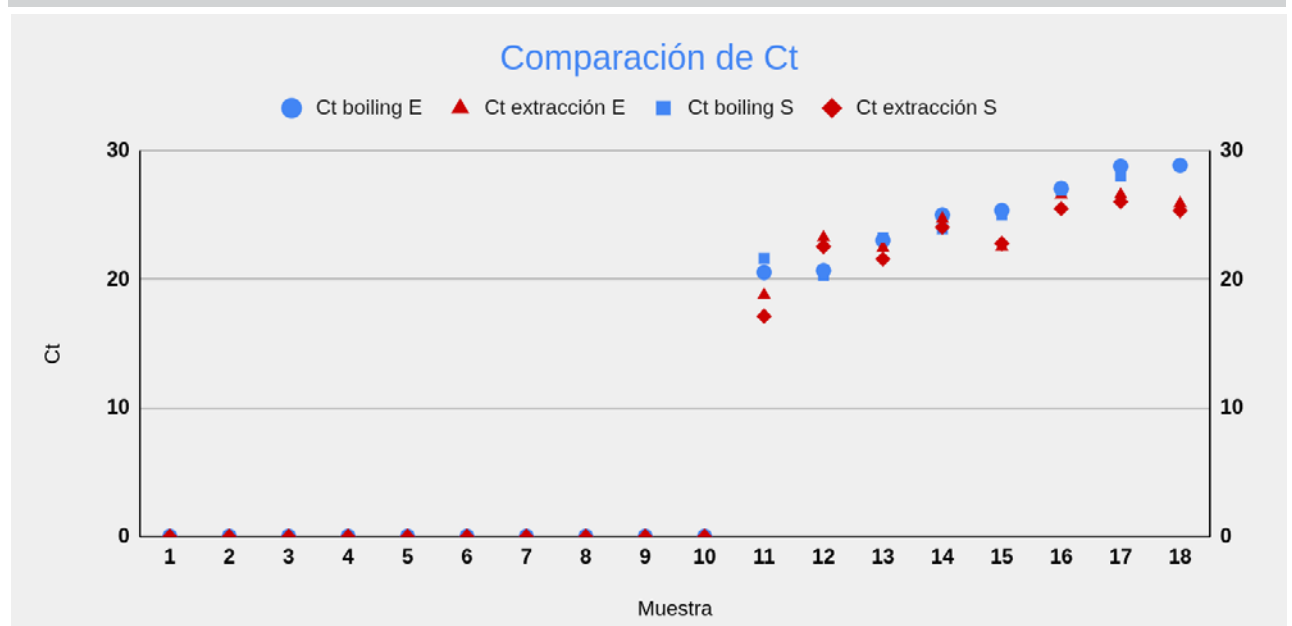
**Figura 1.** Esquema de *pools* en matriz.

► A la izquierda, se observa el esquema de pools en matriz. Las muestras que conforman una matriz están numeradas de la 1 a la 25. Con cada fila y con cada columna, se realizaron los pools, cada uno conformado por 5 muestras. Cada muestra de la matriz se encuentra formando parte de 2 pools en simultáneo, el de su fila y el de su columna. En total se realizaron 10 pools por matriz, denominados de la A a la J. A la derecha, en naranja, se evidencia una muestra positiva con sus respectivos pools de fila y columna positivos. Se identifica la muestra por la intersección de los pools positivos.

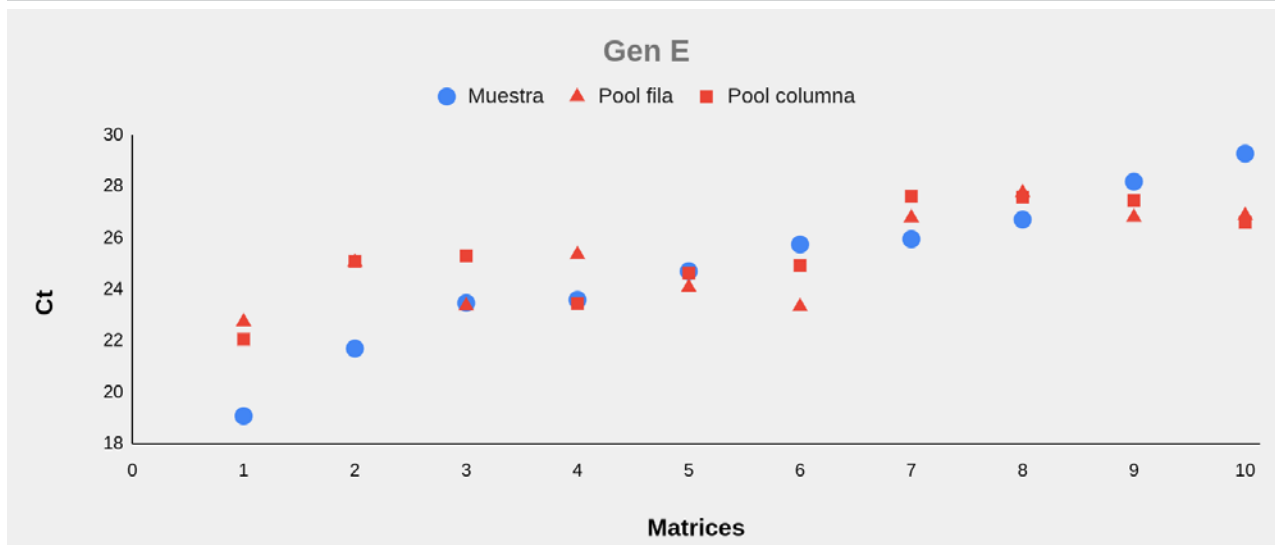
de Ct (de aproximadamente 2) se consideraron no significativas, y en este trabajo, se puede ver una concordancia total de la interpretación clínica de las muestras. Con estos resultados se podría pensar que sería un método útil ante una prevalencia alta de la infección, donde los Ct suelen ser bajos, y una diferencia como la hallada no sería entonces significativa. Con esta sustitución, se podrían ahorrar recursos de extracción y purificación. Como beneficio colateral,

también se optimizan los tiempos de proceso de las muestras asegurando un resultado con mayor rapidez. Queda pendiente evaluar con muestras obtenidas con otros medios.

En cuanto a las pruebas de *pooling* en matriz, se pudo apreciar que realizar mezclas no afecta de forma significativa el Ct obtenido por la rt PCR. Las diferencias de Ct son bajas, y se mantiene la interpretación clínica de las mues-

**Figura 2.** Diferencia de Ct entre las muestras inactivadas con calor, sin extracción, y las muestras que pasaron por el proceso de extracción y purificación habitual.

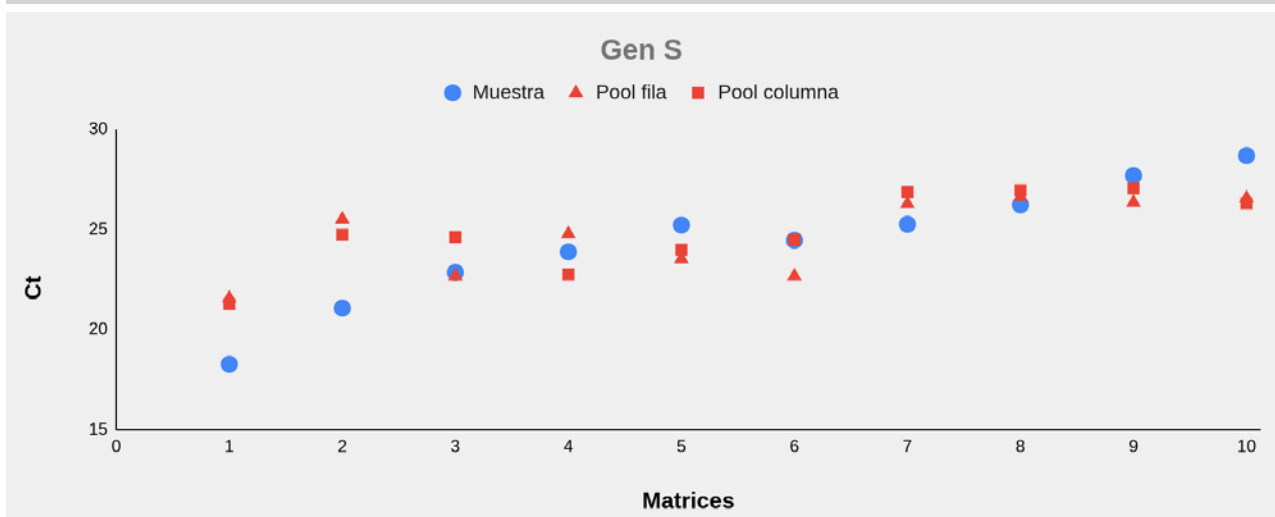
**Figura 3.** Diferencias de Ct entre muestras individuales y grupales para el gen E, para cada una de las matrices realizadas.



tras. En este caso, se probaron matrices de 25 muestras dispuestas en 5 filas por 5 columnas, realizando 10 extracciones y 10 rt PCR en lugar de las 25 que corresponden a la forma tradicional del proceso, por lo que se ahorran 15 kits de extracción y de rt PCR por cada 25 muestras procesadas. Lo destacable de esta forma de agrupar las muestras, en comparación con el método de *pooling* tradicional, es la capacidad de detectar la muestra positiva dentro de la matriz mediante la intersección de filas y columnas positivas, sin necesidad de recurrir a realizar en un segundo paso las pruebas individuales; en esto se conserva la agilidad del proceso. Además, como cada muestra se encuentra formando parte de 2 *pools* en simultáneo, se testean 2 veces en *pools* diferentes por lo que se eleva el valor predictivo negativo de las muestras no detectables.

Como desventaja se puede considerar que esta técnica es más trabajosa que el flujo tradicional de procesamiento de muestras individuales y, por lo tanto, requiere de personal entrenado, pero, dadas las circunstancias de escasez de reactivos, el beneficio aportado se consideró mayor. Además, su más importante limitación sería la prevalencia de la infección. Ben Ami *et al*<sup>4</sup>, quienes aplican esta técnica, desarrollaron un programa estadístico para evaluar la forma más eficiente de realizar *pooling*, y determinaron que es conveniente emplearlo cuando la prevalencia no es mayor que el 10 %, a diferencia del *boiling*, que es preferible en prevalencias más altas. Su limitación se debe a la forma de detección de los positivos, por intersección de filas y columnas positivas dentro de la matriz, ya que, ante una prevalencia mayor de la infección, con varias muestras

**Figura 4.** Diferencias de Ct entre muestras individuales y grupales para el gen S, para cada una de las matrices realizadas.



positivas por matriz, las intersecciones de filas y columnas positivas serían demasiadas, y, en ese caso, se deberían testear algunas muestras de forma individual, agregando pasos al proceso y perdiendo agilidad. Por este motivo, se considera que es un método que podría potencialmente aplicarse a poblaciones puntuales de pacientes donde la prevalencia se mantiene baja como en la población asintomática. Lohse *et al.* y Shental *et al.*<sup>5,6</sup> también demuestran que en estas poblaciones la realización de *pools* no altera el resultado de las muestras individuales. Dentro de este grupo, se podrían considerar como casos a individuos con contacto estrecho con pacientes positivos confirmados, viajeros, y como controles, a personal de salud asintomático dentro del lugar de trabajo, pacientes prequirúrgicos y muestras recibidas en etapas de pospandemia, con prevalencia de la infección baja.

La evaluación de los métodos estudiados presentó resultados que se consideraron aceptables y abrieron la posibilidad entonces de ahorrar en recursos tanto de extracción como de rt PCR, lo cual responde a las necesidades que surgieron durante la época de pandemia.

### Agradecimientos

Agradecemos al personal del laboratorio de Virología por su colaboración en la realización de este trabajo.

### Conflicto de intereses

Los autores declaran no poseer conflictos de interés público.

### Referencias bibliográficas

1. Merindol N, Pépin G, Marchand C, Rheault M, Peterson C, Poirier A et al. SARS-CoV-2 detection by direct rRT-PCR without RNA extraction. *J Clin Virol* 2020;128:104423.
2. Morecchiato F, Coppi M, Baccani I, Maggini N, Ciccone N, Antonelli A, et al Evaluation of extraction-free RT-PCR methods for faster and cheaper detection of SARS-CoV-2 using two commercial systems. *El sevier* 2021;112:264-268.
3. Perez V, Blohem Pessoa W, Andrade Galvão B, Soares Sousa E, Dejani N, Campana E, et al Evaluation of alternative RNA extraction methods for detection of SARS-CoV-2 in nasopharyngeal samples using the recommended CDC primer-probe set. *Elsevier* 2021;1(3):100032.
4. Ben Ami R, Klochendler A, Seidel M, Sido T, Gurel-Gurevich O, Yassour M et al Large scale implementation of pooled RNA extraction and RT-PCR for SARS-CoV-2. *Clin Microbiol Infect* 2020;26(9):1248-1253.
5. Lohse S, Pfulhl T, Berkó-Göttel B, Geibler T, Gartner B, Smola S et al. Pooling of samples for testing for SARS-CoV-2 in asymptomatic people. *Lancet Infect Dis* 2020;20(11):1231-1232.
6. Shental N, Levvy S, Wuvshet V, Skorniakov S, Shalem B, Ottolengui A et al. Efficient high-throughput SARS-CoV-2 testing to detect asymptomatic carriers. *Sci Adv* 2020;6(37):eabc5961.

