



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

UNIDAD XOCHIMILCO

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD

DEPARTAMENTO DE SISTEMAS BIOLÓGICOS

LICENCIATURA EN QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGICA

Proyecto de servicio social

“Evaluación clínica de muestras hematológicas de pacientes del Hospital General José Vicente Villada”

Perteneciente al proyecto

Aspectos sociosanitarios, políticos y legales de la práctica profesional del Q.F.B.

Alumno: García Napoleón Bernardo
Matricula: 2132034132

Asesores:

Interno: Dra. Tomasa Verónica Barón Flores

Externo: Q.F.B. Jesús Mejía Ramírez

Lugar de realización: “HOSPITAL GENERAL JOSÉ VICENTE VILLADA”, ubicado en: Cuautitlán, Estado de México

Fecha de inicio: 01/03/2018

Fecha de término: 31/08/2018

Índice

Nombre del proyecto específico:.....	4
Proyecto genérico correspondiente:	4
Antecedentes:.....	4
Objetivos	5
General:.....	5
Específicos:.....	5
Metodología.....	5
Fundamentos	11
Glucosa.....	11
Urea.....	12
Ácido úrico	13
Creatinina.....	14
Proteínas totales	15
Albúmina	16
Bilirrubinas.....	16
Colesterol.....	17
Colesterol LDL y HDL	18
Triacilglicéridos	20
Lactato deshidrogenasa (LDH)	22
α – hidroxibutirato-deshidrogenasa (HBDH)	22
Creatina cinasa (CK)	23
Aspartato aminotransferasa (AST).....	24
Alanina aminotrasnferasa (ALT).....	25
α - amilasa.....	26
Gamma glutamil transpeptidasa (γ GT)	27
Fosfatasa alcalina (ALP).....	28
Fosfatasa ácida (ACP).....	29

Sodio y potasio (Na ⁺ y K ⁺).....	30
Cloruros (Cl ⁻).....	31
Calcio (Ca ²⁺).....	31
Fósforo (P ⁵⁺).....	31
Conclusión.....	32
Agradecimientos.....	33
Bibliografía:.....	33

Nombre del proyecto específico:

“Evaluación clínica de muestras hematológicas de pacientes del H.G. José Vicente Villada”

Proyecto genérico correspondiente:

Aspectos sociosanitarios, políticos y legales de la práctica profesional del Q.F.B.

Antecedentes:

Los análisis clínicos de laboratorio son una parte esencial y básica de todos los sistemas de salud. Disponer de pruebas de laboratorio fiables y a tiempo es vital para el tratamiento eficaz de los pacientes.

Un laboratorio de análisis clínicos se define como la unidad básica, formada por una o varias salas (salas técnicas, recepción, oficinas, sala de almacenamiento, sala de lavado, etc.), en las que se aplican diversos métodos analíticos científicos a fin de proporcionar los resultados relevantes para determinados objetivos específicos relacionados con la salud, como la investigación médica, el diagnóstico médico, la vigilancia de enfermedades, el análisis de alimentos, etc.

Dicho laboratorio clínico o médico también se puede definir como aquel dedicado al análisis biológico, microbiológico, inmunológico, químico, inmunohematológico, hematológico, biofísico, citológico, patológico o de otro tipo de materiales derivados del cuerpo humano con el fin de proporcionar información para el diagnóstico, la prevención y el tratamiento de enfermedades o la evaluación de la salud de los seres humanos, y que puede proporcionar un servicio consultivo asesor que cubra todos los aspectos de los análisis de laboratorio, incluyendo la interpretación de los resultados y las recomendaciones sobre cualquier análisis apropiado adicional.

Asimismo, la prevención y gestión de las enfermedades infecciosas y las no transmisibles requiere que la información diagnóstica que proporcionan los laboratorios sea extremadamente precisa. Muchas decisiones terapéuticas se basan en gran medida en los datos procedentes de los laboratorios de salud y cuando se producen brotes de enfermedades u otros eventos de salud pública, los laboratorios están siempre en el centro de las investigaciones y los mecanismos de respuesta.

Los laboratorios ofrecen sus servicios a muchos clientes (pacientes, médicos y programas de salud pública) para que estos tomen sus decisiones basándose en pruebas. Los laboratorios hospitalarios, contribuyen a la mejora de la asistencia sanitaria y la salud pública a través de su actividad de diagnóstico. (OMS, 2012).

Objetivos

General:

Realizar los análisis clínicos de las muestras hematológicas que se reciben en el Hospital General José Vicente Villada.

Específicos:

Conocer las técnicas aplicadas en el área de química clínica para la cuantificación de metabolitos humanos de importancia clínica.

Metodología

Se utilizó el equipo Dimension® RxL Max® para procesar las pruebas de química clínica que se realizan en este hospital y que incluyen: glucosa, urea, ácido úrico, creatinina, proteínas totales, albúmina, bilirrubinas, colesterol, LDL y HDL, triacilglicéridos, lactato deshidrogenasa (LDH), α -hidroxibutirato-deshidrogenasa (HBDH), creatina cinasa (CK), aspartato aminotransferasa (AST), alanina aminotransferasa (ALT), α -amilasa, gamma glutamil transpeptidasa (γ GT), fosfatasa alcalina (ALP), fosfatasa ácida (ACP), sodio (Na^+), potasio (K^+), cloruros (Cl^-), calcio (Ca^{2+}) y fósforo (P^{5+}).



Figura 1. Equipo Dimensión® RxL Max®.

Las pruebas realizadas dependieron de cada paciente y su solicitud de estas, se procesaron alrededor de 30 muestras diarias de acuerdo a las citas otorgadas en el área de ventanilla de las instalaciones.

Los pacientes se presentaron con ayuno mínimo de 8 horas y máximo de 12, en caso de no haber cumplido con el requerimiento solicitado las muestras no pudieron ser procesadas ya que se obtendrían resultados inexactos.

Las muestras fueron tomadas directamente del paciente en un horario de 7 a 8 am, dichas muestras estuvieron contenidas en tubo para suero con activador de coagulación o tubo para suero con gel separador.

Material

- Muestra (5 a 10 ml de sangre tomada directamente del paciente en ayunas dentro de las instalaciones del Hospital General José Vicente Villada)
- Centrifuga calibrada a 3400 R.P.M. (Figura 2)
- Agua destilada
- Micropipetas de 50, 100, 250 y 1000 μ l (Figura 3)
- Aplicadores de madera
- Gradilla
- Tubos de ensayo de 12 x 75 mm
- Cubetas desechables
- Puntas para micropipetas



Figura 2. Centrifuga calibrada a 3400 R.P.M.



Figura 3. Micropipetas utilizadas para la separación de suero.

Reactivos

Los reactivos específicos de la marca SIEMENS®, se utilizaron para el procesamiento de las muestras.

Los reactivos colocaron a temperatura ambiente al menos media hora antes de su uso.



Figura 4. Reactivos flex®

Método general para el procesamiento de las muestras

1. Centrifugar la muestra a 3400 R.P.M. durante cinco minutos.
2. Separar entre 50 a 100 microlitros de suero sanguíneo en una cubeta desechable (previamente rotulada con el código del paciente), con ayuda de una micropipeta. (Figura 5).
3. Colocar la cubeta dentro del segmento en número consecutivo. (Figuras 6 y 7).
4. Programar en la computadora (Software) del equipo los análisis solicitados. (figura 8).
5. Una vez obtenidos los resultados se constatan los valores resultantes.
6. En caso de que los valores salieran fuera de rango se procede a realizar una dilución 1:5 y se repite el análisis requerido.



Figura 5. Cubetas desechables.



Figura 6. Segmentos utilizados para retener las cubetas desechables.

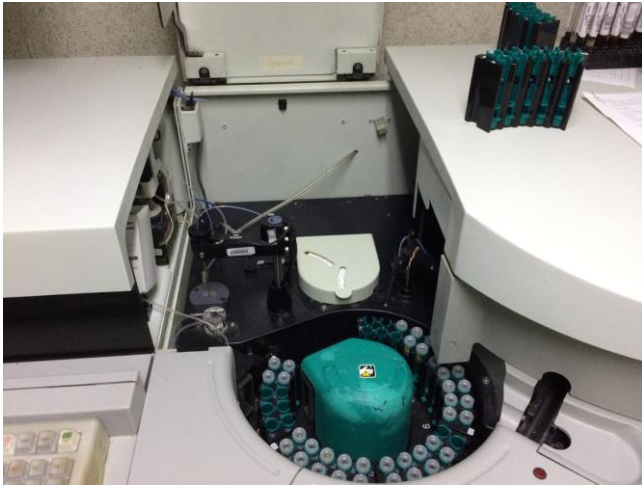


Figura 7. Segmentos acomodados en orden progresivo de muestras.

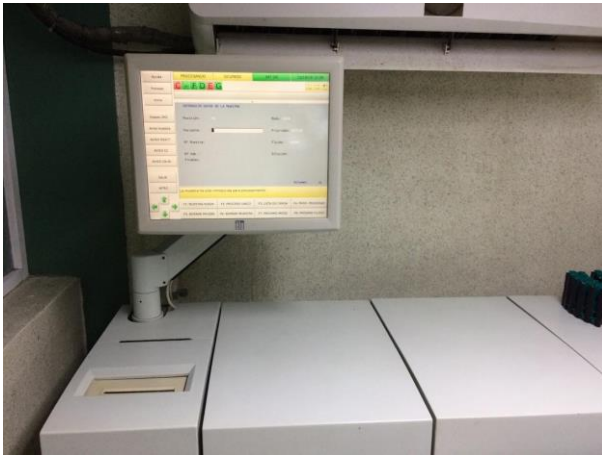


Figura 8. Software utilizado para el ingreso de los estudios solicitados.

