

Escalante, Gimena

Comparación entre dos metodologías para la determinación de TSH

2020

Instituto: Ciencias de la Salud

Carrera: Bioquímica



Esta obra está bajo una Licencia Creative Commons Argentina.
Atribución - No Comercial - Compartir Igual 4.0
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

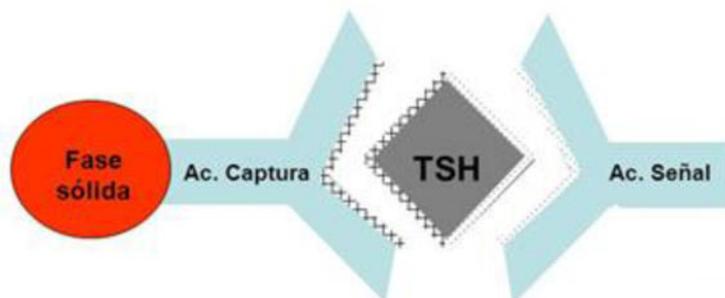
Documento descargado de RID - UNAJ Repositorio Institucional Digital de la Universidad Nacional Arturo Jauretche

Cita recomendada:

Escalante, G. (2020) *Comparación entre dos metodologías para la determinación de TSH* [tesis de grado Universidad Nacional Arturo Jauretche]

Disponible en RID - UNAJ Repositorio Institucional Digital UNAJ <https://biblioteca.unaj.edu.ar/rid-unaj-repositorio-institucional-digital-unaj>

COMPARACIÓN ENTRE DOS METODOLOGÍAS PARA LA DETERMINACIÓN DE TSH



ALUMNA: ESCALANTE GIMENA (escalante.gimena@gmail.com)

DIRECTORA: BIOQUÍMICA TOURNIER ANDREA

CO- DIRECTORA: BIOQUÍMICA MARIANELLI ALEJANDRA

FECHA DE ENTREGA: 3 -12- 2019

INSTITUTO DE CIENCIAS DE LA SALUD. CARRERA DE BIOQUÍMICA.

Resumen:

Durante años, en el laboratorio del sector de endocrinología del Hospital Interzonal de Agudos Especializado en Pediatría Sor María Ludovica, el cual recibe derivaciones de distintos centros de salud de la provincia de Buenos Aires, se ha utilizado el reactivo “*HYPERsensitive hTSH*” para la determinación de la hormona hipofisaria tiroestimulante (TSH), siendo el principal uso clínico de esta medición evaluar el estado de la tiroides.

A mediados del año 2018, se introdujo en el mercado el reactivo “*TSH 3rd*”, el cual ha reemplazado al “*HYPERsensitive hTSH*”, siendo ambos del fabricante BECKMAN COULTER.

En el presente trabajo se compara la determinación in vitro de TSH utilizando ambos reactivos, teniendo en cuenta que tienen fundamento en inmunoensayo de formato no competitivo de quimioluminiscencia, utilizando el autoanalizador Access II y planteando la hipótesis que los resultados obtenidos por ambas metodologías son estadísticamente equivalentes.

Se utilizaron 40 muestras de plasma de niños, entre 2 meses y 15 años de edad (61.54% de sexo femenino y 38.46% de sexo masculino) y con el programa XLSTAT y MedCalc se obtuvo una correlación utilizando el estadístico Passing Bablok de 0.975, siendo la ecuación de la recta $y = 0.9952X + 0.1782$. El intervalo de confianza del 95% para la pendiente es de 0,940 a 1,050 y para la ordenada al origen es de -0,003 a 0,318. Mediante el gráfico de dispersión de Bland Altman se estima un sesgo de 8,5% en todo el rango de concentración, el cual es menor al error sistemático máximo permitido por variabilidad biológica (14.14%). Estos datos indicarían que los resultados son intercambiables entre ambos métodos. La comprobación de la hipótesis brindaría la seguridad y confianza que los resultados emitidos siguen siendo de utilidad en el diagnóstico clínico.

Para la mayor comprensión de este trabajo, se realiza una breve introducción, la descripción de los diversos aspectos de la hormona a estudiar, luego de las metodologías para su determinación y finalmente se detalla el proceso metodológico que se llevó a cabo.

ÍNDICE:

ABREVIATURAS	3
1. INTRODUCCIÓN:	5
1.1. Importancia del tema seleccionado:	5
1.2. Objetivo general:.....	6
1.3. Objetivos específicos:.....	6
2. MARCO TEÓRICO:	7
2.1. Hipófisis y TSH:	7
2.2. Regulación hipotálamo- hipófisis-tiroides:	14
2.3. Efectos de las hormonas tiroideas:	18
2.4. Uso clínico de la medición de TSH:	22
2.5. Inmunoanálisis en la determinación de TSH:	27
2.6. Access II:.....	28
3. MARCO METODOLÓGICO:	30
3.1. Características analíticas de ambos métodos:	30
3.2. Materiales y métodos:.....	32
4. RESULTADOS:	35
4.1. Características generales.....	35
4.2. Aplicación de Passing Bablok a los resultados:	38
4.3. Aplicación del método de Bland Altman	39
5. DISCUSIÓN:	40
6. CONCLUSIÓN:	42
7. BIBLIOGRAFÍA	43

ABREVIATURAS

ACTH: *adrenocorticotrophic hormone*: hormona adrenocorticotropa

ADN: ácido desoxirribonucleico

cAMP: adenosín monofosfato cíclico

Bp: par de base

CO₂: dióxido de carbono

COOH: carboxilo

CV: coeficiente de variación

FSH: *follicle-stimulating hormone*: hormona folículo estimulante: folitropina

GH: *growth hormone*: hormona de crecimiento: somatotropina

H₀: hipótesis nula

H_a: hipótesis alternativa

hCG: *human chorionic gonadotropin*: gonadotropina coriónica humana

I¹³¹: Yodo radiactivo 131

IBMAs: inmunobioluminiscentes

ICMAs: inmunoquimioluminiscentes

IECMAs: inmunoelectroquimioluminiscentes

IEMAs: inmunoenzimométricos

IFMAs: inmunofluorimétricos

ILMAs: inmunoluminométricos

IMAs: inmunométricos

IRMAs: inmunorradiométricos

Kb: kilobase

kDa: kilodalton

LH: *luteinizing hormone*: hormona luteinizante: lutropina

NH₂: amino

pCO₂: presión parcial de dióxido de carbono

pO₂: presión parcial de oxígeno

RIAs: radioinmunoensayos

RLU: unidades de luz relativas

SD: *standard deviation*: desviación estándar

T3: hormona triyodotironina

T4: hormona tiroxina

T4L: hormona tiroxina libre

TRH: hormona liberadora de tirotropina

TSH: *thyroidstimulating hormone*: hormona tiroideoestimulante: tirotropina

TSH-R: receptor específico de TSH

TSI: inmunoglobulinas tiroestimulantes

1. INTRODUCCIÓN:

La hormona tiroideoestimulante humana (tirotropina, TSH, hTSH) es de estructura glicoproteica y consta de dos subunidades no ligadas de forma covalente, la subunidad α , que es casi idéntica a las subunidades α de la hormona luteinizante humana, la hormona foliculoestimulante humana y la gonodotrofina coriónica humana, y una subunidad β , responsable de la especificidad inmunológica y biológica.

1.1. Importancia del tema seleccionado:

La TSH liberada de la hipófisis anterior es la principal reguladora de la función tiroidea, estimulando la síntesis y liberación de las hormonas tiroideas tiroxina (T4) y triyodotironina (T3) que regulan procesos bioquímicos esenciales. La síntesis y secreción de la TSH se estimulan mediante la hormona liberadora de tirotropina (TRH), producida por el hipotálamo como respuesta a niveles bajos de T3 y T4 circulantes. En contraste, niveles altos de T3 y T4 suprimen la producción de TSH. En conjunto, este sistema de respuesta se denomina eje hipotálamo- hipófisis- tiroideas y cualquier alteración en él puede influir en los niveles en circulación de TRH, TSH, T4 y T3.

El principal uso clínico de la medición de la TSH es la evaluación del estado de la tiroideas y se mide en conjunto con hormonas T3 y T4 o anticuerpos para:

- Detectar o excluir hipotiroidismo o hipertiroidismo;
- Controlar un tratamiento de reposición de T4 en el hipotiroidismo o un tratamiento antitiroideo en el hipertiroidismo;
- Evaluar la respuesta a la prueba de estimulación de la TRH.

Dado que la utilidad clínica del resultado emitido es el principal objetivo del laboratorio, es de vital importancia demostrar la comparabilidad de los resultados siempre que un analito sea medido en más de un procedimiento analítico. Es por ello que, este plan de trabajo experimental prospectivo que se inserta en el área de salud de endocrinología en el Hospital Interzonal de Agudos Especializado en Pediatría Sor

María Ludovica, planteó la hipótesis de que el reemplazo del reactivo “*HYPERSensitive hTSH*” usado durante años para la determinación de la hormona TSH por un nuevo reactivo “*TSH 3rd*” del mismo fabricante (BECKMAN COULTER), brindaría resultados equivalentes dentro del poder estadístico, sugiriendo que los resultados obtenidos por el nuevo procedimiento siguen siendo de utilidad clínica.

Para la verificación de esta hipótesis se plantearon los siguientes objetivos:

1.2. Objetivo general:

Correlacionar y obtener la concordancia entre dos procedimientos de medición de diagnóstico in vitro utilizando muestras de pacientes a partir de la introducción en el mercado de un nuevo reactivo.

1.3. Objetivos específicos:

- 1- Determinar el sesgo entre los dos procedimientos;
- 2- Determinar que el reemplazo para un método actual es adecuado;
- 3- Evaluar posible modificación en el intervalo de referencia del analito a estudiar, teniendo en cuenta la variación que se introduce en un método ya normalizado.

2. MARCO TEÓRICO:

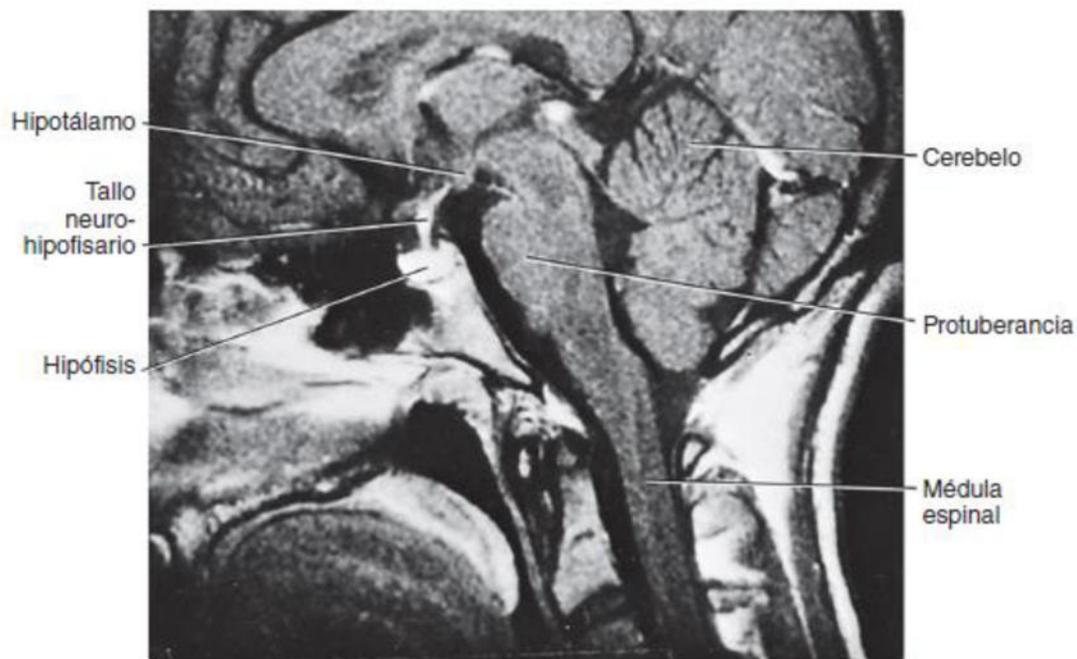
2.1. Hipófisis y TSH:

La hipófisis (también denominada glándula pituitaria) es una estructura endócrina pequeña (pesa unos 0,5 - 0,9 gramos y mide menos de 1 cm), compleja, situada en una depresión del hueso esfenoidal, llamada silla turca, y conectada con el hipotálamo por el tallo neurohipofisario (pituitario). (*Figura N° 1*).