## ARTÍCULO ORIGINAL

# Actividad de la creatinfosfoquinasa isoenzima MB, un parámetro intrascendente a la hora de evaluar un infarto de miocardio en el servicio de Urgencias

*Activity of the creatine phosphokinase isoenzyme MB, an insignificant parameter when evaluating an acute coronary syndrome in the emergency department.*

Seicht, Luis Eduardo<sup>1\*</sup>; Malarczuk, Elba Cristina<sup>1-2</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Agudos, Departamento de Emergencia, Hospital Escuela de Agudos Dr. Ramón Madariaga. Posadas, Misiones, Argentina.

<sup>2</sup>Departamento de Bioquímica Clínica, Universidad Nacional de Misiones. Posadas, Misiones, Argentina.

\*Contacto: Seicht, Luis Eduardo. Laboratorio de Agudos, Departamento de Emergencia, Hospital Escuela de Agudos Dr. Ramón Madariaga, Domingo Cabred 3300, Posadas, Misiones; seichtluis1989@gmail.com

## Resumen

**Introducción:** La isoenzima MB de la creatinfosfoquinasa (CK-MB) fue utilizada como marcador de infarto de miocardio (IM) durante varias décadas. En la actualidad, se recomienda su utilización únicamente en los casos en los que el laboratorio no disponga de troponina, ya que no aporta información adicional y genera costos innecesarios. **Objetivos:** Evaluar la sensibilidad (S), especificidad (E), valor predictivo positivo (VPP) y valor predictivo negativo (VPN) de la troponina I de alta sensibilidad (hs-cTnI) y de la actividad de la CK-MB en pacientes con sospecha de IM y en una subpoblación de pacientes con valores normales de hs-cTnI. **Materiales y métodos:** Se estudiaron retrospectivamente 230 pacientes atendidos en el Servicio de Urgencias del Hospital Escuela de Agudos Dr. Ramón Madariaga, con solicitudes de hs-cTnI, con o sin el agregado de CK-MB durante el mes de julio de 2021. **Resultados:** La media de edad fue de 54 años (24 - 84 IC: 95%); según el sexo, 120 fueron hombres (52 %) y 110, mujeres (48%). Del total, 21 pacientes (9,1 %) fueron diagnosticados con IM. Los valores de S, E, VPP, y VVN para la hs-cTnI fueron de 95,4 %, 86,5 %, 42,8 % y 99,4 %, respectivamente; para la actividad de la CK-MB, fueron de 70,5 %, 64,2 %, 17,9 % y 95,1 %, respectivamente, para la población general, y de 0 %, 71 %, 0 % y 98,7 %, para la subpoblación con hs-cTnI normal. **Conclusión:** La actividad de la CK-MB no aporta más información a la ya provista por la troponina y tiene S y VPP nulos cuando están asociados a valores de hs-cTnI normales.

**Palabras clave:** infarto de miocardio, troponina, creatinfosfoquinasa MB.

## Abstract

**Introduction:** Creatine phosphokinase MB isoenzyme (CK-MB) has been used as a marker of myocardial infarction (MI) for several decades. Its use is currently recommended only in cases where the laboratory does not have troponin, since it does not provide additional information and generates unnecessary costs. **Objectives:** To evaluate the Sensitivity (S), Specificity (E), Positive Predictive Value (PPV), and Negative Predictive Value (NPV) of high-sensitivity troponin I (hs-cTnI) and CK-MB activity in patients with suspected MI and a subpopulation of patients with normal hs-cTnI values. **Materials and methods:** A total of 230 patients attended in an Emergency Department with requests for hs-cTnI with or without the addition of CK-MB during July 2021 were retrospectively studied. **Results:** The mean age was 54 years (24 - 84 CI: 95%), and 120 were men (52%) and 110 women (48%). Of the total, 21 patients (9.1%) were diagnosed with MI. The values of S, E, PPV, and NPV for hs-cTnI were 95.4%, 86.5%, 42.8%, and 99.4%, respectively, whereas the values for CK-MB activity were 70.5%, 64.2%, 17.9% and 95.1% respectively for the general population, and 0%, 71%, 0% and 98.7% for the subpopulation with normal hs-cTnI. **Conclusion:** CK-MB activity does not provide more information than that already provided by troponin and has zero S and VPP when associated with normal hs-cTnI values.

**Keywords:** myocardial infarction, troponin, creatine phosphokinase MB.

## Introducción

Se denomina *síndrome coronario agudo* (SCA) al conjunto de signos y síntomas compatibles con isquemia miocárdica aguda. “Engloba al infarto de miocardio (IM), con y sin supradesnivel del segmento ST, con y sin onda Q, y a la angina inestable (AI)”.<sup>1</sup>

El *Consenso sobre la Cuarta Definición Universal de Infarto* (2018) enfatiza el uso y beneficios de la troponina cardíaca (cTn) y, sobre todo, el de la troponina cardíaca de alta sensibilidad (hs-cTn) en la evaluación de pacientes con sospecha de IM. La International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (IFCC) define la hs-cTn como aquella que posee una imprecisión menor que el 10% del coeficiente de variación (CV) en el percentil 99 del límite superior de referencia (LSR) y que, además, es capaz de medir concentraciones del biomarcador por encima del límite de detección, en más del 50 % de los sujetos sanos.<sup>2</sup>

La cTn es actualmente el elemento fundamental sobre el cual se basan las definiciones de “daño miocárdico” e “infarto de miocardio”. El primero está definido como la elevación de la cTn con al menos un valor por encima del LSR del percentil 99, mientras que el segundo se define como un daño miocárdico al que se suma clínica evidente de isquemia. De acuerdo con la clasificación vigente de IM (tipo 1 a tipo 5), basada en diferencias fisiopatológicas, clínicas y pronósticas, los criterios diagnósticos pueden variar.<sup>3</sup>

La troponina I de alta sensibilidad (hs-cTnI) es ampliamente utilizada en los laboratorios de Urgencias. Su principal ventaja, respecto de los métodos convencionales, es la capacidad de medir pequeñas variaciones de concentración que permiten detectar valores del analito más pequeños que los hallados por otros métodos. Esto hizo posible que se planteen nuevos algoritmos diagnósticos que acorten los tiempos de confirmación o exclusión de IM en el Servicio de Urgencias (*rule-in* y *rule-out*).<sup>4,5</sup>

El aumento de este biomarcador en sangre no confirma la fisiopatología involucrada en el daño miocárdico, por lo que hay que tener en cuenta que puede elevarse en distintas situaciones clínicas. Por este motivo, para el diagnóstico de IM, es menester constatar el ascenso y/o descenso de los valores de hs-cTnI con pruebas seriadas.<sup>6</sup>

La isoenzima MB de la CK (CK-MB) es utilizada como marcador de injuria miocárdica desde hace más de cuatro décadas. Sin embargo, debido a sus desventajas analíticas y su escaso valor diagnóstico, en la actualidad, solamente se recomienda su utilización en los casos en los que el laboratorio no disponga de cTn, ya que no aporta información adicional, puede generar confusión y aumentar los costos.<sup>7</sup>

Una importante limitación, que se presenta al evaluar la actividad enzimática de la CK-MB, son las interferencias metodológicas, inherentes a la muestra o al paciente, que pueden provocar falsos aumentos de la misma. La presencia de macroquinasas o quinasas inespecíficas, por ejemplo, al inducir este falso incremento puede producir valores de CK-MB compatibles con un IM en pacientes no afectados por este.<sup>8</sup>

Una forma de mejorar la cardioespecificidad es expresar los resultados como cociente sobre la actividad total de la CK circulante. De esta manera, un valor plasmático que sobrepase la proporción de CK-MB habitualmente hallada en el músculo esquelético puede considerarse como indicativo de liberación de la isoenzima desde el miocardio. No obstante, la razón CK-MB/CK total también dista de ofrecer una combinación sensibilidad-especificidad aceptable para el diagnóstico de IM, ya que la influencia del interferente sigue estando presente y pueden generarse resultados erróneos y confusos. La mayor parte de estos problemas metodológicos han sido resueltos por la medición de la concentración de la CK-MB en términos de masa. Sin embargo, con el advenimiento de las troponinas se logró alcanzar un mayor rendimiento diagnóstico, al punto de considerarse que la adición de otro biomarcador no aportaría mayor información de relevancia a la hora de evaluar un paciente con SCA.<sup>9</sup> A pesar de ello, la CK-MB sigue siendo frecuentemente solicitada en los servicios de Urgencias junto con la hs-cTnI, lo que podría considerarse un gasto y un consumo de recursos innecesarios.

Los objetivos de este estudio fueron: 1) Evaluar la sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo de la hs-cTnI en pacientes atendidos en el Servicio de Urgencias del Hospital Escuela de Agudos Dr. Ramón Madariaga, con sospecha de IM, durante el mes de julio de 2021; 2) Evaluar la S, E, VPP y VPN de la actividad de la CK-MB en la población descrita y en una subpoblación de pacientes cuyos valores de hs-cTnI se encontraran n por debajo del p99.

## Materiales y Métodos

### Diseño

Se realizó un estudio observacional, descriptivo y retrospectivo.

### Población

Fueron incluidos en el estudio todos los pacientes mayores de 15 años que acudieron al Servicio de Urgencias del Hospital Escuela de Agudos Dr. Ramón Madariaga (HEADRM) de la ciudad de Posadas, Misiones, desde el 1 al 31 de julio de 2021, con signos y síntomas compatibles con SCA y a los cuales se les realizaron una o más determinaciones de laboratorio, que incluyeron hs-cTnI con o sin el agregado de actividad de la CK-MB. Fueron excluidos los pacientes sin diagnóstico definitivo debido a alta voluntaria y aquellos que fallecieron a corto plazo, sin ningún informe de laboratorio.

### Consideraciones éticas

Este trabajo cuenta con la aprobación del Comité de Ética y del Departamento de Docencia, RR. HH. e Investigación de la institución.

### Muestras biológicas

La muestra biológica utilizada fue suero. Para su obtención, se extrajeron de 2 a 3 mL de sangre periférica y

se la colocó en un tubo primario sin anticoagulante. Una vez formado el coágulo, se procedió a la centrifugación a 3000 rpm durante 10 minutos. Fueron excluidas las muestras con hemólisis. Los sueros se procesaron en el equipo integrado de Química Clínica Dimension EXL 200® de la marca SIEMENS. El control de calidad utilizado fue el *Liquichek Cardiac Markers Plus Control LT* de BIORAD en sus tres niveles: normal, patológico 1 y patológico 2.

#### Análisis de datos

Para el cálculo de S, E, VPP y VPN, se elaboraron tablas de contingencia de doble entrada, tomando como evento o enfermedad la confirmación de IM establecida por el Servicio de Cardiología del HEADRM.

Para evaluar la hs-cTnI, se consideró como test positivo un valor por encima del LSR (62 ng/dL). Para analizar la actividad de la CK-MB, se consideró como prueba positiva un valor por encima del LSR (25 U/L).

El procesamiento de los datos y el cálculo de los parámetros estadísticos como *media*, *rango* y *desvío estándar* se llevó a cabo con los programas *Statgraphics Centurión* y *Microsoft Excel 2013*.

#### Resultados

Durante el mes de julio del año 2021 fueron solicitadas por el Servicio de Urgencias del HEADRM 383 determinaciones de hs-cTnI y 171 de CK-MB [actividad]. Luego de aplicar los criterios de inclusión y exclusión, se obtuvo un total de 230 pacientes con sospecha de IM como población de estudio.

La media de edad fue de 54 años (24 - 84 IC:95%), y la proporción según el sexo fue de 120 hombres (52 %) y 110 mujeres (48 %). Del total, 49 pacientes (21 %) presentaron al menos un valor de hs-cTnI por encima del LSR y 21 (9,1 %) tuvieron finalmente el diagnóstico de IM establecido por el Servicio de Cardiología.

Considerando únicamente el grupo de infartados, la media de edad fue de 59 años (41-77 IC: 95 %) y la proporción según el sexo fue: 20 % de mujeres y 80 % de hombres. En este grupo, la presentación clínica fue variable. Los individuos manifestaron de manera aislada o concomitante: dolor torácico o precordial (90 %) con o sin irradiación, disnea, tos, mareos, edemas en miembros inferiores y lipotimia, entre otros.

