

- REVISTA DE -

MEDICINA DE LABORATORIO

ISSN (versión papel): 2660-7484

ISSN (versión electrónica): 2660-7638

Vol. 1 Núm. 2 | mayo-agosto 2020 | Págs. 47-81

Editorial

Las pruebas diagnósticas en boca de todos 47
M. R. Caro Narros, E. Rodríguez Borja, V. Morales Elípe, F. Bandrés Moya

Carta al Director

In Memoriam: Dr. Rafael Molina Porto 49
A. M. Ballesta

Originales

Precision medicine in clinical laboratories in Spain: results from a survey addressed to Laboratory Medicine specialists 51
E. J. Laserna Mendieta, R. Mondéjar, G. M. Varo Sánchez, P. Sanz Martín, M. Molina Romero y M. O. Clemente

Utilidad de los parámetros de laboratorio en el pronóstico de los pacientes ingresados por COVID-19 61
S. de las Heras Flórez, J. Rodríguez Afonso, M. Carretero Pérez y M. Rebeca Sosa García

Revisión

El papel de los ritmos biológicos en la interpretación de los resultados en el laboratorio clínico. Conceptos básicos 69
M. C. Lorenzo Lozano, A. L. Blázquez Manzanera, M. E. Redín Sarasola, E. Prada de Medio, R. Blázquez Sánchez, L. Criado Gómez, F. Gascón Luna, D. Pineda Tenor, A. Cosmen Sánchez y S. Prieto Menchero

Casos Clínicos

Disnea y dolor torácico en paciente tratado de sífilis hace 20 años 76
C. Muñoz Peña, R. Cebollada Sánchez, M. T. Merino Laborda y P. Esteve Alcalde

Errores en las lecturas del pulsioxímetro en un paciente con metahemoglobina 79
A. Martín García, Á. Llorente Ujado, N. M. García Simón y F. A. Bernabeu Andreu

©AEBM-ML (2020)
©AEFA (2020)
©Arán Ediciones, S.L. (2020)

La *Revista de Medicina de Laboratorio* es una revista open access, lo que quiere decir que todo su contenido es accesible libremente sin cargo para el usuario individual y sin fines comerciales. Los usuarios individuales están autorizados a leer, descargar, copiar, distribuir, imprimir, buscar o enlazar a los textos completos de los artículos de esta revista sin permiso previo del editor o del autor, de acuerdo con la definición BOAI (Budapest Open Access Initiative) de open access. La reutilización de los trabajos puede hacerse siempre y cuando el trabajo no se altere en su integridad y sus autores sean adecuadamente referenciados o citados en sucesivos usos, y sin derecho a la producción de obras derivadas

Esta revista se publica bajo la licencia CC BY-NC-SA (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>)



ISSN electrónico: 2660-7638
ISSN papel: 2660-7484
Publicación trimestral
Depósito legal: M-14367-2020

Edición y administración:



Arán Ediciones, S.L.
Castelló, 128, 1.º
Tel. +34 91 745 17 29
28006 Madrid (España)

Suscripciones:

Tarifa de suscripción anual (España):

Profesionales 95 € + IVA - Instituciones 120 € + IVA

Tarifa de suscripción anual (internacional):

250 € + IVA

Aran Ediciones, S.L.
Castelló, 128, 1.º - 28006 Madrid (España) - Teléfono: +34 91 745 17 29
Correo electrónico: suscripc@grupoaran.com

Reservados todos los derechos. Ninguna parte de esta publicación puede ser reproducida, transmitida en ninguna forma o medio alguno, electrónico o mecánico, incluyendo fotocopias, grabaciones o cualquier sistema de recuperación de almacenaje de información, sin la autorización por escrito del titular del Copyright.

La editorial declina toda responsabilidad sobre el contenido de los artículos que aparezcan en esta publicación.

www.revistamedicinadelaboratorio.es



Equipo Directivo

DIRECTOR

Dr. Fernando Bandrés Moya
(Universidad Complutense de Madrid, Madrid)
bandres@ucm.es

EDITORA JEFE

Dra. M.^a del Rosario Caro Narros
(Complejo Asistencial de Segovia, Segovia)
rcaro@saludcastillayleon.es

EDITORES

Dr. Vicente Morales Elípe
(Hospital General Universitario de Ciudad Real, Ciudad Real)
vmelipe@sescam.jccm.es

Dr. Enrique Rodríguez Borja
(Hospital Clínico Universitario de Valencia, Valencia)
enrobor@gmail.com

Editores Asociados

Gil Ruiz, María Teresa
(Hospital General Nuestra Señora del Prado de Talavera de la Reina, Toledo)
tgruiz@sescam.jccm.es

Laserna Mendieta, Emilio
(Unidad de Investigación del Hospital General de Tomelloso, Ciudad Real.
Instituto de Investigación Sanitaria del Hospital Universitario
de La Princesa, Madrid)
ejlaserna@gmail.com

López Gómez, Juan Manuel
(Hospital Univ. de Badajoz, Badajoz)
lopezhospi@gmail.com

M.^a Luisa Rodríguez Triguero

(Hospital Universitari i Politècnic La Fe)
martinez_mlutri@gva.es

Pineda Tenor, Daniel
Hospital de Antequera
(Área de Gestión Sanitaria Norte de Málaga)
dpinedatenor@gmail.com

San Miguel Hernández, Ángel
(Hospital Univ. Río Hortega, Valladolid)
asanmi@saludcastillayleon.es

Consejo Asesor

Dr. Rui Manuel Amaro Pinto
Profesor en la Facultad de Farmacia.
Universidad de Lisboa. Portugal

Adela Castañeda de la Mata
Especialista en Hematología y Hemoterapia.
Hospital Universitario de Fuenlabrada.
Fuenlabrada, Madrid. España

Prof Gilbert C. Faure
MD, PhD. Laboratoire d'Immunologie.
Faculté de Médecine.
Université Lorraine and CHU Nancy. France

Prof. Jesús Miguel García-Foncillas
Director, Translational Oncology Division.
Research Institute FJD-UAM. Madrid, España

Montserrat González Estechea
Jefe de Servicio de Bioquímica Clínica.
Hospital General Universitario Gregorio Marañón.
Madrid, España

Dr. Juan Miguel Guerrero Montávez
Jefe de Servicio de Bioquímica Clínica.
Hospital Universitario Virgen del Rocío. Sevilla.
Catedrático vinculado a la Universidad de Sevilla.
Sevilla, España

Gustav Kovac
Slovak Medical University: Institute of Chemistry,
Clinical Chemistry and Laboratory Medicine.
Bratislava, Slovak Republic

Prof. Vesna Kusec
MD PhD. University Hospital Centre Zagreb. Clinical
Institute of Laboratory Diagnosis Zagreb. Croatia

Juan Ernesto del Llano-Señaris
Presidente de la Fundación Gaspar Casal.
Madrid, España

Dr. Franklim Marques
Profesor de la Facultad de Farmacia. Universidad de
Porto. Laboratorio de Bioquímica. Porto, Portugal

Luis Nogueira Martins
Centro de Medicina Laboratorial Germano de Sousa.
Lisboa, Portugal

Dr. Leverton Ortiz Cáceres
Jefe del Laboratorio Clínico. Hospital de la Serena.
Chile

Wytze Pier Oosterhuis
Zuyderland Medical Center. Heerlen/Sittard.
The Netherlands

Dra. M.^a del Carmen Pasquel
Directora General Revista DIV/RIA/IFCC.
Asesora Regional de la Fundación Wiener. Ecuador

Prof. Roberto Verna
MD PhD. Professor Faculty of Medicine.
Sapienza University of Rome. President of World
Association of Societies of Pathology and
Laboratory Medicine. President of World Pathology
Foundation. Rome, Italy



Santiago Prieto Menchero

**Presidente de la Asociación Española
de Biopatología Médica-Medicina de Laboratorio (AEBM-ML)**



Antonio Rider Pérez

**Presidente de la Asociación Española
del Laboratorio Clínico**



- REVISTA DE - MEDICINA DE LABORATORIO

www.revistamedicinadelaboratorio.es

Vol. 1 Núm. 2 | mayo-agosto 2020

Sumario

Editorial

Las pruebas diagnósticas en boca de todos 47
M. R. Caro Narros, E. Rodríguez Borja, V. Morales Elipe, F. Bandrés Moya

Carta al Director

In Memoriam: Dr. Rafael Molina Porto 49
A. M. Ballesta

Originales

La medicina de precisión en los laboratorios clínicos en España: resultados de una encuesta dirigida a especialistas en Medicina de Laboratorio 51
E. J. Laserna Mendieta, R. Mondéjar, G. M. Varo Sánchez, P. Sanz Martín, M. Molina Romero y M. O. Clemente

Utilidad de los parámetros de laboratorio en el pronóstico de los pacientes ingresados por COVID-19 61
S. de las Heras Flórez, J. Rodríguez Afonso, M. Carretero Pérez y M. Rebeca Sosa García

Revisión

El papel de los ritmos biológicos en la interpretación de los resultados en el laboratorio clínico. Conceptos básicos 69
M. C. Lorenzo Lozano, A. L. Blázquez Manzanera, M. E. Redín Sarasola, E. Prada de Medio, R. Blázquez Sánchez, L. Criado Gómez, F. Gascón Luna, D. Pineda Tenor, A. Cosmen Sánchez y S. Prieto Menchero

Casos Clínicos

Disnea y dolor torácico en paciente tratado de sífilis hace 20 años 76
C. Muñoz Peña, R. Cebollada Sánchez, M. T. Merino Laborda y P. Esteve Alcalde

Errores en las lecturas del pulsioxímetro en un paciente con metahemoglobina ... 79
A. Martín García, Á. Llorente Ujado, N. M. García Simón y F. A. Bernabeu Andreu



- REVISTA DE -
**MEDICINA DE
LABORATORIO**

www.revistamedicinadelaboratorio.es

Vol. 1 No. 2 | May-August 2020

Summary

Editorials

Diagnostic tests on everyone's lips 47
M. R. Caro Narros, E. Rodríguez Borja, V. Morales Elipe, F. Bandrés Moya

Letter to the Editor

In Memoriam: Dr. Rafael Molina Porto 49
A. M. Ballesta

Originals

Precision medicine in clinical laboratories in Spain: results from a survey
addressed to Laboratory Medicine specialists 51
*E. J. Laserna Mendieta, R. Mondéjar, G. M. Varo Sánchez, P. Sanz Martín,
M. Molina Romero y M. O. Clemente*

Usefulness of the laboratory parameters in the prognosis of patients hospitalized
with COVID-19 61
S. de las Heras Flórez, J. Rodríguez Afonso, M. Carretero Pérez y M. Rebeca Sosa García

Review

Role of biological rhythms in the interpretation of clinical laboratory results.
Basic concepts 69
*M. C. Lorenzo Lozano, A. L. Blázquez Manzanera, M. E. Redín Sarasola,
E. Prada de Medio, R. Blázquez Sánchez, L. Criado Gómez, F. Gascón Luna,
D. Pineda Tenor, A. Cosmen Sánchez y S. Prieto Menchero*

Case Reports

Dyspnea and chest pain in a patient treated for syphilis 20 years ago 76
C. Muñoz Peña, R. Cebollada Sánchez, M. T. Merino Laborda y P. Esteve Alcalde

Errors in pulse oximeter readings in a patient with methemoglobin 79
A. Martín García, Á. Llorente Ujado, N. M. García Simón y F. A. Bernabeu Andreu



Las pruebas diagnósticas en boca de todos

Diagnostic tests on everyone's lips

En este momento en el que seguimos inmersos en una pandemia, apreciamos que este virus nos ha permitido a todos a reflexionar sobre distintos aspectos, tales como la forma en que tenemos de relacionarnos con los demás o cómo nos desenvolvemos en sociedad. Los cambios han llegado de forma abrupta, modificando de raíz nuestro modelo de vida actual que, previsiblemente, no será el mismo que era antes de esta pandemia.

Temas como el lavado de manos o el uso de mascarilla cobran especial relevancia en nuestra vida diaria y a través de ellos adquirimos conciencia de que lo que cada uno hace afecta al resto. Se pone de manifiesto que la suma del esfuerzo individual repercute en una mejor salud de la sociedad en su conjunto. ¿Podemos conseguir “algo mejor” para nuestros laboratorios?

Se ha hablado mucho en los últimos meses sobre “los test”. Nunca antes las pruebas de laboratorio habían estado tan en boca de todos. La ansiedad por salir pronto de esta situación y la gran mediatización de todos los aspectos relacionados con el virus han hecho que se despierte un interés general por las pruebas diagnósticas. Es fácil que escuchemos en todos los ámbitos afirmaciones categóricas que tienen que ver con ellas, tales como “el test le ha dado negativo, está sano”. Cualquier especialista del ámbito del Laboratorio Clínico plantearía cuestiones acerca del tipo de prueba realizada, su procedimiento de medida, su sensibilidad y especificidad, el lugar de obtención de la muestra, la temperatura de almacenamiento, el tiempo de transporte o el contexto clínico en el que se realizó la prueba y en base a las respuestas, tendría algo que opinar, que probablemente no iría en consonancia con lo que interpretó esa persona.

Para alguien ajeno al ámbito del laboratorio los test son lo que marca “sí o no” “blanco o negro” y si algo tenemos claro en los laboratorios es que existe una amplia gama de colores y que para que podamos informar de un resultado, muchos factores han tenido que ser tenidos en cuenta. Los resultados, además, dependen no solo de los errores intrínsecos de las pruebas realizadas sino también de la variación biológica, lo que hace poco probable que en nuestras especialidades podamos tener fe ciega en un número, siempre vemos un “halo” a su alrededor. Quizás no hemos sabido llegar a la sociedad y concienciarla de la necesidad de tener en cuenta estos aspectos cuando vamos a recoger una muestra o acudimos a realizarnos una extracción.

También se ha puesto de manifiesto el hecho de que podemos encontrar al alcance de nuestras manos la posibilidad de acceder a test diagnósticos por muchas vías que se escapan de la legalidad actual en España, por ejemplo a través de internet. ¿Conocemos todos si esto puede hacerse?, ¿tenemos algo que decir como especialistas sobre estas prácticas? La venta y la publicidad que se hace de estos productos están reguladas por el Real Decreto 1662/2000, de 29 de septiembre, sobre productos sanitarios para diagnóstico «in vitro» (1). En él se indica que solo podrán utilizarse en España productos que cumplan las disposiciones del presente Real Decreto y por profesionales cualificados y debidamente adiestrados, dependiendo del producto de que se trate. Con respecto a los mensajes publicitarios y/o promocionales dirigidos al público de los productos contemplados en este Real Decreto, dice que serán objeto de autorización previa por las autoridades sanitarias de las comunidades autónomas y deberán reflejar la exactitud de los datos obtenidos con la utilización del producto, así como las limitaciones, restricciones o advertencias necesarias para que los productos alcancen su finalidad prevista. En la publicidad de los productos dirigida al público y efectuada por particulares se prohíbe cualquier mención que haga referencia a una autoridad sanitaria o a recomendaciones que hayan formulado científicos, profesionales de la salud u otras personas que puedan, debido a su notoriedad, incitar a su utilización. Prohíbe además efectuar publicidad dirigida

al público de los productos de autodiagnóstico (con excepción de los destinados al diagnóstico del embarazo y de la fertilidad, y detección del VIH) y de los productos para el diagnóstico genético. Este Real Decreto también regula la venta al público dichos productos, que se realizará exclusivamente a través de las oficinas de farmacia y para los que se exigirá la correspondiente prescripción, no siendo necesaria esta regulación en los productos para el diagnóstico del embarazo y de la fertilidad, determinación de la glucemia y detección del VIH. Además indica que queda prohibida la venta al público por correspondencia o por procedimientos telemáticos de los productos de autodiagnóstico y que, por razones de salud pública, no se pondrán a disposición del público los productos para el diagnóstico genético.

Cabe puntualizar que actualmente los test que se realizan para la detección de anticuerpos frente al coronavirus no tienen la catalogación de producto de autodiagnóstico.

Ojalá que entre todos los que formamos parte de los laboratorios clínicos sepamos aprovechar el interés generado en la sociedad por nuestro trabajo, para clarificar y dar a conocer las cuestiones que cada día nos preocupan cuando validamos nuestros informes, para que todos informemos cuando tengamos ocasión de hacerlo sobre las recomendaciones de toma de muestra, temperatura de conservación o tiempos de transporte y no se banalicen. Aunque el coronavirus está hoy muy presente en nuestra vida, en algún momento pasaremos página y vendrán otros temas a ocupar su lugar, pero seguiremos teniendo que acudir a las salas de extracción y seguiremos recogiendo muestras de orina, por ejemplo, y si hemos sido capaces de que a nuestro alrededor haya calado la idea de que todo es importante en el proceso analítico, eso que tendremos ganado para el futuro.

María del Rosario Caro Narros, Enrique Rodríguez Borja,
Vicente Morales Elipe, Fernando Bandrés Moya
Directores de la *Revista de Medicina de Laboratorio*

BIBLIOGRAFÍA

1. Real Decreto 1662/2000, de 29 de septiembre, sobre productos sanitarios para diagnóstico "in vitro". BOE núm. 235, de 30/09/2000. Disponible en: <https://www.boe.es/eli/es/rd/2000/09/29/1662/con>



Carta al Director

DOI: 10.20960/revmedlab.00051

In Memoriam: Dr. Rafael Molina Porto

In Memoriam: Dr. Rafael Molina Porto



Cuando me sugirieron desde la *Revista de Medicina de Laboratorio* hacer una nota necrológica en memoria del Dr. Rafael Molina Porto, la verdad es que me sentí honrado y a la vez temeroso. Temía que la estrecha relación mantenida con él, durante 35 años, y el dolor que me produjo su pérdida me impidieran plasmar, en pocas palabras, la grandeza del personaje.

Conocí a Rafa, me vais a permitir la confianza, cuando yo estaba recién llegado al Servicio de Bioquímica Clínica del Clínic de Barcelona. Rafa, por aquel entonces, era estudiante en la Facultad de Medicina y trabajaba como técnico de laboratorio. Recuerdo perfectamente cómo se pasaba la tarde leyendo proteinogramas.

Hablando con él, me contaba que le interesaba mucho la Oncología Médica y que asistía como alumno al Servicio de Coordinación Oncológica. Le propuse colaborar en un grupo que trabajaba en lo que empezaba a vislumbrarse como lo que luego serían los marcadores tumorales. Aunque la AFP había sido descrita en 1963 y el CEA en 1965, diez años después, los métodos para su determinación eran aún muy rudimentarios.

Acabó la carrera en 1979 y en junio de 1980 presentó su primera comunicación oral en el XXVII Congreso de la AEBM, celebrado en Jerez, y lo hizo de forma admirable. No recuerdo bien el título, quizás "PHI Y CEA en pacientes con cáncer de mama"; lo que sí recuerdo es que obtuvo el Premio DADE a la mejor comunicación oral del congreso.

Hizo una residencia brillante en Análisis Clínicos y al final de ella, se incorporó como Médico Adjunto del Servicio de Bioquímica Clínica, integrándose a la que ya entonces comenzábamos a llamar Unidad de Estudio del Cáncer. Fueron años intensos de proyección internacional en los que, con un inglés más que deficiente, había que aprenderse las comunicaciones de memoria. Recuerdo una anécdota, en el Congreso de la International Society for Oncodevelopmental Biology and Medicine (ISOBM), en París en 1985, Rafa tenía dominada su presentación, pero cuando pidió la primera diapositiva y salió al revés, no encontraba las palabras para pedir que se la cambiaran.

En aquellos años se multiplicó la participación en congresos y reuniones científicas nacionales e internacionales y, en 1986, lo que comenzó como un proyecto de cursillo o seminario, terminó siendo el I Simposio Internacional sobre Biología y Utilidad Clínica de los Marcadores Tumorales, que tuvo lugar en Barcelona y que contó con más de 300 asistentes y con ponentes de gran talla nacional e internacional. Fue el primero de una serie que, con carácter bianual, se han seguido desarrollando. En la actualidad, se ha consolidado como uno de los eventos más importantes sobre el tema, a nivel mundial.