(Koepper & Stanton, 2009, pág. 707)

Figura N° 1: El hipotálamo y la glándula hipófisis:

Sección longitudinal de la cabeza que muestra la proximidad del hipotálamo y la hipófisis, y su conexión a través del tallo neurohipofisario.



Fuente: Koepper. B. M., Stanton B. A. (2009). *Berne y Levi. Fisiología*. Barcelona: Elsevier.

Está formada por dos lóbulos que difieren desde una perspectiva anatómica, embriológica y funcional (*Figura N° 2*):

1. La adenohipófisis o hipófisis anterior, que constituye el 75 % de la glándula, está formada por células endócrinas. Estas células producen las siguientes hormonas peptídicas: corticotropina (hormona adrenocorticotropa; ACTH), somatotropina (hormona de crecimiento; GH), prolactina (PRL), tirotrópina (TSH), hormona luteinizante (LH) y hormona folículo estimulante (FSH)

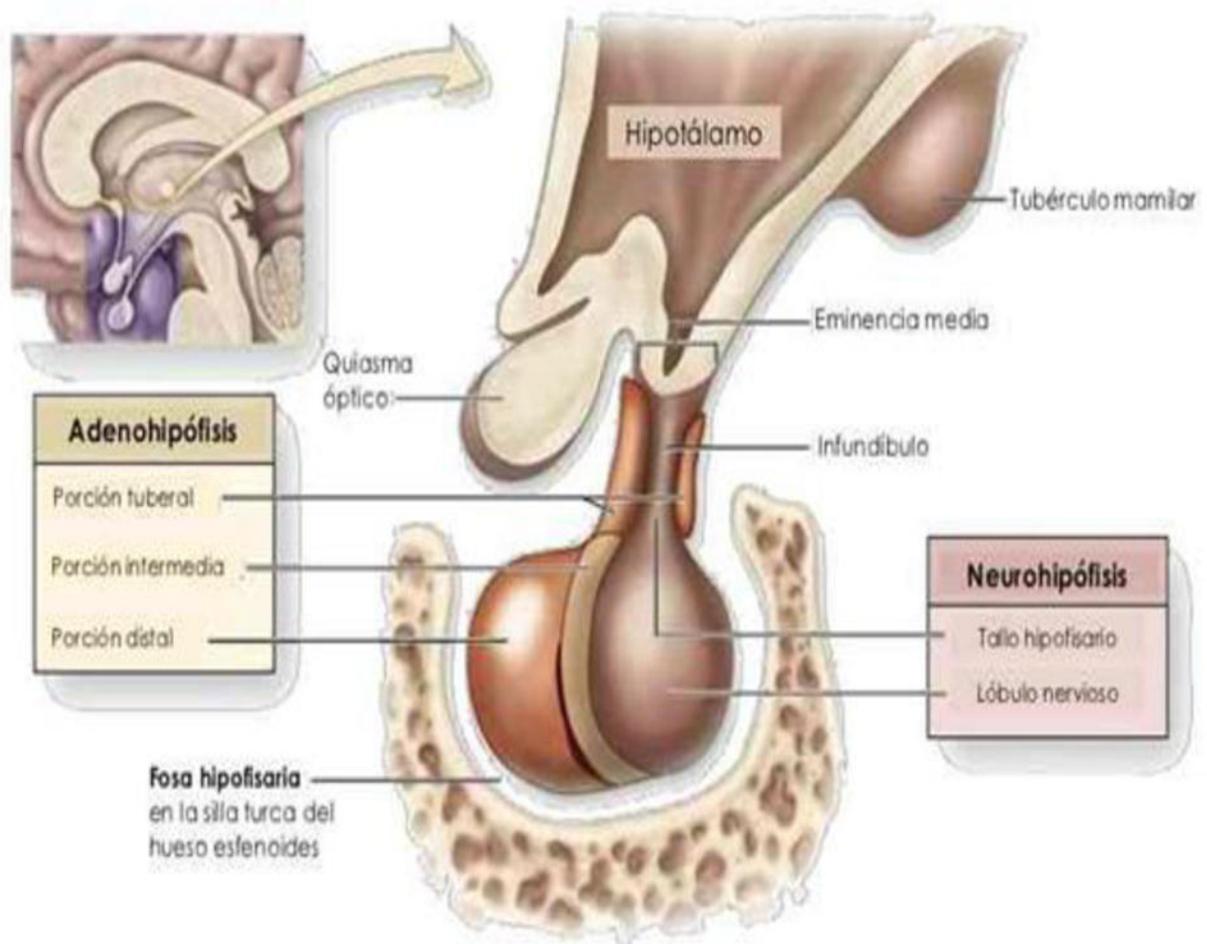
2. La neurohipófisis o hipófisis posterior está formada por las terminaciones nerviosas procedentes del hipotálamo. Estas neuronas del hipotálamo producen oxitocina y vasopresina, que viajan a la neurohipófisis a través de los axones, donde se almacenan para su secreción como una respuesta a estímulos específicos.

(González Hernández, 2014, pág. 276)

Figura N° 2: Anatomía de la hipófisis:

Esquema de la estructura macroscópica de la hipófisis. La glándula se localiza dentro de la silla turca. Se muestran sus lóbulos y porciones de cada uno.

(Revista educativa Partesdel.com, 2017)



Fuente: https://www.partesdel.com/partes_de_la_hipofisis.html

En el desarrollo embrionario, la hipófisis se constituye como glándula de origen mixto, ectodérmico (de donde deriva la neurohipófisis) y endodérmico (origen de la adenohipófisis), lo que determina también la diferente irrigación y funcionamiento de las dos partes. La comunicación de la adenohipófisis con el hipotálamo se produce por un sistema porta de las arterias hipofisarias superiores, ramas de la carótida interna, con capilarizaciones en ambos tejidos, hasta drenar en los senos venosos. En la neurohipófisis, la irrigación procede directamente de la arteria hipofisaria inferior. (Figura N° 3).

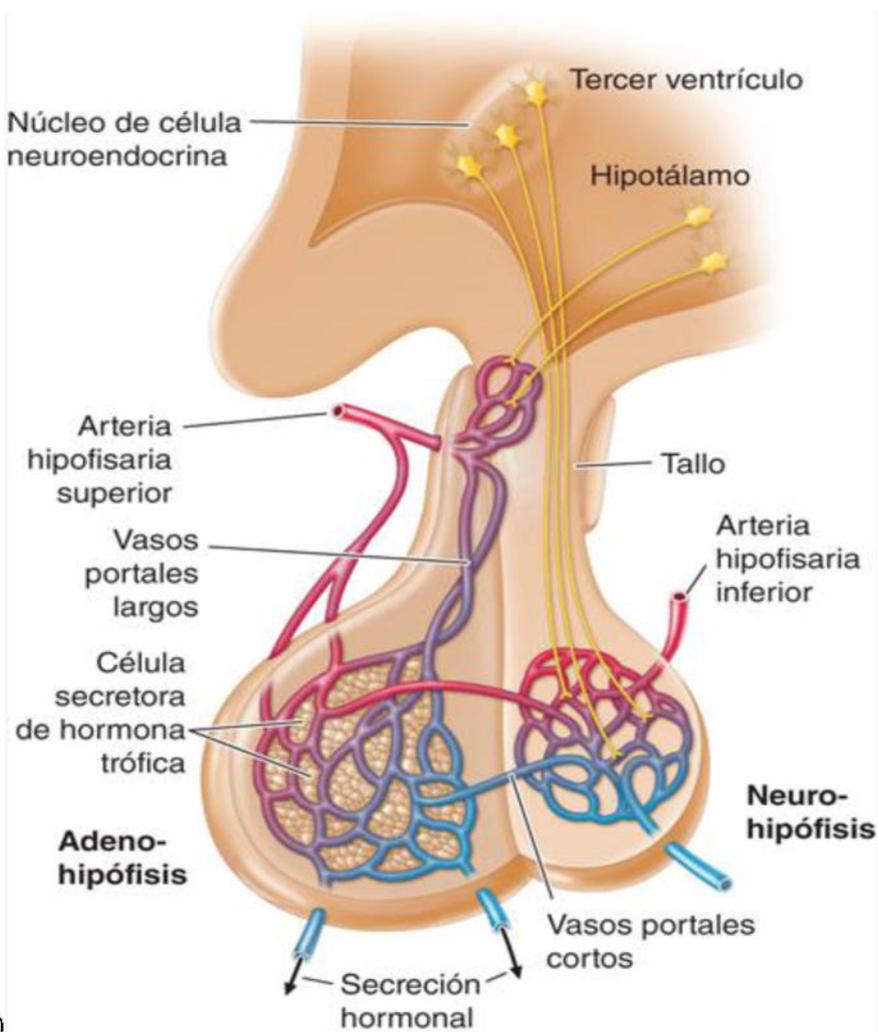
(González Hernández, 2014, pág. 276)

El área que queda entre el lóbulo anterior y posterior de la hipófisis apenas está desarrollada en los humanos, se llama lóbulo intermedio y tiene el mismo origen embriológico que el lóbulo anterior.

(Guyton & Hall, 2011)

Figura N° 3: Diagrama de la vasculatura hipofisaria

Los núcleos hipotalámicos producen hormonas que atraviesan el sistema portal y llegan a las células de la adenohipófisis para regular la secreción de las hormonas hipofisarias. Las hormonas de la neurohipófisis proceden de extensiones nerviosas directas.