En la tabla I, de doble entrada, se muestran los valores para cada situación. Los valores obtenidos de S, E, VPP y VPN para la hs-cTnI y para la actividad de la CK-MB (con y sin hs-cTnI normal) se muestran en la Tabla II.

**Tabla I.** Tablas de doble entrada utilizadas para calcular sensibilidad, especificidad y valores predictivos de la troponina hs-cTnI y la actividad de la CK-MB.

		Diagnóstico de IM		
		Positivo	Negativo	Total
hs-cTnI > 62 ng/L	Positivo	21	28	49
	Negativo	1	180	181
	Total	22	208	230
		Diagnóstico de IM		
		Positivo	Negativo	Total
CK-MB > 25 U/L	Positivo	12	55	67
	Negativo	5	99	104
	Total	17	154	171
		Diagnóstico de IM		
		Positivo	Negativo	Total
CK-MB > 25 U/L y hs-cTnI ≤ 62 ng/L	Positivo	0	42	42
	Negativo	1	80	81
	Total	1	122	123

**Tabla II.** Valor diagnóstico de los biomarcadores analizados.

	hs-cTnl	CK-MB actividad	CK-MB actividad con hs-cTnl normal
S	95,4 %	70,5 %	0 %
E	86,5 %	64,2 %	71 %
VVP	42,8 %	17,9 %	0 %
VVN	99,4 %	95,1 %	98,7 %

► S, sensibilidad; E, especificidad; VPP, valor predictivo positivo; VPN, valor predictivo negativo; hs-cTnl, troponina I de alta sensibilidad; CK-MB, actividad creatinfosfoquinasa MB.

### Discusión

En este análisis, los valores de la actividad de la CK-MB asociados a valores normales de hs-cTnl presentaron un VPP nulo, lo que indica que ningún resultado elevado de la actividad de la CK-MB correspondió a algún paciente con IM y, de esta manera, se ratifica el postulado de que este biomarcador no brinda más información que la hs-cTnl. Por otro lado, cuando la hs-cTnl es normal, la CK-MB carece totalmente de la capacidad para detectar a un verdadero infartado ( $S=0\%$ ). Esto sumado a la notable susceptibilidad a las interferencias metodológicas lleva a desaconsejar el uso de la actividad de la CK-MB en la evaluación integral de un paciente con dolor torácico, apoyando lo establecido por las últimas guías y trabajos científicos.

Volz y col. estudiaron retrospectivamente pacientes con SCA atendidos en el Servicio de Urgencias de un Centro de Trauma de nivel académico, urbano (EEUU) durante un período de 12 meses, que tenían solicitud de troponina T cardíaca (Roche) y CK-MB. Se encontraron 11092 pacientes a los que se les solicitó al menos una troponina. La mayoría de las muestras (97,9 %) tenían un pedido de CK-MB asociado. Hubo 7545 troponinas normales iniciales (68 %) y 11 de ellas tenían una CK-MB elevada asociada. Los médicos tratantes consideraron que ninguno de esos 11 pacientes había tenido un IM. De esta manera, el valor predictivo positivo para la CK-MB asociada a una troponina normal fue del 0 % (intervalo de confianza del 99 %). Los autores concluyen que la CK-MB no es necesaria en el cribado inicial de IM y puede omitirse con seguridad en pacientes con troponinas normales.<sup>10</sup>

Por su parte, Singh y col. evaluaron la utilidad clínica de CK-MB y determinaron su demanda anual. Se examinó el número de pruebas de CK-MB solicitadas entre los años 2007 y 2013, mientras se iba desaconsejando y eliminando progresivamente del panel de SCA y, posteriormente, del panel general. Como resultado, se obtuvo una reducción de alrededor de 12000 a 150 pruebas de CK-MB por año. A partir de los registros de 171 pacientes, durante un período de 28 meses, CK-MB contribuyó al diagnóstico de uno solo de ellos, aunque no fue imprescindible. Singh concluye así que las determinaciones de CK-MB no agregan valor informativo al ya disponible con el ensayo de cTn y pueden ser elimina-

das de forma segura de los perfiles de laboratorio.<sup>11</sup>

Siguiendo la misma línea, Le y col. estudiaron el impacto clínico y financiero que conllevaba eliminar la CK-MB del menú de pruebas del Departamento de Emergencias en un centro médico académico (EEUU). La CK-MB se eliminó de las plantillas de solicitud del Servicio de Urgencias y de las solicitudes de laboratorio, aunque la prueba aún podía solicitarse manualmente. Se recabaron datos de CK, CK-MB y troponina T (TnT) solicitadas durante un período de 12 meses (6 meses antes de la intervención y 6 meses después de la intervención) y se obtuvo una población de 6444 pacientes. Todas las muestras con TnT normal, CK-MB elevada e índice CK-MB elevado fueron consideradas discrepantes y revisadas de forma independiente por 2 médicos de Urgencias. Del total de pacientes, solo 17 fueron discrepantes, y de ellos, ninguno fue diagnosticado con SCA. Luego de eliminar la CK-MB, las pruebas se redujeron un 80 %, lo que se tradujo en un ahorro anual de costos considerable. Así concluyeron que la CK-MB puede eliminarse del menú de pruebas en el Servicio de Urgencias sin afectar negativamente la atención del paciente, al mismo tiempo que se logran ahorros sustanciales de costos de reactivos.<sup>12</sup>

Por otro lado, el desempeño de la hs-cTnl fue el esperado. Una sensibilidad elevada junto con un VPN superior al 99 % le permite al profesional médico disponer de una herramienta útil al momento de decidir la hospitalización o no de un paciente.

La hs-cTnl, junto con el electrocardiograma y demás estudios complementarios, constituye uno de los pilares fundamentales a la hora de evaluar un SCA en el Servicio de Urgencias.

### Agradecimientos

A la Bioq. María Victoria Burzminski, por su contribución en la recopilación de datos y sugerencias. A la Bioq. Susana Castillo, Bioq. Carolina Zacharzewski y Bioq. Gustavo Silva por sus valiosos aportes y recomendaciones durante la elaboración de este trabajo. A la Bioq. Ana Almada por su colaboración y apoyo incondicional.

### Conflictos de interés

Los autores declaran no poseer conflictos de interés.

## Referencias bibliográficas

1. Sociedad Argentina de Cardiología. Consenso para el manejo de pacientes con síndrome coronario agudo sin supradesnivel del segmento ST (angina inestable e infarto de miocardio sin elevación del st). *Rev Argent Cardiol* 2014;82(1): 1-44.
2. Apple FS, Jaffe AS, Collinson P, Mockel M, Ordonez-Llanos J, Lindahl B, et al. IFCC educational materials on selected analytical and clinical applications of high sensitivity cardiac troponin assays. *ClinBiochem* 2015; 48:201-3.
3. Thygesen K, Alpert JS, Jaffe AS, Chaitman BR, Bax JJ, Morrow DA et al. Fourth universal definition of myocardial infarction (2018). *European heart journal* 2019; 40(3): 237-69.
4. Sanchis J, Alquézar-Arbé A, Ordóñez-Llanos J, Bardají A. La troponina cardíaca de alta sensibilidad en la evaluación del paciente con sospecha de SCA: ¿verdadera o falsa amiga? *Rev Esp Cardiol* 2019; 72(6): 445-8.
5. Jaffe AS, Ordonez-Llanos J. Troponina cardíaca ultrasensible: de la teoría a la práctica clínica. *Rev Esp Cardiol* 2013; 66(9): 687-91.
6. Bono JOE, Barcudi R, Sarmiento PE. Utilidad de las troponinas para el manejo del paciente crítico con enfermedad no cardíaca en la Unidad de Cuidados Intensivos.: Revisión narrativa. *Rev Arg de Ter Int.* 2020;37(3): 43-57.
7. Ramos H, Bono J, Macín S, Muntaner J, Zapata G, Zoni R, et al. Documento de consenso sobre el uso de Troponinas cardíacas en pacientes con dolor torácico agudo del Comité de Cardiopatía Isquémica de la Federación Argentina de Cardiología. *Rev Fed Arg Cardiol* 2020; 49: 04-23.
8. Calmarza P, Vazquez Gil J. Sobrestimación de la CK-MB obtenida por inmunoinhibición debido a la presencia de Macro-CK tipo I. *Rev Electron Biomed [Internet]*. 2004 [citado 6 Jun 2022]; 1:63-7. Disponible en: <https://biomed.uninet.edu/2004/n1/calmarza.html>
9. Santaló M, Guindo J, Ordoñez J. 2003. Marcadores biológicos de necrosis miocárdica. *Rev. Esp Cardiol* 2003; 56(7): 703-20.
10. Volz KA, McGillicuddy DC, Horowitz GL, Sanchez LD. Creatine kinase-MB does not add additional benefit to a negative troponin in the evaluation of chest pain. *Am J Emerg Med* 2012;30(1): 188-90.
11. Singh G, Baweja PS. Creatine kinase-MB: The Journey to Obsolescence. *Am J Clin Pathol* 2014; 141(3): 415-9.
12. Le RD, Kosowsky JM, Landman AB, Bixho I, Melanson S, Tanasijevic MJ. Clinical and financial impact of removing creatine kinase-MB from the routine testing menu in the emergency setting. *Am J Emerg Med* 2015; 33(1):72-75.

## REVISIÓN

# Biomarcadores en el enfoque de fenotipos de sepsis pediátrica. Aportes desde el laboratorio de urgencias

## *Biomarkers in the pediatric sepsis phenotype approach. Contributions from the emergency laboratory*

Capecce, Fabrina<sup>1</sup>; Ludueña, Marcia<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Servicio de Urgencias, Laboratorio de Urgencias y Emergencias, Hospital General de Niños Pedro Elizalde. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

<sup>2</sup>Servicio de Urgencias, Unidad de Terapia Intensiva, Hospital Médico Policial Churrucá - Visca. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

\*Contacto: Capecce, Fabrina. Hospital Elizalde, Av. Montes de Oca 40 [C1270], Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina; fabrinacapecce@gmail.com.

### Resumen

**Introducción:** Si bien los biomarcadores de laboratorio tradicionales y los criterios clínicos son utilizados en diagnóstico, seguimiento y monitoreo de la sepsis, ninguno individualmente es suficiente. Surge un nuevo enfoque de fenotipos de sepsis para estratificar subgrupos de pacientes que podrían responder mejor a los tratamientos y mejorar la mortalidad. **Objetivo:** Describir y analizar los biomarcadores en el contexto del nuevo enfoque de fenotipos de sepsis y reflexionar sobre la contribución del laboratorio de urgencias. **Materiales y métodos:** Se realizó una revisión bibliográfica en las bases de datos MEDLINE y LILACS con términos MeSH "pediatric" "sepsis" "phenotypes" y filtros "in the last 5 years" y "birth-18 years". Se adicionó una búsqueda con menor especificidad usando "pediatric" AND "sepsis". **Desarrollo:** La sepsis es una entidad clínica aún en debate, pero con cierto consenso respecto de criterios en pediatría. Ciertos marcadores de interés en la sepsis como el lactato, la procalcitonina, la proteína C reactiva han mostrado utilidad en pediatría para: detección temprana y diferenciación de otras condiciones inflamatorias, guiar el tratamiento y evaluar gravedad y predecir mortalidad. Sin embargo, la sepsis es un síndrome heterogéneo y los marcadores tradicionales no han sido tan fiables; por esto, el desarrollo de nuevas terapias específicas requiere centrarse en subconjuntos de pacientes. Se pueden clasificar tres fenotipos principales: inflamatorio (respuesta inflamatoria exagerada y aumento de citoquinas proinflamatorias), de inmunosupresión (respuesta inmunitaria disminuida y aumento en la producción de citoquinas antiinflamatorias) y de coagulación (activación exagerada del sistema de coagulación y formación de microtrombos). El laboratorio de urgencias desempeña un papel importante en la identificación etiológica de los agentes infecciosos, pruebas de sensibilidad antibiótica y medición de biomarcadores y contribuye al manejo efectivo de la sepsis.