Se apostó además por ISOBM, porque era una sociedad científica multidisciplinar que aglutinaba a científicos de todo el mundo interesados en los marcadores tumorales. Se presentaron comunicaciones en Helsinki en 1986, en Quebec en 1987 y se consiguió que Barcelona fuera la sede del congreso en 1988. A partir de ahí, Rafa se proyectó internacionalmente, formando parte del International Board de la ISOBM, de la que llegó a ser presidente. También fue fundador del European Group of Tumor Markers (EGTM), del que era *chairman* desde 2010. Un grupo muy activo en donde se han gestado las más importantes guías clínicas para el correcto uso de los marcadores tumorales. Rafael Molina era *chairman* del grupo desde 2010.

En 1989 dio un gran impulso a su formación realizando una estancia de un año en los Estados Unidos en el Departamento de Oncología del Health Science Center de San Antonio (Texas). En 1990 defendió su tesis doctoral sobre Marcadores Tumorales en cáncer de mama, obteniendo la máxima calificación.

Fue un gran defensor del papel que el profesional del laboratorio debe desempeñar, no limitándose a generar resultados, sino a compartir con el resto de profesionales la responsabilidad del manejo clínico del paciente.

Aparte de su dedicación a la docencia de pregrado, en calidad de Profesor Asociado de la Facultad de Medicina de Barcelona, fue organizador de innumerables cursos de formación postgraduada, en colaboración con sociedades científicas, entre los que hay que mencionar el Curso Teórico Práctico sobre Utilidad Clínica de los Marcadores Tumorales, del que se han hecho 15 ediciones y por el que han pasado gran parte de los residentes y profesionales del Laboratorio de toda España. La última edición tuvo lugar en febrero de este año.

De su faceta investigadora hay que destacar su pertenencia al grupo de investigación sobre Marcadores Biológicos del Cáncer, del Instituto de Investigaciones Biomédicas August Pi i Sunyer (IDIBAPS), desde su creación en 1993. Fue miembro de la Comisión de Marcadores Biológicos del Cáncer, de la Sociedad Española de Química Clínica (SEQC), desde su creación en 2003, y de la que llegó a ser presidente en 2010. Ha sido autor de diversos libros y monografías y más de 300 artículos en revistas nacionales e internacionales, así como coordinador de varios proyectos de investigación financiados por agencias nacionales e internacionales.

Se puede decir que Rafa era un hombre del Clínic de Barcelona, institución en la que desarrolló toda su carrera y en la que participó en todo momento, no solo en el ámbito del Servicio de Bioquímica y Genética Molecular, del que formaba parte como *consultor senior*, sino también en estructuras de gestión y representación, como el Comité de Delegados Médicos y la Asociación Profesional que presidió con gran cordura.

Comunicador infatigable, profesor con talento, investigador minucioso, pero sobre todo una gran persona.

En los 17 años que tuve la honra de dirigir el Servicio de Bioquímica Clínica del Hospital Clínic de Barcelona, no cabe duda que el Dr. Molina ha sido el colaborador que ha desarrollado una carrera más completa y constituye para mí una gran satisfacción el haber podido contribuir a colocarlo en el inicio de un camino que luego él solo, con su esfuerzo, ha recorrido hasta convertirse en una figura señera a nivel nacional e internacional.

Querido Rafa, allí donde estés, descansa en paz.

Antonio M. Ballesta
Director Médico
Analiza. Sociedad de Diagnóstico
Madrid



Original

Precision medicine in clinical laboratories in Spain: results from a survey addressed to Laboratory Medicine specialists

La medicina de precisión en los laboratorios clínicos en España: resultados de una encuesta dirigida a especialistas en Medicina de Laboratorio

Emilio José Laserna Mendieta^{1,2,3,4}, Rufino Mondéjar^{1,5,6}, Gema María Varo Sánchez^{1,7}, Pilar Sanz Martín^{1,2}, Marta Molina Romero^{1,8} y María Orera Clemente^{1,9}

¹Comité de Medicina Personalizada. Asociación Española de Biopatología Médica-Medicina de Laboratorio (AEBM-ML). Madrid. ²Servicio de Análisis Clínicos. Hospital Universitario de La Princesa. Madrid. ³Instituto de Investigación Sanitaria de La Princesa. Madrid. ⁴Unidad de Investigación. Hospital General de Tomelloso. Tomelloso, Ciudad Real. ⁵Unidad de Gestión Clínica-Laboratorios. Hospital Universitario Puerto Real. Cádiz. ⁶Centro de Investigación Biomédica en Red-Cáncer (CIBERONC). Madrid. ⁷Servicio de Análisis Clínicos. Hospital de Riotinto. Minas de Riotinto, Huelva. ⁸CEIFER Biobanco-NextClinics. Granada. ⁹Unidad de Genética. Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid

Received: 29/06/2020
Accepted: 28/08/2020

Correspondence: Emilio José Laserna Mendieta. Servicio de Análisis Clínicos e Instituto de Investigación Sanitaria de La Princesa. Hospital Universitario de La Princesa. C/ Diego de León, 62. 28006 Madrid
e-mail: ejlaserna@sescam.jccm.es

Keywords:

Personalized medicine. Precision medicine. Laboratory medicine. Surveys. Medical training.

ABSTRACT

Introduction: precision medicine (PM) has become a reality in clinical practice, however implementation of this approach is challenging due to their novelty and the highly-specialized knowledge required. Our aim is to describe the situation of PM in clinical laboratories in Spain by reporting the results of a survey addressed to Laboratory Medicine specialists.

Materials and methods: the survey was created by the PM Committee of the Spanish Association of Medical Biopathology-Laboratory Medicine (AEBM-ML). The questionnaire was designed to assess several aspects of PM, mainly: knowledge, specific training, implementation in clinical practice and role of the clinical laboratory. Some survey results were analysed statistically employing Chi-square and Fisher's exact tests.

Results: a total of 113 responses were received from 68 different hospitals/clinics, 77.9 % from staff and 22.1 % from residents in training. Among

Conflict of interests: The authors declare no conflict of interests.

DOI: 10.20960/revmedlab.00034

Laserna Mendieta EJ, Mondéjar R, Varo Sánchez GM, Sanz Martín P, Molina Romero M, Orera Clemente M. Precision medicine in clinical laboratories in Spain: results from a survey addressed to Laboratory Medicine specialists. Rev Med Lab 2020;1(2):51-60

those who had ever heard of PM, 84.9 % knew the concept of PM, but almost half of them did not know whether PM tests were incorporated into clinical guidelines in their centres and had never received any PM training. In 23 centres (33.8 %), an own PM portfolio was developed. In them, almost 40 % of the respondents stated that laboratory specialists have no role in management of PM tests, and that they do not participate or know about their participation in PM research projects.

Conclusions: although PM is a well-known concept among laboratory professionals, our survey shows that they have a limited role in implementing PM tests.

Palabras clave:

Medicina personalizada. Medicina de precisión. Medicina de laboratorio. Encuestas. Formación médica.

RESUMEN

Introducción: la medicina de precisión (MP) es una realidad en la práctica clínica, aunque su implementación supone un reto pues requiere un conocimiento altamente especializado. Nuestro objetivo es describir la situación de la MP en los laboratorios clínicos españoles mediante la descripción de los resultados de una encuesta dirigida a especialistas en Medicina de Laboratorio.

Material y métodos: la encuesta fue creada por el Comité de MP de la Asociación Española de Biopatología Médica - Medicina de Laboratorio (AEBM-ML) y diseñada para evaluar varios aspectos de la MP: conocimiento, formación, implementación en práctica clínica y papel del laboratorio clínico. Algunos resultados fueron analizados estadísticamente con los test chi-cuadrado y exacto de Fisher.

Resultados: se recibieron 113 respuestas de 68 hospitales/clínicas diferentes, un 77,9 % de especialistas y un 22,1 % de residentes. Entre los que señalaron haber oído sobre MP, un 84,9 % conocía el concepto. No obstante, casi un 50 % desconocían si las pruebas de MP estaban incorporadas en guías clínicas y un porcentaje similar no habían recibido nunca formación en MP. En 23 centros (33,8 %), existe una cartera propia de MP. En ellos, en torno a un 40 % de los participantes afirmó que los especialistas del laboratorio clínico no tienen un papel en la supervisión de pruebas de MP ni tampoco participan (o desconocen su participación) en proyectos de investigación en MP.

Conclusiones: aunque el concepto de MP es ampliamente conocido entre los profesionales del laboratorio clínico, nuestra encuesta muestra que su papel es limitado en la implementación de pruebas de MP.

INTRODUCTION

The development of high-performance “omic” technologies, such as genome and complete exomes sequencing, along with the advancement of others such as proteomics, metabolomics, pharmacogenomics, epigenomics, transcriptomics or metagenomics, is accelerating incorporation of personalized medicine into clinical practice (1).

Personalized or precision medicine (PM) is defined as the identification and application of the most effective preventive, diagnostic and therapeutic approaches for each patient (2). PM is a powerful tool to improve treatment effectiveness, avoid unnecessary side effects and rationalize healthcare spending (3).

In 1998 the US Food and Drug Administration (FDA) approved Herceptin for the treatment of breast cancer,

which laid the groundwork for what would be called PM. Herceptin was effective, but only in patients with mutations in the HER2 gene, thereby becoming the first drug in which a gene was associated with a specific treatment (4).

PM is no longer a novel concept, but has become an inherent part of medical practice. PM is especially relevant in pathologies such as cancer, where wide tumour heterogeneity is the main enemy in the fight against it (5,6).

The continuous and recent progress of technologies associated with obtaining molecular and genetic data in individuals, such as DNA sequencing platforms, is allowing an unprecedented advance in biomedical research, expanding knowledge of the molecular basis of genetic diseases and identifying a large number of biomarkers. The introduction of these new analytic techniques, as well as the processing of the associat-

ed data, constitutes a paradigm shift for healthcare, enabling new approaches to address multiple diseases. However, its application on a wide scale also poses important challenges to the incorporation into clinical practice of those approaches with demonstrated safety and cost-effectiveness (7,8).

Clinical laboratories are experiencing large organizational and management changes due to the introduction of PM tests into clinical practice. It is now widely accepted that laboratories should play a role in the four steps required to implement PM assays: research (identification of new biomarkers), internal development (analytical validation), clinical utility (in the context of cost-effectiveness) and data analysis (results report) (9,10). A recent paper showed the importance of laboratory data, both classical biomarkers and those from omics platforms, in longitudinal monitoring of patients, leading to actionable health measures based on PM (11). Therefore, it is important to know how laboratory professionals face this challenge and whether they are successful and recognized players in PM. To date, only one survey in Europe has specifically addressed evaluation of PM from the laboratory point of view. It showed that laboratory specialists were aware of the changes needed in terms of skills, organization and collaboration with other disciplines and specialists (12).

Our aim was to obtain an overall picture of PM situation in clinical laboratories in Spain. To achieve this aim, we designed a survey addressed to specialists in Laboratory Medicine which included questions regarding several aspects of PM: knowledge, specific training, implementation in clinical practice and the role of clinical laboratory professionals in management and research. Here, we describe the main results of this survey, and also some observed differences between professionals (staff vs. residents) regarding training in PM and about the role of clinical laboratory in PM depending on its centre (those in hospitals with their own PM portfolio vs. those without it).

MATERIAL AND METHODS

The survey was developed by the Personalized Medicine Committee of the Spanish Association of Medical Biopathology-Laboratory Medicine (AEBM-ML). The web link to the survey was sent through the email distribution list of the AEBM-ML comprising specialists and residents in the different specialties of Laboratory Medicine who agreed to receive information about news and initiatives of the association. Survey was opened during six months, from March to August in 2018. Participants/respondents were anonymous and a close-ended questionnaire with 30 items was used (Annex 1).

General demographic information requested in the survey included work centre, age, medical specialty, professional situation (staff or specialist in training) and academic degree.

The first questions in the survey aimed to determine overall knowledge about PM and training of participants in PM aspects (questions 0 to 6). In the preliminary question (question 0), participants were asked if they had ever heard of PM. If the answer was no, they were asked to stop and thus to have finished the survey. The subsequent questions concerned PM training: when did they receive the last training, which was the organism responsible for providing that training, what was the usefulness of PM training in daily work, and what was their knowledge of specific plans of regional authorities.

Questions 7 to 23 focused on the availability of PM services in the participant's work centre. If the answer to question 7 ("Has your institution developed a PM laboratory portfolio?") was "yes", respondents were instructed to skip to questions 8 to 19, and if it was "no", to questions 20 to 23. The first block of questions concerned the areas and departments providing PM tests, PM resources in the place of work, quality, residents' training in PM, and incorporation of PM data in the electronic health records. The second block was related to the possibility of requesting PM services from an external centre (public and/or private) and if there were plans to incorporate PM tests in their own centres.

The final block of questions was focused on research in PM and clinical guidelines incorporating PM tests in the place of work (questions 24 to 27), and on interest to reinforce knowledge in PM (questions 28 to 30).

The survey results were analysed statistically by creating contingency tables for categorical data. Chi-square and Fisher's exact tests were calculated using GraphPad v5.0. The level of significance was established at $p < 0.05$.

RESULTS

Demographic data of survey participants

A total of 113 responses were received from 68 different public and private hospitals/clinics. Specialists in Clinical Analyses or Clinical Biochemistry represented 81.4 % of the participants while the remaining responders had other Laboratory-related (Genetics, Haematology or Immunology) or clinical specialties. Regarding professional status, 77.9 % were staff who had completed their specialty and 22.1 % were residents in training. Most respondents were between 20 and 40 years of age (50.5 %), while the remaining were equally distributed between those aged 41-50 years and senior professionals over 50 (23.7 % and 25.8 %, respectively).

Knowledge and training in Personalized Medicine

In the first block of questions (0 to 6) aimed to know about knowledge and training in PM among laborato-

ry professionals, current professional situation (staff or resident in training) was the variable considered for statistical analyses.

In the preliminary question (question 0), only seven respondents had never heard of PM (6.2 %), while the percentage of participants responding "Yes" was higher for specialists in training than for staff (68.0 % vs. 52.3 %) but significance was not reached ($p = 0.37$) (Fig. 1A). Therefore, 106 participants continued answering the entire survey. Among them, 84.9 % understood the concept of PM (question 1). Again, the percentage was higher for residents (95.8 % vs. 81.7 %) (Fig. 1B), although the difference was not statistically significant ($p = 0.11$).

Regarding training, almost half of the participants had never received any specific PM training (48.6 %) (question 2). Significant differences were detected between staff and residents ($p = 0.004$), with the latter showing a higher percentage with training on PM performed in the last year (17.1 % vs. 47.8 %) and a lower percentage with no training at all (50.0 % vs. 43.5 %) (Fig. 1C).

Although the higher interest of residents in PM training, responses regarding adequacy of training to implement PM in their daily work (question 4) showed

an opposite trend in favour of staff, but without statistical significance ($p = 0.16$) (Fig. 1D). Only 28.9 % of participants thought the training was adequate to perform their routine/daily work on PM or to implement new PM assays, and this percentage was higher among staff (33.8 % vs. 13.6 %). On the other hand, the respondents that considered their training adequate, but stated that no facilities for PM implementation were available in their hospitals were mostly residents (29.4 % for staff vs. 45.5 % for residents). Independently of their professional status, a relevant percentage of respondents stated that training was unnecessary as no PM tests were performed in their centres (37.8 %).

In addition, participants were also asked in question 27 if they knew whether PM tests were included in the clinical guidelines employed usually in their centres. Almost half of the participants (46.2 %) stated they did not know, while only one-third of them knew that PM tests were incorporated in their centre's clinical guidelines (34.1 %). In this case, staff showed a higher percentage of knowledge about clinical guidelines incorporating PM tests than residents (38.0 % vs. 20.0 %) (Fig. 1E), but the differences were not significant ($p = 0.15$).

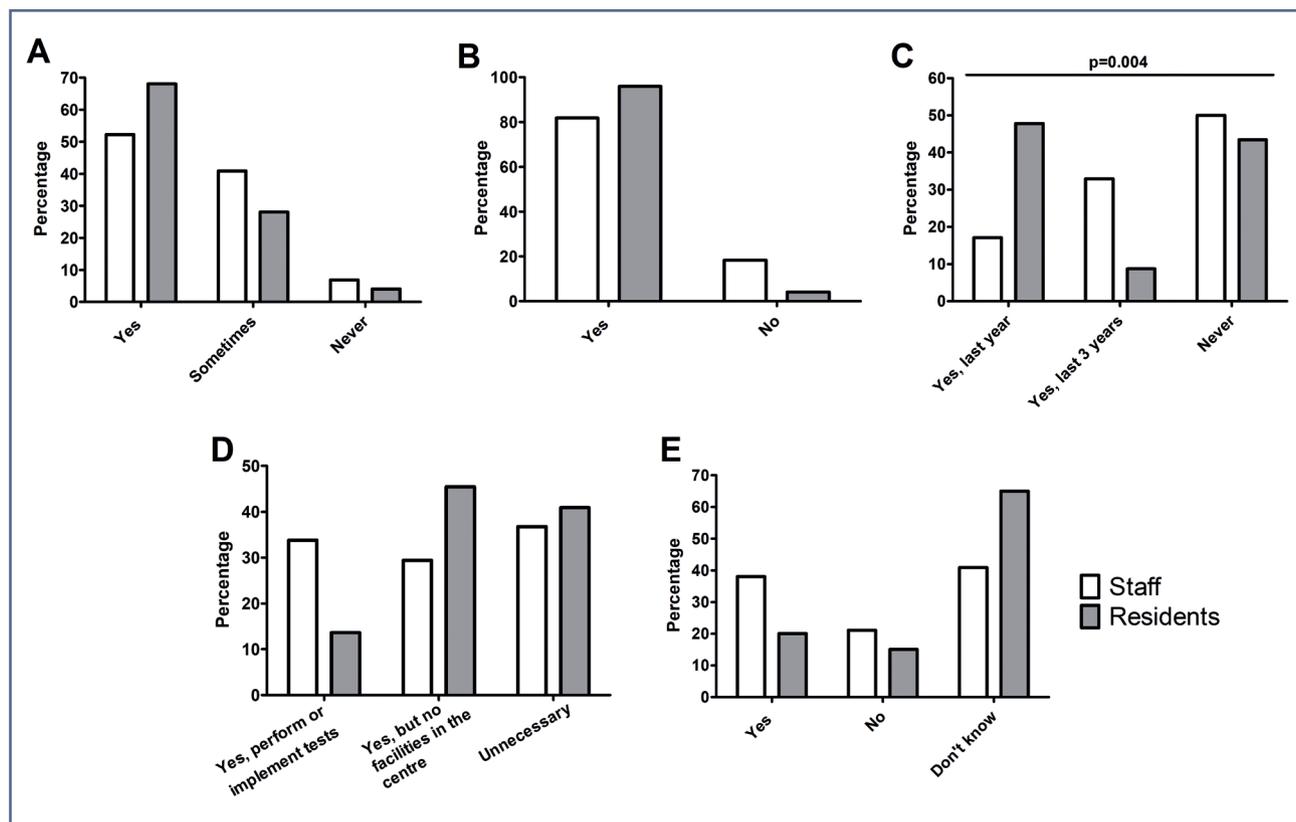


Figure 1 – Responses to survey questions related to knowledge and training in Personalized Medicine according to current professional status. A. "Have you ever heard of Personalized/precision medicine (PM)?" ($n = 113$). B. "Do you know the concept of PM?" ($n = 106$). C. "Have you had formal training in PM?" ($n = 105$). D. "Do you consider that your training is adequate to implement PM in your daily work?" ($n = 90$). E. "Do the clinical guidelines used at your centre incorporate PM tests?" ($n = 91$). p -value was shown for the only comparison between staff and residents that displayed significant differences.