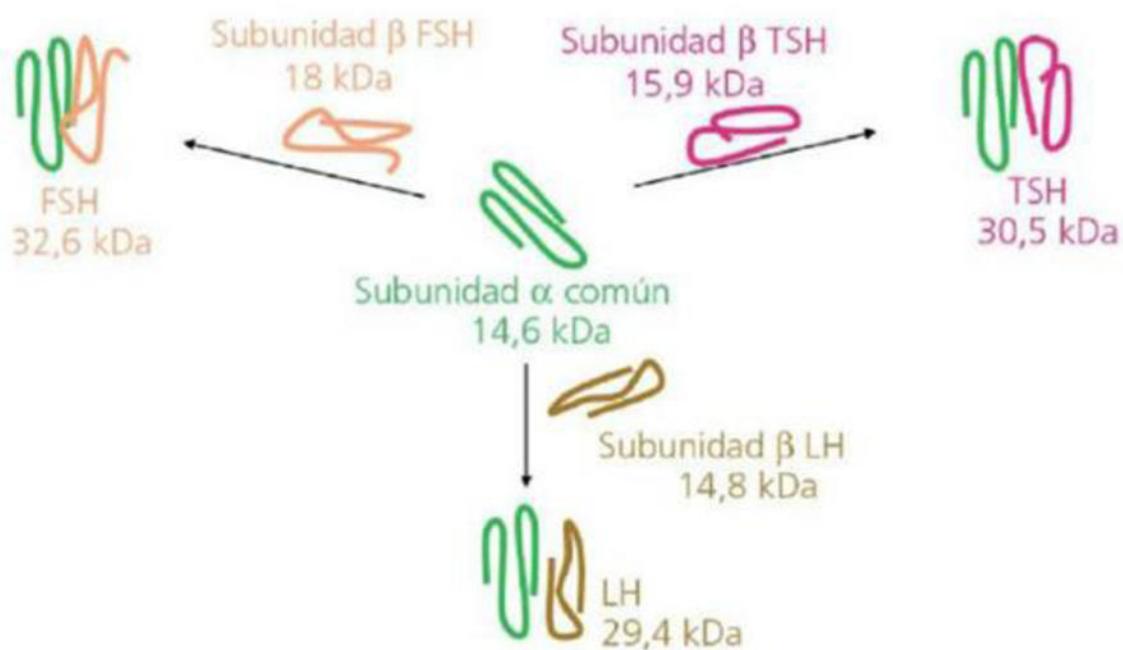
(Harrison)

Fuente: Dennis L. Kasper, Anthony S. Fauci, Stephen L. Hauser, Dan L. Longo, J. Larry Jameson, Joseph Loscalzo. *Harrison. Principios de Medicina Interna.*

Las hormonas glicoproteicas de la adenohipófisis TSH, LH, FSH, y la gonadotropina coriónica humana (hCG) están formadas por dos subunidades denominadas α y β unidas de forma no covalente. Cada una de las subunidades se sintetiza de manera independiente a partir de RNA mensajeros (mRNA) diferentes. La subunidad α es común para las cuatro hormonas en tanto que la β es exclusiva de cada una y confiere la especificidad biológica (Figura N° 4). Las subunidades, cuando están de manera independiente, son biológicamente inactivas.

(González Hernández, 2014, pág. 277)

Figura N° 4: Esquema de las estructuras de las hormonas hipofisarias diméricas FSH, LH Y TSH.



Fuente: González Hernández, A. (2014). *Principios de bioquímica clínica y patología molecular*. Barcelona: Elsevier

La tirotrópica, hormona estimulante de la tiroides, hormona tiroestimulante u hormona tirotrópica, abreviada también TSH (a partir de ahora se la nombrará así) o hTSH, del inglés *Thyroid- Stimulating Hormone* es hidrosoluble y tiene un peso molecular de 28.000 a 30.000 daltons. La subunidad α y la subunidad β están codificadas por genes ubicados en los cromosomas 6 y 1 respectivamente.

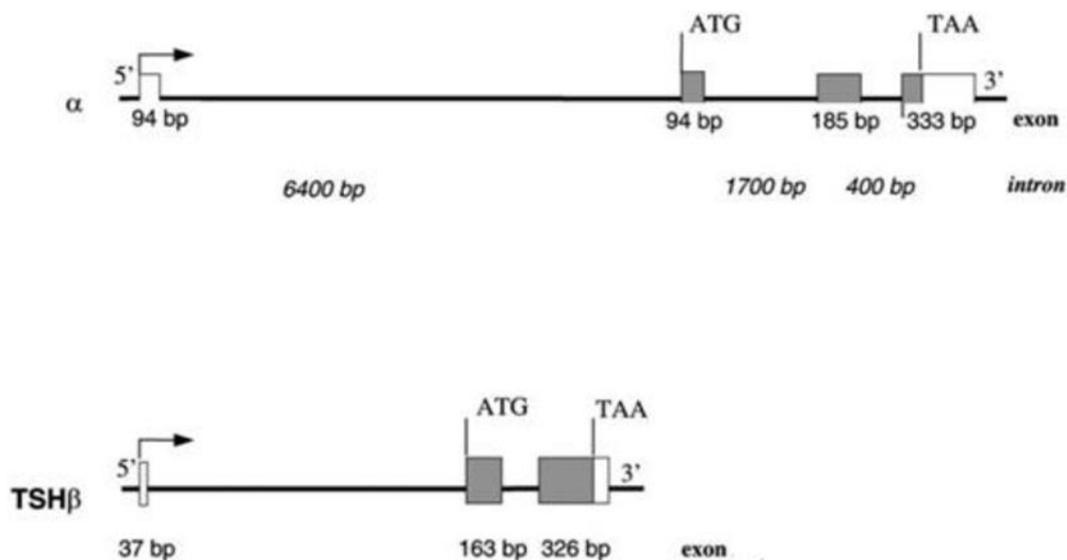
El gen de la subunidad α contiene cuatro exones y tres intrones, mientras que el gen de la subunidad β contiene tres exones y dos intrones. El gen de la subunidad α es casi dos veces más grande (9.4 kb) que el gen subunidad de β (4.9 kb). El primer exón es corto en ambos casos, no traducido y separado de la región de codificación por un gran primer intrón. (Figura N° 5).

(MARIUSZ W. SZKUDLINSKI, 2002)

Figura N° 5: Esquema de la organización de los genes de la subunidad α y de la subunidad β de TSH.

Los exones son denotados por las cajas y los intrones o secuencias de ADN flanqueantes se denotan mediante líneas. La longitud de los exones e intrones se muestran en pares de bases. Las regiones de codificación de los exones están sombreadas. Las regiones no codificantes son blancas. El sitio de inicio de la transcripción se muestra por una flecha curva. Este diagrama sirve para ilustrar la estructura general de cada gen y se dibuja a escala.

(Thyroid-Stimulating Hormone and Thyroid-Stimulating, 2002)



Fuente: MARIUSZ W. SZKUDLINSKI, V. F. (2002). *Thyroid-Stimulating Hormone and Thyroid-Stimulating*. Marseille,: American Physiological Society.

Las estructuras primarias de las subunidades de la TSH son específicas de la especie. En humanos, la secuencia del gen de la subunidad β predice una proteína de 118 aminoácidos; sin embargo, cuando se la aísla su composición es de 112 aminoácidos, muy probablemente debido a la escisión proteolítica. En TSH recombinantes, la eliminación ácida no afectó la bioactividad de ellos, lo que indica que los residuos de aminoácidos del terminal COOH no serían importantes en la función hormonal.

La TSH es una proteína glicosilada y las cadenas de carbohidratos que le dan estabilidad y protección constituyen el 15-25% de su peso.

Las diferencias en la estructura del oligosacárido generan una mezcla de isoformas circulantes (glicofomas), que representan la mayor parte de la heterogeneidad fisiológica de la TSH, estas glicofomas han sido ampliamente estudiadas en varias afecciones fisiopatológicas.

La TSH purificada ha demostrado ser heterogénea en el extremo NH_2 de cada subunidad, siendo esto producto fisiológico o de la purificación. La presencia de isoformas acortadas de la TSH en circulación puede afectar la interacción con la unión de anticuerpos en inmunoensayos. Además, la amidación variable de ácido glutámico y de ácido aspártico, se sabe que ocurren durante prolongado almacenamiento de preparaciones de proteínas purificadas, puede introducir artefactos adicionales que pueden causar discordancia en el análisis de TSH.

(MARIUSZ W. SZKUDLINSKI, 2002)

2.2. Regulación hipotálamo- hipófisis-tiroides:

Las hormonas tiroideas (T3 y T4) tienen muchas acciones directas, pero también actúan de forma más sutil para optimizar acciones de varias hormonas y neurotransmisores, es por esto que es preciso que en todo momento se secrete una cantidad adecuada de hormonas tiroideas.

La producción de T4 y T3 por la glándula tiroides depende de la TSH, cuya producción está regulada, a su vez, por la hormona hipotalámica tiro liberina (TRH).

Una desyodasa en la hipófisis convierte la T4 en T3 y, cuando la concentración intranuclear de T3 desciende, la hipófisis se vuelve más sensible a la TRH. La T3 y T4 libre inhibe por retroalimentación negativa la producción de TSH y también de TRH.

En condiciones normales, la TSH se une al receptor específico de TSH (TSH-R) en las células foliculares de las glándulas tiroides. Este receptor transmembrana es del tipo β -adrenérgico y es crítico en el desarrollo, crecimiento y función de la tiroides. Esta unión en las células tiroideas conduce a la estimulación de vías de segundo mensajero involucrando predominantemente cAMP y, en altas concentraciones, inositol 1, 4, 5-trisfosfato y diacilglicerol, lo que finalmente resulta en la modulación de la expresión del gen tiroideo, cuyos efectos finales son la estimulación de la síntesis y liberación de hormonas tiroideas:

1. Eleva la proteólisis de la tiroglobulina que se encuentra almacenada en los folículos, con lo que se liberan hormonas tiroideas a la sangre circulante y disminuye la sustancia folicular.
2. Incrementa la actividad de la bomba de yoduro, que favorece el «atrapamiento del yoduro» por las células glandulares.
3. Intensifica la yodación de la tirosina para formar hormonas tiroideas.
4. Aumenta el tamaño y la actividad secretora de las células tiroideas.
5. Incrementa el número de células tiroideas y transforma las células cúbicas en cilíndricas.

En resumen, la TSH estimula todas las actividades secretoras conocidas de las células. El efecto precoz más importante luego de la administración de TSH consiste en el comienzo de la proteólisis de la tiroglobulina, que provoca la liberación de T4 y T3

hacia la sangre en un plazo de 30 minutos. Los demás efectos tardan varias horas o incluso días y semanas en desarrollarse por completo.

Se detallan a continuación los estímulos que afectan la secreción de TSH:

- La secreción adenohipofisaria de TSH se encuentra regulada por la tiroliberina procedente del hipotálamo:

La secreción de TSH por la adenohipófisis está controlada de forma importante por la hormona hipotalámica TRH, secretada por las terminaciones nerviosas del hipotálamo (la hormona hipotalámica somatostatina regula la secreción de TSH de forma negativa pero no de forma importante en la fisiología normal). A continuación, los vasos porta hipotalámico-hipofisarios transportan la TRH desde la eminencia media hasta la adenohipófisis.

La TRH se ha obtenido en forma pura. Se trata de una sustancia simple, un tripéptido, que actúa directamente sobre células de la adenohipófisis, uniéndose a su receptor de membrana, lo que activa sistemas de segundo mensajeros lo que en última instancia, incrementa la producción y liberación de TSH. Cuando se bloquea el sistema porta que conecta el hipotálamo con la adenohipófisis, la secreción adenohipofisaria de TSH experimenta un gran descenso, aunque no llega a desaparecer.

- Efectos del frío y otros estímulos nerviosos sobre la secreción de TRH y TSH:

Uno de los estímulos más conocidos de la secreción de TRH por el hipotálamo y, por consiguiente, de la secreción de TSH por la adenohipófisis es la exposición al frío. Este efecto obedece casi con toda seguridad a la excitación de los centros hipotalámicos encargados de controlar la temperatura corporal.

Algunas reacciones emocionales también afectan a la producción de TRH y TSH, por lo que repercuten de forma indirecta en la secreción de las hormonas tiroideas. La excitación y la ansiedad (estados que estimulan de forma considerable al sistema nervioso simpático) inducen una caída aguda de la secreción de TSH, debida quizá a que estos estados elevan el metabolismo oxidativo y el calor corporal, ejerciendo así un efecto inverso sobre el centro de control del calor.