**Palabras clave:** pediátrico, sepsis, fenotipos, laboratorio, biomarcadores.

### Abstract

**Introduction:** Although traditional laboratory biomarkers and clinical criteria are used in the diagnosis, follow-up and monitoring of sepsis, none is sufficient individually. A new pediatric sepsis phenotype approach has emerged to stratify subgroups of patients who could respond better to therapies and thus reduce mortality. **Objective:** To describe and analyze biomarkers in the context of the new pediatric sepsis phenotype approach, and reflect on the contribution from the emergency laboratory. **Materials and methods:** A bibliographic review was carried out using the MEDLINE and LILACS databases with the MeSH terms "pediatric", "sepsis" and "phenotypes", and filters "in the last 5 years" and "birth-18 years". A search with less specificity was added using "pediatric" AND "sepsis". **Development:** Sepsis is a clinical entity still under debate, with a consensus regarding pediatric criteria. Certain sepsis markers of interest such as lactate, procalcitonin, and C-reactive protein have shown utility in pediatrics for early detection and differentiation of other inflammatory conditions and to guide treatment and assess severity, and predict mortality. However, sepsis is a heterogeneous syndrome and traditional markers have not been as reliable, and the development of new targeted therapies requires targeting subsets of patients. There are three main phenotypes: inflammatory (exaggerated inflammatory response and increased proinflammatory cytokines), immunosuppressive (decreased immune response and increased production of anti-inflammatory cytokines), and coagulation (exaggerated activation of the coagulation system and formation of microthrombi). The emergency laboratory plays an important role in the etiological identification of infectious agents, antibiotic susceptibility testing and measurement of biomarkers, and contributes to the effective management of sepsis.

**Key words:** pediatric, sepsis, phenotypes, laboratory, biomarkers

## Introducción

La sepsis es una de las principales causas de muerte e ingreso de individuos en las unidades de cuidado intensivo (UCI), con una media global recientemente estimada en 49 millones de casos anuales y una elevada mortalidad (30 - 40 %).<sup>1</sup> Por este motivo continúa siendo una prioridad en la salud pública. Representa la principal causa de muerte en los niños fallecidos en UCI pediátricas del mundo. En Argentina, un estudio multicéntrico epidemiológico realizado con 2559 pacientes de 59 UCI pediátricas reportó una frecuencia de sepsis grave del 13,8 %<sup>2</sup>, lo que muestra que también es una de las primeras causas de muerte en UCI.

La mayoría de los niños que mueren de sepsis desarrolla insuficiencia orgánica múltiple (IOM), dado que el tratamiento está dirigido a eliminar el foco de infección y dar soporte a los órganos en forma precoz, sin abordar en profundidad la fisiopatología de la inflamación.<sup>3</sup>

En la actualidad, las definiciones pediátricas de la sepsis continúan en discusión y no están completamente estandarizadas, como ocurre en la población adulta en la actualización del año 2016 del *Tercer Documento Internacional de Consenso (Sepsis-3)*.<sup>4</sup>

Los biomarcadores biológicos de laboratorio tradicionales y los criterios clínicos son utilizados en el diagnóstico y seguimiento de la sepsis para evaluar el pronóstico del paciente y para monitorear el tratamiento. Un aspecto importante es la identificación del agente etiológico que produce la infección. El cultivo y aislamiento microbiológicos continúan siendo el diagnóstico de referencia, con algunas desventajas como el tiempo en la obtención de los resultados, en especial en infecciones por gérmenes resistentes u hongos, que retrasa el inicio del tratamiento o la rotación del antibiótico.<sup>5</sup>

En los últimos años, este paradigma ha cambiado debido a que se demostró cómo la respuesta inmunitaria del paciente séptico tiene un papel clave en el desarrollo de la enfermedad, independientemente del agente causal, lo que demuestra la necesidad de repensar el abordaje de estos pacientes.

Ciertos marcadores han sido de particular interés en la sepsis como el lactato, la procalcitonina (PCT) y la proteína C reactiva (PCR). La PCT ha mostrado utilidad para el diagnóstico de sepsis en pacientes pediátricos<sup>3</sup>, para la detección temprana y diferenciación de otras condiciones inflamatorias; para guiar el tratamiento antibiótico<sup>6</sup> y para evaluar gravedad y predecir mortalidad. La PCR se asoció a funciones similares a la PCT, pero se eleva más tardíamente y es considerada menos específica para el diagnóstico de sepsis.<sup>7</sup>

El lactato es un marcador de la función y metabolismo celular, y su elevación es indicador de hipoperfusión tisular sistémica e indica gravedad de la sepsis. Sin embargo, su uso individual ha perdido peso y se recomienda combinarlo con otros marcadores de hipoperfusión para guiar las primeras horas de reanimación.<sup>8</sup> Otros marcadores que pronostican una mayor mortalidad en la sepsis incluyen la hemoglobina libre de células plasmáticas, la interleuquina (IL) 8 y la angiopoietina 1 y 2.<sup>9</sup>

Existen otros marcadores emergentes como la presepsina, el receptor desencadenante soluble expresado en las células mieloides 1 (TREM-1), la proadrenomodulina (ProADM), el receptor de activación del plasminógeno tipo uroquinasa (uPAR), entre otros, pero es importante destacar que un aspecto limitante puede ser la baja disponibilidad de estas determinaciones en los laboratorios de urgencias, especialmente en nuestro medio.

Ningún biomarcador, de forma individual, es suficiente para el diagnóstico preciso de sepsis; además, sus niveles pueden variar en función de la etapa y la gravedad de la sepsis, de la enfermedad de base, la edad y el estado clínico del paciente.

En este contexto, se propone un análisis basado en un enfoque combinado de marcadores tradicionales, sumado a nuevos y más variados biomarcadores que permitan estratificar a los pacientes sépticos en diversos subtipos o fenotipos con características observables y mecanismos fisiopatológicos comunes, de hiperinflamación e inmunosupresión, incluyendo aquellos que pueden desarrollar una inmunoparálisis.<sup>10</sup>

El enfoque de fenotipos de sepsis es un área de investigación activa y prometedora, ya que, combinando mayor cantidad de biomarcadores de laboratorio y criterios clínicos, se podrían identificar de manera más eficiente subgrupos de pacientes a través de fenotipos, en grupos más homogéneos y específicos, con características clínicas y biológicas comunes, que podrían responder mejor a las decisiones diagnósticas y terapéuticas.<sup>9</sup> A su vez, estos fenotipos predicen respuestas diferenciales a las terapias y varían en la mortalidad en análisis retrospectivos de ensayos clínicos en síndrome de dificultad respiratoria aguda (SDRA) y sepsis, hallazgos que necesitan ser validados en estudios longitudinales prospectivos.<sup>9</sup>

Este nuevo enfoque contrasta con el uso de definiciones amplias de consenso de los síndromes en cuidados intensivos, basadas en criterios clínicos estandarizados, y persigue el objetivo de establecer pautas específicas de resucitación, a la vez que guiar el tratamiento en forma más individualizada y específica en los pacientes.<sup>11</sup>

El pronóstico de la sepsis depende de la celeridad en su sospecha diagnóstica y del inicio del tratamiento oportuno. Por ello, el uso sistemático de un conjunto de medidas de reconocimiento y tratamiento precoz basadas en signos vitales, exploración física, factores de riesgo y marcadores de laboratorio puede contribuir a mejorar su desarrollo y morbimortalidad.<sup>12</sup> En este contexto de análisis, se plantean los siguientes interrogantes:

¿Qué cambios se suscitan en torno a los biomarcadores proteicos más tradicionales utilizados en sepsis en el contexto del nuevo enfoque basado en subtipos o fenotipos?

¿Cuáles es el papel del laboratorio de urgencias en la facilitación de herramientas para el nuevo enfoque de fenotipos de sepsis?

El objetivo de este estudio fue describir y analizar los biomarcadores tradicionales utilizados en sepsis en el contexto del nuevo enfoque basado en fenotipos y reflexionar sobre cómo el laboratorio de urgencias puede contribuir al nuevo enfoque.

**Tabla I.** Términos y definiciones de sepsis en pediatría.**Sepsis:**

sospecha de infección o infección confirmada + 2 de los siguientes criterios

(al menos uno debe ser T<sup>a</sup> o el recuento GB):

- T<sup>a</sup> central >38,5° o <36°
- Taquicardia >2 DS p/edad sin otras causas o inexplicada y persistente >30 min o bradicardia <p10 en niños <1 año sin otras causas o inexplicada y persistente >30 min.
- Taquipnea >2 DS o necesidad de ventilación mecánica por un proceso agudo sin otras causas.
- Leucocitosis o leucopenia p/edad (sin otras causas) o >10% formas inmaduras.

---

**Sepsis grave:** sepsis + disfunción orgánica\*

---

\***Disfunción orgánica:** disfunción cardiovascular o síndrome de distrés respiratorio agudo o ≥2 disfunciones de otros órganos:

**Disfunción cardiovascular:**

a pesar de expansión adecuada con administración de fluidos isotónicos ≥40 ml/kg en 1 h,

- PA <p5 p/edad o PAS <2 DS por debajo de lo normal p/edad, o
- necesidad de drogas vasoactivas para mantener PA en rango normal (dopamina >5 µg/kg/min o cualquier dosis de adrenalina, noradrenalina o dobutamina), o
- hipoperfusión tisular [2 de los siguientes]:
  - acidosis metabólica inexplicable (déficit de bases > -5 mEq/l)
  - incremento de lactato arterial >2 veces que el normal
  - oliguria < 0,5 ml/kg/h
  - relleno capilar alargado >5 seg
  - gradiente de TA central-periférica >3 °C

**Disfunción respiratoria:**

PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub> (PAFI) <300 sin cardiopatía cianótica o enfermedad pulmonar previas

- Si PAFI ≤200, con infiltrado bilateral, inicio agudo y no evidencia de fallo cardiaco izquierdo, sería un SDRA, o
- PaCO<sub>2</sub> >65 (o >20 mmHg sobre la PaCO<sub>2</sub> basal), o
- probada necesidad de O<sub>2</sub> o requerimiento FiO<sub>2</sub> >50% para SatO<sub>2</sub> ≥92%, o
- necesidad de ventilación mecánica invasiva o no invasiva no electiva

**Disfunción neurológica:**

score Glasgow ≤11 o cambio brusco con descenso de ≥3 puntos desde un score basal anormal

**Disfunción hematológica:**

recuento plaquetario <80000/mm<sup>3</sup> o descenso del 50% del valor previo dentro de los 3 últimos días (en pacientes crónicos hematooncológicos) o RIN >2

**Disfunción renal:**

creatinina sérica ≥2 veces que lo normal p/edad o el doble de la basal

**Disfunción hepática:**

bilirrubina total ≥4 mg/dl (no en neonatos) o ALT >2 veces más que la normal p/edad

---

**Shock séptico:** sepsis con disfunción cardiovascular

---

► Ta, temperatura corporal; GB, glóbulos blancos; DS, desvío estándar; p, percentil; PA, presión arterial; PAS presión arterial sistólica; PaO<sub>2</sub>, presión arterial de oxígeno; FiO<sub>2</sub>, fracción inspirada de oxígeno; PAFI, relación PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub>; SatO<sub>2</sub>, saturación de oxígeno; RIN, relación internacional normalizada. Adaptado de Sánchez-Díaz y col.<sup>12</sup>

## Materiales y métodos

Se realizó un estudio de revisión bibliográfica a partir de la búsqueda, selección y análisis de artículos científicos. Se realizaron búsquedas en la base de datos MEDLINE a través de su buscador PubMed y en la base Literatura Latinoamericana y del Caribe en Ciencias de la Salud (LILACS).

En el buscador PubMed, se utilizaron los términos MeSH "pediatric" "sepsis" "phenotypes" y se obtuvieron 573 resultados; se aplicaron los filtros de fecha de publicación "in the last 5 years" y edad de la población "birth-18 years" y se redujo el número a 158 resultados. Se adicionaron los filtros del diseño de estudio "Clinical trial" y se obtuvieron 6 resultados con un artículo relacionado; con metaanálisis se obtuvieron 3 resultados no relacionados, y con "Systematic Review", también se obtuvieron 3 resultados no relacionados con la temática. Se utilizó otra estrategia de búsqueda adicionando las palabras clave "immune paralysis" sin filtros adicionales y se obtuvieron 6 resultados con 2 artículos relacionados.

Se sumó una búsqueda con menor especificidad en el buscador PubMed utilizando sólo los términos "pediatric" AND "sepsis" y los filtros tipo de artículo "Meta-Analysis" y fecha de publicación "in the last 5 years", y se recuperó un artículo relacionado.

La estrategia de búsqueda en LILACS se basó en varias combinaciones de palabras clave, sin la obtención de resultados. La combinación de las palabras "sepsis y phenotypes" arrojó 22 resultados, con seis artículos relacionados, disponibles en texto completo.

También se incorporaron otros artículos de relevancia, relacionados con el tema de estudio, hallados por relación y similitud de los algoritmos de los buscadores descriptos, y otros artículos pertenecientes a diferentes grupos de investigación, instituciones de salud y entidades científicas de referencia como la Sociedad Argentina de Pediatría.