Personalized Medicine implementation in hospitals with their own portfolio

When the participants were asked about the development of an own portfolio of PM in their centres (question 7), 28.7 % responded affirmatively, while most of them stated that there was no portfolio at their institution (32.7 %) or that they did not know (38.6 %). Among the affirmative responses, we observed that they corresponded to 23 different centres (33.8 %) with a mean of 787 beds of (range: 400-1300), and thus pertaining mainly to medium or large tertiary hospitals.

Table I shows relevant characteristics of these centres regarding various PM aspects (responses to questions 8, 12 and 18). The PM tests most readily available in these centres were those intended for targeted disease treatment (73.9 %), whereas PM assays for disease prevention were carried out in only a quarter of them (26.1 %). Regarding accreditation or certification of laboratories performing PM tests at those centres, less than half of them had a licensed laboratory (43.5 %). In over half of the centres (56.5 %), PM test results were regularly incorporated into electronic health records, but this was not the case according to 26.1 % of the respondents.

Finally, most participants (66.7 %) indicated that PM aspects were incorporated into training programs for residents (question 16), suggesting that a majority of future specialists will have at least some basic knowledge before finishing their training period in these centres.

Table I.

Some characteristics of centres with a Personalized Medicine portfolio (n = 23), according to participants' responses

Aspects covered by PM assays (multi-response allowed)	Number of hospitals	%
Targeted treatment of diseases	17	73.9
Diagnosis of monogenic diseases	15	65.2
Support to diagnosis of polygenic diseases	10	43.5
Prevention of diseases	6	26.1
Laboratory accredited or certified		
Yes	10	43.5
No	9	39.1
Don't know	4	17.4
PM test results incorporated into EHR		
Yes	13	56.5
Yes, but only available for certain services	4	17.4
No	6	26.1

PM: Personalized Medicine; EHR: electronic health records.

Role of clinical laboratories in Personalized Medicine

Four of the survey questions aimed to determine the involvement of clinical laboratories in the development and evaluation of PM tests. The factor considered for statistical comparison was whether or not the centre had its own PM portfolio.

Since other medical specialists sometimes request PM tests directly from external centres without any involvement of medical laboratory professionals, the survey asked about the role of the clinical laboratory in prior evaluation of PM tests before they were requested (questions 10 and 22; same question but the first addressed to hospitals with own PM portfolio and the latter to those without it). Although the percentage of responses stating that laboratory medicine specialists always evaluate the PM tests to be requested was higher in centres with their own PM portfolio (31.0 % vs. 16.3 %), the percentage of negative answers was similar for both types of centres (37.9 % vs. 37.2 %), and no statistical differences were found ($p = 0.26$) (Fig. 2A).

As expected, more respondents stated that PM based research projects are developed in centres with their own PM portfolio compared to centres without it (75.9 % vs. 19.7 %; $p < 0.001$) (question 25). Participants responding affirmatively to this question were next asked about the participation of the clinical laboratory in PM research areas (question 26). While 57.7 % of responses indicated that laboratories are somewhat involved in PM research in centres with their own PM portfolio, this percentage decreased to 21.2 % in other centres without such a portfolio due mainly to a high percentage of participants (51.2 %) ignoring if clinical laboratories are involved or not (Fig. 2B). If the three types of responses were considered for the statistical comparison between centres with or without own PM portfolio, significant differences were observed ($p = 0.009$).

DISCUSSION

The development of patient-focused medicine is changing the way clinical laboratories work. The results from emerging techniques such as genomics, transcriptomics, proteomics, metabolomics or metagenomics, together with their integration with classical biochemical and immunological tests, represent a challenge for laboratory professionals. As one of the leading societies of laboratory medicine professionals in Spain, our interest in knowing the current situation of PM led us to develop a survey addressed to laboratory specialists to obtain a global vision of PM in Spanish clinical laboratories. To our knowledge, no previous studies have analyzed that situation. We describe here the results of the first survey in Spain aimed to elucidate some aspects of PM (knowledge, training, implementation and role of clinical laboratories) from the point of view of Laboratory Medicine specialists.

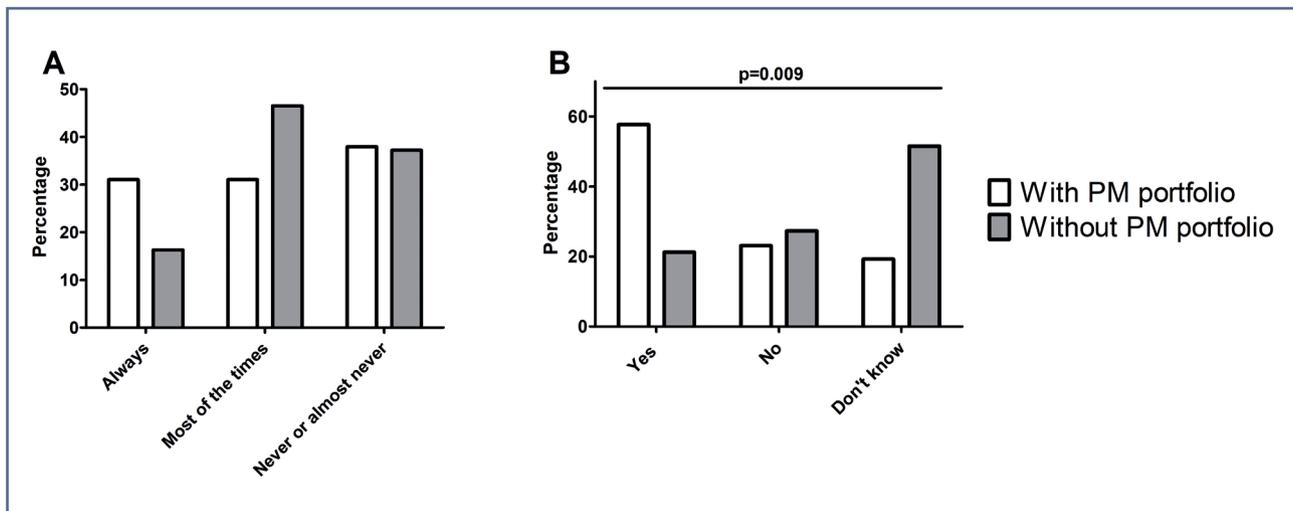


Figure 2 – Responses to survey questions related to the role of clinical laboratories in Personalized Medicine according to development of an own PM portfolio in the centre/hospital. A. “Is there a prior assessment performed by medical laboratory staff on requested PM tests?” (n = 72). B. “Are the clinical laboratories participating in PM based research projects?” (n = 59, limited to those responding “Yes” to the question “Are there PM based research projects in your hospital?”). p-value obtained in the statistical comparison between both groups of centres is shown when significant.

Compared to the survey conducted by the joint working group “Personalized Laboratory Medicine” of the EFLM (European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine) and ESPT (European Society of Pharmacogenomics and Personalised Therapy) (12), our survey has two main differences. First, since our survey was addressed to specialists in Laboratory Medicine, and thus participants were directly involved in laboratory work, whereas the previous survey was directed to “decision markers” in health-care policy of each hospital, and only 50 % of respondents performed laboratory activities. Second, we also received responses from residents in training (22 % of respondents), which allowed us to analyse differences in knowledge and training between this group and staff specialists. In addition, our survey had good national coverage as it was completed by specialists from all autonomous regions in Spain except one (Balearic Islands), representing 68 different public and private hospitals and clinics.

We observed relatively high knowledge of the concept of PM among clinical laboratory professionals (85 %). However, only 34 % of respondents said that PM tests were incorporated in routine guidelines for patient management. Although these results cannot be compared with other countries or regions given that specific surveys for laboratory professionals have not been performed, several surveys have been published regarding physicians’ knowledge and attitudes on PM. The percentage of PM knowledge among Spanish laboratory professionals was higher than that reported for American and German physicians (53 % and 67 %, respectively) (13). Regarding PM skills, the percentage of physicians using PM tests and able to analyse them was slightly lower than the 34 % found in our

survey (20 % for pharmacogenetics and around 30 % for genetic testing). In a survey addressed to physicians working in American projects implementing genomics in clinical practice, one-third of the respondents stated they had adequate training to work with patients who needed PM tests, a percentage similar to that observed in our survey for Spanish laboratory specialists (14). However, only 15 % felt confident enough about their ability to use results from PM tests in clinical practice. Those percentages were markedly higher in surveys of oncologists, as they work in the main area of current PM applications. For example, in a multinational survey of oncologists from 12 countries, 90 % of respondents used PM biomarkers and 63 % reported using them because they were recommended in clinical guidelines (15).

An important finding in our survey is that almost half of the respondents (49 %) had not received any specific training in PM. The main explanation could be the belief that training was unnecessary since no PM tests were performed in their laboratories (38 % of respondents). Conversely, a third of participants had received training even though there were no facilities for PM implementation in their hospitals. This interest in PM training was significantly higher for residents than for staff, showing that future laboratory medicine specialists are increasingly attracted to PM. In agreement with this observation, a previous survey provided data indicating an increase in PM contents at university level, such as in pharmacogenomics (16), which would provide medical and life science students with basic knowledge that could be further expanded. Likewise, another survey addressed to medical students showed their high interest in learning about PM (79 %), although only 6 % considered their university education sufficient to carry

out PM in their professional practice (17). Given this finding, and the fact that PM is a rapidly evolving field, continuous training is essential for professionals to carry out routine PM activities. In addition to conferences and face-to-face courses, online programmes have been reported as a useful tool to improve the use of PM in daily clinical practice (18).

Another interesting observation from our survey was that only one-third of the centres have developed their own portfolio of PM tests. As expected, these centres were mostly large tertiary hospitals, which indicates that PM is far from being implemented in regional or primary hospitals in Spain. In hospitals with their own PM portfolio, pharmacogenetic assays were the mostly widely employed, while tests to support diagnosis of polygenic diseases or to assess disease prevention were only available in less than half of them. As pharmacogenetic testing is crucial for efficient use of certain cancer drugs (19), this finding is consistent with the results of a survey addressed to pathology leaders of 13 centres in the USA and Canada considered as "early adopters" of PM tests: ten of these institutions considered cancer genomics as the primary application of PM, while the remaining three reported that medical genetics was their primary aim in PM (20).

Surprisingly, we observed an unexpectedly low percentage of laboratory certification and incorporation of PM tests in electronic health records (EHR) in hospitals with their own PM portfolio. Respondents were aware of laboratory accreditation or certification in only 44 % of the centres, and they believed that PM test results were regularly incorporated and available in EHR in 57 % of them. Both facts suggest that relevant improvements should still be carried out in Spanish clinical laboratories performing PM tests. Thus, further steps in PM implementation, like whole genome sequencing, do not seem to be feasible at present, as they entail more challenging requirements (21). However, it is widely accepted that clinical integration of whole genome sequencing data will be inevitable in the near future (22). Furthermore, although some genetic data and biological markers are currently available in clinical practice and EHR, the situation of PM remains far from ideal, as clinical decisions must also involve environmental factors and patients' preferences (23).

Although laboratory societies recognize that specialists in Laboratory Medicine should play a key role in PM implementation (24), our survey suggests a disturbing situation for laboratory professionals in Spain. Actually, regardless of whether or not the centre had its own PM portfolio, almost 40 % of respondents stated that PM tests were not supervised by Laboratory Medicine specialists, suggesting a limited role of clinical laboratories in PM management in routine work. In addition, the percentage of participation in research projects related to PM varied significantly between centres with and without their own PM portfolio, with the latter having only 21 % of respondents stating that labora-

tories were involved in PM research. These findings suggest that clinical laboratories need to work toward a more active and higher-profile role in PM research projects, especially in centres that lack their own PM portfolio but are involved in research. In the same way, the results of the EFLM survey showed that laboratory professionals are aware of their role in PM, but also that PM implementation will require relevant changes in specialists' skills, service organization and enhanced collaboration within laboratory disciplines and with clinicians (12). The activities and harmonization initiatives led by the EFLM working group on Personalized Laboratory Medicine should help to stimulate a more active role of laboratory professionals in PM (25).

Our survey and the results obtained from it have some limitations that should be mentioned. First, it is likely that a bias towards a reported higher percentage of knowledge and training in PM exists, since more Laboratory Medicine specialists with strong interest in PM were probably responding to the survey than those with no interest neither previous experience with PM. Second, the number of responses could have been larger given that our society comprises almost 1300 members. Finally, some of the participants that should have completed the whole questionnaire ($n = 106$) did not provide responses for several questions, which explained the reduced number of responses in the informed results.

In conclusion, PM is a well-known concept among Laboratory Medicine specialists in Spain, although only one-third of them are involved in routine implementation and clinical application of PM tests. There is a growing interest in PM-related training, especially among residents, even in those centres where PM tests were not performed. Several large Spanish hospitals have developed their own PM portfolio, which facilitates laboratory residents' contact with PM and the participation of clinical laboratories in research projects related to PM. However, our survey results also reflect a limited role for specialists in Laboratory Medicine in Spain, or at least a smaller role than would be expected, with regard to implementation and surveillance of the demand for PM tests. Therefore, Spanish laboratory specialists will have to make an effort to adapt their curriculum and abilities to the challenge represented by PM if they want to be acknowledged as key players.

ACKNOWLEDGEMENTS

We are grateful to Katherine Fitch for English language revision and editing and to Beatriz Vazquez for creating the web version of the survey and its distribution. EJ Laserna-Mendieta is recipient of a Juan Rodés grant (JR19/00005) from the Instituto de Salud Carlos III (ISCIII), Spanish Ministry of Health, Social Services and Equality, which is partly funded by the European Social Fund (period 2014-2020).

Annex 1

English translation (originally in Spanish) of the questionnaire survey used in the study.

Web: <https://form.jotform.com/73371324111949>

DEMOGRAPHIC DATA:

- a) Hospital/Centre
- b) Age
- c) Medical specialty
- d) Staff or resident in training
- e) Academic degree

QUESTIONS

0. Have you ever heard about Personalized/precision medicine (PM)?
(Yes/ Sometimes/Never)
If "Never", participants were requested to not continue and finish the survey.
1. Do you know the concept of PM?
(Yes/No)
2. Have you had formal training in PM?
(Yes, in the last year/Yes, in the last three years/Never)
3. Which organization has provided this training?
(Hospital/ University/Commercial/ Scientific Society/Regional stakeholder)
4. Do you consider that your training is adequate to implement PM in your daily work?
(Yes, to perform routine tests or implement new ones/Yes, but there are no facilities in my centre/It is unnecessary as I don't perform any MP tests)
5. Do you know if there is a PM program in your area/region?
(Yes/No/I don't know)
6. If there is one, do you know which organism developed it?
(Yes/No/I don't know)
7. Has your institution developed a PM laboratory portfolio?
(Yes/No/I don't know)
If "Yes," participants were requested to answer questions 8 to 19, and not to respond to questions 20 to 23.
If "No" or "I don't know," participants were requested to skip directly to question 20.
8. If there is one, in what areas?
(Prevention of diseases/Diagnosis of monogenic diseases/Support to diagnosis of polygenic diseases/ Targeted treatment of diseases)
9. What departments offer MP tests and/or contributed to their implementation and demand management?
(Pharmacy/Genetics/Clinical Laboratory/Oncology/Pathology)
10. Is there a prior assessment performed by medical laboratory staff on requested PM tests?
(Always/Most of the times/Almost never/Never)
11. Detail PM assets available at your institution
(Pharmacogenetics/Genomics/Onco-genetics/Bioinformatics/Other: transcriptomics, proteomics, metabolomics)
12. At your institution, are the laboratories performing PM tests certified, or do they have any other kind of license?
(Yes/No/I don't know)
13. Do they participate in quality control programs?
(Yes/No/I don't know)
14. Is there a registry for all the tests performed (in house and externalized)?
(Yes/No/I don't know)

15. Does your institution have an annual report compiling PM tests performed and their results? (Yes/No/I don't know)
16. Are there PM subjects in the resident's training programs? (Yes/No/I don't know)
17. How frequently are PM tests requested at your institution? (Weekly/Monthly/Every 3 months)
18. Are PM results regularly incorporated into electronic health records? (Yes/Yes, but only available for certain services/No)
19. Do you consider that PM tests available at your institution are adequate? (Yes/No)
20. If the PM tests are not performed in your hospital, can you request them from external laboratories? (Yes/No)
21. If yes, to which kind of laboratory are the samples sent? (Public/Private/Academic-research)
22. Is there a prior assessment performed by medical laboratory staff on requested PM tests? (Always/Most of the times/Almost never/Never)
23. Is there a roadmap design to implement PM at your hospital? (Yes/No/I don't know)
24. Are there joint sessions involving several departments to discuss PM patients/items? (Yes/No/I don't know)
25. Are there PM based research projects in your hospital? (Yes/No/I don't know)
26. If "Yes," are the clinical laboratories participating in them? (Yes/No/I don't know)
27. Do the clinical guidelines used at your centre incorporate PM tests? (Yes/No/I don't know)
28. Do you feel that you should reinforce your knowledge of PM aspects? (Yes/No)
29. If "Yes," what would be the best option? (Clinical sessions/Online courses/Postgraduate courses/Symposia/Conferences)
30. Propose a title for a training course on MP that you would like to attend.