Tanto estos efectos emocionales como el efecto del frío desaparecen cuando se secciona el tallo hipofisario, lo que indica que están mediados por el hipotálamo.

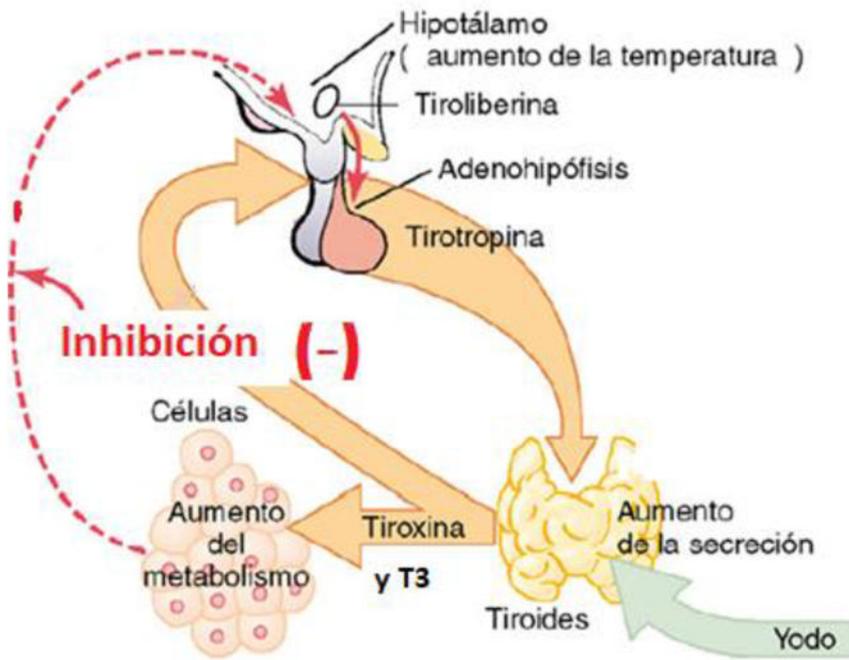
- Efecto de retroalimentación de las hormonas tiroideas para disminuir la secreción adenohipofisaria de TSH:

Cuando la secreción de hormona tiroidea aumenta hasta 1,75 veces los valores normales, la secreción de TSH cae hasta casi desaparecer. Este efecto depresor mediante retroalimentación apenas disminuye cuando se separa la adenohipófisis del hipotálamo. Por consiguiente, como se demuestra en la *Figura N° 6*, la elevación de las hormonas tiroideas inhiben la secreción de TSH principalmente por un efecto directo sobre la propia adenohipófisis, aunque también realiza un efecto de inhibición menos importante hacia el hipotálamo, con lo que se produce menor liberación de TRH. Cualquiera que sea el mecanismo de la retroalimentación, su efecto consiste en mantener una concentración prácticamente constante de hormonas tiroideas.

Figura N° 6: Regulación hipotálamo- hipófisis- tiroideas.

La producción de T4 y T3 por la glándula tiroidea depende de la secreción adenohipofisaria de TSH, que a su vez está regulada por la hormona hipotalámica TRH. El aumento del metabolismo oxidativo y temperatura corporal excita los centros hipotalámicos encargados de la regulación de la temperatura corporal y produce la disminución de TRH y en consecuencia de TSH. Además, la T4 y T3 realizan una retroalimentación negativa hacia la adenohipófisis y en menor medida hacia el hipotálamo, lo que disminuye la liberación de TSH.

Fuente: (Guyton & Hall, 2011)



2.3. Efectos de las hormonas tiroideas:

Como se mencionó anteriormente, la TSH es la principal reguladora de la función tiroidea, estimulando la síntesis y liberación de las hormonas tiroideas T4 y T3 que regulan procesos bioquímicos esenciales.

A continuación, se exponen algunos efectos de las hormonas tiroideas:

- Efectos cardiovasculares:

La T3 y T4 aumentan la frecuencia cardíaca en reposo y la potencia de las contracciones miocárdicas. Produce el aumento del volumen sistólico y la reducción de las resistencias vasculares periféricas totales por la dilatación de los vasos. Estos efectos se deben, en parte, al aumento de la producción tisular de calor y CO₂ que inducen.

- Efectos sobre el metabolismo oxidativo basal:

Las hormonas tiroideas aumentan el consumo de oxígeno y la producción de calor. Por lo tanto, los cambios de la temperatura corporal son paralelos a las fluctuaciones en su disponibilidad. Sin embargo, el posible incremento de la temperatura corporal se modera mediante un aumento compensador de la pérdida de calor gracias al aumento correspondiente y mediado por las hormonas tiroideas del flujo sanguíneo, la sudoración y la ventilación.

El aumento del consumo de oxígeno depende del aumento del aporte de sustratos para la oxidación. Las hormonas tiroideas aumentan la absorción de glucosa en el tubo digestivo y también el recambio de glucosa (captación, oxidación y síntesis).

La T3 y T4 potencian los efectos estimuladores correspondientes de la adrenalina, la noradrenalina, el glucagón, el cortisol y la hormona del crecimiento sobre la gluconeogénesis, lipólisis, cetogénesis y proteólisis.

- Efectos respiratorios:

La T3 y T4 estimula la utilización del oxígeno y también su aporte. Aumenta la frecuencia respiratoria en reposo, la ventilación minuto y la respuesta ventilatoria frente a la hipercapnia y la hipoxia. Estas acciones mantienen una pO_2 arterial normal cuando aumenta el consumo de oxígeno, y una pCO_2 normal cuando aumenta la producción de CO_2 . Además, el hematocrito aumenta ligeramente, y también induce la capacidad de transporte de oxígeno. Este aumento de la masa de eritrocitos se debe a la estimulación de la producción renal de eritropoyetina.

- Efectos sobre el hueso, los tejidos duros y la dermis:

Las hormonas tiroideas estimulan la osificación endocondral, el crecimiento lineal del hueso y la maduración de los centros epifisarios. Inducen la maduración y actividad de los condrocitos en la lámina de crecimiento cartilaginosa, en parte mediante un aumento de la producción y acción de los factores de crecimiento locales. Aunque no se necesitan hormonas tiroideas para el crecimiento lineal hasta después del nacimiento, es fundamental para que los centros de crecimiento maduren bien en los huesos del feto en desarrollo. También estimulan la remodelación ósea en los adultos.

La progresión del desarrollo y la erupción de los dientes dependen de las hormonas tiroideas, igual que el ciclo de crecimiento y la maduración normal de la epidermis, sus folículos pilosos y las uñas. Los procesos de degradación normales de estos tejidos estructurales y tegumentarios también se estimulan por ellas.

Además, alteran la estructura del tejido subcutáneo mediante la inhibición de la síntesis y el aumento de la degradación de los mucopolisacáridos (glucosaminglucanos) y la fibronectina en el tejido conjuntivo extracelular.

- Efectos sobre el sistema nervioso:

Las hormonas tiroideas regulan el momento y la velocidad de desarrollo del SNC. Las deficiencias de T3 y T4 intrauterina o durante la primera infancia reduce el crecimiento de la corteza cerebral y cerebelosa, la proliferación de los axones y la ramificación de las dendritas, la sinaptogénesis, la mielinización y la emigración celular. Se producen lesiones cerebrales irreversibles cuando no se reconocen sus deficiencias y se trata de

forma rápida al nacer. Los defectos estructurales que se han descrito se producen en paralelo con las alteraciones bioquímicas.

También aumentan la alerta, la vigilia, la respuesta a diversos estímulos, la capacidad auditiva, la sensación de hambre, la memoria y la capacidad de aprendizaje. Además, el tono emocional normal depende de la disponibilidad adecuada de ellas.

- Efectos sobre los órganos reproductores y las glándulas endócrinas:

Tanto en las mujeres como en los hombres, las hormonas tiroideas influyen de forma importante en la regulación de la función reproductora, con un papel permisivo. El ciclo ovárico normal de desarrollo folicular, maduración y ovulación, el proceso homólogo a nivel testicular de la espermatogénesis, y el mantenimiento de la salud durante el embarazo se alteran cuando las concentraciones de T3 y T4 se distancian de forma significativa de la normalidad. En parte, estos efectos negativos se pueden deber a alteraciones en el metabolismo o disponibilidad de las hormonas esteroideas. Por ejemplo, las hormonas tiroideas estimulan la síntesis hepática y la liberación de la globulina transportadora de los esteroides sexuales.

Las hormonas tiroideas también influyen de forma significativa en otras regiones del sistema endócrino. Por ejemplo, la producción hipofisaria de hormona del crecimiento aumenta, mientras que disminuye la producción de prolactina. La secreción de cortisol en la corteza suprarrenal y la eliminación metabólica de esta hormona se estimulan, pero las concentraciones de cortisol plasmático libres se mantienen normales. El cociente entre los estrógenos y los andrógenos aumenta en los hombres (en el hipertiroidismo pueden mostrar hipertrofia mamaria). La disminución de la producción de hormona paratiroidea y 1,25-(OH)₂ vitamina D son consecuencias compensadoras de la acción de las hormonas tiroideas sobre la remodelación del hueso.

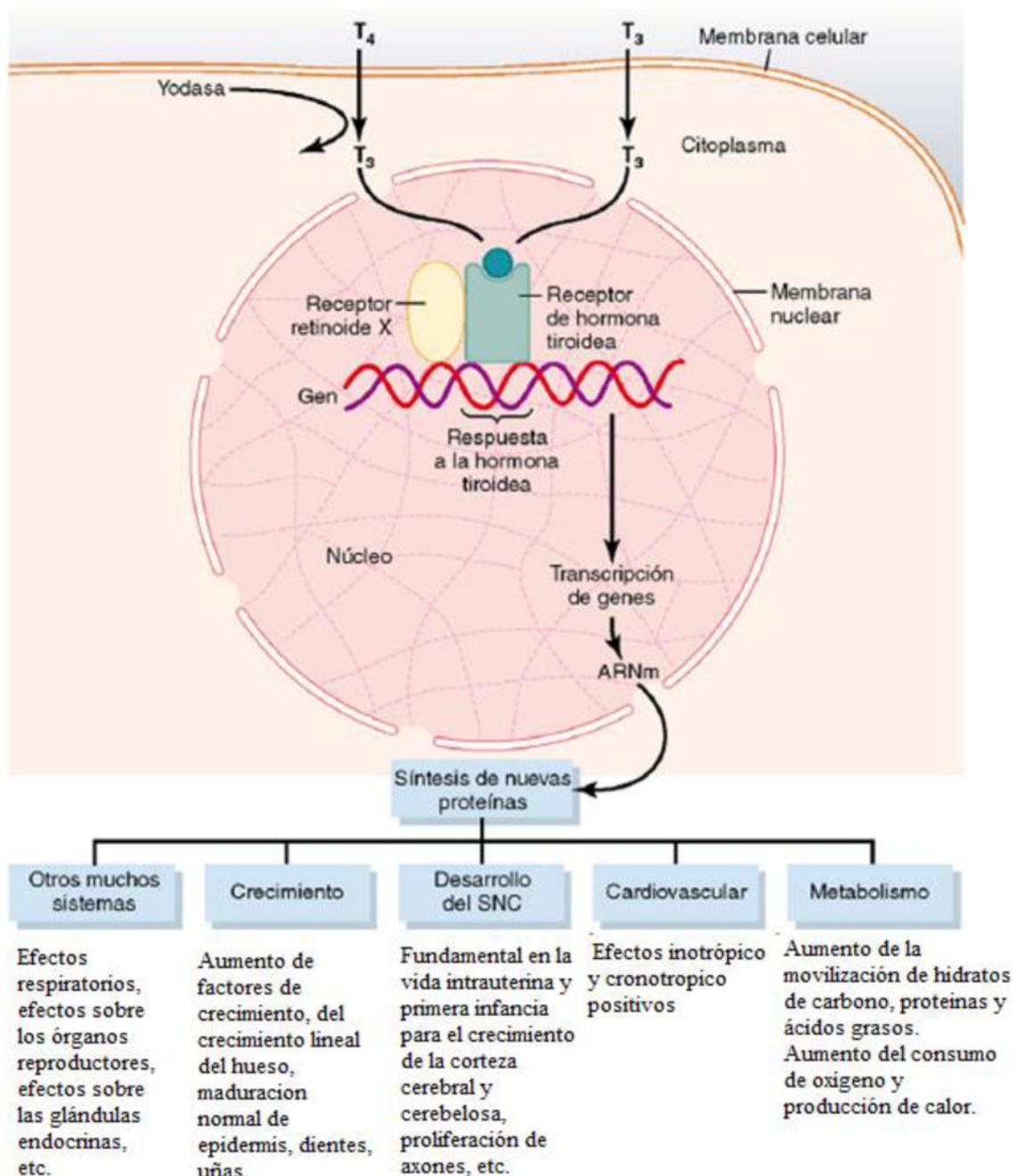
(Koepper & Stanton, 2009).