Advertencias para el manejo del equipo

- No utilizar ropas sueltas o joyas que puedan engancharse en los mecanismos.
- No interponer los dedos o las manos en el recorrido de ninguna pieza mientras el analizador está en funcionamiento.
- No tocar las partes móviles del sistema (rotores, brazos, etc.) mientras están en movimiento, debe prestarse especial atención a las agujas de las muestras y reactivos.
- Las muestras de pacientes, controles, calibradores y residuos líquidos son potencialmente infecciosos. La manipulación de muestras de pacientes, sueros de control y residuos líquidos debe realizarse de acuerdo con la normativa de seguridad del hospital.

Técnicas o métodos utilizados para realizar las pruebas

Prueba	Técnica o método	Microlitros de suero requerido por el equipo	Longitud de onda (nm)
Glucosa	Método enzimático de glucosa oxidasa	3	510
Urea	Método de Berthelot	3	560
Ácido úrico	Reacción enzimática	17	500 o 520
Creatinina	Método de Bonsnes-Taussky	20	510
Proteínas totales	Método de Biuret	15	540 o 700
Albúmina	Método de verde de bromocresol	5	540, 600 o 700
Bilirrubinas	Método Malloy y Evelyn	10	540 o 700
Colesterol	Método enzimático	3	500
LDL y HDL	Método de inmunoseparación	3	700
Triacilglicéridos	Método enzimático	4	492,500 o 546
Lactato deshidrogenasa (LDH)	Método de monitoreo discreto	8	340
α -hidroxibutirato-deshidrogenasa (HBDH)	Método de monitoreo discreto	10	334, 340 o 365
Creatina cinasa (CK)	Método de monitoreo discreto	20	334, 340 o 365
Aspartato aminotransferasa (AST)	Método de monitoreo discreto	40	340
Alanina aminotransferasa (ALT)	Método de monitoreo discreto	35	340
α -amilasa	Método cromolítico	14	405
Gamma glutamil transpeptidasa (γ GT)	Reacción enzimática	14	405

Fosfatasa alcalina (ALP)	Método de Bessey, Lowry y Brock	24	405
Fosfatasa ácida (ACP)	Método de Fast-Red	24	405
Sodio (Na ⁺)	Fotometría de llama	10	540 o 700
Potasio (K ⁺)	Fotometría de llama	10	540
Cloruros (Cl ⁻)	Fotometría con tiocianato	10	436
Calcio (Ca ²⁺)	Método de Srkar Chauhan	5	540 o 577
Fosforo (P ⁵⁺)	Método de Fiske-Subbarow	3	540 o 700

Tabla 1. Especificaciones de las técnicas y métodos utilizados por prueba.

Fundamentos

Glucosa

La principal función bioquímica de la glucosa es la de proporcionar energía para los procesos de la vida. El adenosín trifosfato ("ATP") es la fuente de energía universal para las reacciones biológicas. La oxidación de la glucosa por las vías glucolítica y del ácido cítrico es la fuente principal de energía para la biosíntesis del ATP. (Velázquez, R. 2009)

El estudio del metabolismo de la glucosa es esencial para poder apreciar las variaciones en la concentración sanguínea de esta, y que pueden reflejar alteraciones primarias del metabolismo de los carbohidratos, al igual que manifestaciones secundarias provocadas por otras enfermedades.

Fundamento del método enzimático de la glucosa oxidasa (GOD).

La glucosa oxidasa (GOD) cataliza la oxidación de la glucosa a ácido glucónico y peróxido de hidrógeno. Enseguida, la peroxidasa descompone al peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno molecular, con lo que este último reacciona con la 4-amino-antipirina (PAP) y el 2,4-diclorofenol, formándose el compuesto antipiricloro quinonimina de color rojo. La intensidad de color se lee a 510 nm y es directamente proporcional a la concentración de glucosa. (Carreño et al, 2017)

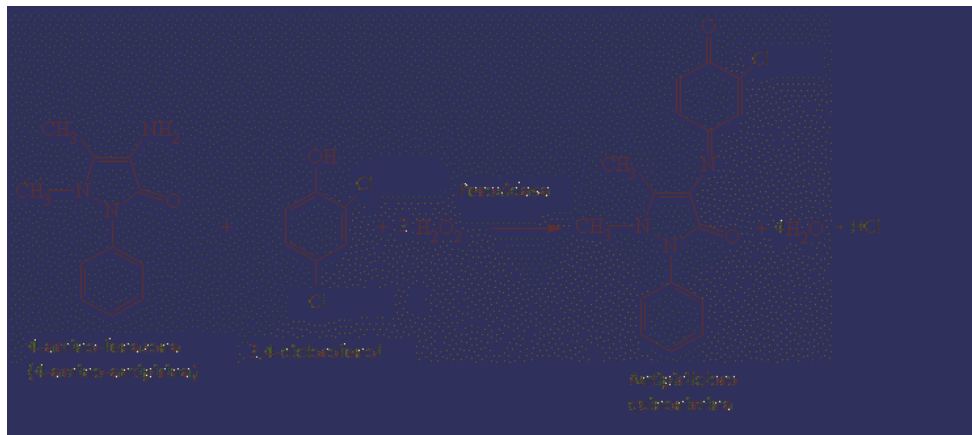
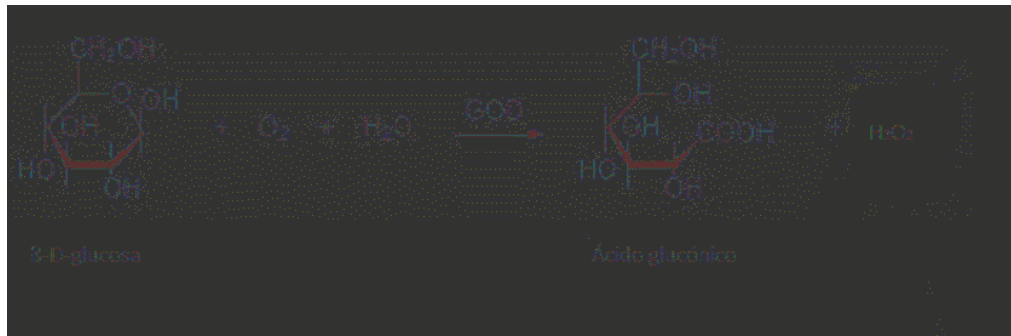


Figura 9. Reacción del método enzimático a partir de la glucosa oxidasa para la determinación de glucosa.

Urea

La urea, diamina del ácido carbónico, es el producto de destoxificación del amonio derivado de degradación de aminoácidos en el hígado.

La determinación de la urea sérica, es el análisis que más frecuentemente se usa para evaluar la función renal, aunque también se altera en otros padecimientos.

Fundamento del método de Berthelot

La urea, presente en el suero, es hidrolizada por acción de la ureasa, produciendo amoniaco y bióxido de carbono. Enseguida, el amoniaco reacciona con el fenol-hipoclorito, utilizando como catalizador nitroprusiato de sodio, formándose azul de indofenol, el cual se cuantifica fotométricamente a 560 nm. (Carreño et al, 2017)

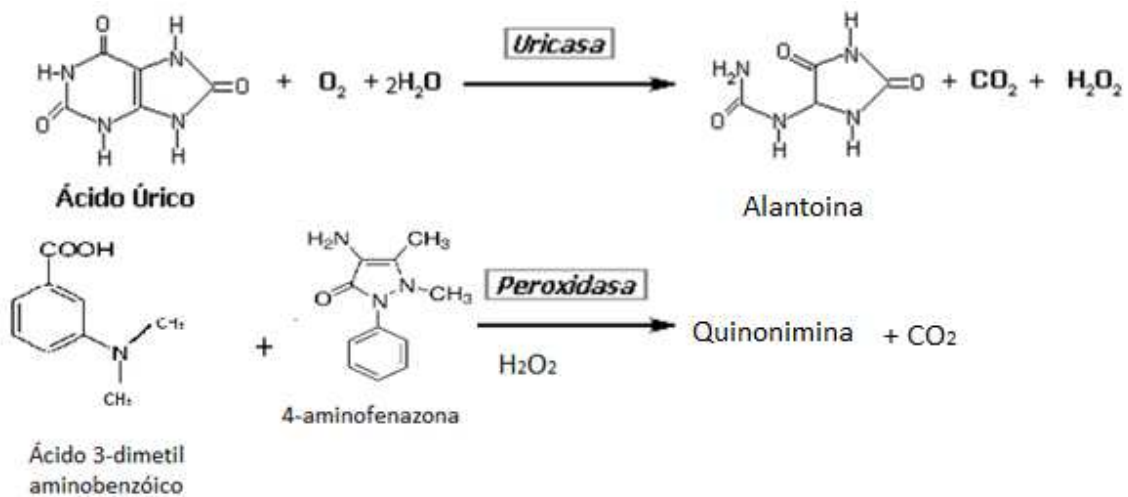


Figura 11. Reacción enzimática para la determinación de ácido úrico.