## Desarrollo

La sepsis afecta a millones de personas en todo el mundo y es una de las principales causas de morbilidad y gasto de recursos sanitarios. Su incidencia varía según los diferentes estudios, los criterios de identificación, la metodología y la población estudiada.<sup>13</sup> Según datos globales recientes, la incidencia de sepsis alcanza un punto máximo en la primera infancia con un segundo pico de incidencia entre los adultos mayores.<sup>1</sup>

La situación epidemiológica de la sepsis se encuentra en constante cambio. Se observa que están disminuyendo las sepsis adquiridas de la comunidad en pacientes sanos, producidas por microorganismos incluidos en el calendario de vacunación, y se encuentran en aumento en pacientes hospitalizados con comorbilidades, inmunosuprimidos y con enfermedades de base<sup>12</sup>, lo que dificulta los esquemas de tratamiento antibiótico empírico inicial y evidencia una necesidad de individualizarlos y adaptarlos a cada situación particular.

En niños, los estudios epidemiológicos para estimar con certeza el impacto de la sepsis son escasos, sin embargo, se estima una incidencia de 22 - 60 sepsis/100000 niños, que aumenta en menores de un año a 500 - 900/100000, con una mortalidad hospitalaria global que oscila entre un 1 y 7 %, y, en UCI pediátrica, entre 8 y 23 %.<sup>14</sup>

En un estudio multicéntrico epidemiológico en Argentina, se estudiaron 2559 pacientes de 59 UCIs pediátricas y se reportó una frecuencia de sepsis grave del 13,8 %.<sup>2</sup>

Si bien la sepsis es una entidad clínica que aún se encuentra en debate, se ha llegado a un consenso respecto de algunos criterios para su uso en pediatría.

Los primeros enfoques de la sepsis basados en el SRIS<sup>15,16</sup> tenían limitaciones, dado que no necesariamente reflejaban una respuesta anómala del huésped que representara una amenaza para la supervivencia, y los criterios aparecían en otras patologías. Este síndrome definía la sepsis grave en niños como la presencia de una infección acompañada de disfunción orgánica y el shock séptico como un subtipo de sepsis que, a pesar de una adecuada expansión de volumen, presentaba hipotensión arterial o taquicardia con signos de hipoperfusión tisular. Se planteó entonces que la sepsis, la sepsis grave y el shock séptico eran estadios graduales y progresivos de una misma enfermedad.

Si bien se utilizó muchos años la definición de SRIS, fue difícil de llevar a la práctica debido a que incluía parámetros con baja especificidad para detectar infección como la temperatura, la frecuencia cardíaca (FC) y el recuento de glóbulos blancos (RGB) en sangre periférica, dado que existen diversas situaciones clínicas que causan inflamación sistémica sin la presencia de un foco infeccioso.

En el año 2001, la definición de sepsis fue revisada (Sepsis-2)<sup>16</sup> y, aunque no se modificó, se incluyeron más criterios para garantizar una identificación precoz, entre los cuales aparecen por primera vez biomarcadores, marcadores de laboratorio como la proteína C reactiva (PCR) y la PCT.<sup>17</sup>

Algunos autores plantearon la necesidad de redefinir la sepsis e incluir la evidencia de disfunción orgánica en la misma. El consenso pediátrico de la campaña *Surviving Sepsis* publicado en 2020<sup>14</sup> consideró la presencia de sepsis cuando se encuentra asociada a disfunción orgánica y de shock séptico cuando se asocia a disfunción cardiovascular, siguiendo los criterios de Goldstein del año 2005. En cuanto a la definición de disfunción orgánica, recomendó también utilizar los criterios de Goldstein 2005 (Tabla I) o el score SOFA adaptado a pediatría, en la línea con los criterios de Sepsis-3 (Tabla II).

El consenso Sepsis-3<sup>4</sup> se basa en la biofisiopatología de la sepsis, que incluye las funciones orgánicas, la biología celular, la bioquímica, la inmunología y la circulación y enfatiza lo importante del desarrollo de una respuesta no homeostática y desregulada del huésped a la infección. Esto incrementa la potencial mortalidad en los individuos, que supera considerablemente a una infección directa; por ello, la necesidad de un reconocimiento rápido y urgente.

**Tabla II.** Score SOFA (*Sequential Organ Failure Assessment*) adaptado a pediatría.

	Puntaje				
	0	1	2	3	4
Criterio respiratorio					
PAFI (mmHg)*	>400	300 - 399	200 - 299	100 - 199	<100
SaO <sub>2</sub> /FiO <sub>2</sub>	>292	264 - 291	221 - 264	220 - 148**	<148**
Criterio cardiovascular					
PA (mmHg)					
<1 mes	≥46	<46			
1 - 11 m	≥55	<55			
12 - 23 m	≥60	<60			
24 - 59 m	≥62	<62			
60 - 143 m	≥65	<65			
144 - 216 m	≥67	<67			
>216 m	≥70	<70			
Drogas (ug/kg/min)			DA ≤5 dobutamina	DA = 5,1-15 A ≤0,1 NA ≤0,1	DA >15 A >0,1 NA >0,1
Criterio SNC					
Glasgow	15	13 - 14	12 - 10	9 - 6	<6
Criterio renal					
Diuresis (mL/día)				<500	<200
Creatinina (mg/dL)	<0,8	0,8 - 0,9	1,0 - 1,1	1,2 - 1,5	≥1,6
<1 mes	<0,3	0,3 - 0,4	0,5 - 0,7	0,8 - 1,1	≥1,2
1 - 11 m	<0,4	0,4 - 0,5	0,6 - 1,0	1,1 - 1,4	≥1,5
12 - 23 m	<0,6	0,6 - 0,8	0,9 - 1,5	1,6 - 2,2	≥2,3
24 - 59 m	<0,7	0,7 - 1	1,1 - 1,7	1,8 - 2,5	≥2,6
60 - 143 m	<1	1,0 - 1,6	1,7 - 2,8	2,9 - 4,1	≥4,2
144 - 216 m	<1,2	1,2 - 1,9	2,0 - 3,4	3,5 - 4,9	≥5
>216 m					
Criterio coagulación					
Plaquetas/mm <sup>3</sup>	≥150000	100000- 149000	50000 - 99000	20000- 49000	<20000
Criterio hepático					
Bilirrubina t (mg/dL)	<1,2	1,2 - 1,9	2,0 - 5,9	6,0 - 11,9	>12,0

► \*Si no se dispone de PAFI, utilizar SaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub> \*\*con soporte respiratorio. PaO<sub>2</sub>, presión arterial de oxígeno; FiO<sub>2</sub>, fracción inspirada de oxígeno; PAFI, relación PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub>; SaO<sub>2</sub>, saturación de oxígeno; PA, presión arterial; DA, dopamina; A, adrenalina; NA, noradrenalina; SNC, sistema nervioso central. Adaptado de Sánchez-Díaz y col.<sup>12</sup>

En los pacientes con sospecha de sepsis, es necesario realizar exámenes de los biomarcadores de laboratorio en relación con el objetivo buscado. Algunos de los análisis que resultan de utilidad en el paciente séptico se observan en la Tabla III.

La sepsis es un síndrome heterogéneo e impreciso que incluye múltiples fenotipos, que muestran diferentes respuestas y susceptibilidad a terapias específicas. Hasta el momento, parece que el uso de marcadores tradicionales de laboratorio no ha proporcionado una ayuda tan fiable para identificar la sepsis e incluso su gravedad, y que el desarrollo de nuevas terapias requerirá centrarse en subconjuntos de pacientes.<sup>9</sup>

Surge, entonces, el enfoque del análisis de los subtipos o fenotipos de sepsis en pediatría para identificar qué niños sépticos tendrían más probabilidades de beneficiarse al instaurarse un tratamiento u otro de manera adecuada y precoz.

En los últimos años, se ha puesto un énfasis considerable en caracterizar los fenotipos de sepsis en pacientes críticamente enfermos. Estos fenotipos podrían tener implicancias pronósticas y terapéuticas y se estudian en el contexto de la medicina de precisión en el entorno de cuidados intensivos.

La mayoría de los niños que mueren de sepsis lo hacen por el desarrollo de IOM; por ello, el tratamiento debe estar dirigido a eliminar el foco de infección y a dar soporte a los órganos desde la perspectiva de la fisiopatología de la inflamación.

La identificación y clasificación de diferentes fenotipos ha incluido enfoques basados en datos de marcadores moleculares como la expresión génica y datos clínicos de los pacientes, además del análisis de los biomarcadores más tradicionales.<sup>18</sup>

Estudios de biomarcadores en adultos con sepsis y SDRA han demostrado que la estratificación en subfenotipos específicos conduce a una identificación eficiente de los pacientes

que podrían responder mejor a las diferentes intervenciones. Sinha y col.<sup>29</sup> probaron dos subfenotipos de SDRA (hiperinflamatorio y no inflamatorio) para determinar la respuesta al tratamiento con estatinas. La mortalidad a los 60 y 90 días fue mayor en el subfenotipo hiperinflamatorio y no hubo diferencias en la respuesta al tratamiento entre los grupos.

Seymour y col.<sup>20</sup> analizaron más de 20000 adultos que cumplieron con los criterios de Sepsis-3 dentro de las 6 horas del ingreso hospitalario. Se estudiaron 27 biomarcadores séricos que reflejan la respuesta del huésped a la sepsis incluyendo los dominios de la función inflamatoria, endotelial, de coagulación y de órganos vitales (Tabla IV). Se identificaron cuatro subfenotipos de sepsis denominados  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  y  $\delta$ , que se correlacionaron con los patrones de respuesta del huésped y los resultados clínicos.

El fenotipo  $\alpha$  fue el más frecuente (33 %) e incluyó a los pacientes con menor administración de vasopresor; en el fenotipo  $\beta$ , los pacientes eran de mayor edad y presentaban mayor carga de enfermedad crónica y disfunción renal; en el  $\gamma$ , los pacientes tenían más inflamación y disfunción pulmonar y, en el fenotipo  $\delta$ , presentaban mayor disfunción hepática y shock séptico. La mortalidad a los 28 y 365 días fue mayor entre el fenotipo  $\delta$  frente a los otros 3 fenotipos ( $p < 0,001$ ). Hubo diferencias consistentes en los patrones de biomarcadores por fenotipo y, por ello, este grupo de investigación sugirió que la identificación de fenotipos de sepsis puede contribuir a comprender las distintas respuestas a los tratamientos y a diseñar nuevos ensayos clínicos.<sup>20</sup>

El desafío en pediatría es mayor debido a la escasa información disponible, sin embargo, hace algunos años existen líneas de investigación que plantean la hipótesis de tres fenotipos inflamatorios de sepsis que podrían aplicarse a pacientes pediátricos<sup>21</sup>: 1) IOM asociada a inmunoparálisis, 2) IOM asociada a trombocitopenia y 3) IOM secuencial con

**Tabla III.** Parámetros de laboratorio y exámenes complementarios en el paciente séptico.

	Abordaje inicial	En relación con la sospecha clínica
Diagnóstico clínico	HMG, PCR, PCT	
Valoración sistémica, gravedad y pronóstico	EAB, lactato, coagulación, glucemia, ionograma, calcio iónico, urea, creatinina, transaminasas, bilirrubina, ecografía, ecocardiografía, troponina, NT-ProBNP	
Evaluación del foco de infección		examen LCR, imágenes
Confirmación del agente etiológico	Hemocultivo	urocultivo, cultivo LCR, otros cultivos, técnicas moleculares

► HMG, hemograma; PCR, proteína C reactiva; PCT, procalcitonina; EAB, estado ácido base; LCR, líquido cefalorraquídeo.

disfunción hepatobiliar. En la Tabla V, se observan los criterios clínicos y biomarcadores utilizados para definir los fenotipos inflamatorios de sepsis en pediatría.

Los tres fenotipos se asociaron con una mayor inflamación y peores resultados al compararse con niños sépticos sin la identificación de estos fenotipos, pero la hipótesis debe confirmarse en otros estudios clínicos multicéntricos de pacientes pediátricos con IOM.

Los niños que presentaron el fenotipo IOM asociada a inmunoparálisis o síndrome de inmunoparálisis se caracterizaban por tener agotamiento de los órganos linfoides, una reducción prolongada de la función inmune innata y adaptativa y una respuesta disminuida del factor de necrosis tumoral alfa (TNF $\alpha$ ) a la endotoxina bacteriana, además de una expresión disminuida de HLA-DR en monocitos o linfopenia durante más de tres días. En estos pacientes, se observó que la función inmune podía restaurarse mediante la modulación inmunitaria o la disminución gradual del inmunosupresor. En este fenotipo, la hiperinflamación se relacionó con una infección persistente, una menor respuesta del TNF acompañada de una respuesta sistémica aumentada de IL-6 y IL-10.