REFERENCES

1. Ashley EA. The precision medicine initiative: a new national effort. *JAMA* 2015;313:2119-20. DOI: 10.1001/jama.2015.3595
2. Miles A, Loughlin M, Polychronis A. Evidence-based healthcare, clinical knowledge and the rise of personalised medicine. *J Eval Clin Pract* 2008;14:621-49. DOI: 10.1111/j.1365-2753.2008.01094.x
3. Samani NJ, Tomaszewski M, Schunkert H. The personal genome--the future of personalised medicine? *Lancet Lond Engl* 2010;375:1497-8. DOI: 10.1016/S0140-6736(10)60598-3
4. Barrera-Saldaña HA. Origin of personalized medicine in pioneering, passionate, genomic research. *Genomics* 2020;112:721-8. DOI: 10.1016/j.ygeno.2019.05.006
5. Tannock IF, Hickman JA. Limits to Personalized Cancer Medicine. *N Engl J Med* 2016;375:1289-94. DOI: 10.1056/NEJMs1607705
6. Molina Romero M, Laserna Mendieta EJ, Varo Sánchez GM, Alonso-Cerezo MC, Orera Clemente M. Oncología personalizada: principales biomarcadores en el pronóstico y tratamiento de tumores sólidos. *Rev Lab Clin* 2019;12:e1-8. DOI: 10.1016/j.labcli.2018.11.001
7. Alyass A, Turcotte M, Meyre D. From big data analysis to personalized medicine for all: challenges and opportunities. *BMC Med Genomics* 2015;8:33. DOI: 10.1186/s12920-015-0108-y
8. Soto JL, Blanco I, Díez O, García Planells J, Lorda I, Matthijs G, et al. Consensus document on the implementation of next generation sequencing in the genetic diagnosis of hereditary cancer. *Med Clínica* 2018;151:80.e1-80.e10. DOI: 10.1016/j.medcle.2018.05.027
9. Lippi G, Plebani M. Personalized medicine: moving from simple theory to daily practice. *Clin Chem Lab Med* 2015;53:959-60. DOI: 10.1515/cclm-2015-0291
10. Alonso-Cerezo MC, Laserna Mendieta EJ, Varo Sánchez GM, Molina Romero M, Orera Clemente M. El papel del laboratorio clínico en la medicina personalizada: situación actual y retos futuros. *Rev Lab Clin* 2018;11:202-8. DOI: 10.1016/j.labcli.2017.11.006
11. Rose SMS-F, Contrepolis K, Moneghetti KJ, Zhou W, Mishra T, Mataraso S, et al. A longitudinal big data approach for precision health. *Nat Med* 2019;25:792-804. DOI: 10.1038/s41591-019-0414-6

12. Malentacchi F, Mancini I, Brandslund I, Vermeersch P, Schwab M, Marc J, et al. Is laboratory medicine ready for the era of personalized medicine? A survey addressed to laboratory directors of hospitals/academic schools of medicine in Europe. *Clin Chem Lab Med* 2015;53:981-8. DOI: 10.1515/cclm-2015-0171
13. Kichko K, Marschall P, Flessa S. Personalized Medicine in the U.S. and Germany: Awareness, Acceptance, Use and Preconditions for the Wide Implementation into the Medical Standard. *J Pers Med* 2016;6. DOI: 10.3390/jpm6020015
14. Owusu Obeng A, Fei K, Levy KD, Elsej AR, Pollin TI, Ramirez AH, et al. Physician-Reported Benefits and Barriers to Clinical Implementation of Genomic Medicine: A Multi-Site IGNITE-Network Survey. *J Pers Med* 2018;8. DOI: 10.3390/jpm8030024
15. Ciardiello F, Adams R, Tabernero J, Seufferlein T, Taieb J, Moiseyenko V, et al. Awareness, Understanding, and Adoption of Precision Medicine to Deliver Personalized Treatment for Patients With Cancer: A Multinational Survey Comparison of Physicians and Patients. *The Oncologist* 2016;21:292-300. DOI: 10.1634/theoncologist.2015-0279
16. Karas Kuželički N, Prodan Žitnik I, Gurwitz D, Llerena A, Cascorbi I, Siest S, et al. Pharmacogenomics education in medical and pharmacy schools: conclusions of a global survey. *Pharmacogenomics* 2019;20:643-57. DOI: 10.2217/pgs-2019-0009
17. Eden C, Johnson KW, Gottesman O, Bottinger EP, Abul-Husn NS. Medical student preparedness for an era of personalized medicine: findings from one US medical school. *Pers Med* 2016;13:129-41. DOI: 10.2217/pme.15.58
18. Edelman EA, Tanner PC, Taber KA, McConnell SC, Nicholson LJ, Ingram TM, et al. Provider engagement in precision oncology education: an exploratory analysis of online continuing medical education data. *Pers Med* 2019;16:199-209. DOI: 10.2217/pme-2018-0150
19. Gervasini G. Pharmacogenetics and personalized medicine. Are expectations being met? *Med Clínica* 2019;152:368-71.
20. Crawford JM, Bry L, Pfeifer J, Caughron SK, Black-Schaffer S, Kant JA, et al. The business of genomic testing: a survey of early adopters. *Genet Med Off J Am Coll Med Genet* 2014;16:954-61. DOI: 10.1038/gim.2014.60
21. Chrystoja CC, Diamandis EP. Whole genome sequencing as a diagnostic test: challenges and opportunities. *Clin Chem* 2014;60:724-33. DOI: 10.1373/clinchem.2013.209213
22. Vassy JL, Christensen KD, Slashinski MJ, Lautenbach DM, Raghavan S, Robinson JO, et al. «Someday it will be the norm»: physician perspectives on the utility of genome sequencing for patient care in the MedSeq Project. *Pers Med* 2015;12:23-32. DOI: 10.2217/pme.14.68
23. Di Paolo A, Sarkozy F, Ryll B, Siebert U. Personalized medicine in Europe: not yet personal enough? *BMC Health Serv Res* 2017;17:289. DOI: 10.1186/s12913-017-2205-4
24. Prodan Žitnik I, Černe D, Mancini I, Simi L, Pazzagli M, Di Resta C, et al. Personalized laboratory medicine: a patient-centered future approach. *Clin Chem Lab Med* 2018;56:1981-91. DOI: 10.1515/cclm-2018-0181
25. Kilpatrick ES, Sandberg S. An overview of EFLM harmonization activities in Europe. *Clin Chem Lab Med* 2018;56:1591-7. DOI: 10.1515/cclm-2018-0098



Original

Utilidad de los parámetros de laboratorio en el pronóstico de los pacientes ingresados por COVID-19

Usefulness of the laboratory parameters in the prognosis of patients hospitalized with COVID-19

Silvia de las Heras Flórez, Jorge Rodríguez Afonso, Mercedes Carretero Pérez y María Rebeca Sosa García

Servicio de Análisis Clínicos. Hospital Universitario Nuestra Señora de Candelaria. Santa Cruz de Tenerife

Recibido: 12/08/2020
Aceptado: 22/09/2020

Correspondencia: Silvia de las Heras Flórez. Unidad Core-Urgencias. Servicio de Análisis Clínicos. Hospital Universitario Nuestra Señora de Candelaria. Carretera del Rosario, 145. 38010 Santa Cruz de Tenerife
e-mail: sherflo9@yahoo.es

Palabras clave:

COVID-19. Coronavirus. Laboratorios hospitalarios.

RESUMEN

Introducción: en la pandemia por coronavirus 2019 (COVID-19) es prioritario disponer de marcadores predictores de gravedad. Se estudiaron los factores relacionados con formas graves y fatales en pacientes hospitalizados por COVID-19.

Material y métodos: se analizaron de forma retrospectiva parámetros de laboratorio, datos clínicos y demográficos de 133 pacientes ingresados por COVID-19. Se realizó una comparación de variables según dos criterios: gravedad y mortalidad. Las variables con significación estadística fueron analizadas mediante regresión logística binaria obteniéndose los parámetros predictivos de mal pronóstico y mortalidad corregidos por el resto de variables.

Resultados: de los 133 pacientes del estudio, el 28,6 % ingresaron en la unidad de medicina intensiva (UMI) y el 12,8 % fallecieron. En el análisis univariante los factores de riesgo de enfermedad grave fueron: aumento de LDH, AST, PCR (proteína C reactiva) y presencia de obesidad (IMC > 30 kg/m²), en el análisis multivariante la LDH y la obesidad fueron los factores de riesgo independientes de enfermedad grave. En cuando a los factores relacionados con fallecimiento, la disminución de las cifras de plaquetas, aumento de LDH y PCR, obesidad y diabetes tipo 2 se asociaron con ma-

Conflicto de intereses: los autores declaran no tener ningún conflicto de interés.

DOI: 10.20960/revmedlab.00040

De las Heras Flórez S, Rodríguez Afonso J, Carretero Pérez M, Sosa García MR. Utilidad de los parámetros de laboratorio en el pronóstico de los pacientes ingresados por COVID-19. Rev Med Lab 2020;1(2):61-68

yor riesgo de fallecimiento. En el análisis multivariante la obesidad y la cifra de plaquetas se mantenían como factores de riesgo independiente de fallecimiento.

Conclusiones: nuestro estudio muestra la importancia del laboratorio en el pronóstico de estos pacientes. Varios parámetros presentan diferencias significativas en comparación de grupos y en regresiones univariantes. La LDH se postula como el mejor marcador pronóstico independiente.

Keywords:

COVID-19. Coronavirus. Hospital laboratories.

ABSTRACT

Background: in the current coronavirus 2019 (COVID-19) pandemic, the availability of predictors for severity is a priority. Factors related to severe and fatal forms were studied in patients hospitalized with COVID-19.

Material and methods: laboratory parameters, clinical and demographic data of 133 patients admitted by COVID-19 were retrospectively analyzed. A comparison of variables was made according to two criteria: severity and mortality. The variables with statistical significance were analyzed using binary logistic regression, obtaining the predictive parameters of poor prognosis and mortality corrected for the rest of the variables.

Results: 28.6 % of the 133 patients in the study were admitted to the ICU and 12.8 % died. In the univariate analysis, the risk factors for severe disease were: increased LDH, AST, CRP (C-reactive protein) and presence of obesity (BMI > 30 kg/m²), in the multivariate analysis LDH and obesity were the independent risk factors for severe disease. Regarding the factors related to death: the decrease in the platelet count, the increase in LDH and CRP, obesity and type 2 diabetes were associated with an increased risk of death. Obesity and the count of platelets remained independent risk factors for death in the multivariate analysis.

Conclusions: our study shows the importance of the laboratory in the prognosis of these patients. Several parameters show significant differences in the group comparison and in univariate regressions. LDH is postulated as the best independent prognostic marker.

INTRODUCCIÓN

La enfermedad por coronavirus 2019 (COVID-19), causada por el síndrome respiratorio agudo severo-coronavirus-2 (SARS-CoV2) (1-3), es una pandemia que ya ha afectado a millones de personas en todo el mundo y está asociada con una significativa morbimortalidad. El primer caso a nivel mundial de COVID-19 se diagnosticó en Wuhan, provincia de Hubei, China, en diciembre de 2019 (4), y desde entonces se ha extendido a nivel mundial hasta ser caracterizada como una pandemia por la OMS (5). A fecha de 31 de julio de 2020 se han diagnosticado de COVID-19 a más de 17,5 millones personas en todo el mundo con más de 678.000 fallecidos. En España, los contagios ascienden a 288.522 con 28.445 fallecidos (6).

Si bien la COVID-19 produce frecuentemente síntomas leves, también se ha asociado con cuadros clínicos graves en ciertos grupos de población, sobre todo en personas de edad avanzada con enfermedades sub-

yacentes, tales como enfermedades cardiovasculares y diabetes (7-9).

El papel del laboratorio clínico en esta pandemia está siendo de vital importancia para proporcionar al clínico de manera precoz parámetros capaces de discriminar entre casos graves y no graves, o aquellos con alto o bajo riesgo de mortalidad. Desde el inicio de la pandemia, se han publicado numerosos artículos con el fin de determinar qué parámetros de laboratorio pueden ser útiles para este fin. Al inicio se trataba sobre todo de estudios realizados en China, y en ocasiones con poco número de casos (10-19). Posteriormente fueron publicados metaanálisis que incluyen estos estudios previos más pequeños (20,21). En estos estudios, los marcadores de laboratorio implicados en el pronóstico de estos pacientes fueron: aumento de leucocitos y neutrófilos, linfopenia, disminución de la albúmina sérica, aumento de la LDH, ALT, AST, CK, bilirrubina total, creatinina, troponina, dímero D, tiempo de protombina, procalcitonina (PCT), proteína C reactiva (PCR) e interleucina 6 (IL-6).

En cuanto a factores demográficos que influyen en el pronóstico de los pacientes con COVID-19, los datos publicados muestran un peor pronóstico en pacientes de edad más avanzada y en el sexo masculino, y entre los antecedentes clínicos numerosos estudios refieren peor pronóstico y más probabilidad de ingreso en unidad de medicina intensiva (UMI) y fallecimiento en los pacientes con obesidad y enfermedades previas tales como la hipertensión arterial (HTA), diabetes tipo 2 y enfermedades cardiovasculares. También se ha descrito como factor de mal pronóstico la presencia de disnea en el momento del diagnóstico (7,9,22-24).

El objetivo de este estudio es analizar los hallazgos de laboratorio durante las primeras 48 horas de ingreso hospitalario en pacientes con COVID-19 confirmado, para definir qué parámetros pueden discriminar entre aquellos que tienen un mayor riesgo de desarrollar formas de enfermedad severas que requieran ingreso en la unidad de medicina intensiva (UMI) frente a las no graves, así como aquellos pacientes con menos probabilidades de sobrevivir. De forma adicional se analizaron datos demográficos, síntomas y antecedentes clínicos obtenidos de la historia clínica para determinar su valor en el pronóstico y mortalidad de estos pacientes.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para realizar este estudio retrospectivo se incluyeron 133 pacientes ingresados de forma consecutiva por COVID-19 confirmado mediante RT-PCR en exudado nasofaríngeo en las fechas comprendidas entre el 5 de marzo y 24 de abril de 2020 que requirieron ingreso hospitalario tanto en la UMI como en las plantas de hospitalización de medicina interna y neumología.

Los datos de laboratorio fueron obtenidos del sistema informático de laboratorio OpenLab, las pruebas iniciales de laboratorio se definieron como los primeros resultados disponibles, generalmente dentro de las 48 horas posteriores a la admisión. Datos del hemograma (leucocitos, neutrófilos, linfocitos y plaquetas), AST, ALT, LDH, ferritina, albúmina, dímero D, IL-6, PCR y PCT fueron los parámetros estudiados. Los hemogramas se procesaron en el analizador XN de Sysmex (Roche Diagnostics), el dímero D se realizó por turbidimetría en el analizador ACLTOP (Werfen). En el analizador Dimension EXL (Siemens Healthineers) se analizaron AST, ALT, y LDH por espectrofotometría y la PCR por turbidimetría. La ferritina y albúmina se analizaron también por turbidimetría en el analizador COBAS 8000 c702 (Roche Diagnostics), la IL-6 y PCT se procesaron en el analizador COBAS e411 (Roche Diagnostics) mediante electroquimioluminiscencia.

Los datos demográficos y clínicos fueron obtenidos de los sistemas informáticos del hospital y de atención primaria. Se recogieron: sexo, edad, antecedentes relevantes (HTA, EPOC, diabetes tipo 2, cardiopatía isquémica (CI) y hábito tabáquico), obesidad (IMC > 30 kg/m²) y síntomas presentados al ingreso: disnea, tos, fiebre, diarrea y mal estar general (MEG).

Todos los datos que se recogieron fueron introducidos en una base de datos en el programa SPSS (versión 24) con el que se hizo todo el estudio estadístico posterior.

En primer lugar, a las variables cuantitativas se les realizó la prueba de Kolmogorov-Smirnov con la corrección de significación de Lilliefors para determinar su normalidad.

Las variables continuas, al resultar todas no normales, se describieron como medianas (rango intercuartil [RIQ]) y las variables categóricas se presentaron como los recuentos y porcentajes.

Estas variables se compararon entre los diferentes grupos de la siguiente manera. Pacientes graves frente a no graves y por otro lado fallecidos frente a supervivientes. Se consideró que un paciente reunía criterios de gravedad si durante su estancia hospitalaria requirió ingreso en UMI por necesidad de ventilación mecánica.

Las variables continuas se compararon mediante la prueba de la U de Mann-Whitney (distribución no normal). Las variables categóricas se les realizó la prueba χ^2 de Pearson y en aquellas que no fue posible, el test exacto de Fisher, siendo estas últimas EPOC, obesidad, cardiopatía isquémica, asma, hábito tabáquico y diarrea. Diabetes tipo 2 y hábito tabáquico en la comparación según mortalidad.

Las variables que presentaron una diferencia significativa fueron seleccionadas para una regresión logística binaria obteniendo los factores predictivos de mal pronóstico y mortalidad corregidos por el resto de variables.

RESULTADOS

La población del estudio incluyó 133 pacientes hospitalizados con COVID-19 confirmado. La mediana de edad fue de 70 años (RIQ: 57-78). El 59,4 % de los pacientes son hombres, 38 pacientes (28,6 %) ingresaron en la UMI. En total fallecieron 17 pacientes (12,8 %), 14 de los cuales fueron hombres (82,4 %).

Los pacientes que ingresaron en UMI tenían un menor recuento de linfocitos, mayores cifras de neutrófilos, ferritina, LDH, AST, PCR, PCT, y CK. Comparando los pacientes que fallecieron con los que fueron dados de alta, hubo diferencias significativas entre las medianas de plaquetas, creatinina, LDH, PCR y PCT.

En cuanto a los datos recogidos de la historia clínica, la HTA fue la comorbilidad más frecuente (54,9 %, 79/133), seguida de la dislipemia (37,6 %, 50/133). Tanto la edad de los pacientes que fallecieron como la de los que no ingresaron en UMI fue significativamente mayor. El paciente más joven que falleció fue una mujer de 38 años con un síndrome de Down. En los pacientes que fallecieron, el porcentaje de diabetes tipo 2 fue significativamente mayor, pero no hubo diferencias significativas en la historia de HTA, EPOC, dislipemia, CI ni asma.

En cuanto al hábito de fumar, el 60,9 % (81/100) referían ser exfumadores, con tan solo un 3,8 % de fumadores activos (5/100). El índice de masa corporal (IMC)

solo estaba recogido en el 48,9 % (65/133), con tan solo un paciente con normopeso (IMC < 25).

Se recogieron los siguientes signos y síntomas de las historias de 131 de los 133 pacientes con COVID-19, los síntomas de 2 pacientes no se pudieron recoger por deterioro cognitivo grave. Los síntomas más comunes en el momento del ingreso fueron fiebre (63,9 %, 85/133), disnea (63,2 %, 84/131), tos (63,2 %, 84/133), MEG (24,8 %, 33/131) y diarrea (12 %, 16/131). En comparación con los pacientes que no necesitaron UMI, los pacientes que sí ingresaron en la UMI tenían más disnea y menos MEG, respectivamente.

En las tablas I y II se muestran las diferencias entre los hallazgos de laboratorio y datos clínicos entre los pacientes que ingresaron en UMI y los que no ingresaron en UMI y entre los fallecidos y no fallecidos respectivamente.

El análisis univariante mostró que los factores de riesgo de enfermedad grave asociados al ingreso en UMI fueron la elevación de LDH, AST, PCR y presencia de obesidad (IMC > 30 kg/m²) y disnea. En el análisis multivariante, la elevación de LDH y la presencia de obesidad fueron los factores de riesgo independientes para desarrollar enfermedad grave.

En cuanto a los factores relacionados con fallecimiento, el análisis univariante mostró que la disminución de plaquetas, la elevación de LDH y PCR, la obesidad y la presencia de diabetes tipo 2 se asociaban con mayor riesgo de fallecimiento. En el análisis multivariante, la obesidad se mantenía como factor de riesgo independiente de fallecimiento así como la disminución de plaquetas. En la tabla III se muestran los resultados de la regresión logística binaria.