Creatinina

La determinación de creatinina tiene un gran valor clínico, ya que es un producto final bien controlado del metabolismo de la creatina.

La filtración glomerular puede calcularse indirectamente, midiendo el aclaramiento de una sustancia, como la creatinina, que es filtrada libremente en el glomérulo, pero no es excretada ni reabsorbida por los túbulos renales y, además, no es eliminada por otra vía de excreción. Los niveles de creatinina en suero, plasma o sangre total, no aumentan durante las enfermedades renales, sino hasta que el riñón se encuentra lo suficientemente dañado. (Carreño et al, 2017)

Se sabe que la creatinina es un marcador de liberación lenta después de una lesión renal aguda (aumentando después de 24-48 horas de la lesión renal) y puede producirse un aumento como consecuencia de hemoconcentración. (Nuñez, L. 2017)

Fundamento para el método de Bonsnes-Taussky.

La creatinina reacciona con una solución alcalina de picato de sodio para formar el complejo rojo de Janovsky. La absorbancia de este complejo se mide a 510 nm. (Carreño et al, 2017)

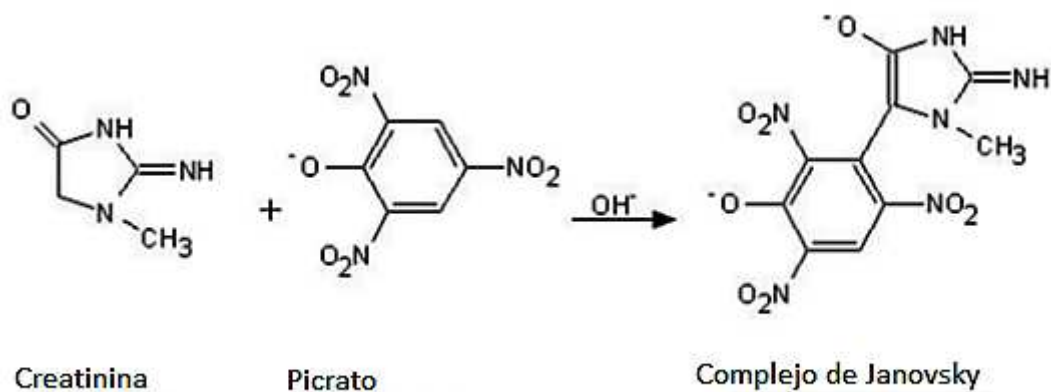


Figura 12. Formación de complejos de Janovsky para la determinación de creatinina.

Proteínas totales

Aunque la concentración de proteínas totales proporciona alguna información acerca del estado nutricional del paciente, el conocimiento cualitativo y cuantitativo de las fracciones proteínicas tiene mayor valor clínico. Así una deficiencia exagerada de proteínas en la dieta y ciertas condiciones patológicas, que involucren la mala absorción intestinal, dan como resultado una baja concentración de proteínas séricas a lo que se llama hipoproteinemia, lo cual es debida a una hipoalbuminemia (enfermedad hepática).

Fundamento del método de Biuret.

En una solución alcalina de NaOH o KOH el ion cúprico proveniente del CuSO_4 contenido en el reactivo de Biuret reacciona con los enlaces peptídicos de las proteínas, específicamente los pares de electrones no compartidos del nitrógeno formando un compuesto de coordinación. (Carreño et al, 2017)

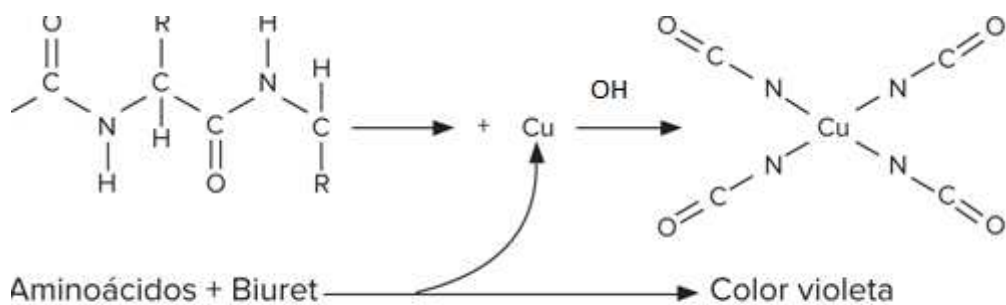


Figura 13. Reacción del método de Biuret.

Albúmina

La albúmina tiene dos funciones principales: regular la presión osmótica coloidal y el transporte de ácidos grasos libres, bilirrubina, hormonas, calcio, aniones metálicos, fármacos y vitaminas. Cambios cuantitativos en el nivel de la albúmina, representan un indicador de la presencia o desarrollo de una enfermedad.

Fundamento

El método de verde de bromocresol es específico para la determinación de albúmina. El verde de bromocresol (3, 3, 5, 5',-tetrabromo-m cresol sulfonftaleina) en medio ácido (pH 3.8) se disocia y su forma anionica se fija a la albúmina de forma específica y produce un cambio de color el cual será directamente proporcional a la concentración de albúmina presente en la muestra. (Carreño et al, 2017)

Bilirrubinas

La bilirrubina es un producto del catabolismo del grupo hemo, por lo tanto proviene de la destrucción normal o anormal de los eritrocitos. El aumento de la bilirrubina en suero se debe a cuatro posibles mecanismos: una sobreproducción de bilirrubina y/o captación hepática inadecuada, por una conjugación defectuosa o por alteración en la excreción de la bilis (intra o extra hepática).

Fundamento del método Malloy y Evelyn

Cuando el ácido sulfanilico en solución de ácido clorhídrico es tratado con nitrito de sodio, se convierte en ácido diazo-bencenosulfónico, usualmente llamado ácido sulfanilico diazoado o simplemente diazo reactivo, este en presencia de bilirrubina se produce un color que varía con el pH del medio. Para la determinación de bilirrubina no conjugada, la reacción con el reactivo diazo se llevara a cabo solo en presencia de una solución alcohólica. (Carreño et al, 2017)

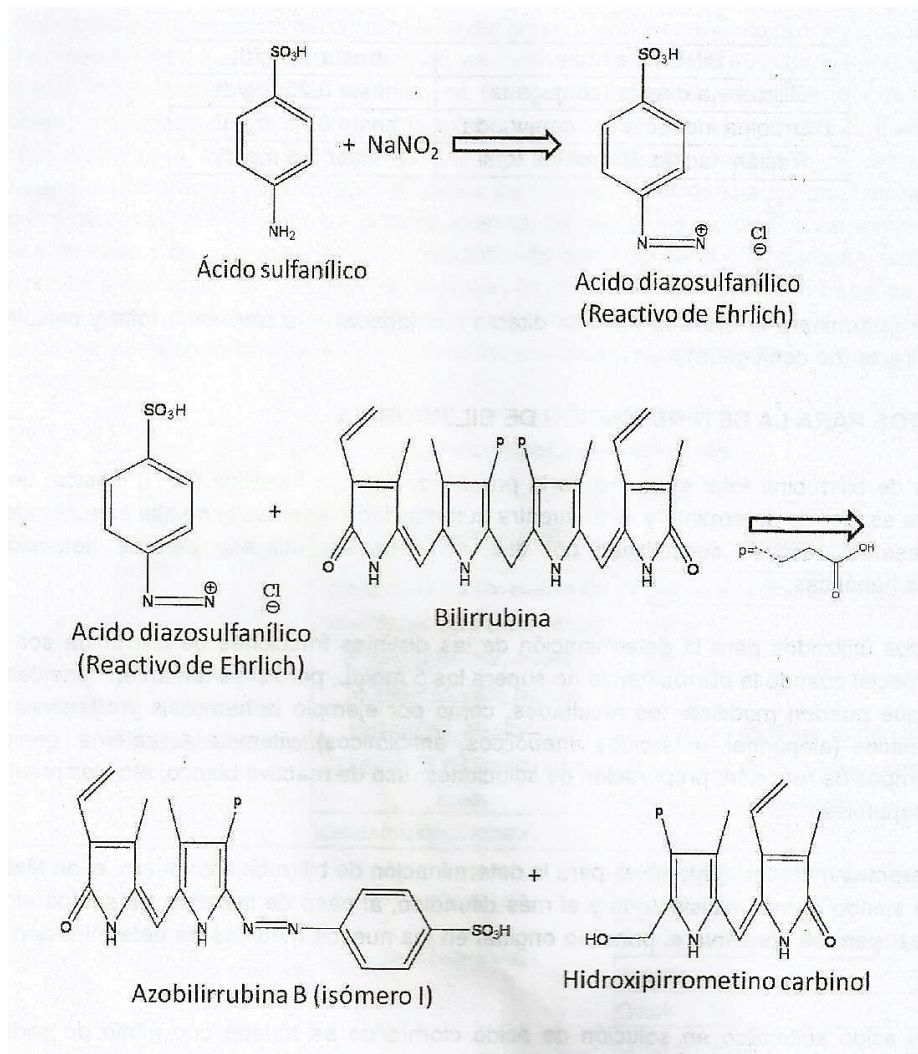


Figura 14. Reacción del método de Molloy y Evelyn para la determinación de bilirrubina.