En el fenotipo IOM asociada a trombocitopenia, se observó una reducción de la enzima ADAMTS13 que contribuye a la incapacidad para eliminar los multímeros del factor de von Willebrand, y la consecuente formación de coágulos plaquetarios y microangiopatía trombótica (MAT), que puede revertirse con terapia de recambio plasmático. La hiperinflamación en estos niños se asocia con la sobreactivación del complemento y el desarrollo de la púrpura trombocitopénica trombótica y síndrome urémico hemolítico atípico (SUHa) y con necrosis relacionada con la trombosis microvascular en la coagulación intravascular diseminada (CID). En estos casos, el tratamiento de elección sería el fármaco eculizumab, un anticuerpo dirigido contra el componente del complemento C5a, que se encuentra aprobado por la FDA para el SUHa, dado que revierte la inflamación provocada por la hipercomplementemia.

Los niños que presentan el último de los fenotipos descritos, IOM con disfunción hepatobiliar (respiratoria seguida, varios días después, por disfunción hepática), son más propensos a la disfunción de las células *natural killer* o linfocitos T citotóxicos. Las infecciones virales les causan linfoproliferación con liberación de fas ligando soluble (sFasL), hemofagocitosis y daño hepático mediado por sFasL, que puede responder a diversas estrategias de tratamiento. La hiperinflamación en estos niños puede estar relacionada con su incapacidad para responder a infecciones virales o para inducir la apoptosis de células inmunitarias activadas. Se recomienda el uso de rituximab (anticuerpo anti-CD20) para revertir la enfermedad linfoproliferativa.

La identificación de diferentes fenotipos de sepsis podría tener numerosas utilidades: por ejemplo, en el estudio de Wong y col.<sup>22</sup>, desarrollaron un modelo de riesgo de mortalidad en sepsis llamado *Pediatric Sepsis Biomarker Risk Model* (PERSEVERE), basado en cinco biomarcadores: ligando de

**Tabla IV.** Biomarcadores séricos estudiados en Seymour y col.<sup>20</sup>

Antitrombina III
Proteína C reactiva
Colágeno IV
Dímero D
Selectina E
Factores de coagulación V y IX
Moléculas de adhesión endotelial ICAM y VCAM
IL: 1b, 6, 8, 19, 12
Molécula de injuria renal 1 (KIM-1)
Inhibidor del activador del plasminógeno 1 (PAI-1)
Procalcitonina
Actividad del plasminógeno
Actividad de la proteína S y la proteína C
Protrombina
Selectina-P
Complejo trombina - antitrombina (TAT)
Inhibidor de metaloproteinasa 2 (TIMP-2)

► Adaptado de eTable2, material suplementario de Seymour y col.<sup>20</sup>

quimiocina CC3 (CCL3), IL8, proteína de choque térmico 1B (HSPA1B), granzima B (GZMB) y metalopeptidasa de matriz 8 (MMP8) y luego, PERSEVERE II donde se agregó el recuento plaquetario al ingreso como variable predictora. Se evaluó cómo varía la supervivencia de los pacientes con la medición de diferentes biomarcadores.

Wong y col propusieron que esta herramienta de estratificación de riesgo podría ser útil en el desarrollo de los ensayos clínicos. Evaluaron el rendimiento de PERSEVERE y PERSEVERE II en una cohorte heterogénea de niños con shock séptico, prospectivamente, y luego probaron la capacidad de los biomarcadores para estimar el riesgo inicial de mortalidad en un modelo murino de sepsis experimental. Observaron que la asociación entre los biomarcadores y el resultado de la sepsis se conserva en ratones. En la Figura 1, se exhiben las curvas de supervivencia a los 28 días para los grupos de riesgo alto, intermedio y bajo definidos según PERSEVERE II, y se muestra una mayor utilidad de estos para el pronóstico.

Por último, valoraron la utilidad de este modelo para probar intervenciones terapéuticas experimentales. Se evaluaron dos estrategias terapéuticas guiadas por los biomarcadores y observaron que los ratones identificados como de alto riesgo de mortalidad tenían una mayor carga bacteriana y mejoraban con dosis más altas de antibióticos. La asociación entre una mayor carga de patógenos y un mayor riesgo

de mortalidad se corroboró entre los niños gravemente enfermos con shock séptico.

Por otro lado, un grupo de investigación de la Universidad de Pittsburg estudió los diferentes fenotipos. Horvat y col.<sup>23</sup> estudiaron los niveles de PCR, ferritina y 31 citoquinas en los días 2 y 5 para identificar a los pacientes pediátricos críticamente enfermos con fenotipo de sepsis hiperinflamatorio, que podrían beneficiarse de las terapias antiinflamatorias. Se identificaron cinco grupos de niños con distintos patrones de PCR y ferritina: el grupo 1 tenía niveles normales de PCR y ferritina (n = 8; 0 % de mortalidad); el grupo 2 mostraba niveles altos de PCR que se normalizaron, con niveles normales de ferritina en todo momento (n = 80; 5 % de mortalidad); el grupo 3 solo tenía niveles altos de ferritina (n = 16; 6 % de mortalidad); el grupo 4 tenía niveles muy altos de PCR y niveles altos de ferritina (n = 121; 11 % de mortalidad) y grupo 5 tenía PCR muy alta y niveles de ferritina muy altos (n = 30; 40 % de mortalidad). Las respuestas de citoquinas difirieron entre los cinco grupos. Este grupo concluyó que los niveles de PCR y Ft pueden usarse juntos para distinguir grupos de niños con sepsis que tienen diferentes respuestas de citoquinas (inflamación sistémica) y riesgos de mortalidad. Estos datos sugieren un valor potencial futuro en ensayos clínicos personalizados con objetivos específicos para terapias antiinflamatorias.

En el año 2019, Carcillo y col.<sup>24</sup> describieron otros hallazgos interesantes, que incluyeron la evaluación de biomarcadores inespecíficos que se han utilizado durante mucho tiempo en la evaluación de pacientes sépticos como la proteína C reactiva (PCR) y la ferritina (Ft) en la evaluación de los fenotipos de sepsis. Hallaron niveles más altos de PCR y

Ft en niños con IOM asociada a cualquiera de los tres fenotipos inflamatorios, y peores resultados, en comparación con pacientes con IOM sin ningún fenotipo.

Lanziotti y col.<sup>25</sup> observaron en una cohorte prospectiva de niños sépticos que los pacientes con peores resultados tenían concentraciones más altas de PCR y mayores puntajes en los *scores* de disfunción orgánica. Por lo tanto, la PCR, un biomarcador antiguo y relativamente económico, disponible en la mayoría de los laboratorios puede representar un buen marcador de pronóstico, especialmente cuando se evalúa de manera seriada y se asocia con otros biomarcadores.

Un estudio que evaluó la *performance* pronóstica de algunos marcadores en sepsis pediátrica mostró que la Ft, el lactato y la PCR solos mostraron un buen desempeño pronóstico de mortalidad en pacientes pediátricos sépticos mayores de 6 meses (valor predictivo positivo de mortalidad del 43 %). El recuento total de leucocitos no fue útil como marcador pronóstico; además, valores más altos de Ft sérica se asociaron significativamente con resultados desfavorables.<sup>26</sup>

Lo expuesto lleva a considerar que la estratificación de los pacientes puede ser factible “al pie de la cama” y debe ser fomentada y enseñada incluso en entornos de bajos y medianos recursos. El fenotipado de los pacientes mediante el uso de biomarcadores de laboratorio nos brinda no solo un camino para futuros ensayos clínicos que sirvan para dar mayor solidez a la evidencia científica en la que se basan las prácticas clínicas, sino también la posibilidad de estratificar a los pacientes para predecir resultados e implementar un manejo clínico y un tratamiento individualizado, en un intento por mejorar los resultados en la sepsis tanto en pediatría como en la clínica de adultos.

**Tabla V.** Criterios clínicos y biomarcadores utilizados para definir fenotipos inflamatorios de sepsis en pediatría.

	Criterio clínico	Biomarcador “confirmatorio”
IOM asociada a inmunoparálisis (depresión inmunológica)	Más allá del tercer día de enfermedad crítica con IOM	Respuesta de TNF <i>ex vivo</i> en sangre total a LPS < 200 pg/mL
IOM asociada a trombocitopenia (microangiopatía trombótica)	1. Trombocitopenia nueva <100000 o recuento de plaquetas inicial <100000 o 50 % de disminución desde el recuento inicial . 2. LDH elevada >250 u/L 3. Creatinina >1 mg/dL y oliguria	Actividad de ADAMTS 13 < 57 % del control
IOM asociada a disfunción hepatobiliar	1. PaO <sub>2</sub> /FiO <sub>2</sub> <300 con necesidad de ventilación mecánica; 2. Seguida días después por disfunción hepática de nueva aparición con ALT >100u/L + bilirrubina >1 mg/dL.	sFasL >200 pg/mL

► IOM, insuficiencia orgánica múltiple; TNF, factor de necrosis tumoral; LPS, lipopolisacárido; LDH, lactato deshidrogenasa; ADAMTS 13, desintegrina y metaloproteasa con trombospondina tipo 1 motivo no. 13; PaO<sub>2</sub>, presión parcial de oxígeno; FiO<sub>2</sub>, fracción inspirada de oxígeno; ALT, alanina amino transferasa, sFasL, fas ligando soluble. Adaptado de Carcillo y col.<sup>21</sup>

## Comentarios finales

La sepsis es un síndrome que genera una gran preocupación en la salud mundial debido a su elevada morbimortalidad. Se encuentra aún en investigación debido a la gran heterogeneidad en su presentación, su variabilidad genética y las relaciones complejas que se establecen entre la respuesta inmune de los individuos y el agente etiológico causante de la infección.

El enfoque basado en biomarcadores de laboratorio y en criterios clínicos puede ser utilizado tanto por el personal de salud para hacer diagnóstico y seguimiento, para monitorear el tratamiento y para valorar el pronóstico del paciente como así también por los grupos de investigación clínica para comprender la fisiopatología de las enfermedades críticas.<sup>15</sup>

Se plantean cambios en torno al enfoque de biomarcadores proteicos más tradicionales en sepsis, dado que surge un enfoque basado en subtipos o fenotipos de sepsis, que podría ser más preciso y eficaz, ya que tiene en cuenta mayor cantidad y variedad de biomarcadores, sumado a los factores clínicos para clasificar a los pacientes en grupos más homogéneos y específicos, lo que permitiría un mejor diagnóstico, pronóstico y tratamiento de la sepsis.

Su utilidad radica en mejorar el pronóstico a través de la identificación de pacientes con mayor riesgo de un resultado de interés como la mortalidad, a través de la identificación de subgrupos de pacientes que tienen más probabilidades de responder a un tratamiento específico en función de su fenotipo clínico - biológico específico.

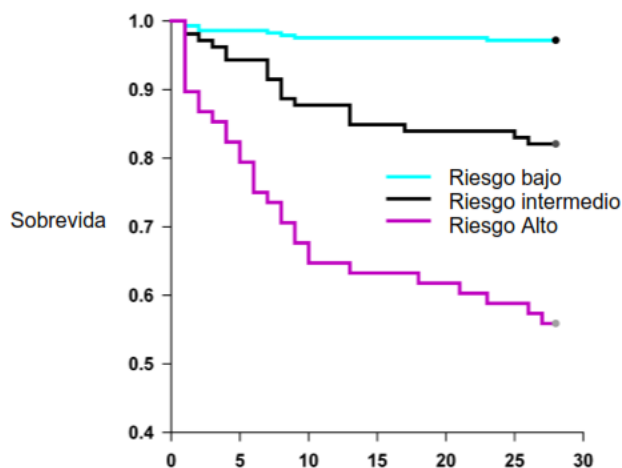
En este estudio, se han descripto varios fenotipos de sepsis que, en términos prácticos, se pueden clasificar en tres principales: inflamatorio, de inmunosupresión y de coagulación. El fenotipo inflamatorio se caracteriza por una respuesta inflamatoria exagerada y un aumento en la producción de citoquinas proinflamatorias; el de inmunosupresión, por una respuesta inmunitaria disminuida y aumento en la producción de citoquinas antiinflamatorias; y el fenotipo de coagulación se caracteriza por la activación exagerada del sistema de coagulación y la formación de microtrombos.

Respecto del papel del laboratorio de urgencias en la contribución al diagnóstico y seguimiento de la sepsis, se observa que este es crucial, ya que los biomarcadores proteicos se miden en el laboratorio a través de diversas técnicas diagnósticas, y su disponibilidad dependerá de varios factores, entre ellos, la existencia de recursos en el ámbito regional.

Además, el laboratorio de urgencias también puede desempeñar un papel importante en la identificación etiológica de los agentes infecciosos y en la realización de pruebas de sensibilidad a los antimicrobianos, lo que puede contribuir al manejo efectivo de la sepsis.