Tabla I.
Diferencias entre las variables relacionadas con el ingreso en UMI

	Variable	Pacientes (n)	UMI	No UMI	p
Parámetros de laboratorio	Leucocitos/μL	133	7315 (5377-7315)	6670 (4970-9000)	0,16
	Neutrófilos/μL	133	5775 (4182-9295)	4820 (3270-6400)	< 0,05
	Linfocitos/μL	133	780 (642-1110)	1100 (760-1600)	< 0,05
	Plaquetas*10 ³ /μL	133	184,5 (146-233,50)	202 (151-255)	0,243
	Dímero D (ng/mL)	120	1271 (533-2522)	868 (465-1458)	0,076
	Ferritina (ng/mL)	90	1413 (789-1922)	582 (329-926)	< 0,05
	Creatinina (mg/dL)	133	1,005 (0,83-1,185)	1,01 (0,81-1,17)	0,966
	LDH (U/l)	133	443,5 (362-594)	304 (225-375)	< 0,05
	AST (U/l)	133	51,5 (33,75-65)	38 (23-49)	< 0,05
	ALT (U/l)	133	38 (25,50-67,50)	32 (23-49)	0,109
	ALBÚMINA (md/dL)	110	3465 (3162-3817,50)	3665 (3430-3947)	0,102
	PCR (mg/dL)	133	11,25 (6,49-20)	5,84 (1,68-11,97)	< 0,05
	PCT (ng/mL)	99	0,28 (0,1275-0,8950)	0,09 (0,040-0,2)	< 0,05
	Bilirrubina (mg/dL)	127	0,4 (0,6-1)	0,5 (0,4-0,8)	0,299
	CK (U/l)	93	159 (75-318,7)	44 (75-164)	< 0,05
IL-6 (pg/mL)	23	145 (69,9-321)	63 (9,2-168)	0,138	
Demográficos	Edad (años)	133	66,5 (56,00-71,25)	72 (57-72)	< 0,05
	Varones	133	24/38 (63,2 %)	55/95 (57,9 %)	0,557
Antecedentes	HTA	133	20/38 (52,6 %)	53/95 (55,8 %)	0,741
	EPOC	133	3/38 (7,9 %)	8/95 (8,4 %)	1,000
	Diabetes tipo 2	133	6/38 (15,8 %)	25/95 (26,3 %)	0,195
	Dislipemia	133	11/38 (28,9 %)	39/95 (41,1 %)	0,193
	Obesidad	65	19/21 (90,5 %)	27/44 (61,4 %)	< 0,05
	Cardiopatía isquémica	133	3/38 (7,9 %)	10/95 (10,5 %)	0,757
	Asma	133	5/38 (13,2 %)	14/95 (14,7 %)	1,000

Continúa en la página siguiente

Tabla I. (Cont.)
Diferencias entre las variables relacionadas con el ingreso en UMI

	Variable	Pacientes (n)	UMI	No UMI	p
Clínica	Fiebre	133	28/38 (73,7 %)	57/95 (60 %)	0,138
	Disnea	131	29/37 (78,4 %)	55/94 (58,5 %)	< 0,05
	Tos	131	19/37 (51,4 %)	65/94 (69,1 %)	0,056
	MEG	131	3/37 (8,1 %)	30/94 (31,9 %)	< 0,05
	Diarrea	131	2/37 (5,4 %)	14/94 (14,9 %)	0,234

Tabla II.
Diferencias entre las variables relacionadas con mortalidad

	Variable	Pacientes (n)	Fallecidos	No fallecidos	p
Parámetros de laboratorio	Leucocitos/ μ L	133	7500 (5305-9690)	6895 (4972,5-9097,5)	0,459
	Neutrófilos/ μ L	133	4850 (4100-8005)	5165 (3397,5-6865)	0,531
	Linfocitos (μ L)	133	800 (520-1115)	1005 (720-1500)	0,142
	Plaquetas* $10^3/\mu$ L	133	150 (102,5-197,5)	206,5 (160,25-253)	< 0,05
	Dímero D (ng/mL)	120	868 (595-1679)	965 (497-1613,5)	0,953
	Ferritina (ng/mL)	90	457 (409,75-1649,75)	734 (311,75-1075,25)	0,758
	Creatinina (mg/dL)	133	1,22 (1,035-1,785)	0,97 (0,7825-1,12)	< 0,05
	LDH (U/l)	133	427 (310-571,5)	316 (244-425,75)	< 0,05
	AST (U/l)	133	40 (29-56,5)	38 (29-60)	0,885
	ALT (U/l)	133	32 (26-43)	33 (23-50,75)	0,741
	ALBÚMINA (md/dL)	110	3495 (2992,5-3832,5)	3680 (3402,5-3937,5)	0,196
	PCR (mg/dL)	133	8,81 (5,55-23,15)	7,235 (2,1775-14,86)	< 0,05
	PCT (ng/mL)	99	0,59 (0,2-1,25)	0,1 (0,04-0,28)	< 0,05
	Bilirrubina (mg/dL)	127	0,75 (0,5-1,3)	0,5 (0,4-0,8)	0,057
	CK (U/l)	93	72 (57-245)	88 (46,5-206,25)	0,528
	IL-6 (pg/mL)	23	108,95 (67,45-206)	61,3 (8,8-182,7)	0,177
Demográficos	Edad (años)	133	73 (69,5-84)	69 (55-76)	< 0,05
	Varones	133	14/17 (82,4 %)	65/116 (56 %)	< 0,05
Antecedentes	HTA	133	11/17 (64,7 %)	62/116 (53,4 %)	0,384
	EPOC	133	0/17 (0 %)	11/116 (9,5 %)	0,358
	Diabetes tipo 2	133	8/17 (47,1 %)	23/116 (19,8 %)	< 0,05
	Dislipemia	133	7/17 (41,2 %)	43/116 (37,1 %)	0,744
	Obesidad	65	6/13 (46,2 %)	40/52 (76,9 %)	< 0,05
	Cardiopatía isquémica	133	3/17 (17,6 %)	10/116 (8,6 %)	0,373
	Asma	133	1/17 (5,9 %)	18/116 (15,5 %)	0,465
Clínica	Fiebre	133	9/17 (52,9 %)	76/116 (65,5 %)	0,313
	Disnea	131	13/16 (81,3 %)	71/115 (61,7 %)	0,127
	Tos	131	10/16 (62,5 %)	74/115 (64,3 %)	0,885
	MEG	131	4/16 (25 %)	29/115 (25,2 %)	1,000
	Diarrea	131	4/16 (25 %)	12/115 (10,4 %)	0,108

Tabla III.
Resultado de estudio univariante y multivariante

Regresión logística binaria			
UMI			
Variable	Univariante (p)	Multivariante (p)	OR (IC 95 %)
Neutrófilos	< 0,05*	-	-
Linfocitos	0,592	-	-
Ferritina	0,095	-	-
LDH	< 0,05	< 0,05	1,01 (1,004-1,016)
AST	< 0,05	0,912	-
PCR	< 0,05	0,132	-
PCT	0,832	-	-
CK	0,091	-	-
Edad	0,103	-	-
Obesidad	< 0,05	<0,05	8,126 (1,037-63,689)
Disnea	< 0,05	<0,05	5,05 (26,316-0,961)
MEG	< 0,05	0,227	-
Fallecimientos			
Variable	Univariante (p)	Multivariante (p)	OR
Plaquetas	< 0,05	0,016	0,985 (0,973-0,997)
Creatinina	0,128	-	-
LDH	< 0,05	0,069	-
PCR	< 0,05	0,363	-
PCT	0,927	-	-
Edad	0,052	-	-
Sexo	0,05	-	-
Obesidad	< 0,05	<0,05	15,945 (2,707-93,905)
Diabetes tipo 2	< 0,05	0,067	-

*Dado que el OR fue igual a 1, no se incluyó en el análisis multivariante.

DISCUSIÓN

La pandemia COVID-19 ha supuesto un verdadero reto para los sistemas de salud de gran parte de los países, incluido España. A pesar de conocer esta pandemia gracias a la información que iba llegando desde su país de origen, China, así como de países vecinos, Italia, el inicio de los casos en nuestro país supuso una importante sobrecarga asistencial tanto a nivel de atención primaria como hospitalaria en todo el territorio nacional sin excepción, teniendo que tomar decisiones rápidas para proporcionar atención inmediata a los pacientes más graves. En este contexto, es de vital importancia protocolizar al máximo la atención a los pacientes que requieren ingreso, creando pautas de actuación que permitan conocer qué pacientes presentan más riesgo de complicaciones y, por tanto, peor evolución (25). El laboratorio clínico, junto con el resto de equipos sanitarios involucrados en la atención a estos pacientes, ha tenido que adaptarse a la situación derivada de esta pandemia, cambiando protocolos y normas de trabajo (26).

Hasta la fecha, una gran parte de los estudios sobre los pacientes con COVID-19 incluyen la búsqueda de marcadores pronósticos tempranos que permitan una correcta clasificación de los pacientes a su llegada a urgencias. Los parámetros de laboratorio ofrecen la ventaja de estar habitualmente disponibles y tener generalmente buenos tiempos de respuesta.

En nuestro estudio en primer lugar comparamos los parámetros de laboratorio en los pacientes con mayor gravedad y los menos graves. Observamos diferencias significativas en algunos de ellos: neutrófilos, linfocitos, ferritina, LDH, AST, PCR, PCT y CK.

Analizando con más detalle estos resultados, encontramos que en nuestra serie los parámetros relacionados con anomalías hematológicas (linfopenia y neutrofilia) no han sido los más asociados con la evolución posterior del paciente, pero sí existen diferencias estadísticamente significativas en los valores de linfocitos al realizar la comparación de medianas entre pacientes graves y no graves. En cuanto al dímero D, no ha sido significativo en nuestra serie. Debemos tener en cuenta que en la mayoría de los estudios publicados se informan resultados expresados en distintas unidades y realizados por métodos diferentes que pueden llevar a conclusiones erróneas sobre la utilidad de este parámetro (27). No obstante, en gran parte de las series sí ha tenido valor pronóstico (11,16) reflejando las alteraciones de coagulación de estos pacientes.

En cuanto a los parámetros bioquímicos más utilizados en urgencias para los procesos infecciosos, en la PCT, a pesar de encontrar diferencias significativas entre pacientes graves y no graves, no se confirmó la relación en el análisis univariante. No sorprende dado que los valores obtenidos en ambos grupos no tienen relevancia clínica y más aún cuando la elevación de la PCT se ha relacionado con posteriores sobreinfecciones bacterianas en estos pacientes (16). Por otro lado,

con la proteína C reactiva si se confirmó la relación con la gravedad en el estudio univariante. Esto concuerda con los hallazgos de la bibliografía (10).

En el estudio multivariante solo permaneció la elevación de LDH como factor de riesgo independiente de peor evolución en los pacientes a su llegada a urgencias, parámetro muy relacionado con anomalías inflamatorias inespecíficas, disponible en los laboratorios de urgencias y que puede alertar al clínico, junto con otros datos clínicos y antecedentes, de una peor evolución.

En segundo lugar, también analizamos los resultados obtenidos tras comparar los pacientes que fallecieron con los que sobrevivieron. En el análisis univariante varios parámetros analíticos tuvieron significación estadística (plaquetas, creatinina, LDH, PCR y PCT). Sin embargo, tan solo la disminución de plaquetas fue significativa en el multivariante, aunque sin relevancia clínica dado que las medianas de ambos grupos se mantenían en cifras normales. La interpretación de estos resultados es más limitada debido al bajo número de fallecidos (17/133), ya que en nuestra área sanitaria la incidencia de COVID-19 ha sido de las más bajas del país.

En lo referente a los antecedentes clínicos, en nuestro estudio la obesidad (IMC > 30) fue el antecedente clínico con más peso en el pronóstico, resultando un predictor tanto de gravedad como de fallecimiento en el estudio multivariante, dato acorde con los estudios publicados (7,9,23). No hubo diferencias significativas ni con la HTA, EPOC ni las enfermedades cardiovasculares.

En los casos en que se recogió el hábito tabáquico (100/133) en la mayoría de los casos se trataba de pacientes exfumadores (81/100), teniendo muy pocos casos de pacientes fumadores activos (5/100). Ha habido controversia con la relación de la COVID-19 y el tabaco debido a que un grupo de estudio francés alertaba del posible efecto protector contra la infección por SARS-CoV-2 de la nicotina (28). Rápidamente la OMS desmintió este hecho, asegurando que los fumadores tienen más probabilidades de acabar en la UMI (29). Con nuestros datos, es difícil analizar la relación del tabaco con la gravedad de la COVID-19, ya que nuestros pacientes en su mayoría refieren ser exfumadores sin aclarar el tiempo de abstinencia.

Por último, en relación a los síntomas, la disnea mantiene una relación con la gravedad en el estudio univariante, reflejando una mayor afectación pulmonar. En cuanto a la fiebre, la toma de temperatura es una de las medidas que más se ha generalizado para acceder a determinados sitios públicos. Aunque la fiebre fue el síntoma más común al ingreso (63,9 %), puede tratarse de una medida de limitada efectividad ya que dejaría de detectar hasta un tercio de los pacientes que han requerido ingreso y previsiblemente una cantidad significativamente mayor de casos menos complicados.

En conclusión, los resultados de nuestro estudio van en la línea de los estudios ya existentes que confirman

el valor del laboratorio clínico en el pronóstico temprano de los pacientes con diagnóstico de COVID-19.

Muchos de los estudios publicados hasta la fecha se limitan a dar informes meramente descriptivos de los hallazgos de laboratorio en estos pacientes que puede limitar su uso en la práctica clínica (15,30). Creemos que es necesario disponer de más estudios multivariantes para conocer qué parámetros de laboratorio tienen más valor pronóstico de mala evolución en estos pacientes.

BIBLIOGRAFÍA

1. Gorbalenya AE, Baker SC, Baric RS, de Groot RJ, Drosten C, Gulyaeva AA, et al. The species Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2. *Nature Microbiology* 2020;5(4):536-44.
2. Hui DS, La E, Madani TA, Ntoumi F, Kock R, Dar O, et al. The continuing epidemic threat of novel coronaviruses to global health—the latest novel coronavirus outbreak in Wuhan, China. *Int J Infect Dis* 2020;91:264-6.
3. Paules CI, Marston HD, Fauci AS. Coronavirus infections—more than just the common cold. *JAMA* 2020;323(8):707-8.
4. Lu H, Stratton CW, Tang YW. Outbreak of pneumonia of unknown etiology in Wuhan China: The mystery and the miracle. *J Med Virol* 2020;92(4):401-2.
5. WHO Director-General's opening remarks at the media briefing on COVID-19 - 11 March 2020 [Internet]. Who.int. 2020 [cited 9 June 2020]. Available from: <https://www.who.int/dg/speeches/detail/who-director-general-s-opening-remarks-at-the-media-briefing-on-covid-19---11-march-2020>
6. COVID-19 [Internet]. Cnecovid.isciii.es. 2020 [citado el 1 de julio de 2020]. Available from: <https://cnecovid.isciii.es/covid19/>
7. Sinclair AJ, Abdelhafiz AH. Age, frailty and diabetes-triple jeopardy for vulnerability to Covid-19 infection. *EClinicalMedicine* 2020;22:100343. DOI: 10.1016/j.eclinm.2020.100343
8. Wang X, Fang X, Cai Z, Wu X, Gao X, Min J, et al. Comorbid chronic diseases and acute organ injuries are strongly correlated with disease severity and mortality among COVID-19 patients: a systematic review and meta-analysis. *Research* 2020;2020:1-17. DOI: 10.34133/2020/2402961
9. Richardson S, Hirsch JS, Narasimhan M, Crawford JM, McGinn T, Davidson KW, et al. Presenting Characteristics, Comorbidities, and Outcomes Among 5700 Patients Hospitalized With COVID-19 in the New York City Area. *JAMA* 2020;323(20):2052-2059. DOI: 10.1001/jama.2020.6775
10. Zhang C, Shi L, Wang FS. Liver injury in Covid-19: management and challenges. *Lancet Gastroenterol Hepatol* 2020;5(5):428-430. DOI: 10.1016/S2468-1253(20)30057-1
11. Tang N, Li D, Wang X, Sun Z. Abnormal coagulation parameters are associated with poor prognosis in patients with novel coronavirus pneumonia. *J Thromb Haemost* 2020;18(4):844-7. DOI: 10.1111/jth.14768
12. Liu J, Liu Y, Xiang P, Pu L, Xiong H, Li C. Neutrophil-to-lymphocyte ratio predicts critical illness patients with 2019 coronavirus disease in the early stage. *J Transl Med* 2020;18(1):206. DOI: 10.1186/s12967-020-02374-0
13. Guan W, Ni Z, Hu Y, Liang W, Ou C, He J. Clinical characteristics of coronavirus disease 2019 in China. *N Engl J Med*. 2020; 382(18): 1708-1720. DOI: 10.1056/NEJMoa2002032
14. Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J, Hu Y, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *The Lancet* 2020; 395(10223):497-506. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)30183-5

15. Chen N, Zhou M, Dong X, Qu J, Gong F, Han Y, et al. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. *The Lancet* 2020;395(102223):507-13. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)30211-7
16. Wang D, Hu B, Hu C, Zhu F, Liu X, Zhang J. Clinical characteristics of 138 hospitalized patients with 2019 novel coronavirus-infected pneumonia in Wuhan, China. *JAMA* 2020;323(11):1061-9. DOI: 10.1001/jama.2020.1585
17. Yang X, Yu Y, Shu H, Xia J, Liu H, Wu Y. Clinical course and outcomes of critically ill patients with SARS-CoV-2 pneumonia in Wuhan, China: a single-centered, retrospective, observational study. *Lancet Respir Med* 2020;8(5):475-81. DOI: 10.1016/S2213-2600(20)30079-5
18. Young BE, Ong SWX, Kalimuddin S, Low JG, Tan SY, Loh J, et al. Epidemiologic features and clinical course of patients infected with SARS-CoV-2 in Singapore. *JAMA* 2020;323(15):1488-94. DOI: 10.1001/jama.2020.3204
19. Guo T, Fan Y, Chen M, Wu X, Zhang L, He T, et al. Cardiovascular implications of fatal outcomes of patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19). *JAMA Cardiol* 2020. DOI: 10.1001/jamacardio.2020.1017
20. Lippi G, Plebani M. Laboratory abnormalities in patients with COVID-2019 infection. *Clin Chem Lab Med* 2020;58(7):1131-4. DOI: 10.1515/cclm-2020-0198
21. Deng X, Liu B, Li J, Zhang J, Zhao Y, Xu K. Blood biochemical characteristics of patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19): a systemic review and meta-analysis. *Clin Chem Lab Med* 2020;58(8):1172-81. DOI: 10.1515/cclm-2020-0338
22. Singh AK, Gupta R, Ghosh A, Misra A. Diabetes in COVID-19: Prevalence, pathophysiology, prognosis and practical considerations. *Diabetes Metab Syndr* 2020;14(4):303-10. DOI: 10.1016/j.dsx.2020.04.004
23. Huang R, Zhu L, Xue L, Liu L, Yan X, Wang J, et al. Clinical findings of patients with coronavirus disease 2019 in Jiangsu province, China: A retrospective, multi-center study. *PLOS Neglected Tropical Diseases* 2020;14(5):e0008280. DOI: 10.1371/journal.pntd.0008280
24. Wang X, Fang X, Cai Z, Wu X, Gao X, Min J, et al. Comorbid chronic diseases and acute organ injuries are strongly correlated with disease severity and mortality among COVID-19 patients: a systematic review and meta-analysis. *Research* 2020;2020:1-17. DOI: 10.34133/2020/2402961
25. Lippi G, Plebani M. The critical role of laboratory medicine during coronavirus disease 2019 (COVID-19) and other viral outbreaks. *Clin Chem Lab Med* 2020;58(7):1063-9. DOI: 10.1515/cclm-2020-0240
26. Buño A. El papel de los especialistas en medicina de laboratorio en la pandemia de COVID-19. *Avances en Medicina de Laboratorio* 2020;1(2).
27. Favalaro E, Thachil J. Reporting of D-dimer data in COVID-19: some confusion and potential for misinformation. *Clin Chem Lab Med* 2020;58(8):1191-9. DOI: 10.1515/cclm-2020-0573
28. Changeux JP, Amoura Z, Rey F, Miyara MA. A nicotinic hypothesis for Covid-19 with preventive and therapeutic implications. *C R Biol* 2020. DOI: 10.5802/crbio.8
29. WHO statement: Tobacco use and COVID-19 [Internet]. *Who.int*. 2020 [citado el 9 de junio de 2020]. Available from: <https://www.who.int/news-room/detail/11-05-2020-who-statement-tobacco-use-and-covid-19>
30. Wang K, Zuo P, Liu Y, Zhang M, Zhao X, Xie S, et al. Clinical and laboratory predictors of in-hospital mortality in patients with COVID-19: a cohort study in Wuhan, China. *Clin Infect Dis* 2020. DOI: 10.1093/cid/ciaa538



Revisión

El papel de los ritmos biológicos en la interpretación de los resultados en el laboratorio clínico. Conceptos básicos

Role of biological rhythms in the interpretation of clinical laboratory results. Basic concepts

María Carmen Lorenzo Lozano^{1,2}, Alfonso Luis Blázquez Manzanera^{1,3}, María Elena Redín Sarasola^{1,4}, Enrique Prada de Medio^{1,5}, Raquel Blázquez Sánchez^{1,6}, Laura Criado Gómez^{1,6}, Félix Gascón Luna^{1,7}, Daniel Pineda Tenor^{1,8}, Ana Cosmen Sánchez^{1,9} y Santiago Prieto Menchero^{1,10}

¹Comité de Calidad, Gestión, Seguridad y Evidencia. Asociación Española de Biopatología Médica-Medicina de Laboratorio (AEBM-ML). Madrid. ²Complejo Hospitalario Universitario de Toledo. Toledo. ³Hospital General Universitario Rafael Méndez. Lorca, Murcia. ⁴Hospital Universitario de Donostia. Donostia, Gipuzkoa. ⁵Hospital Virgen de la Luz. 16002 Cuenca. ⁶Hospital Universitario de Móstoles. Móstoles, Madrid. ⁷Hospital Valle de los Pedroches. Pozoblanco, Córdoba. ⁸Hospital de Antequera (Área de Gestión Sanitaria Norte de Málaga). Antequera, Málaga. ⁹Hospital Santa Bárbara. Puertollano, Ciudad Real. ¹⁰Hospital Universitario de Fuenlabrada. Fuenlabrada, Madrid

Recibido: 05/04/2020
Aceptado: 30/07/2020

Correspondencia: María Carmen Lorenzo Lozano. Complejo Hospitalario Universitario de Toledo. Avenida Barber, 30. 45071 Toledo.
e-mail: mainlo@hotmail.com

Palabras clave:

Cronobiología. Ritmo biológico. Innovación en laboratorio clínico.