Colesterol

El colesterol es un componente crucial que mantiene la fluidez y permeabilidad de la membrana celular. (Sozen et al, 2017)

El estudio de los niveles de colesterol sérico ha sido asociado, a través de estudios de población, con diversos padecimientos, como: infarto al miocardio, la hipertensión arterial, el hipotiroidismo, la diabetes mellitus y la gota. El aumento de los niveles de colesterol (hipercolesterolemia) se considera, desde hace muchos años, un factor de alto riesgo para las enfermedades cardiovasculares. También, pueden encontrarse niveles aumentados en condiciones fisiológicas como; el embarazo, la lactancia y dietas ricas en grasas de origen animal.

Fundamento para la determinación de colesterol por el método enzimático.

El colesterol y sus ésteres, se liberan de las lipoproteínas por acción de los detergentes. La colesterol esterasa hidroliza los ésteres y se producen ácidos grasos libres y colesterol HDL libre. Este último es oxidado, por la colesterol oxidasa a Δ^4 -colecstenona más peróxido de hidrógeno. En seguida, la peroxidasa descompone al peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno molecular, y este último reacciona con la 4-amino-antipirina y hidroxibencensulfonato formándose un colorante de quinonimina que absorbe característicamente a 500 nm. (Carreño et al, 2017)

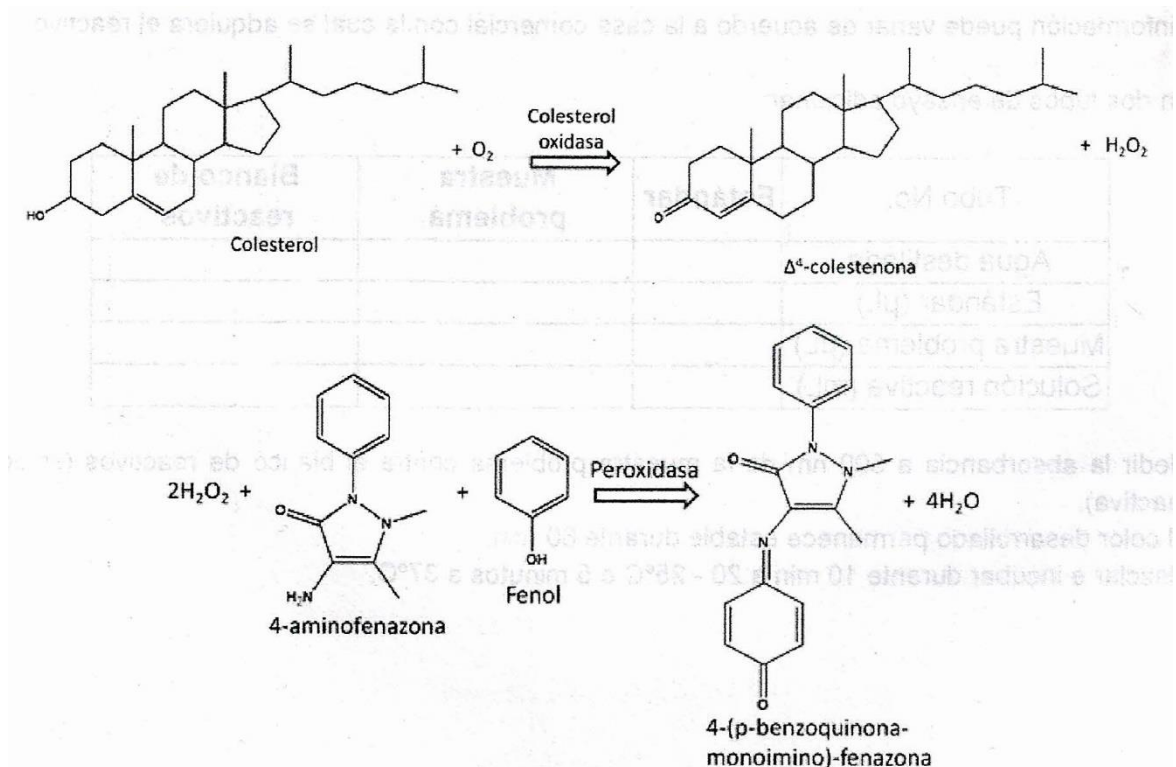


Figura 15. Reacción de oxidación para la determinación de colesterol.

Colesterol LDL y HDL

El colesterol se transporta a través de las diferentes lipoproteínas Qm (quilomicrones) después de los alimentos, el colesterol de las lipoproteínas de baja densidad (LDL) y lipoproteínas de alta densidad (HDL) son los que más se determinan en el laboratorio por su utilidad para predecir el riesgo aterogénico.

Las lipoproteínas de baja densidad son las principales transportadoras del colesterol de la sangre hacia los tejidos periféricos y es el que se denomina “colesterol malo”.

Por su parte, las HDL participan en el proceso denominado transporte inverso del colesterol, ya que captan el colesterol liberado en el plasma o espacios intersticiales

procedente de las células que mueren y del recambio normal de las membranas, para después ser intercambiado por triacilglicéridos con otras lipoproteínas, por lo que se denomina “colesterol bueno”.

Fundamento para la determinación de colesterol LDL.

La eliminación de quilomicrones, VLDL y colesterol HDL por detergentes específicos y posteriores transformaciones enzimáticas del colesterol en agua y oxígeno. (Carreño et al, 2017)

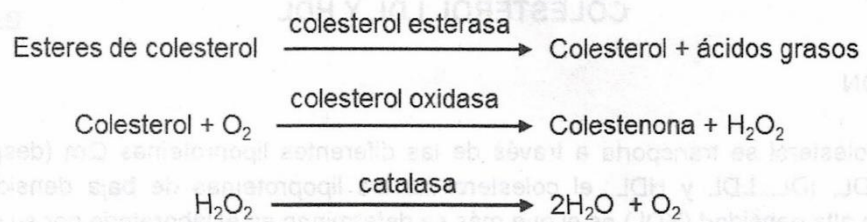


Figura 16. Fase de aclaramiento para la determinación de colesterol.

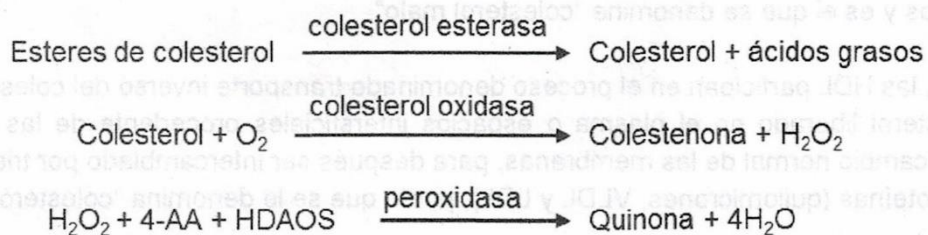


Figura 17. Determinación específica de la fracción LDL.

Fundamento para la determinación de colesterol HDL.

El método de inmunoseparación consta de dos fases: la primera consiste en la inhibición de las lipoproteínas VLDL, LDL y los quilomicrones al usarse anticuerpos dirigidos contra estos, formarse complejos antígeno-anticuerpo, por lo que queda libre la HDL para poder reaccionar de manera enzimática. En la segunda fase el colesterol y sus ésteres, se liberan de las lipoproteínas por acción de los detergentes. La colesterol esterasa (CHE) hidroliza los ésteres y se producen ácidos grasos libres y colesterol. Este último es oxidado, por la colesterol oxidasa (CHO) a Δ -colesterolina más peróxido de hidrógeno. En seguida, la peroxidasa (POD) descompone al peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno molecular, y este último reacciona con la 4-aminoantipirina y F-DAOS (N-etil-N-(2-hidroxi 3-sulfopropil) 3,5 dimetoxi-4-fluoroanilina)) formándose un complejo colorido azul ((3,5-dimetoxi-4-fluoroanilina)-N-etilo-N-2-hidroxi-3-sulfopropilfenazona) que absorbe característicamente a 620 nm. (Carreño et al, 2017)

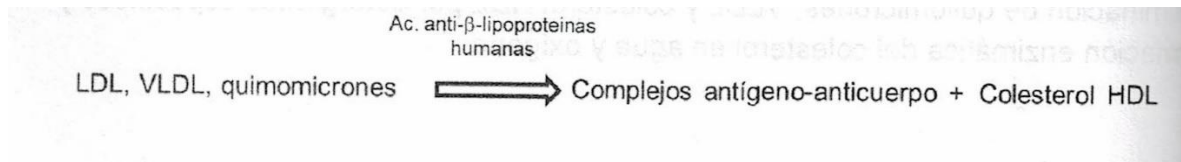


Figura 18. Primera fase para la determinación de colesterol HDL.