Es importante destacar que los pacientes críticos a menudo tienen condiciones comórbidas y numerosas situaciones que se superponen; son dinámicos y cambiantes;

**Figura 1.** Curvas de supervivencia a los 28 días para pacientes clasificados en tres estratos de riesgo de mortalidad basados en PERSEVERE II



► Adaptado de Wong, H y col. 2019<sup>22</sup>

además, los biomarcadores de laboratorio pueden tener una variabilidad temporal, motivo por el cual es clínicamente relevante que las pruebas de laboratorio posean un tiempo de procesamiento corto para ser utilizadas en el manejo de estos pacientes y, por lo tanto, es pertinente que se realicen en el laboratorio de urgencias. Una de las limitaciones que suelen presentarse es que algunos de los biomarcadores descriptos anteriormente en el enfoque de fenotipos de sepsis no están disponibles para informar rápidamente y guiar las decisiones clínicas o la asignación al tratamiento en la población heterogénea en estado crítico.

Aún faltan estudios más exhaustivos para confirmar la validez del enfoque de los fenotipos de sepsis en poblaciones relevantes antes de considerar su utilización regular en la práctica clínica asistencial. No obstante, no se puede descartar como una herramienta potencialmente útil en la práctica.<sup>5</sup> Por ejemplo, los fenotipos hallados hasta el momento podrían ser estudiados en detalle en ensayos clínicos controlados, para la evaluación más temprana de resultados y, a su vez, la aleatorización podría centrarse en pacientes con criterios de mayor gravedad y con peores resultados, con el objetivo de buscar beneficios mayores.

En pediatría, los desafíos en general son mayores debido a las dificultades para llevar adelante investigaciones. Antes de generar entusiasmo por investigar estos enfoques basados en la fisiopatología de la inflamación en sepsis pediátrica, los grupos de expertos mencionan la necesidad de indagar y analizar si los fenotipos estudiados en adultos están asociados con resultados adversos en niños con sepsis.<sup>21</sup> También es necesario confirmar los fenotipos descriptos y la relación con la supervivencia y mortalidad en estudios multicéntricos con mayor número de pacientes pediátricos.

## Referencias bibliográficas

- Rudd KE, Johnson SC, Agesa KM, Shackelford KA, Tsoi D, Kievlan DR et al. Global, regional, and national sepsis incidence and mortality, 1990-2017: analysis for the Global Burden of Disease Study. *Lancet* 2020; 395: 200-11.
- Jabornisky R, Sáenz SS, Capocasa P, Jaen R, et al. Estudio epidemiológico de sepsis grave pediátrica en la República Argentina. *Arch Argent Pediatr* 2019;117 Supl 3:S135-S156.
- Menon K, Schlapbach LJ, Akech S, Argent A, Biban P, Carrol ED et al. Criteria for Pediatric Sepsis - A Systematic Review and Meta-Analysis by the Pediatric Sepsis Definition Taskforce. *Crit Care Med*. 2022;50(1):21-36.
- Singer M, Deutschman CS, Warren C, Shankar-Hari M, Annane D, Bauer M, et al. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock [Sepsis-3]. *JAMA*. 2016;315:801-10.
- Molano D, Gómez M, Beltrán E, Villabón M, Robayo I, Franco F. Medicina de precisión en sepsis: utilidad de los biomarcadores en pacientes críticamente enfermos. *Repert Med Cir*. 2020;29(2):75-83.
- Schuetz P, Beishuizen A, Broyles MR, Ferrer R, Gavazzi G, Gluck EH et al. Procalcitonin [PCT]-guided antibiotic stewardship: an international experts consensus on optimized clinical use. *Clin Microbiol Infect*. 2019;25(2):163-171.
- Tan M, Lu Y, Jiang H, Zhang L. The diagnostic accuracy of procalcitonin and C-reactive protein for sepsis: A systematic review and meta-analysis. *J Cell Biochem*. 2019;120(4):5852-5859.
- Bakker J, Postelnicu R, Mukherjee V. Lactate: Where Are We Now?. *Crit Care Clin*. 2020;36(1):115-124.
- Sarma A, Ware LB, Calfee CS. Biomarkers and Precision. *Medicine: State of the Art*. *Crit Care Clin* 2020;36:155-65.
- Mithal LB, Arshad M, Swigart LR, Khanolkar A, Ahmed A, Coates BM. Mechanisms and modulation of sepsis-induced immune dysfunction in children. *Pediatr Res*. 2022;91(2):447-53.
- Kattan E, Bakker J, Estenssoro E, Ospina-Tascón GA, Biasi-Cavalcanti A, De Backer D, et al. Hemodynamic phenotype-based, capillary refill time-targeted resuscitation in early septic shock: The ANDROMEDA-SHOCK-2 Randomized Clinical Trial study protocol. *Rev Bras Ter Intensiva*. 2022;34(1):96-106.
- Sánchez-Díaz JI, de Carlos-Vicente JC, Gil-Antón J. Diagnóstico y tratamiento del shock séptico y de la sepsis asociada a disfunción orgánica. *Protoc Diagn Ter Pediatr*. 2021;1:585-610.
- Fleischmann-Struzek C, Mellhammar L, Rose N, Cassini A, Rudd KE, Schlattmann P et al. Incidence and mortality of hospital- and ICU-treated sepsis: results from an updated and expanded systematic review and meta-analysis. *Intensive Care Med*. 2020;46(8):1552-62.
- Turgman O, Schinkel M, Wiersinga WJ. Host Response Biomarkers for Sepsis in the Emergency Room. *Crit Care* 2023;27:97.
- Bone RC, Balk RA, Cerra FB, Dellinger RP, Fein MA, Knaus WA et al. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine. *Chest*. 1992;101(6):1644-55.
- Levy MM, Fink MP, Marshall JC, Abraham E, Angus D, Cook D, et al. 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. *Crit Care Med*. 2003;31:1250-56.
- García de Guadiana L, Guillén-Campuzano E. Aportación del Laboratorio Clínico para el manejo del paciente con infección/sepsis. [Internet]. 2018 Educación Continua en el Laboratorio Clínico. Disponible en: <https://www.seqc.es/download/tema/24/5614/3626021/1776667/cms/tema-8-aportacion-del-laboratorio-clinico-para-el-manejo-del-paciente-con-infeccion-sepsis.pdf>
- Sanchez-Pinto LN, Stroup EK, Pendergrast T, Pinto N, Luo Y. Derivation and Validation of Novel Phenotypes of Multiple Organ Dysfunction Syndrome in Critically Ill Children. *JAMA Network Open*. 2020;3(8):e209271.
- Sinha P, Delucchi KL, Thompson BT, et al; NHLBI ARDS Network: Latent class analysis of ARDS subphenotypes: A secondary analysis of the Statins for Acutely Injured Lungs from Sepsis (SAILS) study. *Intensive Care Med* 2018; 44:1859-69.
- Seymour CW, Kennedy JN, Wang S, et al: Derivation, validation, and potential treatment implications of novel clinical phenotypes for sepsis. *JAMA* 2019; 321:2003-17.
- Carrillo JA, Halstead ES, Hall MW, Nguyen TC, Reeder R, Aneja R, et al. Three Hypothetical Inflammation Pathobiology Phenotypes and Pediatric Sepsis-Induced Multiple Organ Failure Outcome. *Pediatr Crit Care Med*. 2017;18(6):513-523.
- Wong HR, Caldwell TJ, Cvijanovich NZ, Weiss SL, Fitzgerald JC, Bigham MT. Prospective clinical testing and experimental validation of the Pediatric Sepsis Biomarker Risk Model. *Sci. Transl. Med*. 2019;11(518):eaax9000
- Horvat CM, Fabio A, Nagin DS, Banks RK, Qin Y, Park HJ, et al. Mortality Risk in Pediatric Sepsis Based on C-reactive Protein and Ferritin Levels. *Pediatr Crit Care Med*. 2022;23(12):968-979.
- Carrillo JA, Berg RA, Wessel D, Pollack M, Meert K, Hall M, et al. A Multicenter Network Assessment of Three Inflammation Phenotypes in Pediatric Sepsis-Induced Multiple Organ Failure. *Pediatr Crit Care Med*. 2019;20(12):1137-46.
- Soares-Lanziotti V, Póvoa P, Prata-Barbosa A, Berbet-Pulcheri L, Rabello L, Lapa JR, et al. Patterns of C-reactive protein ratio response to antibiotics in pediatric sepsis: A prospective cohort study. *J Crit Care*. 2018; 44:217-222.
- Tedesco-Tonial C, Drummond-Costa CA, Hanzen-Andrades GR, Crestani F, Bruno F, Piva JP, et al. Performance of prognostic markers in pediatric sepsis. *J Pediatr (Rio J)* 2021;97(3):287-94.

# CURSOS ABA

## ASOCIACIÓN BIOQUÍMICA ARGENTINA

### CICLO LECTIVO 2023

#### PROGRAMA DE EDUCACIÓN CONTINUA

##### Informes e inscripción

Secretaría de la Asociación Bioquímica Argentina

Venezuela 1823 Piso 3 (1096) – Buenos Aires -Argentina

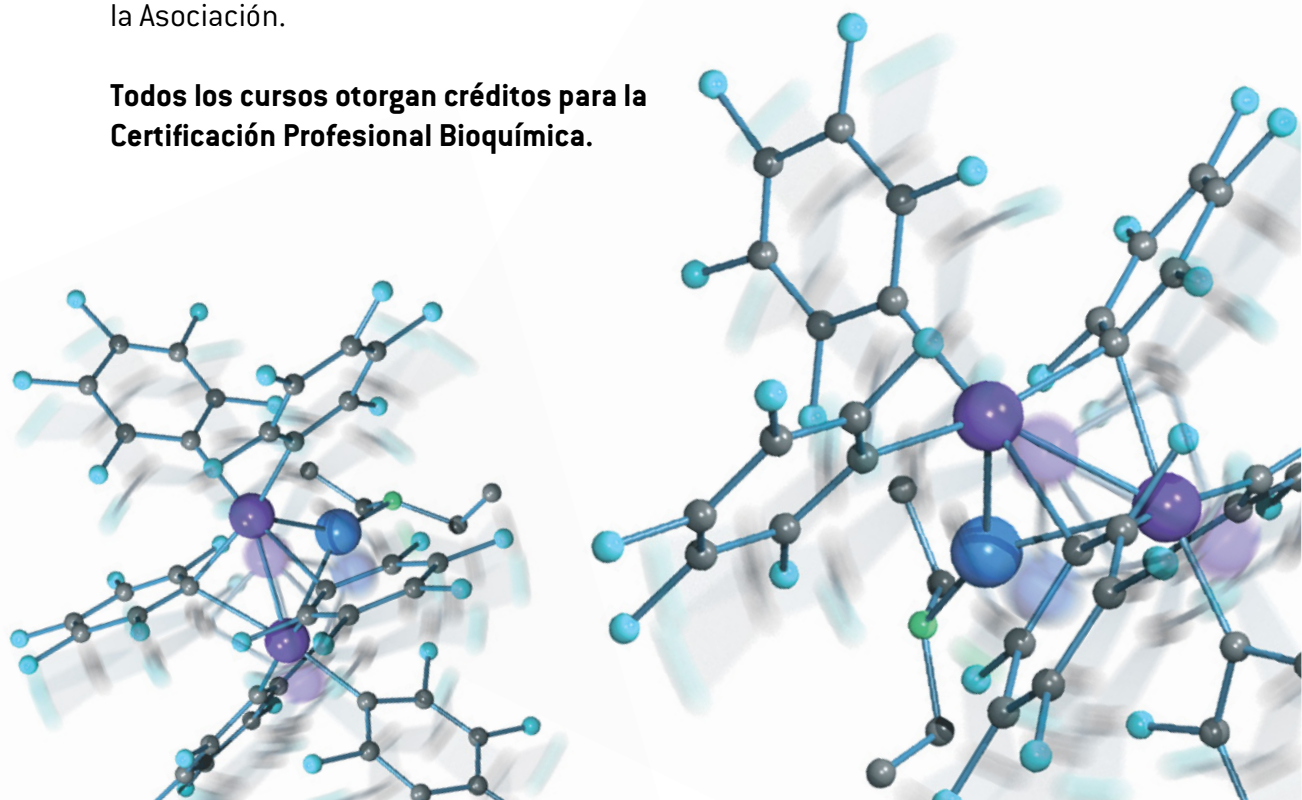
Tel: (011) 4381-2907 Telefax: (011) 4384-7415 - De 15 a 19 Hs.

**Consultas administrativas:** [cursos@aba-online.org.ar](mailto: cursos@aba-online.org.ar)

**Programas completos disponibles en:** <http://www.aba-online.org.ar/>

**Nota para no socios:** abonando la primera cuota social y adhiriendo al débito automático por tarjeta, podrá acceder a los cursos ABA como socio, recibiendo además todos los beneficios de la Asociación.