A manera esquemática se presenta en la *Figura N° 7* un resumen de los efectos producidos por las hormonas tiroideas a partir de la activación de las células efectoras, donde se visualiza como las hormonas T4 y la T3 difunden a través de sus transportadores (no se dibujaron ellos en el esquema) en la membrana celular. Gran parte de la T4 pierde yodo y forma T3, que actúa sobre el receptor de hormona tiroidea

(la T4 también puede unirse a él), uniéndose en forma de heterodímero a un receptor para el retinoide X en los elementos específicos de respuesta a las hormonas tiroideas del ADN. Ello induce el aumento o la disminución de la transcripción de genes que rigen la formación de proteínas, que es la respuesta de la célula a las hormonas tiroideas en los diferentes sistemas.

Figura N° 7: Activación de las células efectoras por las hormonas tiroideas.

Fuente: (Guyton & Hall, 2011)



2.4. Uso clínico de la medición de TSH:

El principal uso clínico de la medición de la TSH es la evaluación del estado de la tiroides y se mide en conjunto con hormonas tiroideas T3 y T4 o anticuerpos para:

- Detectar o excluir hipertiroidismo:

En la mayoría de los pacientes con hipertiroidismo se observa un aumento de tamaño de la glándula tiroides. Además, la secreción de cada célula aumenta, los estudios sobre la captación de yodo radiactivo indican que estas glándulas secretan en ocasiones cantidades de hormonas tiroideas superiores en 5 a 15 veces su valor normal.

La enfermedad de Graves, la forma más común de hipertiroidismo, es una enfermedad autoinmunitaria en la que se forman anticuerpos denominados inmunoglobulinas tiroestimulantes (TSI) contra el receptor de TSH. Estos anticuerpos se unen a los mismos receptores de membrana que la TSH e inducen una activación continua del sistema AMPc de las células que se traduce en la aparición de hipertiroidismo. La elevada secreción de hormona tiroidea causada por la TSI suprime, a su vez, la formación adenohipofisaria de TSH. Por tanto, las concentraciones de TSH son menores de lo normal (a menudo, esencialmente nulas) en la mayoría de los pacientes con enfermedad de Graves.

El hipertiroidismo se debe en ocasiones (con menor frecuencia) a un nódulo localizado que se desarrolla en el tejido tiroideo y que secreta una gran cantidad de hormonas tiroideas. Un efecto destacado del adenoma consiste en que mientras secreta grandes cantidades de hormona tiroidea, la función secretora del resto de la glándula queda prácticamente inhibida porque la hormona elaborada por el adenoma deprime la producción de TSH por la hipófisis.

Los síntomas de hipertiroidismo deben resultar evidentes a partir de la exposición anterior de la fisiología de las hormonas tiroideas: estado de gran excitabilidad; intolerancia al calor; aumento de la sudoración; adelgazamiento; debilidad muscular; nerviosismo u otros trastornos psíquicos; fatiga extrema e incapacidad para conciliar el sueño; temblor de las manos; exoftalmos (la causa de la protrusión ocular reside en una

tumefacción edematosa de los tejidos retroorbitarios y en diversas lesiones degenerativas de los músculos extraoculares).

La prueba diagnóstica más exacta del hipertiroidismo habitual consiste en la medición directa de la concentración plasmática de T4 «libre» (y en ocasiones de T3).

La concentración plasmática de TSH se determina mediante inmunoensayos y suele hallarse suprimida por completo por la elevada cantidad de T4 y T3 circulantes, por lo que apenas se detecta TSH en el plasma.

(Guyton & Hall, 2011)

- Detectar o excluir hipotiroidismo:

En función del origen de la alteración, el hipotiroidismo puede ser primario si es en la glándula tiroides o central si falla su estimulación. Este, a su vez, puede ser secundario si es por fallo hipofisario o terciario si es por una alteración hipotalámica.

El hipotiroidismo más frecuente es el primario y la causa más común es la tiroiditis de Hashimoto o tiroiditis crónica, una enfermedad autoinmune caracterizada por la existencia de un infiltrado linfocitario y abundantes células plasmáticas en la tiroides. La existencia de linfocitos citotóxicos sensibilizados y la producción de autoanticuerpos conducen a la destrucción del tejido tiroideo que provoca su deterioro progresivo y, en última instancia, la fibrosis de la glándula, con una secreción escasa o nula de hormonas tiroideas. En esta enfermedad es característica la existencia de autoanticuerpos contra antígenos de la glándula tiroides, como los anticuerpos antitiroperoxidasa, antitiroglobulina o antirreceptor de TSH. Los anticuerpos antitiroperoxidasa aparecen muy pronto en la activación autoinmune, incluso antes de que se eleve la TSH. Los anticuerpos antirreceptor de TSH pueden bloquear la acción de la TSH y provocar la atrofia de la tiroides.

Otras causas de hipotiroidismo primario son la tiroidectomía posquirúrgica (por cáncer o hipertiroidismo), la deficiencia o intoxicación por yodo, ingesta de algunos fármacos, como el litio, congénita (hipoplasia o aplasia), radiación de ^{131}I o rayos X, etc.

El hipotiroidismo hipofisario o secundario se debe a una alteración hipofisaria que causa el descenso de TSH. Como consecuencia de la reducida estimulación, la glándula

tiroides produce una cantidad insuficiente de T4 y T3. Frecuentemente, se produce la deficiencia simultánea de TSH y otras hormonas hipofisarias, como la GH, ACTH, FSH y LH.

El hipotiroidismo hipotalámico o terciario es muy infrecuente y se debe a una alteración hipotalámica que causa un descenso de TRH, por lo que no se estimula la liberación de TSH y, como consecuencia, disminuyen la T4 y la T3.

En la fase inicial del hipotiroidismo primario, la TSH se eleva antes de que el paciente esté sintomático y con la concentración de T4 todavía dentro del intervalo de referencia. Ésta es una situación de hipotiroidismo primario compensado o subclínico. Cuando hay hipotiroidismo primario grave, se observa una elevación notable de la TSH plasmática con T4 total y libre (fracción no unida a proteínas transportadoras) disminuidas, aunque no siempre se acompaña de una disminución de la T3. Esto se debe al hecho de que en el hay un incremento de la conversión periférica de la T4 a la T3, que mantiene la concentración de T3 normal hasta que el hipotiroidismo alcanza un grado intenso.

El hipotiroidismo congénito habitualmente es primario, debido a la malformación de la glándula tiroides (disgenesia tiroidea), a la alteración en la síntesis de hormonas tiroideas (dishormogénesis) o, con menos frecuencia, a una resistencia a la TSH. Además, un caso de cada 100.000 nacimientos se debe a una alteración central, en la cual hay deficiencia de TSH.

La deficiencia de hormonas tiroideas en los 2 primeros años de vida produce cretinismo, con alteración en el desarrollo del sistema nervioso central (retraso mental) y esquelético (corta estatura). Para evitarlo, es esencial el diagnóstico temprano, por lo que en numerosos países se realiza obligatoriamente la detección sistemática de esta enfermedad en recién nacidos. Para ello, se miden los niveles de TSH en la sangre obtenida del talón del recién nacido a los 2- 8 días, según los lugares, y recogida sobre papel absorbente. Estas determinaciones normalmente se centralizan en laboratorios autorizados y se realizan según protocolos estrictos. Con el empleo de TSH en lugar de T4 en la detección sistemática neonatal, se pueden diagnosticar las formas más leves de hipotiroidismo o deficiencias de yodo, caracterizadas sólo por un ligero aumento de la TSH. Un inconveniente es el hecho de que esta prueba no detecta el hipotiroidismo central congénito y, ante la sospecha de esta enfermedad, se debe realizar rápidamente una determinación de T4.

Con independencia de la causa del hipotiroidismo, sus efectos fisiológicos son siempre los mismos: fatiga y somnolencia extrema; lentitud muscular; disminución en edad ósea; retraso del crecimiento; intolerancia al frío; disminución de la frecuencia cardíaca (bradicardia); menor gasto cardíaco; en ocasiones, aumento del peso corporal; estreñimiento; lentitud mental; reducción del crecimiento del cabello y descamación cutánea; voz ronca; y, en los casos extremos, aspecto edematoso del cuerpo, denominado mixedema.

(Guyton & Hall, 2011)

- Controlar un tratamiento antitiroideo en el hipertiroidismo:

Por ejemplo, el tratamiento de la hiperplasia tiroidea con yodo radiactivo:

La glándula tiroides hiperplásica absorbe entre un 80 y un 90% de una dosis inyectada de yoduro en 24 horas. Si el yodo inyectado es radiactivo, destruirá a una fracción importante de todas las células secretoras tiroideas. Para saber la eficacia de los tratamientos, se realiza el seguimiento con la medición de TSH, además de las hormonas tiroideas.

(Guyton & Hall, 2011)

- Controlar tratamiento de reposición de T4 en hipotiroidismo:

El tratamiento de pacientes con hipotiroidismo primario suele ser la administración de T4. El seguimiento bioquímico del tratamiento se realiza cuantificando la T4 libre. Dado que se necesitan unos 2 meses para que la TSH se adecúe a la nueva concentración de hormonas tiroideas, su determinación tiene una utilidad limitada en las fases iniciales del tratamiento. No obstante, es válida para controlar la adhesión del paciente al tratamiento.