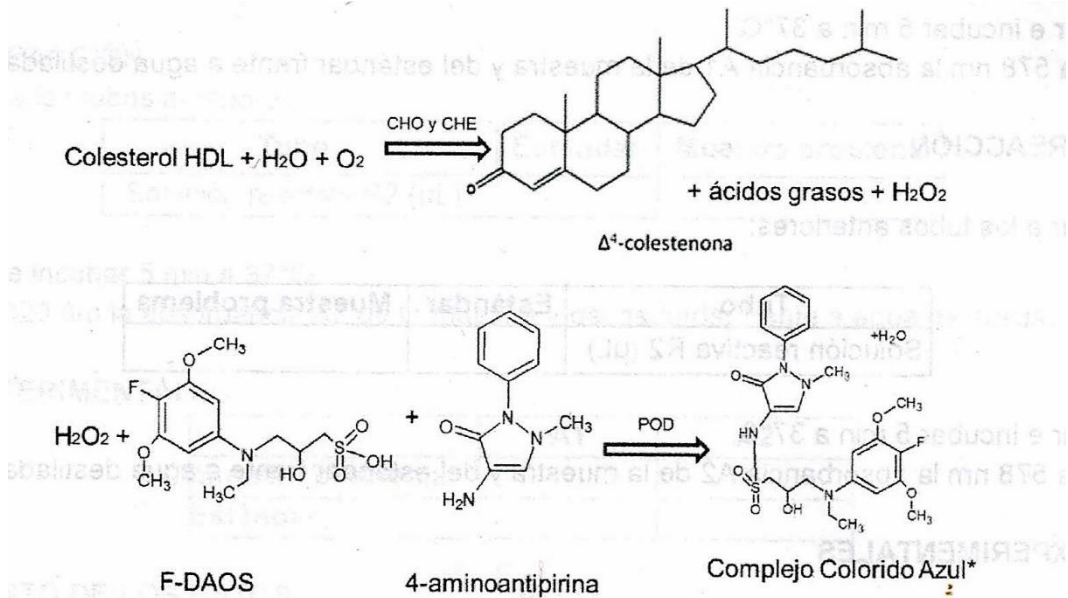


Figura 19. Segunda fase, reacción para la determinación de colesterol HDL por inmunoseparación.

Triacilglicéridos

Los triacilglicéridos son ésteres de glicerol con ácidos grasos que representan una reserva energética de gran capacidad en el organismo además de ser los principales transportadores de grasas a lo largo del torrente sanguíneo. (Pundir et al, 2018) Los ácidos grasos de los triacilglicéridos se sintetizan en el hígado a partir del acetil CoA, con excepción de los ácidos grasos que se obtienen a partir de la dieta. El aumento de triacilglicéridos en el suero (hipertriacilgliceridemia) puede ser de origen primario o secundario. La hipertriacilgliceridemia primaria se presenta en las dislipidemias familiares tipos I, II, III, IV y V, o de manera secundaria en obesidad, diabetes, síndrome nefrótico, alcoholismo y pancreatitis crónica y aguda.

Fundamento del método enzimático para la determinación de triacilglicéridos.

Los triacilglicéridos presentes en la muestra problema se hidrolizan enzimáticamente hasta glicerol y ácidos grasos, por medio de la lipasa. El glicerol liberado se determina utilizando un sistema de reacciones enzimáticas acopladas,

en las que finalmente se produce un compuesto colorido que absorbe a 492, 500 ó 546 nm. (Carreño et al, 2017)

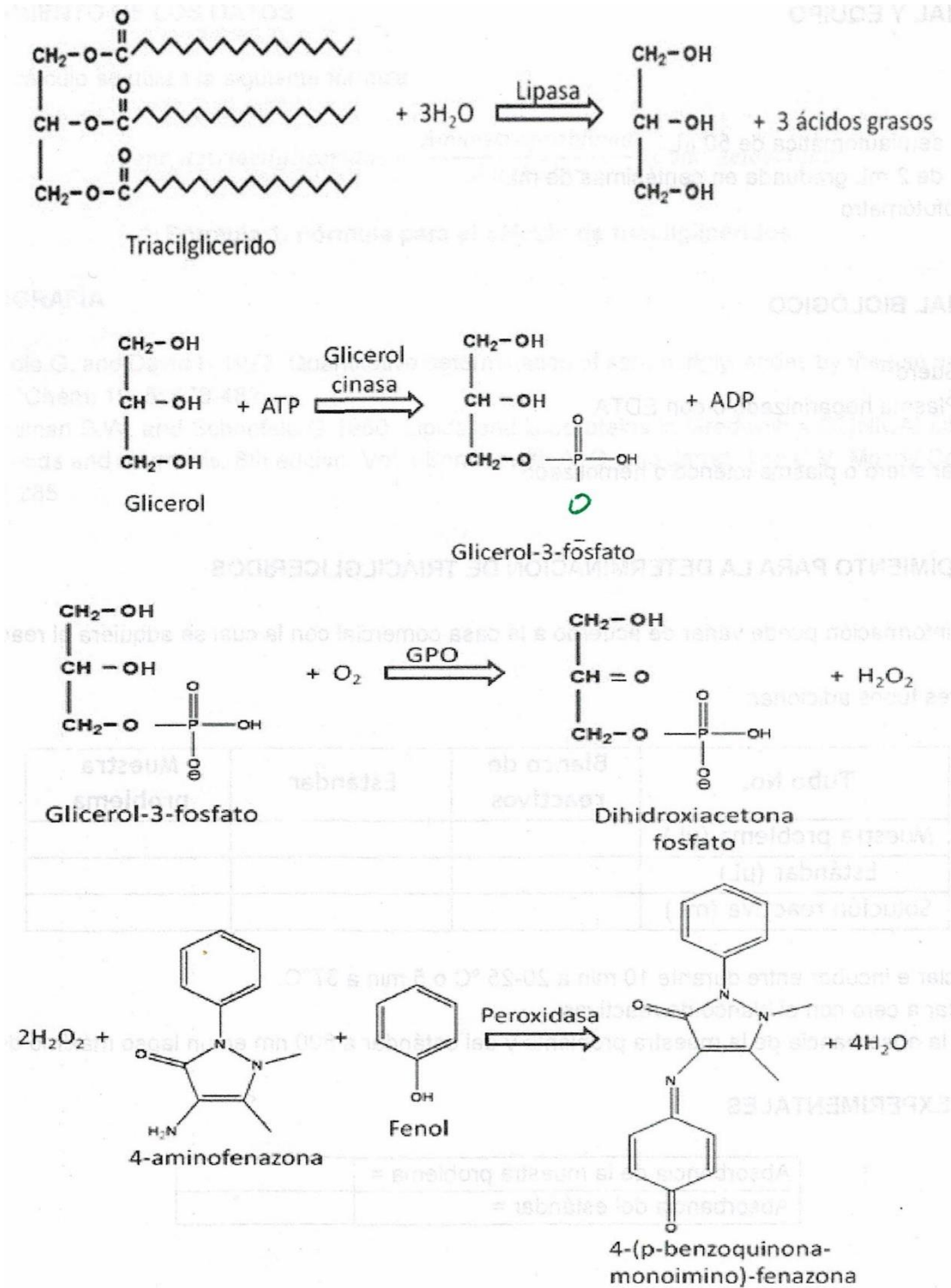


Figura 20. Reacción enzimática para la determinación de triacilglicéridos.

Lactato deshidrogenasa (LDH)

El lactato deshidrogenasa (LDH) es una enzima citoplasmática que cataliza reversiblemente la siguiente reacción (Orbea et al, 2016) :

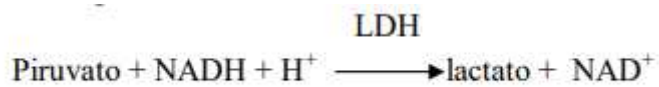


Figura 21. Reacción que cataliza la lactato deshidrogenasa.

Las elevaciones en suero presentan varias afecciones, ocurren en el infarto al miocardio, insuficiencia cardiaca congestiva, miocarditis, choque o colapso circulatorio, anemias hemolíticas y megaloblasticas, distrofia muscular progresiva, hepatitis, mononucleosis infecciosa, cirrosis e ictericia obstructiva y enfermedades neoplásicas. (Carreño et al, 2017)

Fundamento basado en el método de monitoreo discreto.

La lactato deshidrogenasa (LD o LDH) cataliza la reducción del piruvato por NADH, obteniéndose lactato y NAD⁺. La concentración catalítica se determina a partir de la velocidad de desaparición del NADH, medido a 340 nm. (Orbea et al, 2016)

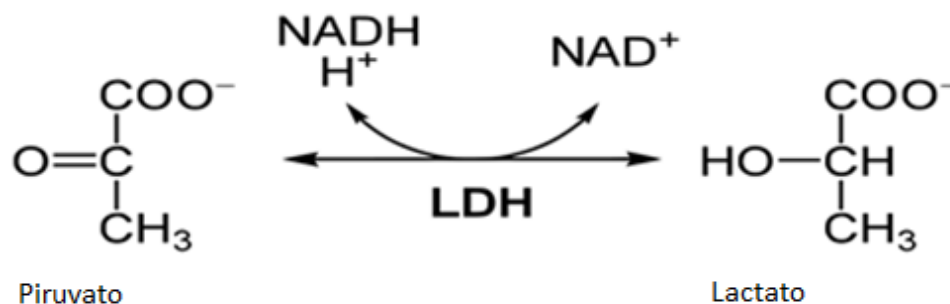


Figura 22. Reacción enzimática para la determinación de LDH.

α – hidroxibutirato-deshidrogenasa (HBDH)

Es una isoenzima de la lactato deshidrogenasa, está constituida por cuatro monómeros H (LDH₁). Debido a su capacidad para utilizar como sustrato el α -hidroxibutirato, se le denomina α -hidroxibutirato-deshidrogenasa (HBDH).