**Todos los cursos otorgan créditos para la Certificación Profesional Bioquímica.**





## PROGRAMA DE EVALUACIÓN CONTÍNUA ABA 2024

## PRIMER CUATRIMESTRE

	NOMBRE DEL CURSO	INICIO	DURACION	DIRECTOR/A
1	LA NEFROLOGÍA DESDE EL LABORATORIO Y LA CLÍNICA I: Fisiopatología renal y bioquímica de los líquidos y electrolitos	18-Mar	7 meses	Dr. Alberto Villagra
2	BIOLOGÍA MOLECULAR: APLICACIONES CLÍNICAS	18-Mar	ANUAL	Dr. Luis Bastos Dra. María de la Paz Domínguez
3	ESTADÍSTICA PRACTICA: "Herramientas básicas para la investigación clínica"	18-Mar	ANUAL	Prof. Dra. María de Luján Calcagno
4	CURSO ANUAL DE MICROBIOLOGÍA CLÍNICA	25-Mar	ANUAL	Dra. María José Rial Dr. Jaime Kovensky
5	TOPICOS DE ACTUALIZACION EN BIOQUIMICA CLINICA EN LA PRACTICA DIARIA 2024	25-Mar	ANUAL	Dra. Silvia B. González Dra. Viviana Osta
6	CONTROL DE CALIDAD INTERNO. Fundamentos y estrategias para el laboratorio clínico	25-Mar	ANUAL	Dr. César Collino y otros
7	GASES EN SANGRE, OXIMETRIA, ELECTROLITOS Y METABOLITOS	1-Apr	7 meses	Dra. Silvia Gonzalez
8	DESAFÍOS Y OPORTUNIDADES PARA OPTIMIZAR LA FASE PREANALITICA Y LA ELABORACIÓN DE INFORMES EN BIOQUÍMICA CLÍNICA (NUEVO)	1-Apr	4 meses	Prof. Dr. Fernando Brites Prof. Dr. Leonardo Gómez Rosso
9	GENÓMICA Y BIOINFORMÁTICA APLICADAS A LA MEDICINA DE PRECISIÓN	1-Apr	CUATRIMESTRAL	Dr. Martín Abba Dr. Mariano Golubicki
10	NORMAS ISO Utilidad y Aplicación para el Laboratorio Bioquímico	1-Apr	SEMESTRAL	Dr. César Collino
11	HEMOSTASIA: PRINCIPIOS BASICOS TEORICOS Y PRACTICOS	8-Apr	CUATRIMESTRAL	Dr. Ricardo Forastiero Dra. Cristina Duboscq
12	PATOLOGÍAS ENDOCRINOLÓGICAS: "El laboratorio clínico herramienta indispensable en el diagnóstico"	8-Apr	ANUAL	Dra. Patricia Otero
13	EXÁMEN DE ORINA. ASPECTOS CITOLÓGICOS Y MICROBIOLÓGICOS	8-Apr	TRIMESTRAL	Dr. Luis Palaoro
14	TOPICOS DE BIOQUÍMICA CLÍNICA Y PATOLOGÍA EN PEDIATRÍA 2024	15-Apr	ANUAL	Dra. Sandra Ayuso Dra. Viviana Osta
15	EL LABORATORIO FRENTE A LAS ENFERMEDADES CARDIOVASCULARES: evaluación de factores de riesgo lipídico, no lipídico y de marcadores del evento agudo	15-Apr	SEMESTRAL	Prof. Dr. Fernando Brites
18	EL MICROSCOPIO COMO ALIADO EN EL DIAGNOSTICO	22-Apr	SEMESTRAL	Dra. Viviana Osta Dra. María de la Paz Domínguez
19	NOMENCLATURA CITOGENÓMICA HUMANA Sistema Internacional de Nomenclatura Citogenómica Humana (ISCN 2020)	29-Apr	CUATRIMESTRAL	Dras Furforo y Rozental
20	CALIDAD EN LABORATORIOS DE GENETICA FORENSE. (NUEVO)	Abril a definir	SEMESTRAL	Dra. Claudia García Bonelli Dr. Esp. César Collino
21	CALIDAD ANALITICA: Implementación de un Sistema de Gestión de Calidad: Herramientas prácticas para el Laboratorio Bioquímico	6-May	SEMESTRAL	Dres: César Collino, César Yené, Pablo Lujan., Claudio Abiega

	NOMBRE DEL CURSO	INICIO	DURACION	DIRECTOR/A
22	HERRAMIENTAS PARA EL RECONOCIMIENTO CITOMORFOLÓGICO DE LOS LINFOCITOS EN TRASTORNOS BENIGNOS Y MALIGNOS: linfocitos reactivos o sospecha de neoplasia?	6-May	TRIMESTRAL	Dra. Claudia Ayuso
23	TOXICOLOGIA LEGAL Y FORENSE	6-May	SEMESTRAL	Dra. Adriana Ridolfi Dra. Gloria Álvarez
24	"PRIMER CURSO INTERNACIONAL: Clínica y Laboratorio de enfermedades autoinmunes". (NUEVO)	Mayo a definir	SEMESTRAL	Dr. Orlando Gabriel Carballo Dr. Carlos von Mühlen
25	ACTUALIZACION EN DIAGNÓSTICO VIRAL	13-May	CUATRIMESTRAL	Dra. María José Rial Dra. Alejandra Svartz
26	BASES MOLECULARES Y CELULARES DEL FUNCIONAMIENTO DEL SISTEMA INMUNE	13-May	SEMESTRAL	Dr. Fernando Chirido
27	DILEMAS EN LA IDENTIFICACION MORFOLÓGICA DE LAS CÉLULAS DE LA SERIE MIELOIDE EN SANGRE PERIFERICA (NUEVO)	20-May	TRIMESTRAL	Dra. Claudia Ayuso
28	INHIBIDORES ADQUIRIDOS DE LA COAGULACION	27-May	CUATRIMESTRAL	Dr. Ricardo Forastiero Dra. Cristina Duboscq
29	MEDICINA DEL DEPORTE: Relación con la bioquímica: desde el diagnóstico al tratamiento de lesiones deportiva	27-May	CUATRIMESTRAL	Dr. Christian Lassen y otros
30	CLAVES PARA LA INTERPRETACION Y VALIDACION DEL HEMOGRAMA AUTOMATIZADO. DETECCION DE INTERFERENCIAS	3-Jun	TRIMESTRAL	Dra. Viviana Osta
31	LA BIOQUÍMICA EN EL BANCO DE SANGRE	10-Jun	SEMESTRAL	Dr. Mauro Fernández Toscano
32	ROL DE LA MORFOLOGIA DE LAS CELULAS HEMATICAS EN EL LABORATORIO DE URGENCIAS	10-Jun	TRIMESTRAL	Dra. Viviana Osta
33	EVALUACIÓN DEL SEMEN HUMANO. TEÓRICO-PRÁCTICO	10-Jun	CUATRIMESTRAL	Dra. Julia Irene Ariagno Dra Chenlo
34	MICROBIOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS Y BEBIDAS. CURSO TEÓRICO-PRÁCTICO	17-Jun	TRIMESTRAL	Dra. Silvina Farrando Dra. María Laura Sánchez
35	HERRAMIENTAS BÁSICAS DE BIOLOGÍA MOLECULAR	24-Jun	CUATRIMESTRAL	Dr. Luis Bastos Dra. María de la Paz Domínguez
36	EL ROL DEL LABORATORIO EN LA SEGURIDAD DEL PACIENTE. [TOTALMENTE ACTUALIZADO]	2do cuatrimestre	CUATRIMESTRAL	Dra. Silvana Daverio Dra. Karina Fiezzoni
37	NEFROLOGÍA II. Rol del laboratorio en los criterios diagnósticos. (NUEVO)	2do cuatrimestre	TRIMESTRAL	Dr. Alberto Villagra
38	ACTUALIZACIÓN EN EL ESTUDIO DE LAS DISPROTEINEMIAS	1-Jul	SEMESTRAL	Dra. Isabel Desimone Dra. Isabel Crispiani
39	CURSO DE NEUROINMUNOLOGIA	1-Jul	CUATRIMESTRAL	Dra. Silvia G. Ramos Dr. Andres Villa Gabriel Carballo
40	CURSO INTEGRAL SOBRE LÍQUIDOS DE PUNCIÓN con Tópicos de Urgencia	8-Jul	CUATRIMESTRAL	Dr. Luis Palaoro
41	INMUNOLOGIA CELULAR. EL LABORATORIO EN EL ESTUDIO DE LAS CÉLULAS DEL SISTEMA INMUNE Y SUS PATOLOGÍAS	15-Jul	TRIMESTRAL	Dra. Viviana Novoa

## SOLICITUD DE INSCRIPCION

ASOCIACION  
BIOQUIMICA  
ARGENTINA



### ASOCIACION BIOQUIMICA ARGENTINA

Fundada el 3 de septiembre de 1934

#### Miembro Fundador:

*Confederación Unificada Bioquímica de la Republica Argentina (CUBRA); Coordinadora de Colegios Bioquímicos de Ley de la República Argentina; Sociedad de Bioquímica y Patología Clínica del MERCOSUR.*

#### Institución Invitada:

*Ente Coordinador de Unidades Académicas de Facultades de Farmacia y Bioquímica (ECUAFyB)*

#### Miembro Adherente:

*Asociación Latinoamericana Patología Clínica.*

#### Integrante:

*Comisión Nacional de Certificación Bioquímica (COCERBIN); Comisión de Elaboración de Normas y Guías de Laboratorio del Ministerio de Salud y Acción Social; Consejo Asesor y del Comité de Auditoría Interna Programa de Acreditación de Laboratorios de la Fundación Bioquímica Argentina.*

La ASOCIACION BIOQUIMICA ARGENTINA es la primera entidad Bioquímica de nuestro país, y la precursora de muchas otras en Latinoamérica.

#### Los objetivos que llevaron a su creación, siguen vigentes en la actualidad:

- 1 | Promover la educación continua de los bioquímicos.
- 2 | Editar la Revista Bioquímica y Patología Clínica, que es la revista científica de la Asociación, de distribución cuatrimestral.
- 3 | Desarrollar cursos de capacitación y actualización, en la Ciudad de Buenos Aires y el Interior del País.
- 4 | Cada 2 años, organiza en los años pares el Congreso Nacional Bioquímico y en los años impares, las Jornadas de Actualización ABA.
- 5 | En su sede tiene un aula docente de 30 asientos y un moderno laboratorio de trabajos prácticos.
- 6 | Asimismo, la Asociación ha implementado el Programa de Certificación Bioquímica, mediante el cual se puede acceder a los Certificados de Especialista, y de Actualización en una determinada especialidad o en Bioquímica Clínica.
- 7 | En la Asociación funcionan además, diferentes Comisiones Internas y las Divisiones / Secciones, encabezadas por prestigiosos profesionales, para asesorar a la Comisión Directiva y a sus socios.
- 8 | La ABA tiene convenios de cooperación institucional con universidades nacionales, privadas y fundaciones científicas de prestigio.

Los socios de la ABA gozan de aranceles preferenciales en cualquier actividad que desarrolla la Institución y reciben la Revista ByPC sin cargo adicional.

## SOLICITUD DE INSCRIPCION

ASOCIACION  
BIOQUIMICA  
ARGENTINA



Para asociarse, debe hacernos llegar esta solicitud completa en letra clara de imprenta y sin omitir ningún dato. Adjuntar una foto carnet, una fotocopia del título (anverso y reverso, tamaño 10 x 15 cm) y -de elegir este sistema de pago- el formulario de ingreso al sistema de débito automático por tarjeta de crédito VISA o MASTERCARD (\$45/mes). En su defecto deberá abonar un año por adelantado (\$540/año)

En el caso que usted optara por el pago anual, puede hacerlo en efectivo en nuestra secretaría o mediante cheque y/o giro postal a la orden de "Asociación Bioquímica Argentina", completo, sin abreviaturas.

Apellido y Nombre .....

D.N.I. – L.C. – L.E. – C.I. ....

Fecha de Nacimiento .....

Domicilio .....

Localidad ..... C.P. ....

Provincia ..... País .....

Teléfono ..... e-mail .....

Título profesional ..... Otorgado por .....

Año ..... Nro. Matrícula .....

Lugar de trabajo .....

Domicilio .....

Teléfono ..... e-mail .....

### INFORMES

Secretaría de la Asociación Bioquímica Argentina Venezuela 1823 Piso 3  
1096 – Ciudad de Buenos Aires. e-mail: info@aba-online.org.ar.  
TELEFAX (011)4384-7415 - TEL: (011) 4381-2907

Horario: Lunes a Viernes de 15:00 a 19:00 Hs.