(González Hernández, 2014)

- Evaluar la respuesta a la prueba de estimulación de la TRH:

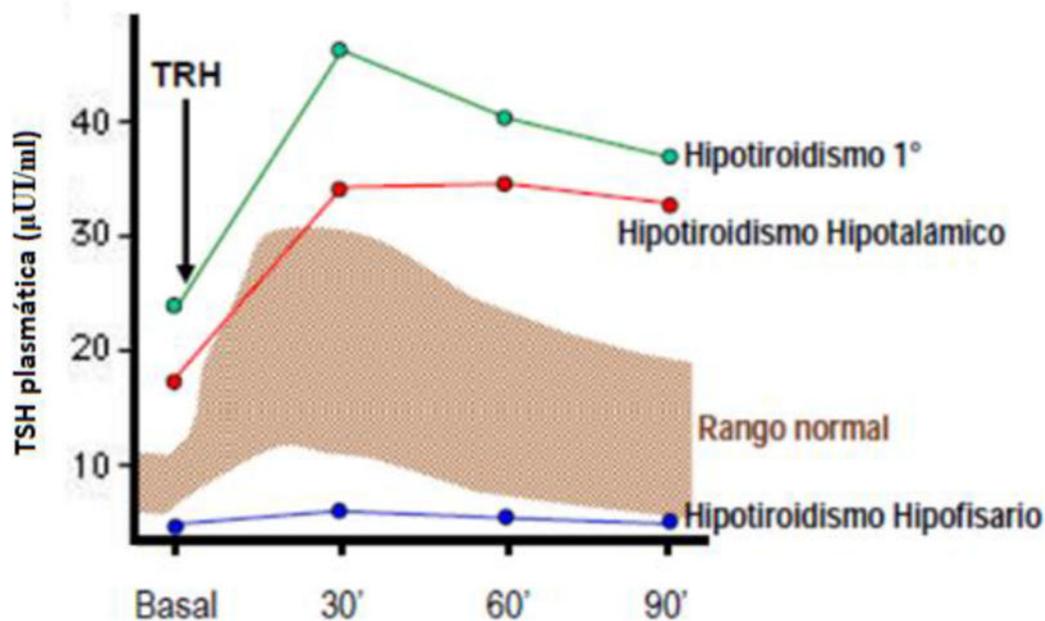
Las pruebas de estimulación se utilizan ante la sospecha de hipofunción de un órgano endócrino. Es así que, para diferenciar bioquímicamente el hipotiroidismo secundario

del terciario, puede emplearse una prueba de estimulación de TSH tras administrar 200 ug de TRH por vía intravenosa, se mide la concentración de TSH en una muestra basal y cada 30 minutos tras el estímulo durante 1:30 horas. En una respuesta normal, pasados los primeros 30 minutos, la TSH se eleva entre 5 y 30 $\mu\text{UI/ml}$. Si el hipotiroidismo es de origen hipotalámico, la TSH aumenta, aunque de forma más tardía, mientras que, si es de origen hipofisario, la elevación de TSH en sangre no supera las 5 $\mu\text{UI/ml}$. (Figura N° 8).

(González Hernández, 2014)

Figura N° 8: Test de estimulación con TRH

Test de estimulación con tiroliberina (200 μg) por vía endovenosa. Se mide la concentración de TSH en una muestra basal y cada 30 minutos tras el estímulo durante 1:30 horas.



Fuente: (María Gabriela ROPELATO)

2.5. Inmunoanálisis en la determinación de TSH:

La determinación del nivel sanguíneo de hormonas aporta información acerca del nivel hormonal en un momento específico.

Los primeros ensayos fueron desarrollados durante la década de los años 60 y fueron los radioinmunoensayos (RIAs). Estos ensayos, llamados de primera generación, presentaban una sensibilidad funcional de 1-2 $\mu\text{UI/ml}$. En la década de los años 80, con el desarrollo alcanzado en la tecnología de producción de anticuerpos monoclonales y en la concepción de un diseño de ensayo no competitivo tipo *sandwich* o de "2 sitios", comenzó el auge de los métodos inmunométricos (IMAs) en sus diferentes tipos en dependencia de la señal y reacción que la desencadena. Inicialmente fueron desarrollados los métodos inmunorradiométricos (IRMAs) de naturaleza isotópica y casi simultáneamente con estos los IMAs de naturaleza no isotópica. Entre estos últimos se encuentran los ensayos inmunoenzimométricos (IEMAs), los inmunofluorimétricos (IFMAs), los inmunoluminométricos (ILMAs) en sus subtipos de immunoquimioluminiscentes (ICMAs), inmunobioluminiscentes (IBMAs) e immunolectroquimioluminiscentes (IECMAs). Los IMAs de naturaleza no isotópica han permitido el incremento de la automatización. Los IRMAs y IEMAs son considerados métodos de segunda generación, y los IFMAs, ICMAs, IBMAs e IECMAs son de tercera generación.

Con la incorporación de técnicas de segunda (sensibilidad de 0.1 y 0.2 $\mu\text{UI/ml}$) y tercera (sensibilidad de 0.01 y 0.02 $\mu\text{UI/ml}$) generación, se ha logrado bajar los límites de detección hasta 0.001 $\mu\text{UI/ml}$, por esta razón se los denomina métodos ultrasensibles. Este mejoramiento considerable de las potencialidades analíticas de la determinación de TSH ha inducido un cambio profundo y radical en las estrategias de evaluación de la función tiroidea.

Utilizando el autoanalizador Access II con fundamento en inmunoensayo de quimioluminiscencia, los valores de TSH varían de 0,34 a 5.60 $\mu\text{UI/ml}$; cifras menores de 0.34 $\mu\text{UI/ml}$ son sugerentes de hipertiroidismo y mayores de 5.60 $\mu\text{UI/ml}$ de hipotiroidismo clínico (con T4L baja, inferior a 0.58 ng/dl en el sistema Access II) o subclínico (con T4L normal, 0.58 a 1.24 ng/dl en el sistema Access II). Es importante considerar que el valor normal de TSH aumenta con la edad.

2.6. Access II:

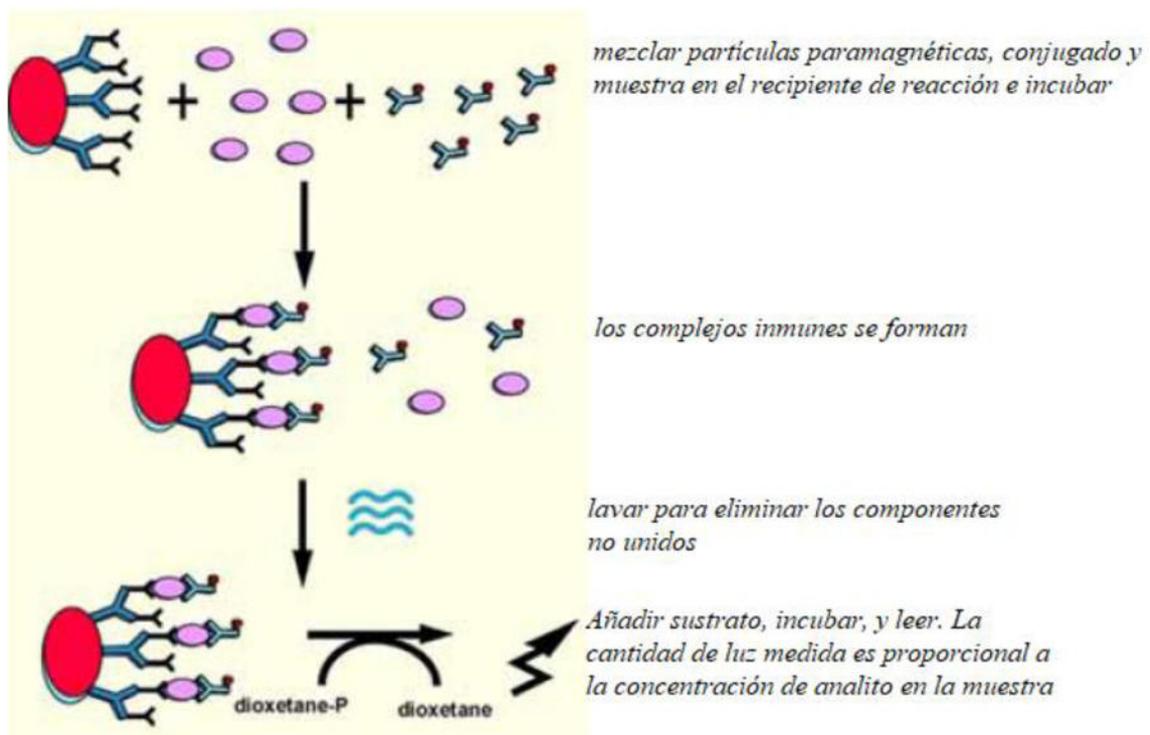
El sistema de inmunoensayo Access II es un analizador automatizado que realiza una amplia variedad de inmunoensayos, métodos analíticos que utilizan reacciones antígeno- anticuerpo para detectar o medir un antígeno o anticuerpo específico (analito) en muestras de líquidos corporales, como suero o plasma.

Los ensayos cuantitativos utilizan una curva de calibración para medir la cantidad de analito presente en una muestra. Los ensayos cualitativos utilizan un valor de corte de calibración para clasificar el resultado como reactivo o no reactivo para el analito que se está detectando.

El tipo de formato utilizado depende del analito que se mide, en el caso de TSH se mide de forma cuantitativa utilizando el formato tipo sándwich.

Los ensayos de sándwich (*Figura N° 9*) usan micropartículas paramagnéticas recubiertas con anticuerpos de captura para medir el antígeno en una muestra. Se mezcla una muestra con las micropartículas y un anticuerpo marcado con enzimas (conjugado). El analito de la muestra y el conjugado forman complejos inmunes que se unen a las micropartículas. Un campo magnético separa los complejos inmunitarios unidos a las micropartículas de los componentes no unidos, y un lavado elimina los componentes no unidos. Luego, se vuelve a suspender las micropartículas agregando tampón y girando el recipiente de reacción. En la fase de detección, se agrega un sustrato quimioluminiscente a las micropartículas paramagnéticas, el sistema Access II utiliza un sustrato a base de dioxetano, el cual reacciona con la enzima fosfatasa alcalina presente en los complejos inmunes unidos, esta enzima elimina un grupo fosforilo y la reacción química resultante libera luz. El luminómetro mide la luz emitida y el software del sistema convierte las unidades de luz relativas (RLU) en concentración del analito. Al agregar sustrato quimioluminiscente, los RLU medidos son directamente proporcionales a la cantidad de antígeno en la muestra.

Figura N° 9: Ensayos de tipo sándwich



(Beckman Coulter, 2011)

3. MARCO METODOLÓGICO:

3.1. Características analíticas de ambos métodos:

El método utilizado en la práctica diaria se tomó como referencia, este método usa como reactivo “*HYPERSensitive hTSH*” y presenta una imprecisión interensayo con un coeficiente de variación (CV) $\leq 20\%$ y una sensibilidad funcional de 0.01- 0.02 $\mu\text{UI/ml}$. Su intervalo de medición es de 0.01- 0.02 a 100 $\mu\text{UI/ml}$, de modo que las muestras por debajo de la sensibilidad funcional deben informarse como menores a 0.01 $\mu\text{UI/ml}$ y aquellas que estén por encima de 100 $\mu\text{UI/ml}$ deben informarse como mayor a esta concentración o diluirse utilizando 4 volúmenes del calibrador 0.

La especificidad analítica reflejada a través del porcentaje de reactividad cruzada con otros metabolitos se obtuvo añadiendo sustancias que producen reacciones cruzadas al calibrador Access *HYPERSensitive hTSH* Calibrator S2, con una dosis = 4,0 $\mu\text{UI/ml}$ y los resultados se muestran en la *Tabla N°1*:

Tabla N° 1: Porcentajes de reactividad cruzada (reactivo HYPERSensitive hTSH)

Sustancia	Analito añadido (mUI/ml)	Reactividad cruzada (%)
LH	3000	0.01
FSH	1000	0.09
hCG	1000000	No detectable

Las muestras que contienen hasta 5–9 g/dl (50–90 g/L) de albúmina, hasta 10 mg/dl (171 $\mu\text{mol/L}$) de bilirrubina, muestras lipémicas que contienen el equivalente a 1800 mg/dl (20,32 mmol/L) de trioleína, y muestras hemolizadas que contienen hasta 500 mg/dl (5 g/L) de hemoglobina, no afectan a la concentración de la TSH ensayada.