La HBDH (LDH₁) aumenta predominantemente en el infarto al miocardio en donde representa entre 50-70% de la actividad total de LDH; empieza a incrementarse entre las 6-8 hrs después del infarto, alcanza su máximo valor entre las 24-36 horas.

Fundamento del método de monitoreo discreto.

La HBDH cataliza la reducción del α -cetobutirato a OH-butirato en presencia de $\text{NADH} + \text{H}^+$. Para la valoración cuantitativa de la enzima, se incuba el suero con α -cetobutirato y $\text{NADH} + \text{H}^+$. Se mide la velocidad de reacción a 334, 340 ó 365 nm. La variación de absorbancia por unidad de tiempo, es directamente proporcional a la velocidad de transformación del sustrato y por lo tanto a la actividad enzimática. (Carreño et al, 2017)

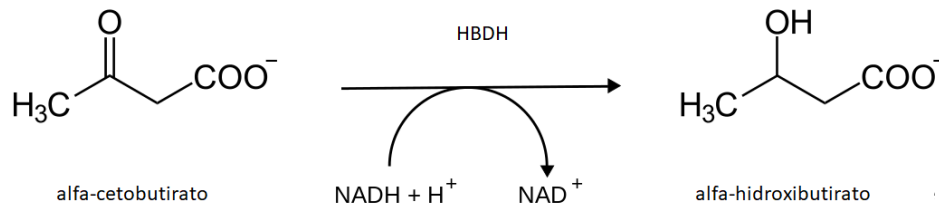


Figura 23. Reacción para la determinación de la HBDH.

Creatina cinasa (CK)

La creatina cinasa (CK), se encuentra en diferentes tipos de tejidos. Cataliza la liberación de energía, que servirá para diferentes órganos (cerebro, corazón y especialmente los músculos). Es una enzima expresada por varios tejidos y tipos celulares.

Se conoce tres tipos de creatina quinasa: CPK-BB en el cerebro, CPK-MB en el corazón y CPK-MM en los músculos (97 al 99 % del CPK total).

La CK-MB es una enzima que se encuentra exclusivamente en el tejido cardiaco y pertenece a la familia de la creatina quinasa.

Existen numerosos casos por los cuales el nivel de creatina quinasa puede ser elevada en la sangre: actividad muscular importante o traumatismos musculares repetidos, inyección intramuscular reciente, biopsia muscular, infarto de miocardio, miopatías metabólicas, glucogénesis, alcoholemia tóxica.

Fundamento del método de monitoreo discreto.

La creatina quinasa (CK) cataliza la transferencia reversible de un grupo fosfato de la fosfocreatina al ADP. Esta reacción se acopla con otras catalizadas por la hexoquinasa (HK) y por la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6F-DH). La velocidad de formación de NADPH, determinado fotométricamente, es proporcional

a la concentración catalítica de CK en la muestra ensayada. Puede medirse por el aumento de la absorbancia a 334, 340 ó 365 nm. (Velázquez, R. 2009)

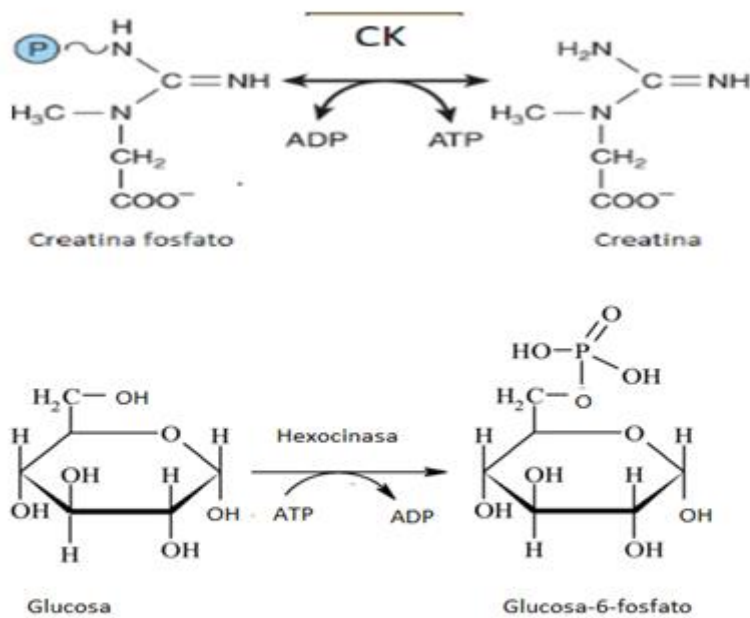


Figura 24. Reacción enzimática para la determinación de CK.

Aspartato aminotransferasa (AST)

La aspartato aminotransferasa (AST), es una enzima que cataliza reversiblemente la transferencia del grupo amino del ácido aspártico al grupo ceto del α -cetoglutarico, como productos se forman el glutamato y el oxalacetato.

La AST está distribuida ampliamente en los tejidos, aunque está en mayor concentración en corazón e hígado. También, se encuentra en menor cantidad en músculo esquelético, riñones, páncreas, bazo, pulmones y cerebro. Las lesiones en estos tejidos ocasionan la liberación de la enzima AST a la circulación. (Carreño et al, 2017)

Fundamento basado en el método de monitoreo discreto.

La aspartato aminotransferasa (AST) inicialmente llamada transaminasa glutamato oxaloacética (GOT) cataliza la transferencia reversible de un grupo amino del aspartato al α -cetoglutarato con formación de glutamato y oxalacetato. El oxalacetato producido es reducido a malato en presencia de malato deshidrogenasa (MDH) y NADH.

La velocidad de disminución de la concentración de NADH en el medio, determinada fotométricamente, es proporcional a la concentración catalítica de AST en la muestra ensayada. (Velázquez, R. 2009)

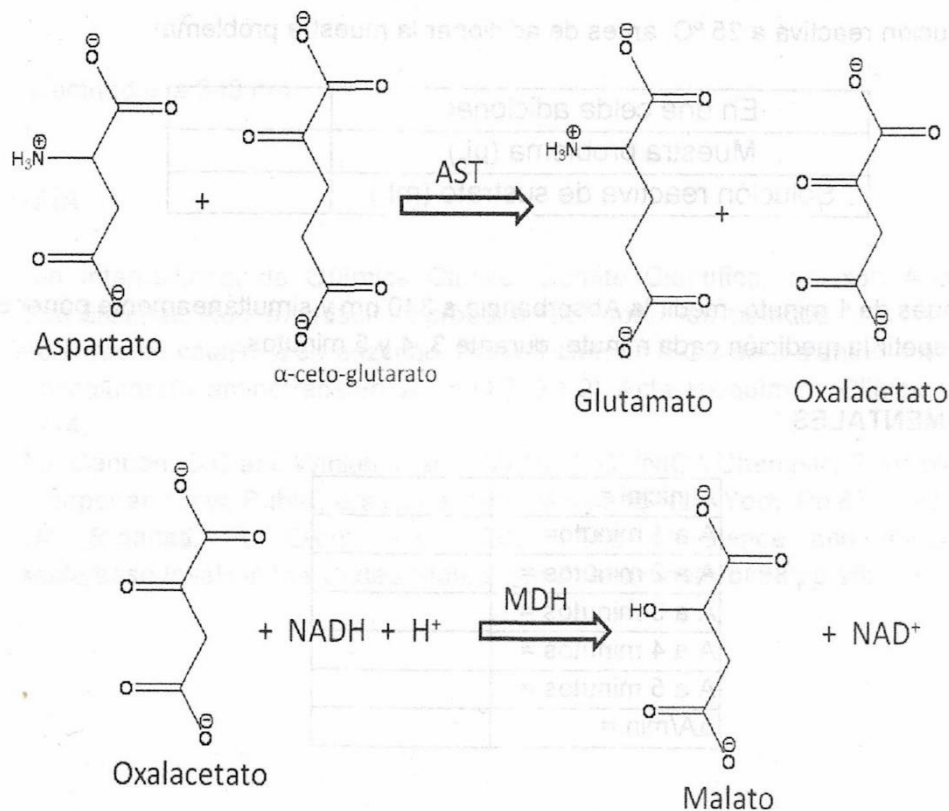


Figura 25. Reacción enzimática para la determinación de AST.

Alanina aminotrasnferasa (ALT)

La ALT (alanina aminotransferasa) es una enzima citosólica específica del hepatocito (Liu et al, 2014). Su aumento detecta una inflamación y/o necrosis del hígado. Es un parámetro hepático más específico que la AST, pero en traumatismos graves puede estar aumentada. El grado de elevación suele ser proporcional al daño en el hígado, es decir un aumento de la ALT acusado, indica un daño más severo en el hígado que si el resultado fuera más moderado. Esta enzima permanece mayor tiempo en sangre que la AST. Sin embargo, hay que tener en cuenta que los tratamientos con corticoesteroides, aunque sean cortos, elevan

mucho los valores de esta enzima, lo que nos podría llevar a un diagnóstico erróneo. (Velázquez, R. 2009)

Fundamento basado en el método de monitoreo discreto.