RESUMEN

La Cronobiología es la rama de la biología que estudia la organización temporal de los procesos fisiológicos. Aunque sus aplicaciones son ampliamente estudiadas en otras áreas de la medicina, en el laboratorio clínico existen nuevas oportunidades de investigación con la incorporación de la inteligencia artificial. Estamos familiarizados a asociar resultados de algunas hormonas a sus horas de extracción (cortisol o melatonina). Sin embargo, son pocos los estudios que analizan la presencia de variabilidad circadiana de otros parámetros analizados en el laboratorio clínico. Una correcta recogida de la hora de extracción de muestras por parte de los sistemas informáticos del laboratorio podría aportar información relevante para llevar a cabo estudios de investigación e interpretación en esta disciplina. Queremos presentar unas nociones básicas sobre Cronobiología e invitar al desarrollo de líneas de investigación en este campo.

Contribución de los autores: María Carmen Lorenzo Lozano y Alfonso Luis Blázquez Manzanera han contribuido por igual como primeros autores. Todos los autores han contribuido intelectualmente en el trabajo y reúnen las condiciones de autoría, aprobando la versión final del mismo.

Conflicto de intereses: los autores declaran no tener ningún conflicto de interés.

DOI: 10.20960/revmedlab.00022

Lorenzo Lozano MC, Blázquez Manzanera AL, Redín Sarasola ME, Prada de Medio E, Blázquez Sánchez R, Criado Gómez L, Gascón Luna F, Pineda Tenor D, Cosmen Sánchez A, Prieto Menchero S. El papel de los ritmos biológicos en la interpretación de los resultados en el laboratorio clínico. Conceptos básicos. Rev Med Lab 2020;1(2):69-75

Keywords: Chronobiology. Biological rhythm. Clinical laboratory innovation.

ABSTRACT

Chronobiology is the branch of biology concerned with the periodicity occurring in physiological processes. While its applications have been widely studied in multiple medical areas, in the clinical laboratory there are new research opportunities with the incorporation of artificial intelligence. We are familiar to associate some hormone levels with their extraction time (cortisol or melatonin). However, there are very few studies evaluating the presence of circadian variation in other parameters tested in the clinical laboratory. Correctly recording the timing of the specimen collection in the laboratory information systems could provide relevant information for research and interpretation studies in this discipline. We want to introduce some basic concepts of chronobiology and to promote research in this field.

ANTECEDENTES: ORÍGENES DE LOS RELOJES BIOLÓGICOS Y DE LA CRONOBIOLOGÍA

Desde sus orígenes, la Tierra ha estado girando alrededor de su propio eje y alrededor del Sol, generando la alternancia día-noche y la oscilación estacional respectivamente. Existen otros ciclos ambientales con influencia sobre la fisiología humana, como el ciclo lunar, que presenta una oscilación cada 28 días aproximadamente. Estas oscilaciones ambientales han provocado la aparición de los relojes biológicos, que han permitido que los seres vivos sincronicen su comportamiento y fisiología con el ambiente. Además, estos relojes biológicos suponen una ventaja adaptativa, ya que permiten anticipar los cambios cíclicos previendo (y no reaccionando) ante estas oscilaciones ambientales.

La observación de las variaciones periódicas en parámetros de salud data de los médicos del Antiguo Egipto y, posteriormente, médicos y filósofos griegos ahondaron en esta cuestión. Ya en el siglo IV a. C., Andróstenes describió los ritmos de apertura y cierre de las hojas del tamarindo. Sin embargo, en todas estas observaciones se consideró que estos ritmos sucedían como una respuesta pasiva a los cambios astronómicos. En el año 1729, Jean Jacques d'Ortous de Mairan describió los movimientos foliares de *Mimosa pudica* aislándola de los ciclos astronómicos. Para ello, la mantuvo en condiciones de oscuridad constante y observó que los movimientos foliares se mantenían en ausencia de la señal astronómica y, por tanto, eran endógenos (1). El primer ritmo biológico descrito en humanos se atribuye a Sanctorius, quien a principios del siglo XVII registró durante meses su propio peso y turbidez de la orina; mientras que el primer ritmo circadiano (del latín *circa diem*, que significa aproximadamente un día) fue descrito por Briton J. Davy en 1845. Davy descubrió que la temperatura central del cuerpo presentaba un ritmo con un valor máximo alrededor de las 18:30 y un mínimo alrededor de las 04:00 (2). Debido al concepto de homeostasis, introducido por Claude Bernard en 1865 y definido por Walter Bradford Cannon en 1926 (3), que tenía demasiado peso en la medicina, eran muy

pocas las líneas de investigación en el campo de la Cronobiología. En 1960 con el Cold Spring Harbor Symposium on Quantitative Biology (4), simposio liderado por los considerados padres de la Cronobiología (Colin Pittendrigh, Jürgen Aschoff y Franz Halberg) describieron el encarrilamiento, los sincronizadores, la independencia relativa de la temperatura ambiental, la curva de respuesta de fase y la heredabilidad del periodo de los ritmos biológicos (5-10). Actualmente, el número de publicaciones en este ámbito crece exponencialmente en campos tan distintos como la cronoterapia del cáncer (11), la desorganización temporal debida al trabajo a turnos (12) o los mecanismos moleculares del reloj biológico, cuyos autores fueron galardonados con el premio Nobel de Medicina en 2017 (13).

ANATOMÍA Y FISIOLOGÍA DEL SISTEMA CIRCADIANO

El sistema circadiano es el responsable de la organización temporal de todos los procesos que ocurren en el organismo. Como consecuencia de ello, estos procesos van a presentar una oscilación circadiana y estarán sincronizados con el medio ambiente. El sistema circadiano se estructura en:

1. Entradas, que reciben la información temporal (14).
2. Marcapasos central, que recibe y procesa la señal de las entradas y la transmite al resto del organismo (15).
3. Salidas, que conforman la multitud de ritmos manifiestos dependientes del sistema circadiano (16). Existen, además, osciladores periféricos en el cerebro y otros tejidos, tales como hígado, tejido adiposo, riñón o corazón (17).

Entradas

El sincronizador o *zeitgeber* (palabra alemana que significa dador de tiempo) más importante del sistema

circadiano humano es el ciclo luz-oscuridad. La información lumínica se recibe por medio de una población de células ganglionares de la retina intrínsecamente fotosensibles, las cuales integran también la información que reciben de conos y bastones (18,19). El pigmento presente en estas células se denomina melanopsina y pertenece a la familia de las opsinas fotosensibles, con un máximo de sensibilidad *in vivo* a 481 nanómetros (20). Existen otros sincronizadores menos importantes como el ejercicio físico, la temperatura ambiental, el ciclo sueño-vigilia o la alimentación (21).

Marcapasos central

El marcapasos principal se sitúa en los núcleos supraquiasmáticos del hipotálamo (NSQ). La información lumínica de la retina viaja a través del tracto retinohipotalámico hasta la región ventrolateral del NSQ, la cual la procesa y transmite a la región dorsomedial de los NSQ; estos conforman el marcapasos propiamente dicho (15). Cada neurona del marcapasos principal es un oscilador independiente, que se sincroniza con el resto de neuronas osciladoras para transmitir una periodicidad común al resto del organismo (22). Cada oscilador neuronal muestra ritmos circadianos en la expresión de ARN mensajero y en la síntesis de proteínas del reloj molecular. Así, los factores de transcripción BMAL1 y CLOCK (NPAS en los NSQ) constituyen un heterodímero que promueve la expresión de los factores de transcripción PER y CRY, los cuales dimerizan para inhibir su propia expresión y la del dímero CLOCK:BMAL1 (23). Todas las células del organismo presentan este reloj molecular. Sin embargo, los relojes periféricos no son capaces de generar autónomamente la oscilación circadiana y necesitan ser sincronizados por el marcapasos central (17).

Salidas

El marcapasos principal controla la organización temporal del organismo por medio de mediadores nerviosos y humorales, que van a regular la secreción de hormonas como el cortisol, la melatonina o la gonadotropina; o el control de ritmos manifiestos como la alimentación o el ciclo sueño-vigilia (16). Algunos de los ritmos manifiestos más importantes se denominan ritmos marcadores, ya que permiten inferir el funcionamiento del marcapasos principal. De entre estos, el ritmo de melatonina plasmática se considera el *gold standard*, ya que su síntesis y liberación es dependiente del marcapasos principal. La melatonina se secreta durante la noche del individuo y en ausencia de luz, alcanzando su máximo durante la misma (16,24). Los ritmos de temperatura corporal central y periférica distal son también ritmos marcadores que se encuentran en antifase (tienen un patrón inverso) y guardan una relación de fase estable con la secreción de melatoni-

na (16). Existen otros ritmos marcadores como el de actividad física, que, aunque es menos fiable, ha demostrado ser una herramienta útil en la evaluación del sistema circadiano en problemas de sueño (25).

Cronodisrupción y cronopotenciación

La alteración del orden temporal de un individuo por la exposición inadecuada a la luz, el *jetlag* crónico (debido a vuelos transmeridianos o compromisos sociales) y/o el trabajo a turnos se conoce como disrupción circadiana o cronodisrupción. Es tal la importancia de este trastorno que recientemente se incluyó en el grupo 2A de la Agencia Internacional de Investigaciones sobre el Cáncer (IARC) como probablemente carcinogénica en humanos (12). La alteración circadiana puede ser detectada por una pérdida de ritmicidad, por avances, retrasos o inestabilidad de fase, por la desincronización interna del individuo o por la desincronización del individuo con respecto a su ambiente (26). Sin embargo, recientemente se ha propuesto que la cronodisrupción puede ser definida como la rotura del nexo fisiológico entre el tiempo interno y el externo (27).

Afortunadamente, existen estrategias para paliar o revertir los efectos de la cronodisrupción, las cuales están basadas en potenciar los sincronizadores del sistema circadiano y se engloban en el concepto de cronopotenciación (14). De este modo, para potenciar el sistema circadiano se puede aumentar el contraste lumínico y térmico entre el día y la noche, suministrar melatonina, realizar ejercicio regular, mantener contactos sociales regulares y favorecer los horarios de alimentación y de sueño regulares (16).

¿Cómo se evalúa el sistema circadiano?

Propiedades fundamentales

La propiedad más importante de un ritmo biológico es su carácter endógeno, por la cual el ritmo permanece en ausencia de las señales sincronizadoras ambientales. Sin embargo, el periodo de oscilación endógeno (τ) difiere ligeramente del periodo del *zeitgeber* (T) (5). Además, un ritmo biológico debe poder ser encarilado por un *zeitgeber*, lo que lo lleva a presentar el periodo del *zeitgeber* con una cierta relación de fase (ψ), que permanece estable (28) (Fig. 1). Por último, el reloj biológico es capaz de compensar las variaciones térmicas, lo que se traduce en un periodo estable a pesar de los cambios de temperatura ambiental (29).

Clasificación según su periodo

Los ritmos biológicos pueden clasificarse según la duración de una oscilación completa, es decir, de su periodo, apareciendo tres categorías (28):

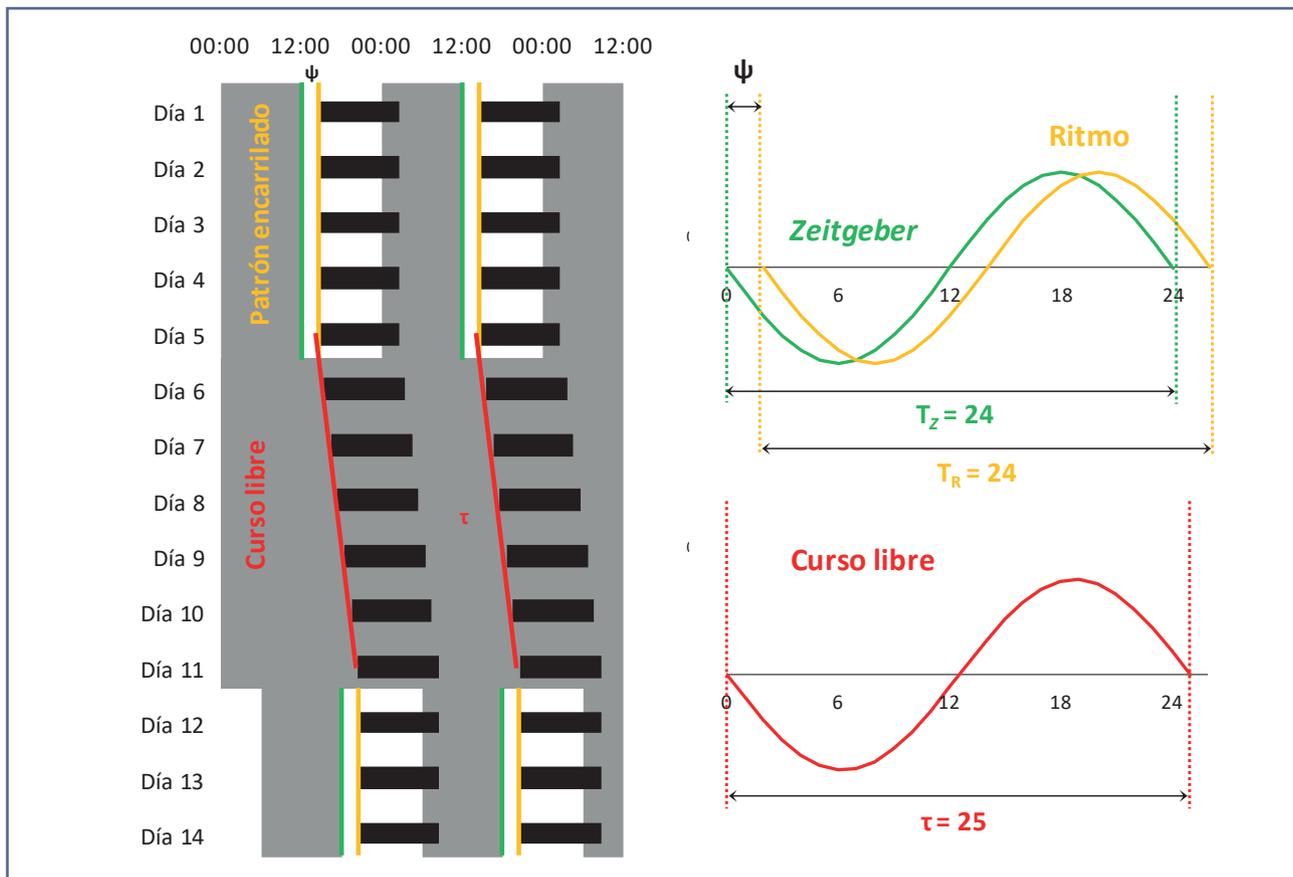


Figura 1 – Encarrilamiento. En el medio ambiente, un ritmo biológico exhibe un periodo de 24 horas (T_R), ya que está encarrilado por un zeitgeber con ese periodo (T_z) (representado por el ciclo luz oscuridad en el ejemplo) con una relación de fase determinada (ψ) entre ambos. Sin embargo, la ausencia del zeitgeber provoca que el ritmo biológico entre en curso libre (τ) con un periodo cercano a las 24 horas ($\tau = 25$ horas en el ejemplo). Tomada de cita 28.

1. **Ritmos infradianos:** oscilaciones periódicas endógenas con menos de una oscilación al día (periodo endógeno o tau mayor de 28 horas). En esta categoría se incluyen los ritmos circalunares y circanuales.
2. **Ritmos circadianos:** oscilaciones biológicas con periodo endógeno de aproximadamente un día (entre 20 y 28 horas). La mayor parte de los ritmos biológicos están comprendidos en esta categoría, tales como los ritmos de secreción de melatonina y cortisol, el ciclo sueño/vigilia o los ritmos de temperatura corporal.
3. **Ritmos ultradianos:** oscilaciones periódicas con más de una oscilación al día (periodo endógeno inferior a 20 horas). A esta categoría pertenecen los patrones de secreción de diversas hormonas.

A pesar de esta clasificación, existen variables que presentan ritmos incluidos en más de una categoría, como las hormonas sexuales, que presentan oscilaciones ultra- circa- e infradianas o el patrón de secreción de melatonina, que muestra oscilaciones circa- e infradianas (30).

Análisis de los ritmos biológicos

El análisis más sencillo (y también el más utilizado) para caracterizar un ritmo biológico es el método de Coseno, por el cual se ajustan los datos obtenidos a una función coseno. Los parámetros que se obtienen de este método paramétrico son el mesor (línea media de la función coseno a la que se ajustan los datos), amplitud (diferencia entre el máximo, o el mínimo, de dicha función coseno y el mesor), acrofase (momento en el que ocurre el máximo en la función coseno ajustada) y porcentaje de varianza explicado por el modelo (31) (Fig. 2).

Sin embargo, si los datos no se ajustan a una función coseno se puede realizar un análisis no paramétrico, que caracteriza el ritmo biológico mediante: *estabilidad interdiaria* (IS), que representa lo parecidos que son los días entre sí; *variabilidad intradiaria* (IV), que mide la fragmentación del ritmo; *valores* máximos y mínimos (promedio de un número de horas consecutivas de valores más altos y más bajos, respectivamente), que permiten medir el rango de oscilación junto al momento en que ocurre, y *amplitud relativa* (RA), que es la diferencia de los valores máximos menos los valores mínimos, dividida por la suma de ambos (32-34).

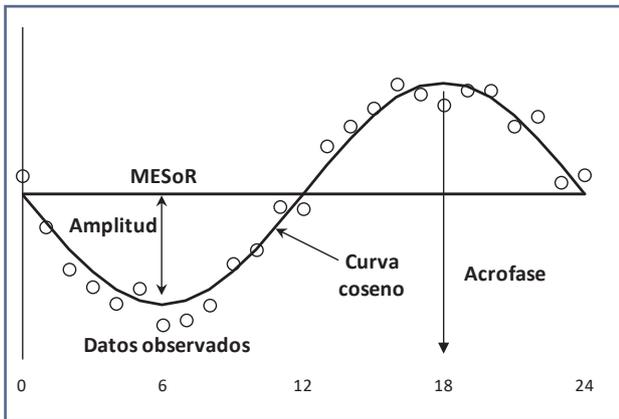


Figura 2 – Análisis de Cosinor. La figura representa el mejor ajuste de los datos utilizando la función coseno junto a la representación gráfica de mesor, amplitud y acrofase.

LOS RITMOS BIOLÓGICOS EN EL LABORATORIO DE DIAGNÓSTICO CLÍNICO

La práctica diaria en el laboratorio clínico incluye el análisis de diferentes analitos en circunstancias muy variadas, tales como la edad, el sexo o el estado de salud del paciente. Sin embargo, la fase del ritmo biológico se tiene en consideración solamente para ritmos de secreción hormonal, como es el caso de las hormonas sexuales en el ciclo ovárico o la melatonina y el cortisol a lo largo del día.