(Beckman Coulter, 2007)

El método nuevo, utiliza el reactivo *TSH 3rd* que se introdujo a mediados del año 2018 y presenta una imprecisión intraensayo con un CV $10 \leq \%$, un límite de detección de 0.005 $\mu\text{UI/ml}$ y un límite de cuantificación de 0.01 $\mu\text{UI/ml}$. Su intervalo de medición es de 0.005- 50 $\mu\text{UI/ml}$ de modo que las muestras por encima de esta concentración deben ser informadas como mayor a 50 $\mu\text{UI/ml}$ o diluidas utilizando 9 volúmenes de tampón de lavado Access II. La especificidad analítica reflejada a través del porcentaje de reactividad cruzada con otros metabolitos se muestra en la *Tabla N° 2*:

Tabla N° 2: Porcentaje de reactividad cruzada (reactivo TSH 3rd)

Sustancia	Concentración añadida máxima (mUI/ml)	Reactividad cruzada (%)
LH	3000	< 0.10 %
FSH	1000	< 0.10 %
hCG	1000000	< 1.010 %

Se presentan datos representativos de las interferencias en la *Tabla N° 3*:

Tabla N° 3: Interferencias

Sustancia	Concentración más alta añadida
Acetaminofeno	200 $\mu\text{g/ml}$
Acido acetilsalicílico	650 $\mu\text{g/ml}$
Bilirrubina (conjugada)	450 $\mu\text{g/ml}$
Bilirrubina (no conjugada)	400 $\mu\text{g/ml}$
Hemoglobina	10 mg/ml
Heparina (sódica)	3 U/ml
hGH	134 ng/ml
Seroalbúmina humana	60 mg/ml
Ibuprofeno	500 $\mu\text{g/ml}$
Multivitaminas	0.9 % (v/v)
Triglicéridos	33 mg/ml

(Beckman Coulter, 2017)

3.2. Materiales y métodos:

Se contaron con 40 muestras de plasma heparinizado de pacientes del Hospital Interzonal de Agudos Sor María Ludovica. La totalidad de las muestras fueron recogidas entre octubre y noviembre de 2018. Tras su centrifugación, se conservó una alícuota de cada muestra a -20 °C hasta su procesamiento.

Los dosajes se realizaron por ambas metodologías en el mismo día, realizando la totalidad del estudio en 8 días.

Todas las muestras correspondieron a niños, entre 2 meses y 15 años de edad, de los cuales 61.54% eran de sexo femenino y 38.46% de sexo masculino.

Para la determinación con el reactivo “*HYPERsensitive*” se contaron con calibradores provistos por el fabricante a 0.5, 4.0, 10.0 y 100.0 $\mu\text{UI/ml}$ (mUI/L).

Los calibradores empleados para la determinación con el reactivo nuevo, contenían concentraciones de 0.050, 0.30, 3.0, 15.0 y 50.0 $\mu\text{UI/ml}$.

Tabla N° 4: Procedimiento empleado:

Pasos	Detalles
1	Establecimiento del tiempo de recolección de 40 muestras heparinizadas: octubre- noviembre.
2	Tras la centrifugación, se realizaron alícuotas del plasma en eppendorf, rotulados con el número de identificación y se los conservó en freezer a -20 °C.
3	Establecimiento de duración de procesamiento: 8 días
4	Antes de procesar se descongeló las muestras a temperatura ambiente.
5	Verificación de calibración del equipo.
6	Procesamiento de las muestras de forma simple (no duplicado) con el método normalizado (utilización de 110 μl de muestra) y con el método nuevo (utilización de 55 μl de muestra)
7	Se cargaron los datos obtenidos en los programas XLSTAT y MedCalc con la utilización de los estadísticos correspondientes.

Estadísticos utilizados:

Se aplicó la prueba de normalidad de Shapiro- Wilk con el programa XLSTAT para los resultados arrojados por ambas metodologías.

Interpretación de la prueba:

- H0: La variable de la cual se extrajo la muestra sigue una distribución normal.
- Ha: La variable de la cual se extrajo la muestra no sigue una distribución normal.
- Si el valor-p es menor que el nivel de significancia $\alpha=0.05$, se debe rechazar la hipótesis nula (H0), y aceptar la hipótesis alternativa (Ha).

Posteriormente, se llevó a cabo un análisis comparativo de los métodos:

Con el programa XLSTAT y MedCalc se utilizó el estadístico Passing- Bablok que nos permite independizarnos de la exigencia de la utilización de valores de resultados que sigan una distribución paramétrica y de valores outliers que se puedan obtener. Este estadístico es específicamente utilizado para la comparación de dos métodos analíticos.

Cuando dos métodos producen resultados equivalentes, el sesgo constante será cero y el sesgo proporcional será uno. Los intervalos de confianza muestran el rango que probablemente contiene el sesgo constante y proporcional verdadero.

El coeficiente de correlación nos indica la fuerza y dirección de una relación lineal y proporcionalidad entre dos variables estadísticas. Se considera que dos variables están correlacionadas cuando los valores de una de ellas varían sistemáticamente con respecto a los valores de la otra.

Con el estadístico de Bland Altman se estimó el promedio del error sistemático en todo el rango de concentración evaluado y se los comparó con el error sistemático máximo permitido por variabilidad biológica para la TSH en plasma (14.14% según Westgard), ya que se considera que el error analítico debe ser menor a la variabilidad biológica.

El método Bland Altman es un método gráfico que mide la diferencia entre un nuevo método con respecto a uno ya establecido (sesgo) y establece un rango de confianza, entre los cuales se espera que se incluyan el 95 % de las diferencias.

En la representación, el eje Y corresponde a las diferencias entre los valores de los métodos, mientras que el eje X representa el valor de la media de las diferencias.

Si los métodos obtienen medias de valores similares, entonces la diferencia se situará en cero o próximo a cero. Si se encontraran lejos de este valor, significaría que los dos métodos producen resultados diferentes (el nuevo método sub o sobreestima el método de referencia).

Las representaciones de los límites de concordancia permiten juzgar visualmente la concordancia entre ambos métodos. Estos límites establecen el rango en el que se encontrarán aproximadamente el 95 % de las veces las diferencias en los datos de una técnica y la otra. Cuanto menor sea el rango entre los límites, mejor será la concordancia.

4. RESULTADOS:

4.1. Características generales.

Los resultados de la concentración de TSH ($\mu\text{UI/ml}$) que se obtuvieron por los dos métodos se muestran en la *Tabla N° 5*.

Tabla N° 5:

Resultados utilizando <i>HYPERsensitive hTSH</i> ($\mu\text{UI/ml}$)	Resultados utilizando <i>hTSH 3rd</i> ($\mu\text{UI/ml}$)
4.92	5.13
1.92	2.16
2.97	4
1.69	1.74
0.97	1.23
1.24	1.69
6.82	8.66
2.22	2.57
2.96	3.16
2.92	2.57
1.5	1.73
1.48	1.62
1.68	1.9
0.53	0.51
2.75	2.86
3.33	3.4
9.98	10.87
1.62	1.8
1.57	1.64
2.18	2.24
1.85	2.03
5.99	6.13
2.19	2.3
1.57	1.93
1.44	1.56
1.86	3.91
4.8	5.32
4.14	4.25

4.08	3.79
5.34	4.86
6.46	6.7
4.68	4.21
5.12	4.87
4.11	4.03
5.46	5.45
4.68	4.7
2.08	2.14
2.33	3.04
2.56	2.75
4.24	4.44

Tabla N° 6: Se representan los resultados de las medidas de media, desvío estándar y otros datos.

Variable	Observaciones	Mínimo	Máximo	Media	Desviación estándar
Resultados con HYPERSensitive hTSH	40	0.53	9.98	3.256	1.978
Resultados con hTSH 3rd	40	0.51	10.87	3.497	2.087

Prueba de normalidad de Shapiro- Wilk:

Tabla N° 7:

Prueba de Shapiro- Wilk (resultados utilizando reactivo <i>HYPERSensitive hTSH</i>):	
W	0.895
Valor- p	0.001
alfa	0.05

Puesto que el valor-p es menor que el nivel de significancia $\alpha=0.05$, se debe rechazar la hipótesis nula H_0 , y aceptar la hipótesis alternativa H_a .

Tabla N° 8:

Prueba de Shapiro- Wilk (resultados utilizando reactivo <i>hTSH 3rd</i>):	
W	0.877
p-valor	0.0004
alfa	0.05

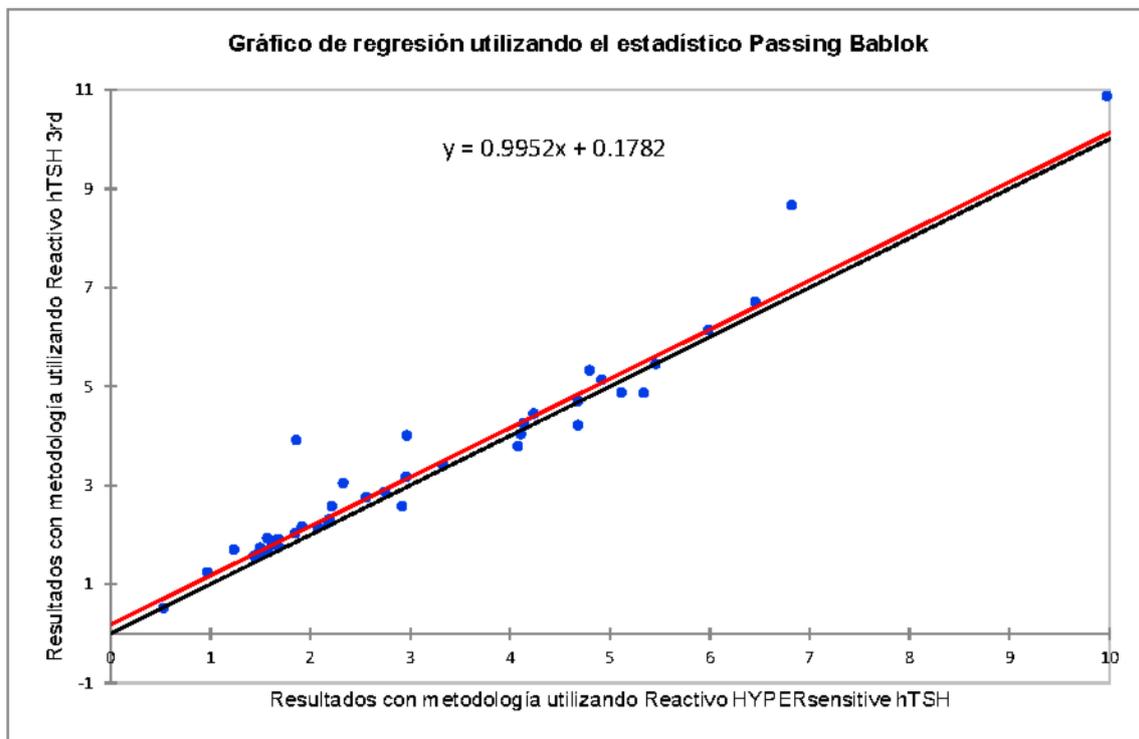
Puesto que el valor-p es menor que el nivel de significancia $\alpha=0.05$, se debe rechazar la hipótesis nula H_0 , y aceptar la hipótesis alternativa H_a .