La alanina aminotransferasa (ALT) cataliza la transferencia del grupo amino de la alanina al 2-oxoglutarato, formando piruvato y glutamato. La concentración catalítica se determina, empleando la reacción acoplada de la lactato deshidrogenasa (LDH), a partir de la velocidad de desaparición del NADH, medido a 340 nm. (Carreño et al, 2017)

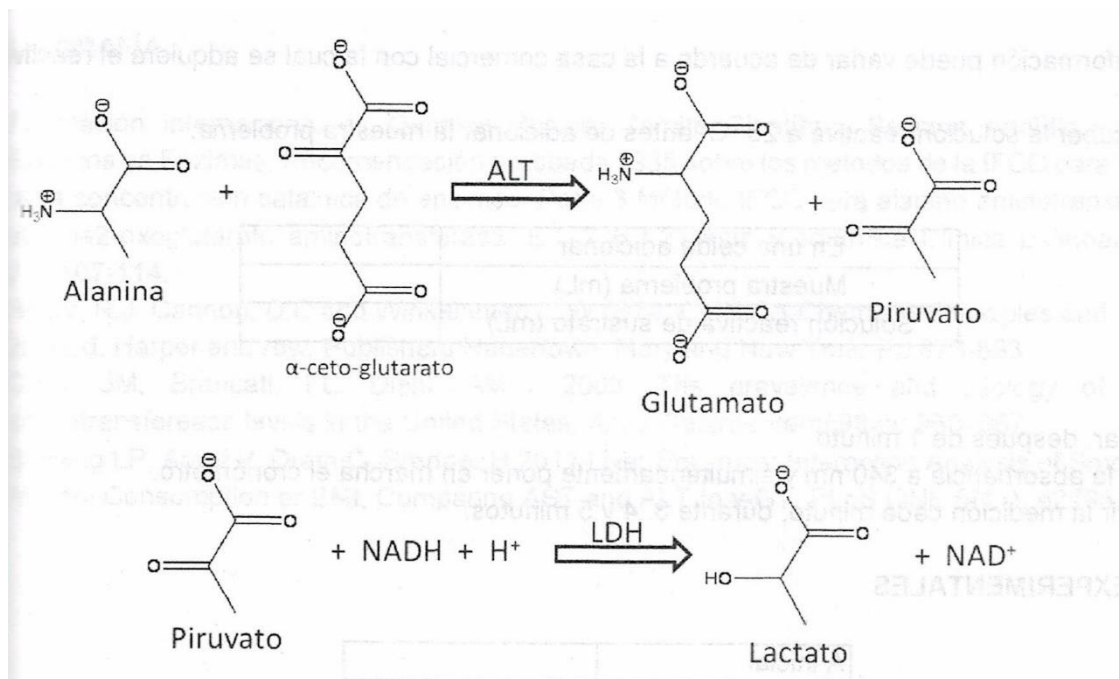


Figura 26. Reacción para la determinación de ALT.

α -amilasa

La principal función de esta enzima es ayudar a la digestión del almidón, glucógeno y sus productos de descomposición en el intestino delgado. Producida en el páncreas y en las glándulas salivales (Carreño et al, 2017) escinde los enlaces α -1-4 glucosídicos de los polisacáridos (almidón y glucógeno). (Wang et al, 2019)

Se encuentra elevada en el suero de pacientes con pancreatitis aguda alcanzando los valores más elevados entre las 24 horas, declinando luego para volver a los niveles normales entre las 24 y 48 horas siguientes. También es posible encontrar valores aumentados en cualquier caso de "abdomen agudo" o intervención quirúrgica en regiones próximas al páncreas. La parotiditis bacteriana y paperas se asocian también con elevaciones en los niveles de amilasa sérica. (Carreño et al, 2017)

Fundamento del método cromolítico

La α -amilasa hidroliza el sustrato definido 2-cloro-p-nitrofenil- α -D-maltotriósido (CNP-G₃) para liberar 2-cloro-p-nitrofenol (CNP), formándose 2-cloro-nitrofenil- α -D-maltósido (CNPG₂), maltotriosa (G₃) y glucosa. El CNP absorbe a 405 nm y la velocidad de aparición del color es directamente proporcional a la actividad enzimática. (Velázquez, R. 2009)

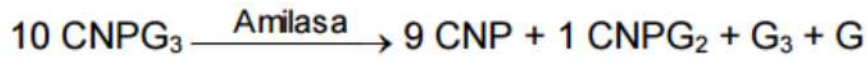


Figura 27. Reacción del método cromolítico para la determinación de amilasa.

Gamma glutamil transpeptidasa (γ GT)

La gamma glutamil transpeptidasa (GGT) es una enzima hepática que cataliza la transferencia de una porción de gamma-glutamilo de glutatión a un aceptor que puede ser un aminoácido, un péptido o una molécula de agua (formación de glutamato, un neurotransmisor). La GGT juega un papel clave en el ciclo de la gamma-glutamilo, una vía para la síntesis y degradación de glutatión y de desintoxicación de drogas y xenobióticos.

La GGT se encuentra en elevadas concentraciones en el hígado, en túbulo renales e intestino aunque también está presente en otros tejidos como páncreas, próstata, glándula salival, vesícula seminal, cerebro y corazón.

Se observa actividad elevada de la GGT en las enfermedades hepáticas, mostrando valores máximos en casos de obstrucción biliar intra o posthepática. Por otra parte, la GGT tiene otra utilidad ya que puede ayudar a detectar la ingesta crónica de alcohol.

Fundamento para la determinación de GGT.

La gamma-glutamilo transferasa (γ -GT) cataliza la transferencia del grupo γ -glutamilo de la γ -glutamilo-3-carboxi-4-nitroanilida a la glicilglicina, liberando 3-carboxi-4-nitroanilina. La concentración catalítica se determina a partir de la velocidad de formación de la 3-carboxi-4-nitroanilina. (Carreño et al, 2017)

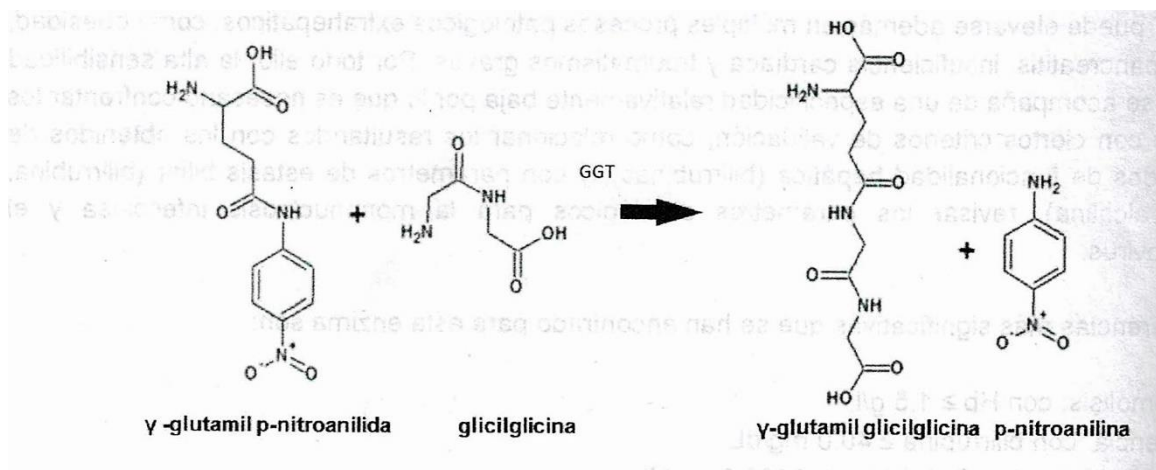


Figura 28. Reacción para la determinación de la GGT.

Fosfatasa alcalina (ALP)

La fosfatasa alcalina (ALP) es una fosfomonoesterasa ligada a la membrana celular, constituida por un grupo de isoenzimas que catalizan la liberación de fosfato de ésteres monofosfóricos a pH alcalino.

La ALP, involucrada en el transporte de metabolitos a través de las membranas celulares, se encuentra en casi todos los tejidos del cuerpo, pero es mayor su presencia en el hígado, las vías biliares y los huesos. (Briozzo et al, 2008)

Cuando existe daño hepático, las células lesionadas liberan cantidades importantes de fosfatasa alcalina hacia la sangre. Por este motivo, esta prueba a menudo se utiliza para detectar obstrucciones de los conductos biliares, ya que la fosfatasa alcalina se encuentra a concentraciones elevadas en los márgenes de las células que limitan los conductos. Si existe obstrucción de uno o varios conductos, por ejemplo debido a la presencia de un tumor, a menudo la concentración de fosfatasa alcalina en sangre está elevada.

Cualquier situación que repercuta sobre el crecimiento óseo o genere un aumento de la actividad de las células óseas puede hacer aumentar los niveles de fosfatasa alcalina en sangre. La determinación de fosfatasa alcalina puede por ejemplo utilizarse para detectar cánceres que se han extendido hacia el hueso, o también para diagnosticar la enfermedad de Paget; en esta enfermedad los huesos se deforman, así como en los déficits de vitamina D, la fosfatasa alcalina puede ser útil para monitorizar el tratamiento.

Fundamento del método de Bessey, Lowry y Brock para la determinación de fosfatasa alcalina.