En este sentido, la hora del día es clave para la correcta interpretación del resultado analítico. Por ejemplo, en el eje hipotálamo-hipófisis aparecen ritmos asociados al ciclo sueño-vigilia:

- **ACTH (hormona adrenocorticotropa) y cortisol:** presentan un máximo alrededor del momento del despertar y va disminuyendo a lo largo del día, apareciendo el mínimo en la primera mitad del sueño. La ACTH puede triplicar sus valores entre el máximo y el mínimo, mientras que el cortisol llega a multiplicar su valor por ocho (35).
- **TSH (hormona estimulante de la tiroides):** esta hormona presenta un claro patrón circadiano con valores más bajos durante la fase de actividad y que llegan a duplicarse durante la fase del sueño (36).
- **GH (hormona de crecimiento):** presenta una secreción claramente pulsátil, oscilando entre valores cercanos a cero y 10 ng/ml en el máximo situado en la primera mitad de la noche (37).
- **Prolactina:** hormona con un claro ritmo circadiano, en el que los valores de la noche llegan a quintuplicar los valores del día (38).
- **Testosterona:** presenta un ritmo de escasa amplitud, con valores más altos por la noche y un pico en torno al momento del despertar (35).
- En el caso de los leucocitos están descritos ritmos para todas sus poblaciones con máximos en la tarde o la noche, cuyos valores son entre un 50 y un

100 % superiores a los que se encuentran durante el día (39).

- Existen otras variables con claros ritmos circadianos, como es el caso de la serie roja (40), la hemostasia (39,40), la función renal (41) o el metabolismo (42).

RITMOS POBLACIONALES: ¿UNA APROXIMACIÓN SENCILLA AL ESTUDIO DE LOS RITMOS CIRCADIANOS?

La mayor dificultad para el estudio de los ritmos circadianos en parámetros de laboratorio clínico es que sería necesaria la monitorización e ingreso de un sujeto durante 24 horas, extrayendo muestras cada cierto tiempo. Sin embargo, la gran cantidad de sujetos que se analizan en un laboratorio de análisis clínicos a lo largo del día nos puede permitir abordar una perspectiva de futuro tratando de evaluar una primera aproximación a las características de los ritmos. Hay trabajos previos que demuestran la existencia de un ritmo circadiano de datos poblacionales tomados de distintos laboratorios de urgencias (43,44). Este enfoque no es novedoso en la práctica clínica, ya que los datos poblacionales se utilizan habitualmente como valores de referencia en los laboratorios clínicos.

Esta aproximación circadiana a los parámetros analizados en el laboratorio clínico requiere de una compleja labor de cribado y procesamiento con el fin de separar a los sujetos según su patología, grupo de edad o sexo, valores críticos, etc. De esta forma, se podría obtener un perfil circadiano de la población independiente de la variabilidad biológica intra- e interindividual. Posteriormente, habría que analizar si este perfil circadiano es extrapolable al individuo mediante el análisis de ritmos individuales en muestras más pequeñas y, por tanto, manejables.

Sin embargo, el papel del laboratorio clínico debe ir más allá del mero estudio observacional y descriptivo, y aspirar a un desempeño apoyado en herramientas que permitan una adecuada interpretación de los datos en los informes diagnósticos. Para ello, existen programas informáticos y de inteligencia artificial que pueden determinar si diferentes alteraciones de un patrón circadiano pueden ser síntoma de alguna patología o, incluso, predictores de la misma. Debemos profundizar nuestro conocimiento en este tema. En este sentido, el análisis de grandes cantidades de datos (*big data* en inglés) va a permitir contrastar, asociar, predecir e incluso prevenir los eventos médicos adversos de manera personalizada para cada individuo.

El futuro está en el análisis de macrodatos y la inteligencia artificial como posibles áreas futuras de conocimiento para el laboratorio. Es necesario generar registros estructurados que tengan el máximo detalle para que sean de utilidad. Nuestra recomendación es recoger dentro de los sistemas de información del laboratorio un dato más, la fecha y hora de la toma de muestra.

BIBLIOGRAFÍA

1. De Mairan JD. *Observation botanique. Histoire de l'Académie Royale des Sciences. Paris*; 1729.
2. Landois L. d. *Physiol. d. M.* 1900. *Realencycl. Bd*, 163; 1885.
3. Canon WB. *The wisdom of the body*; 1932. DOI: 10.1097/00000441-193212000-00028
4. Aschoff J. Exogenous and endogenous components in circadian rhythms. In *Cold Spring Harbor symposia on quantitative biology. Cold Spring Harbor Laboratory Press*; 1960;25:11-28. DOI: 10.1101/SQB.1960.025.01.004
5. Aschoff J. *Circadian Rhythms: Influences of Internal and External Factors on the Period Measured in Constant Conditions 1. Zeitschrift für Tierpsychologie* 1979;49(3):225-49. DOI: 10.1111/j.1439-0310.1979.tb00290.x
6. Aschoff J, Daan S, Figala J, Müller K. Precision of entrained circadian activity rhythms under natural photoperiodic conditions. *Naturwissenschaften* 1972;59(6): 276-7. DOI: 10.1007/BF00610214
7. Bunning E. Zur Kenntnis der erblichen Tagesperiodizität bei den Primarblättern von *Phaseolus multiflorus*. *Jahrb Wiss Botan* 1935;81:411-8.
8. Bunning E. Über die tagesperiodischen Bewegungen der Primarblätter von *Phaseolus multiflorus*. II. Die Bewegungen beim Thermokonstanz. *Ber Deut Bot Ges* 1930;48:227-52.
9. Pittendrigh CS, Daan S. A functional analysis of circadian pacemakers in nocturnal rodents. *Journal of Comparative Physiology* 1976;106(3):223-52. DOI: 10.1007/BF01417856
10. Pittendrigh CS. On temperature independence in the clock system controlling emergence time in *Drosophila*. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 1954;40(10):1018-29. DOI: 10.1073/pnas.40.10.1018
11. Sancar A, Lindsey-Boltz LA, Gaddameedhi S, Selby CP, Ye R, Chiou YY, et al. Circadian clock, cancer and chemotherapy. *Biochemistry* 2014;54(2):110-23.
12. Erren TC, Reiter RJ. Defining chronodisruption. *Journal of Pineal Research* 2009;46(3):245-47. DOI: 10.1111/j.1600-079X.2009.00665.x
13. Young MW. *Time Travels: A 40-Year Journey from Drosophila's Clock Mutants to Human Circadian Disorders (Nobel Lecture)*. *Angewandte Chemie International Edition* 2018;57(36):11532-9. DOI: 10.1002/anie.201803337
14. Martínez-Nicolas A, Madrid JA, Rol MA. Day-night contrast as source of health for the human circadian system. *Chronobiology International* 2014;31(3):382-93. DOI: 10.3109/07420528.2013.861845
15. Moore RY, Speh JC, Leak RK. Suprachiasmatic nucleus organization. *Cell and Tissue Research* 2002;309(1):89-98. DOI: 10.1007/s00441-002-0575-2
16. Terzibasi-Tozzini E, Martínez-Nicolas A, Lucas-Sánchez A. The clock is ticking. Ageing of the circadian system: From physiology to cell cycle. In *Seminars in Cell & Developmental Biology* 2017;70:164-76. Academic Press. DOI: 10.1016/j.semcdb.2017.06.011
17. Ko CH, Yamada YR, Welsh DK, Buhr ED, Liu AC, Zhang EE, et al. Emergence of noise-induced oscillations in the central circadian pacemaker. *PLoS Biology* 2010;8(10): e1000513. DOI: 10.1371/journal.pbio.1000513
18. Ruby NF, Brennan TJ, Xie X, Cao V, Franken P, Heller HC, et al. Role of melanopsin in circadian responses to light. *Science* 2002;298(5601):2211-3.
19. Hattar S, Lucas RJ, Mrosovsky N, Thompson S, Douglas RH, Hankins MW, et al. Melanopsin and rod-cone photoreceptive systems account for all major accessory visual functions in mice. *Nature* 2003;424(6944):75. DOI: 10.1038/nature01761
20. Peirson SN, Foster RG. *Nonimage Forming Photoreceptors. In The Circadian Clock. New York: Springer*; 2010. pp. 105-13. DOI: 10.1007/978-1-4419-1262-6_4
21. Roenneberg T, Mrosovsky M. Molecular circadian oscillators: an alternative hypothesis. *Journal of Biological Rhythms* 1998;13(2):167-79. DOI: 10.1177/07487309812900011
22. Webb AB, Angelo N, Huettner JE, Herzog ED. Intrinsic, non-deterministic circadian rhythm generation in identified mammalian neurons. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2009;106(38):16493-8. DOI: 10.1073/pnas.0902768106
23. Vanselow JT, Kramer A. Posttranslational regulation of circadian clocks. In: Albrecht U, editor. *Protein Reviews. Volume 12. The Circadian Clock. New York: Springer Science*; 2010. pp. 79-104.
24. Van Someren EJ, Nagtegaal E. Improving melatonin circadian phase estimates. *Sleep Medicine* 2007;8(6):590-601. DOI: 10.1016/j.sleep.2007.03.012
25. Morgenthaler TI, Lee-Chiong T, Alessi C, Friedman L, Aurora RN, Boehlecke B, et al. Practice parameters for the clinical evaluation and treatment of circadian rhythm sleep disorders. *Sleep* 2007;30(11):1445-59. DOI: 10.1093/sleep/30.11.1445
26. Bonmati-Carrion MA, Arguelles-Prieto R, Martínez-Madrid MJ, Reiter R, Hardeland R, Rol MA, et al. Protecting the melatonin rhythm through circadian healthy light exposure. *International Journal of Molecular Sciences* 2014;15(12):23448-500. DOI: 10.3390/ijms151223448
27. Erren TC, Reiter RJ. Revisiting chronodisruption: when the physiological nexus between internal and external times splits in humans. *Naturwissenschaften* 2013;100(4):291-8. DOI: 10.1007/s00114-013-1026-5
28. Martínez Nicolás A. *Interrelación entre los sincronizadores y el sistema circadiano humano (Crosstalk between synchronizers and the human circadian system)*. Proyecto de investigación. Tesis doctoral. Pittendrigh, C. S. (1981). *Circadian systems: entrainment*. In: *Biological rhythms*. Boston, MA: Springer; 2014. pp. 95-124.
29. Pittendrigh, C. S. (1960, January). *Circadian rhythms and the circadian organization of living systems*. In *Cold Spring Harbor symposia on quantitative biology (Vol. 25, pp. 159-184)*. Cold Spring Harbor Laboratory Press. DOI: 10.1101/SQB.1960.025.01.015
30. Simonneaux V, Garidou ML, Ribelayga C, Pévet P. *Mechanisms Underlying Seasonal Regulation of Melatonin Synthesis in Rodents. Melatonin: Biological Basis of Its*, 1. 2006.
31. Refinetti R, Cornelissen G, Halberg F. Procedures for numerical analysis of circadian rhythms. *Biological Rhythm Research* 2007;38(4):275-325. DOI: 10.1080/09291010600903692
32. Witting W, Kwa IH, Eikelenboom P, Mirmiran M, Swaab DF. Alterations in the circadian rest-activity rhythm in aging and Alzheimer's disease. *Biological Psychiatry* 1990;27(6):563-72. DOI: 10.1016/0006-3223(90)90523-5
33. Van Someren EJ, Swaab DF, Colenda CC, Cohen W, McCall WV, Rosenquist PB. Bright light therapy: improved sensitivity to its effects on rest-activity rhythms in Alzheimer patients by application of nonparametric methods. *Chronobiology International* 1999;16(4):505-18. DOI: 10.3109/07420529908998724
34. Martínez-Nicolas A, Ortiz-Tudela E, Madrid JA, Rol MA. Crosstalk between environmental light and internal time in humans. *Chronobiology International* 2011;28(7):617-29. DOI: 10.3109/07420528.2011.593278
35. Lejeune-Lenain C, Van Cauter E, Désir D, Beyloos M, Franckson JRM. Control of circadian and episodic variations of adrenal androgens secretion in man. *Journal of Endocrinological Investigation* 1987;10(3):267-76. DOI: 10.1007/BF03348129
36. Van Coevorden A, Laurent E, Decoster C, Kerkhofs M, Neve P, Van Cauter E, et al. Decreased basal and stimulated thyrotropin secretion in healthy elderly men. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 1989;69(1):177-85. DOI: 10.1210/jcem-69-1-177
37. Van Cauter E, Plat L. Physiology of growth hormone secretion during sleep. *The Journal of Pediatrics* 1996;128(5):S32-S37. DOI: 10.1016/S0022-3476(96)70008-2
38. Van Cauter E, L'Hermite M, Copinschi G, Refetoff S, Desir D, Robyn C. Quantitative analysis of spontaneous variations of plasma

- prolactin in normal man. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism* 1981;241(5):E355-E363. DOI: 10.1152/ajpendo.1981.241.5.E355
39. Haus E, Smolensky MH. Biologic rhythms in the immune system. *Chronobiology International* 1999;16(5):581-622. DOI: 10.3109/07420529908998730
40. Pritchett D, Reddy AB. Circadian clocks in the hematologic system. *Journal of Biological Rhythms* 2015;30(5):374-88. DOI: 10.1177/0748730415592729
41. Gumz ML. Taking into account circadian rhythm when conducting experiments on animals. *American Journal of Physiology-Renal Physiology* 2016;310(6):F454. DOI: 10.1152/ajprenal.00549.2015
42. Panda S. Circadian physiology of metabolism. *Science* 2016;354(6315):1008-15.
43. Blázquez AL, Lorenzo MC, Martos AL, González EDR, Perea MP, Bullejos PF, et al. Circadian rhythm of glomerular filtration: A population-based descriptive study in two hospitals. *Clinica Chimica Acta* 2019;493:S480.
44. Lorenzo MC, Blázquez AL, Melguizo DM, González DR, Bullejos PF, Perea MP, et al. Correlation between population values of glomerular filtration and hematocrit circadian pattern of a regional hospital. *Clinica Chimica Acta* 2019;493:S487-S488.



Caso Clínico

Disnea y dolor torácico en paciente tratado de sífilis hace 20 años

Dyspnea and chest pain in a patient treated for syphilis 20 years ago

Cristina Muñoz Peña, Rocío Cebollada Sánchez, María Teresa Merino Laborda y Patricia Esteve Alcalde

Hospital Ernest Lluch Martín. Calatayud, Zaragoza

Recibido: 16/03/2020
Aceptado: 04/05/2020

Correspondencia: Cristina Muñoz Peña. Hospital Ernest Lluch Martín de Calatayud. A-2, s/n, 50299 Calatayud, Zaragoza
e-mail: cristinamupe@gmail.com

CASO CLÍNICO

Varón de 49 años, tratado de sífilis hace 20 años con penicilina IM sin control posterior, sin antecedentes familiares de cardiopatía, fumador de 20 cigarrillos/día, acude al servicio de Urgencias por cuadro catarral con disnea y dolor torácico en la región precordial irradiado a brazo izquierdo que en las dos últimas noches le impide dormir. En la exploración física presenta como datos de interés: sibilancias respiratorias en hemitórax izquierdo y actividad cardíaca rítmica con soplo diastólico aórtico. Además, en el ECG se observan alteraciones inespecíficas de la repolarización. Se decide el ingreso del paciente en el Servicio de Medicina Interna para completar el estudio.

Se solicita ecocardiografía transtorácica, diagnosticándose insuficiencia aórtica severa, afectación de ventrículo izquierdo con miocardiopatía dilatada (fracción de eyección del ventrículo izquierdo 48 %) e insuficiencia mitral ligera, por lo que se inicia estudio por Cardiología para reposición valvular.

Ante el antecedente de sífilis tratada y la presencia de la insuficiencia aórtica, la cual podría ser una manifestación de sífilis terciaria (sífilis cardiovascular), se solicitó serología de treponema, la cual confirmó infección activa (Tabla I). Además, se descartaron otras infecciones de transmisión sexual como VIH, hepatitis C y hepatitis B. El resto de parámetros analíticos (hemograma, etc.) tampoco presentaban alteraciones de interés.

Aunque el paciente no presentaba sintomatología neurológica, dado los hallazgos presentes, también se solicitó el estudio del LCR, con resultados de bioquímica normal pero con pleocitosis linfocítica y FTA-ABS positivo (Tabla II).

Finalmente, se diagnostica sífilis terciaria asociada a afectación cardiovascular y neurosífilis asintomática. Se inicia tratamiento con penicilina cristalina G, con dosis diaria de 24 millones de unidades IV a frecuencia de 4 millones de unidades cada 4 horas durante 14 días. Actualmente, el paciente se encuentra en seguimiento serológico y de LCR de manera ambulatoria.

Conflicto de intereses: los autores declaran no tener ningún conflicto de interés.

DOI: 10.20960/revmedlab.0008

Muñoz Peña C, Cebollada Sánchez R, Merino Laborda MT, Esteve Alcalde P. Disnea y dolor torácico en paciente tratado de sífilis hace 20 años. Rev Med Lab 2020;1(2):76-78

Tabla I.

Resultados de la serología de treponema

Parámetro analítico	Resultado	Valores de referencia
IgG antitreponema P.	Positivo	Negativo
IgM antitreponema P.	Positivo	Negativo
VDRL	Negativo	No reactivo
RPR	> 1/128	No reactivo
TPHA	> 1/20480	No reactivo
FTA-Abs	Positivo	Negativo

Tabla II.

Resultados del estudio del LCR

Parámetro analítico	Resultado	Valores de referencia*
Aspecto macroscópico	Agua de roca	Agua de roca
Recuento de hematíes	1/ μ l	< 5/ μ l
Recuento de leucocitos	126/ μ l	< 5/ μ l
Diferenciación celular	98 % MN y 2 % PMN	< 3 % PMN
Glucosa	53 mg/dl	> 50 mg/dl
Proteínas totales	40,7 mg/dl	< 45 mg/dl
VDRL	Negativo	No reactivo
FTA-Abs	Positivo	Negativo

*Rango de normalidad en adultos.

DISCUSIÓN

La sífilis es una infección ocasionada por la espiroqueta *Treponema pallidum* y su principal forma de transmisión es la sexual. Después de un periodo de incubación, aparece una lesión primaria, acompañada de linfadenopatía regional; a continuación, una fase secundaria con bacteriemia; seguida de un periodo latente de infección subclínica de muchos años de duración. El 30-40 % de casos no tratados evolucionan hacia una tercera fase, caracterizada por lesiones cardiovasculares y neurológicas (1).

Actualmente, la sífilis terciaria es una complicación poco frecuente; sin embargo, a pesar de una importante disminución de casos tras la aparición de la penicilina, se viene observando un aumento en la presentación de la sífilis cardiovascular y neurosífilis desde las décadas de los ochenta y los noventa en ciertos

grupos de pacientes, como aquellos portadores de VIH o con conductas sexuales de riesgo (2). Se ha descrito que hasta un 43 % de pacientes con sífilis cardiovascular, también padecen neurosífilis (3).

La sífilis cardiovascular generalmente debuta entre 10 a 30 años después de la infección inicial. Se debe sospechar sífilis cardiovascular siempre en mayores de 40 años, con dilatación aneurismática de la aorta ascendente, con o sin regurgitación aórtica, y con factores de riesgo para infecciones de transmisión sexual (4).

La neurosífilis puede ocurrir en cualquier momento desde la primo infección, y no es sinónimo de sífilis terciaria (5). Se cree que en la mayoría de las personas infectadas ocurre una invasión temprana del treponema en el SNC, que posteriormente es depurada por el sistema inmune. Sin embargo, en algunos pacientes puede permanecer en el SNC con manifestaciones clínicas variables, desde aquellos que se mantienen asintomáticos, hasta los que presentan cuadros neurológicos muy complejos como el tabes dorsal o la parálisis general progresiva (6).

El diagnóstico de la sífilis puede realizarse por detección directa del agente causal mediante microscopía de campo oscuro o por inmunofluorescencia directa de las secreciones de las lesiones y/o por detección indirecta mediante pruebas serológicas.