4.2. Aplicación de Passing Bablok a los resultados:

El diagrama de dispersión muestra las observaciones del método de referencia (eje X) correspondiente a los valores de los resultados ($\mu\text{UI/ml}$) que se obtuvieron con el reactivo *HYPERSensitive*, en comparación con el método nuevo (eje Y), que corresponden a los valores ($\mu\text{UI/ml}$) obtenidos con el reactivo *TSH 3rd*.

Figura N° 10: Diagrama de dispersión utilizando Passing Bablok.

Se puede ver la recta de regresión en rojo y la recta negra corresponde a la recta con ordenada al origen 0 y pendiente 1.



Coefficiente de correlación: 0.975

Tabla N° 9: Datos del modelo.

	Valor	Intervalo de confianza inferior (95%)	Intervalo de confianza superior (95%)
Intercepción	0.178	-0.003	0.318
Pendiente	0.995	0.940	1.050

4.3. Aplicación del método de Bland Altman

Se muestra en la *Figura N° 11*:

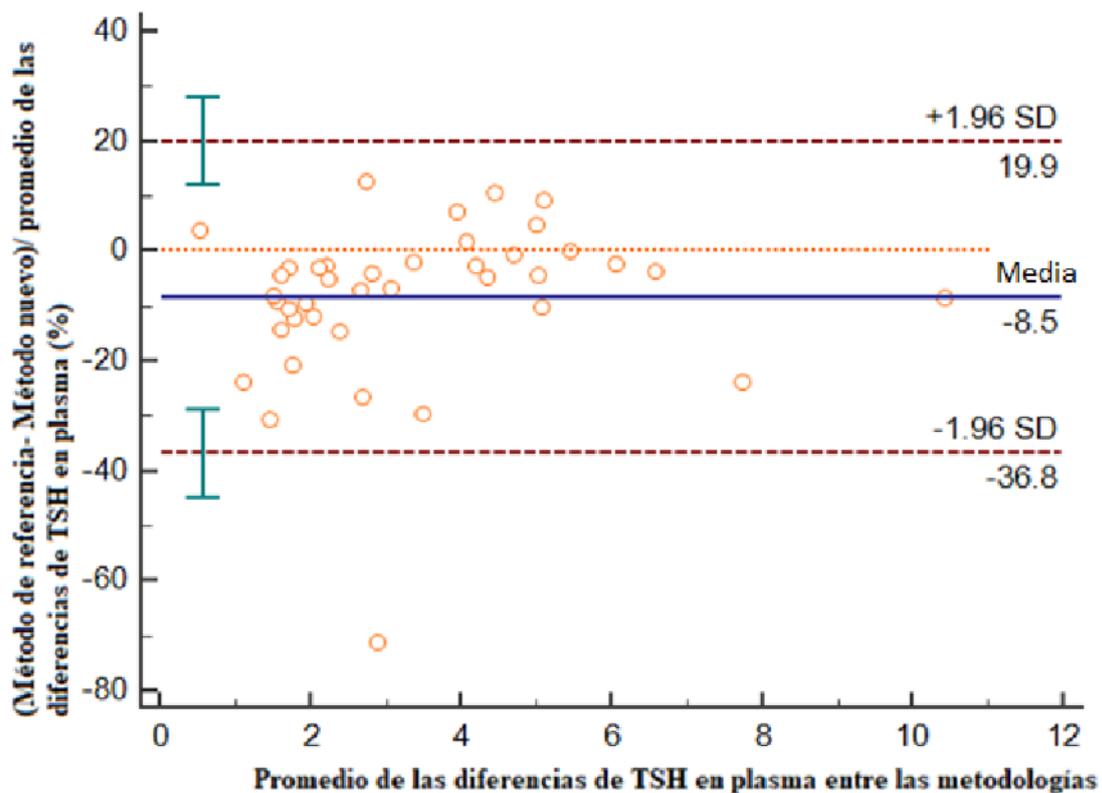
Significado de las líneas paralelas:

- Límite de concordancia superior (línea punteada roja superior): diferencia media + 1.96 SD.
- Diferencia media (línea azul): valor medio determinado por las diferencias de los métodos. Refleja el error sistemático.
- Límite de concordancia inferior (línea punteada roja inferior): diferencia media - 1.96 SD.

Figura N° 11: Gráfico de las diferencias de Bland Altman:

El gráfico muestra las diferencias entre las medidas realizadas por ambos métodos.

Este método muestra una distribución alrededor del valor medio y estima un sesgo de 8.5%.



5. DISCUSIÓN:

La TSH es un indicador de la integridad hipotálamo- hipófisis- tiroides y de la acción reguladora de los niveles circulantes de las hormonas tiroideas, por lo que su determinación reviste gran importancia dentro del conjunto de pruebas funcionales tiroideas, ya que lógicamente, ningún ensayo bioquímico por si solo puede definir la función tiroidea en todas las situaciones clínicas. Las estrategias analíticas pueden diferir, pero estas deben proporcionar la máxima información con la mejor eficiencia clínica y analítica posible, con vista a un diagnóstico y seguimiento preciso y eficiente.

Las diferencias que se tienen usando diferentes metodologías puede deberse a que los anticuerpos de captura tienen que estar presentes sobre el soporte sólido en una cantidad en exceso, se usan los anticuerpos del tipo monoclonal porque éstos pueden producirse en cantidades ilimitadas. Sin embargo, los mismos tienen limitado reconocimiento de epítopes. Cuando el analito en el plasma o suero es heterogéneo, tal como en el caso de las hormonas glicoproteicas hipofisarias, existe una posibilidad de que el anticuerpo de captura sólo reconozca un número limitado de las isoformas del analito en la muestra. Otros métodos que usan un anticuerpo monoclonal diferente reconocen una selección diferente de isoformas. Las isoformas que son reconocidas pueden no ser necesariamente biológicamente activas. Tales discordancias entre actividad inmunológica y biológica se observan en la medición de TSH en el hipotiroidismo central donde son secretadas isoformas inmuno- reactivas pero biológicamente inactivas. Este problema de reconocimiento selectivo puede llevar a diferencias entre las mediciones hechas con distintos métodos que, a pesar de estar estandarizados contra Preparaciones Internacionales de Referencia, usan anticuerpos monoclonales de captura diferentes y producen resultados distintos.

Por otra parte, puede existir interferencias en algunas muestras de pacientes como anticuerpos heterófilos, que afectan a determinados métodos para medir TSH (estos anticuerpos son de origen humano y están dirigidos contra las inmunoglobulinas animales de los reactivos, mimetizando la acción del analito).

Además, los estándares usados para TSH tienen que ser diluidos en una matriz de suero o plasma humano desprovisto de estos analitos, pero es imposible para los

fabricantes obtener cantidades suficientes de suero o plasma de tales características. Los fabricantes resuelven típicamente este problema seleccionando una matriz proteica que ellos creen dará un valor cero que es similar a los sueros humanos libres de analito. Desafortunadamente estas matrices son frecuentemente lejanas a lo ideal y pueden producir desvíos (bias) entre las mediciones de estándares y la de los sueros de los pacientes. La selección de una matriz también introduce diferencias entre los métodos de medidas.

6. CONCLUSIÓN:

Los dos métodos analizados muestran una correlación positiva estadísticamente significativa como se puede visualizar en el gráfico de dispersión.

La linealidad encontrada no descarta la posibilidad de modificar los intervalos de referencia en la población estudiada. Pero, si dicha linealidad no se hallaba, era necesario recurrir a más estudios para modificarlos de forma inmediata.

Los intervalos de confianza de la pendiente y la ordenada al origen de la recta incluyeron el 1 y el 0 respectivamente, demostrando que, si existe error sistemático proporcional o constante, ellos son insignificantes.

El sesgo hallado en todo el rango de concentración mostró ser menor al error sistemático máximo permitido por variabilidad biológica, lo que sugiere que los resultados de las metodologías podrían ser intercambiables.

Las limitaciones de este estudio incluyen por un lado el pequeño tamaño de la muestra y la falta de procesamiento por duplicado de ellas, y por otro, que no se ha realizado una evaluación extensa de los dos métodos, ya que queda fuera de los objetivos y posibilidades de este estudio.

En conclusión, la comparación realizada sugiere que los dos métodos podrían ser concordantes e intercambiables.

7. BIBLIOGRAFÍA

- Beckman Coulter. (2007). *Access HYPERSensitive* .
- Beckman Coulter. (2011). *Access 2 Manual de Referencia*. U.S:A: Beckman Coulter.
- Beckman Coulter. (2017). *Access TSH 3rd IS*.
- CLSI. (s.f.). Obtenido de <https://clsi.org/>
- Consultora GMigliarino. (s.f.). *Curso de comparabilidad de resultados* . Buenos Aires.
- González Hernández, Á. (2014). *Principios de bioquímica y patología molecular*. Barcelona: Elsevier.
- Guittelman. A, Aszpis.S. (1992). *Exploración Funcional Endócrina*. Buenos Aires: AKADIA.
- Guyton, A. C., & Hall, J. E. (2011). *Tratado de fisiología médica*. Barcelona: Elsevier.
- Harrison. (s.f.). www.accessmedicina.com. Obtenido de <https://accessmedicina.mhmedical.com/content.aspx?bookid=1717§ionid=114937872#1137943055>
- JAMES WESTGARD. (s.f.). *WESTGARDQC*. Obtenido de <https://www.westgard.com/biodatabase1.htm>
- Koepper, B. M., & Stanton, B. A. (2009). *Berne y Levy. Fisiología*. Barcelona: Elsevier.
- Lloret, S. M. (1 de abril de 2004). *Tesis en red*. Obtenido de <https://www.tesisenred.net/bitstream/handle/10803/10245/meseguer.pdf>
- Maccallini, G. (21 de agosto de 2014). *Laboratorio Hidalgo Análisis Clínicos*. Obtenido de <https://www.laboratorihidalgo.com/fotos/2014/07/Presentaci%C3%B3n%20JE%20-%20Dr.%20Maccallini%20.pdf>
- María Gabriela ROPELATO. (s.f.). Obtenido de http://www.aulavirtual-exactas.dyndns.org/claroline/backends/download.php?url=L0NsYXNlc18yN195XzI4X05vdmllbWJyZS8zX0Nhc29zX0NsaW5pY29zX0dlRC5wZG9Y%3D&cidReset=true&cidReq=EB_ENDO_II
- MARIUSZ W. SZKUDLINSKI, V. F. (2002). *Thyroid-Stimulating Hormone and Thyroid-Stimulating*. Marseille,: American Physiological Society.
- Revista educativa Partesdel.com. (1 de 03 de 2017). *Partesdel.com*. Obtenido de https://www.partesdel.com/partes_de_la_hipofisis.html
- Molina .S, Aguirre, Fernando. R, Sarapura. S. (2018). *Comparación de métodos en la determinación de albuminuria*. LACMII, Salta, Argentina.

Mores. M, Gerván. N, Salinas. M, Malano.D, Pascual. C, Sabagh. M. (2016). *Comparación de métodos en la determinación de HbA1C*. Servicio Bioquímico del Hospital San Roque, Córdoba,

Revista educativa Partesdel.com. (1 de 03 de 2017). *Partesdel.com*. Obtenido de https://www.partesdel.com/partes_de_la_hipofisis.html