El diagnóstico indirecto mediante marcadores serológicos es el procedimiento más frecuente. Estos marcadores necesitan, aproximadamente, de unos 14 a 20 días para hacerse reactivos. Las pruebas serológicas de la sífilis se dividen en no treponémicas o reagínicas (inespecíficas), representadas principalmente por las pruebas RPR y VDRL; y pruebas treponémicas (específicas), que incluyen TPHA, FTA, inmunoblot, EIA y quimioluminiscencia (CLIA).

El diagnóstico serológico no treponémico determina semicuantitativamente (título) la presencia de anticuerpos frente a antígenos no específicos de treponema. Reflejan la actividad de la infección y permiten hacer un seguimiento de la respuesta al tratamiento. Son pruebas sensibles pero presentan falsos negativos para estadios tempranos y tardíos de la infección, pudiéndose encontrar VDRL no reactivas en el 20 %-40 % de los casos de sífilis terciaria (3).

Las pruebas treponémicas incluyen TPHA, FTA, inmunoblot, enzimoimmunoanálisis (EIA) y quimioluminiscencia (CLIA). Son técnicas más específicas y precoces que las no treponémicas y generalmente permanecen positivas de por vida incluso en infecciones tratadas, por lo que no son útiles para demostrar la actividad de la infección ni para el control terapéutico. Como regla general, una prueba treponémica negativa indica la ausencia de infección, pasada o presente (7).

Las pruebas treponémicas EIA y CLIA permiten la automatización y son las que se emplean de entrada en los algoritmos diagnósticos. El resultado negativo en el contexto de cribado, excluye la infección. En un paciente con sospecha diagnóstica debe repetirse la extracción y el ensayo a las 6 semanas. El resultado

positivo debe confirmarse con otra prueba treponémica distinta. Si la segunda prueba treponémica no es positiva, puede plantearse realizar un inmunoblot (7). De forma paralela, se realizará una prueba no treponémica para conocer el título basal (actividad) y hacer un seguimiento de la respuesta al tratamiento (8).

Una vez tratada la sífilis, el seguimiento es clínico y por medio de títulos de VDRL o RPR (siempre se debe usar la misma técnica e idealmente, en el mismo laboratorio), que deberán disminuir cuatro veces respecto al valor inicial, si bien, en fase tardía de la infección este descenso puede ser más lento (9).

El diagnóstico de neurosífilis, además del análisis positivo serológico, precisa de anomalías en el LCR. La presencia de pleocitosis (> 5 leucocitos/ μL) con predominio linfocítico, proteinorraquia (> 45 mg/dL) y/o VDRL positivo en LCR puede ser diagnóstico de neurosífilis. En pacientes con coinfección por VIH requieren un punto de corte más alto de pleocitosis (> 20 leucocitos/ μL), ya que los valores menores pueden ser explicados por la misma infección por el virus (9). La prueba de elección es el VDRL ya que tiene una especificidad del 99 %; aunque un resultado negativo no excluye la enfermedad debido a que la sensibilidad es del 70 % (10). Sin embargo, el resultado negativo de una prueba treponémica (idealmente FTA) en LCR hace improbable una neurosífilis ya que esta prueba tiene una sensibilidad muy alta, pero es poco específica, teniendo su mayor tasa de falsos positivos por punciones traumáticas (10).

Para el seguimiento adecuado de la neurosífilis es preciso un control serológico con pruebas no treponémicas a los 3, 6, 12 y 24 meses después de finalizado el tratamiento, y también controles de LCR cada 6 meses hasta que resuelva la pleocitosis, teniendo en cuenta que las proteínas y el VDRL presentan un descenso lento (9,10). Se debe reiniciar tratamiento en aquellos pacientes que no presenten descenso de pleocitosis a los 6 meses o en quienes persistan con hiperproteinorraquia o pleocitosis a los 2 años de completado el tratamiento (9,10).

La penicilina es el tratamiento de elección en todos los estadios de la sífilis si bien el tipo de penicilina, la dosis y la duración de la misma dependen del estadio de la sífilis. Los pacientes VIH deben ser tratados con el mismo régimen terapéutico que los pacientes seronegativos (10).

PUNTOS A RECORDAR:

- La sífilis sigue constituyendo un problema de salud pública a nivel mundial.
- Clínicamente, la sífilis se divide en una serie de etapas: fase de incubación, sífilis primaria, secundaria, sífilis latente y terciaria.
- Los casos de sífilis terciaria son excepcionales; sin embargo, es necesario tenerlos en cuenta para alcanzar su diagnóstico.
- Una vez la infección supera las primeras etapas sintomáticas, muchas veces inespecíficas, sigue un periodo latente que generalmente es asintomático hasta que de manera tardía se detectan lesiones cardiovasculares y neurológicas relacionadas con la sífilis terciaria.

BIBLIOGRAFÍA

1. Hook EW III. Syphilis. Cecil textbook of medicine. Philadelphia: W.B. Saunders Company; 1996. pp. 1705-14.
2. Cheng Y-J, Tsai H-C, Ye S-Y, Sy C, Wu K, Chen J, et al. Elevated cerebrospinal fluid nitrite level in human immunodeficiency virus-infected patients with neurosyphilis. *J Microbiol Immunol Infect* 2016;47:512-7.
3. Singh AE, Romanowski B. Syphilis: Review with emphasis on clinical, epidemiologic, and some biologic features. *Clin Microbiol Rev* 1999;12:187-209. DOI: 10.1128/CMR.12.2.187
4. Roberts WC, Barbin CM, Weissenborn MR, Ko JM, Henry AC. Syphilis as a cause of thoracic aortic aneurysm. *Am J Cardiol* 2015;116:1298-303. DOI: 10.1016/j.amjcard.2015.07.030
5. Hook EW III, Marra CM. Acquired syphilis in adults. *N Engl J Med* 1992;16:326(16):1060-9. DOI: 10.1056/NEJM199204163261606
6. Ghanem KG. Review: Neurosyphilis: A historical perspective and review. *CNS Neurosci Ther* 2010;16(5):e157-68. DOI: 10.1111/j.1755-5949.2010.00183.x
7. Kingston M, French P, Higgins S, McQuillan O, Sukthankar A, Stott C, et al. UK national guidelines on the management of syphilis 2015. *Int J STD AIDS* 2016;27:421-46. DOI: 10.1177/0956462415624059
8. Janier M, Hegyi V, Dupin N, Unemo M, Tiplica GS, Potočnik M, et al. 2014 European guideline on the management of syphilis. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2014;28:1581-93. DOI: 10.1111/jdv.12734
9. Hook EW. Syphilis. *Lancet* 2017;389:1550-7. DOI: 10.1016/S0140-6736(16)32411-4
10. Wong T, Fonseca K, Chernesky MA, Garceau R, Levett PN, Serhir B. Canadian Public Health Laboratory Network laboratory guidelines for the diagnosis of neurosyphilis in Canada. *Can J Infect Dis Med Microbiol* 2015;26(Suppl A):18A-22A. DOI: 10.1155/2015/167484



Caso Clínico

Errores en las lecturas del pulsioxímetro en un paciente con metahemoglobina

Errors in pulse oximeter readings in a patient with methemoglobin

Aránzazu Martín García, Álvaro Llorente Ujado, Natalia María García Simón y Francisco Antonio Bernabeu Andreu

Hospital Universitario Puerta de Hierro Majadahonda. Majadahonda, Madrid

Recibido: 16/03/2020
Aceptado: 23/09/2020

Correspondencia: Aránzazu Martín García. Hospital Universitario Puerta de Hierro Majadahonda. Calle Joaquín Rodrigo, 1, 28222 Majadahonda, Madrid
e-mail: arantxamartingarcia@hotmail.com

CASO CLÍNICO

El paciente es un hombre de 54 años de edad que acude a Urgencias por mal estado general y coluria de un día de evolución.

En la analítica se observa una ligera alcalosis respiratoria (pH de 7,458), bilirrubina total elevada (7,60 mg/dL; valores de referencia [VR]: 0,30-1,10), proteína C reactiva 56,30 mg/dL (VR: 0,10-10,00), leucocitosis 23050/ μ L (VR: 4000-11500), neutrófilos 78 % y en el estudio de orina, hematuria macroscópica. No se observan otras alteraciones analíticas ni en el estudio radiológico simple de tórax y abdomen.

El diagnóstico definitivo es episodio de anemia hemolítica en contexto de cuadro febril y probable viriasis y se deriva al servicio de Hematología.

El paciente está diagnosticado desde 2017 de déficit de glucosa 6-fosfato deshidrogenasa (G6PDH), a raíz de una crisis hemolítica severa (con concentración de hemoglobina de 6 g/dL) en el contexto de sepsis de origen biliar. Desde la crisis de 2017 no ha presentado otras crisis graves.

En el segundo día de ingreso se avisa al médico de guardia por desaturación. Presenta saturaciones en

torno al 75 % utilizando diferentes pulsioxímetros y midiendo en diferentes dedos. Se realiza exploración y se solicita gasometría arterial (donde la saturación de oxígeno es medida, no calculada) y radiografía de tórax, no encontrando hallazgos significativos que justifiquen estas saturaciones bajas. En la gasometría arterial la saturación de oxígeno tiene un valor de 95 %, discordante con los valores observados en el pulsioxímetro. Se pauta oxigenoterapia con mascarilla y ante la discrepancia de resultados observados se realiza una consulta al laboratorio, donde se estudian las posibles interferencias del oxímetro. Es conocida la interferencia por metahemoglobina por lo que se procede a buscar su valor en las gasometrías realizadas al paciente siendo en todos los casos muy elevadas, en torno al 15 % (los valores de cooximetría solo se adjuntan al informe cuando el médico lo solicita expresamente).

Al tercer día de ingreso destaca un empeoramiento con dolor intenso, náuseas y vómitos biliosos. Se solicita analítica donde se detecta una baja concentración de hemoglobina (7 g/dL) por lo que se transfunden dos concentrados de hematíes. En la bioquímica de sangre se objetiva un empeoramiento progresivo de la función renal (creatinina 2,05 mg/dL).

Conflicto de intereses: los autores declaran no tener ningún conflicto de interés.

DOI: 10.20960/revmedlab.00010

Martín García A, Llorente Ujado A, García Simón NM, Bernabeu Andreu FA. Errores en las lecturas del pulsioxímetro en un paciente con metahemoglobina. Rev Med Lab 2020;1(2):79-81

Se pauta sueroterapia con control de diuresis, se disminuye la oxigenoterapia y se mantiene la dieta absoluta durante 48 horas.

Pasado este tiempo, se observa una mejoría clínica con mejor estado general y desaparición de las náuseas y vómitos, probablemente en relación con la resolución de la crisis hemolítica. Los valores de saturación aportados por el pulsioxímetro y el gasómetro tienden a ser similares coincidiendo con valores bajos de metahemoglobina (2 %) observados en el paciente.

DISCUSIÓN

En los últimos años se han ido creando dentro de los hospitales, grupos de trabajo *Point of care testing* (POCT). Son grupos multidisciplinares liderados por el laboratorio que regulan el buen funcionamiento de estos analizadores para asegurar resultados con la misma calidad analítica que los del laboratorio central (1). Dentro de los analizadores POCT, los gasómetros y glucómetros son los que se incluyen con mayor frecuencia en estos grupos de trabajo. El pulsioxímetro no suele incluirse al ser de uso únicamente extralaboratorio, pero al ser un analizador puede presentar interferencias igualmente, tal y como aparece ampliamente reflejado en la bibliografía (2). Una de ellas es la presencia de metahemoglobina, que aunque no se detecte de forma común en la práctica clínica, aparece reflejada en las especificaciones de estos POCT.

Los gasómetros y pulsioxímetros tienen diferente forma de medir la saturación de oxígeno.

En el gasómetro se miden las distintas fracciones de hemoglobinas (oxihemoglobina, carboxihemoglobina, metahemoglobina y hemoglobina reducida) por lectura fotométrica a distintas longitudes de onda. La saturación de oxígeno se calcula como la proporción de oxihemoglobina con respecto a la suma de las cuatro fracciones de hemoglobina medidas. Las medidas fotométricas del gasómetro se basan en la ley de Lambert-Beer, que establece que la intensidad de luz absorbida al pasar por una solución homogénea es proporcional a la concentración de las distintas moléculas en la misma (3).

El pulsioxímetro, oxímetro o saturómetro mide de forma no invasiva el oxígeno transportado por la hemoglobina en el interior de los vasos sanguíneos (4-6). Consta de dos piezas, un emisor de luz y un fotodetector, generalmente en forma de pinza, que se suele colocar en el dedo.

El emisor emite luz con dos longitudes de onda de 660 nm (roja) y 940 nm (infrarroja) que son características respectivamente de la oxihemoglobina y la hemoglobina reducida. La mayor parte de la luz es absorbida por el tejido conectivo, piel, hueso y sangre venosa en una cantidad constante, produciéndose un pequeño incremento de esta absorción en la sangre arterial con cada latido, lo que significa que es necesaria la presencia de pulso arterial para que el aparato reconozca

alguna señal. Mediante la comparación de la luz que absorbe durante la onda pulsátil con respecto a la absorción basal, se calcula el porcentaje de oxihemoglobina. Solo se mide la absorción neta durante una onda de pulso, lo que minimiza la influencia de tejidos, venas y capilares en el resultado.

La información que se recibe en la pantalla es la saturación de oxígeno, la frecuencia cardíaca y la curva de pulso. La pulsioximetría ofrece por tanto valores de saturación de oxígeno pero no mide la presión de oxígeno (PaO_2), la presión de dióxido de carbono (PaCO_2) o el pH, por lo que aunque supera a la gasometría en rapidez y sencillez, no la sustituye en la valoración completa de los enfermos respiratorios (6). Los pulsioxímetros actuales son muy fiables cuando el paciente presenta saturaciones superiores al 80 %. Entre las situaciones que pueden dar lugar a lecturas erróneas se encuentran anemia severa, interferencias con otros aparatos eléctricos, el movimiento, contrastes intravenosos, luz ambiental intensa o dishemoglobinemias (ya que la carboxihemoglobina y la metahemoglobina absorben a longitudes de onda similares a la oxihemoglobina).

La metahemoglobina es una forma de la hemoglobina que se encuentra en condiciones normales en pequeñas cantidades en sangre. A diferencia de la hemoglobina normal, la metahemoglobina no puede transportar oxígeno. Este compuesto se produce a partir de la hemoglobina por oxidación del átomo de hierro del estado ferroso (Fe^{2+}) al férrico. Hay lesiones, medicamentos, sustancias químicas o alimentos que pueden hacer que se elabore una cantidad más alta dando lugar a una afección conocida como metahemoglobinemia (7,8).

La metahemoglobinemia se trata fundamentalmente con azul de metileno. Por acción de la glucosa-6-fosfato-deshidrogenasa (G6PDH) se genera NADPH, que junto al azul de metileno y la NADPH metahemoglobina reductasa, producen la reducción del hierro 3+ de la metahemoglobina a hierro 2+ de la hemoglobina. Por ello mismo, el azul de metileno no es útil en pacientes con déficit de G6PDH.

La G6PDH es esencial en el metabolismo de los eritrocitos, ya que interviene en la vía de las pentosas fosfato, fundamental para la célula en situaciones de estrés oxidativo.

Se produce metahemoglobinemia en la hemólisis regenerativa, en pacientes con déficit de G6PDH y en presencia de hematíes viejos con mayor contenido en hemoglobina A1c (HbA1c) pero susceptibles a la hemólisis (baja G6PDH).

El déficit de G6PH es el segundo defecto enzimático más común en humanos. Es una enfermedad ligada al cromosoma X, predominante en hombres, con una incidencia de alrededor de 400 millones de personas en el mundo (9). Una de las complicaciones de esta patología son las crisis hemolíticas, en las que aumentan los valores de metahemoglobina. Los agentes causantes de hemólisis más comunes son las infecciones,

las habas y algunas medicaciones antimaláricas. Los pacientes con déficit de G6PDH tienen disminuida la resistencia al estrés oxidativo con disminución de la producción de NADPH, por lo que el azul de metileno no es útil en el tratamiento de metahemoglobinemia.

El paciente descrito el caso clínico sufre un déficit de la enzima G6PDH y tiene un diagnóstico de anemia hemolítica en el contexto de una probable viriasis. Se observan incongruencias entre los valores de saturación de oxígeno en el pulsioxímetro y la saturación de oxígeno en la gasometría, así como con el estado clínico del paciente. Estas incongruencias se resuelven tras detectar la interferencia por metahemoglobina en la medición del pulsioxímetro, lo que permite evaluar correctamente al paciente hasta la normalización de su proceso.

Los analizadores *Point of care testing* (POCT) ofrecen grandes ventajas en la práctica clínica como son la rapidez de resultados, facilidad de uso y alta fiabilidad. Sin embargo, la metodología que utilizan presenta posibles interferencias en sus medidas. El personal de laboratorio está especializado en el conocimiento de las metodologías, sus ventajas e inconvenientes, pudiendo ser de mucha ayuda ante resultados no esperados o incongruentes con el estado clínico de los pacientes.

PUNTOS A RECORDAR

- No se recomienda el control de saturación de oxígeno con pulsioxímetro en pacientes con niveles elevados de metahemoglobinemia.
- Es esencial la importancia de la colaboración entre el laboratorio clínico y el resto de especialidades ante el hallazgo de resultados no esperados.
- Es importante conocer las metodologías empleadas en los analizadores y sus limitaciones, para una correcta interpretación de sus resultados. Este

punto cobra mayor importancia en los analizadores POCT para ofrecer unos resultados fiables y de calidad en función a los cuales se van a tomar decisiones clínicas.

BIBLIOGRAFÍA

1. Florkowski C, Don-Wauchope A, Gimenez N, Rodriguez-Capote K, Wils J, Zemlin A. Point-of-care testing (POCT) and evidence-based laboratory medicine (EBLM) – does it leverage any advantage in clinical decision making? *Crit Rev Clin Lab Sci* 2017;54(7-8):471-94. DOI: 10.1080/10408363.2017.1399336
2. Sinex JE. Pulse oximetry: principles and limitations. *Am J Emerg Med* 1999;17:59-67. DOI: 10.1016/s0735-6757(99)90019-0
3. Benni PB, MacLeod D, Ikeda K, Lin HM. A validation method for near-infrared spectroscopy based tissue oximeters for cerebral and somatic tissue oxygen saturation measurements. *J Clin Monit Comput* 2018;32(2):269-84. DOI: 10.1007/s10877-017-0015-1
4. Jensen LA, Onyskiw JE, Prasad NG. Meta-analysis of arterial oxygen saturation monitoring by pulse oximetry in adults. *Heart Lung* 1998;27:387-408.
5. Hanning CD, Alexander-Williams JM. Pulse oximetry: a practical review. *BMJ* 1995;311:367-70. DOI: 10.1136/bmj.311.7001.367
6. Pedersen T, Dyrland Petersen B, Moller AM. Pulse oximetry for perioperative monitoring (Cochrane Review). En: *The Cochrane Library*, Issue 2. Oxford: Update Software; 2002.
7. De la Cruz M, Masood M, Mostafa A, Ershad M, Vearrier D, McKeever R. Hemolytic Crisis following Naphthalene Mothball Ingestion in a 21-Month-Old Patient with Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase (G6PD) Deficiency. *Case Rep Pediatr* 2019;2019:1092575. DOI: 10.1155/2019/1092575
8. Titheradge H, Nolan K, Sivakumar S, Bandi S. Methaemoglobinemia with G6PD deficiency: rare cause of persistently low saturations in neonates. *Acta Paediatr* 2011;100(7):e47-8. DOI: 10.1111/j.1651-2227.2011.02278.x
9. Glader B. Diagnosis and treatment of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. En: *UpToDate* [en línea]. Available from: www.uptodate.com/contents/genetics-and-pathophysiology-of-glucose-6-phosphate-dehydrogenase-deficiency