La fosfatasa alcalina cataliza la hidrólisis del p-nitrofenilfosfato a pH 10,4 liberando p-nitrofenol y fosfato. La velocidad de formación del p-nitrofenol, determinado fotométricamente, es proporcional a la concentración catalítica de fosfatasa alcalina en la muestra ensayada. (Carreño et al, 2017)

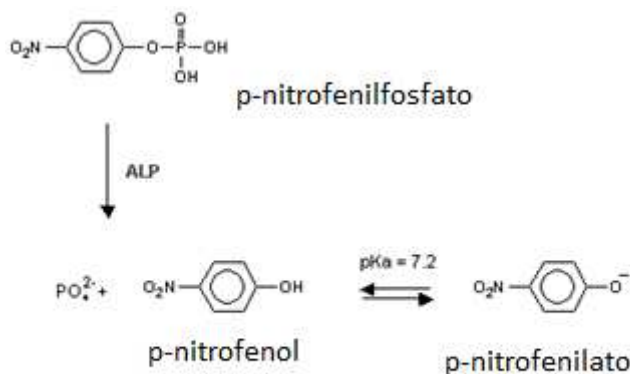


Figura 29. Reacción del método de Bessey, Lowry y Brock para la determinación de ALP.

Fosfatasa ácida (ACP)

Las fosfatasas ácidas se encuentran presentes en casi todos los tejidos del organismo, siendo particularmente altas sus cantidades en próstata, estómago, hígado, músculo, bazo, eritrocitos y plaquetas.

Se ha visto que en individuos con carcinoma de próstata, se produce una elevación en los niveles de la enzima en suero, como consecuencia del aumento de la isoenzima prostática. Cuando no se ha producido metástasis y el tumor se encuentra circunscrito a la glándula, el incremento será pequeño o nulo. En cambio, éste será importante cuando existe compromiso de otros tejidos, especialmente, el óseo.

En principio, se pensó que la fracción tartrato lábil era específica de próstata. Hoy se sabe que existen fosfatasas ácidas tartrato lábiles de origen no prostático.

Fundamento del método de Fast-Red para la determinación de fosfatasa ácida.

La fosfatasa ácida (ACP) hidroliza el α -naftil fosfato a pH 5,2 con liberación de fosfato y α -naftol. El naftol reacciona a su vez con un diazorreactivo presente en el sistema (Fast Red TR) produciendo un pigmento amarillo, de modo que el aumento

de la absorbancia, leído a 405 nm, es proporcional a la actividad de fosfatasa ácida total (ACP) de la muestra. Cuando se mide la actividad en presencia de tartrato, se inhibe la actividad de la isoenzima prostática. La diferencia entre las actividades de fosfatasa ácida total (ACP) y de la resistente al tartrato (Fosfatasa Acida no Prostática/ ACP-NP) corresponde a la fracción prostática (PAP). (Carreño et al, 2017)

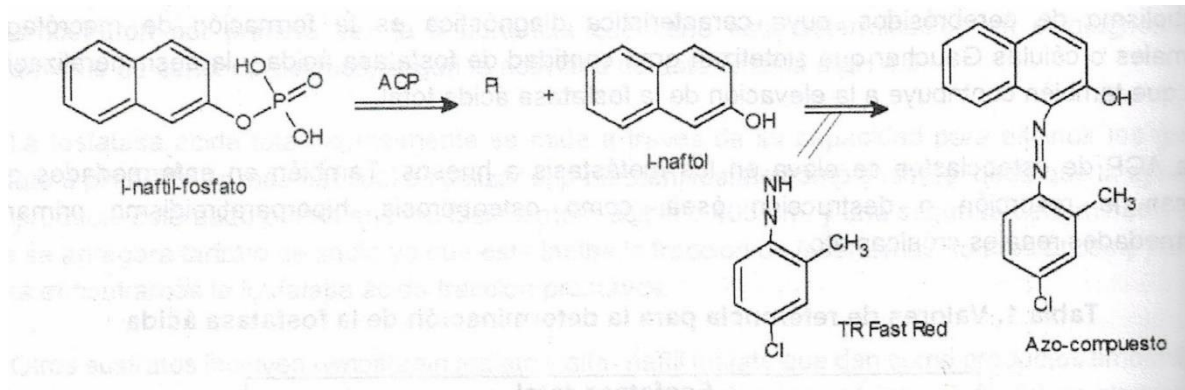


Figura 30. Reacción que se lleva a cabo para la determinación de la fosfatasa ácida.

Sodio y potasio (Na^+ y K^+)

Los principales cationes en el líquido extracelular son el potasio y el sodio. Las concentraciones relativas y absolutas de estos electrolitos modifican el metabolismo y determinan la osmolalidad, el estado de hidratación y el pH de los líquidos intra y extracelulares. Una concentración constante de sodio y potasio es importante para el metabolismo normal, y el cuerpo tiene diferentes mecanismos para su control.

Fundamento del método de fotometría de llama.

Cuando se pulveriza una solución o una muestra que contenga sales de sodio y potasio en el interior de una flama, la energía calorífica proporcionada a estos elementos químicos excita a los electrones de los mismos y pasan a niveles electrónicos de mayor energía; cuando los electrones excitados regresan a su estado basal, liberan la energía como una radiación de longitud de onda característica y la intensidad de la luz emitida es proporcional a la concentración del elemento.

Si se utiliza un filtro adecuado, se puede medir con ayuda de un fotómetro, la intensidad de la luz emitida por un elemento en especial. (Carreño et al, 2017)

Cloruros (Cl⁻)

El cloro, el principal anión extracelular, ejerce un efecto directo sobre la presión osmótica, la distribución del agua y el equilibrio entre aniones y cationes. Los niveles bajos de cloro son causados por pielonefritis crónica, crisis del síndrome de Addison, acidosis metabólica y vómito prolongado. Se observan niveles altos de cloro en la deshidratación, insuficiencia cardíaca congestiva, hiperparatiroidismo y el tratamiento prolongado a base de cloro o la ingestión repetida de dicha sustancia. (Velázquez, R. 2009)

Fundamento del método.

Los iones cloruro de la muestra desplazan iones tiocianato de su sal mercuríca. Estos, en presencia de iones férricos, forman un complejo coloreado cuyo color es directamente proporcional a la concentración de cloruros, pudiendo evaluarse fotométricamente. (Carreño et al, 2017)

Calcio (Ca²⁺)

El calcio es elemento mineral más abundante en el cuerpo humano, tiene una función vital en la regulación de la actividad neuromuscular, de la contracción miocárdica, de la secreción de hormonas y de la actividad de algunas enzimas.

Se encuentran valores altos de calcio en el hiperparatiroidismo, lesiones osteolíticas, acidosis tubular renal y se encuentra disminuido en el hipoparatiroidismo, raquitismo, insuficiencia renal.

La acidez gástrica, la aportación suficiente de vitamina D, son factores que regulan la absorción y retención del calcio. En el adulto, el calcio dietético es absorbido por el intestino mediante proteínas específicas unidas al calcio. Este proceso está bajo el control activo de la vitamina D. La mayoría del calcio que se absorbe se deposita en los huesos. La principal ruta de excreción de calcio en el cuerpo es a través de los riñones.

Fundamento del método.

El calcio con la cresoltaleína en un medio alcalino forma un complejo violeta, cuya intensidad de color es directamente proporcional a la cantidad de calcio existente en la muestra. (Carreño et al, 2017)

Fósforo (P⁵⁺)

El fósforo es un elemento abundante y ampliamente distribuido en el organismo, forma parte de moléculas orgánicas como: proteínas, carbohidratos, fosfolípidos, ácidos nucleicos, nucleótidos y ATP.

Los niveles anormales de fosfato sérico, están relacionados con enfermedades paratiroideas, renales y óseas. El fosfato se mide paralelamente con el calcio, ya que cada uno se usa en la interpretación del otro, puesto que se presentan una relación recíproca e inversa, por ejemplo, cuando aumenta el fósforo por retención renal, el calcio disminuye. (Carreño et al, 2017)

La hiperfosfatemia es muy a menudo el resultado de la disminución de la excreción renal de los iones fosfatos, como ocurre en la insuficiencia renal aguda y crónica, particularmente cuando la relación de la filtración glomerular está reducida en menos del 25% de lo normal. La hiperfosfatemia también puede resultar de un aumento de la carga de fosfato corporal, la cual puede en turno resultar de los enemas y los laxantes conteniendo fosfatos, transfusiones de sangre o hiperalimentación, como el resultado de la destrucción masiva celular posterior a la lisis por terapia citotóxica (síndrome de lisis tumoral), o por lesiones de tejido (hipertermia, hipoxia, o lesiones por choque), las cuales resultan en randidiolisis y hemólisis. (Velázquez, R. 2009)

Fundamento del método.

El fosfato en medio ácido reacciona con el molibdato para formar fosfomolibdato de amonio, el cual es reducido por el ácido 1-amino-2-naftol-4-sulfónico produciendo el complejo azul de molibdeno, que se mide a 660 nm. (Carreño et al, 2017)

Conclusión

Al término de la realización de los análisis clínicos de las muestras hematológicas que se reciben en el Hospital General José Vicente Villada, se comprendieron los fundamentos teóricos de las técnicas aplicadas en el área de química clínica para la cuantificación de metabolitos humanos de importancia clínica que incluyen un enfoque químico, bioquímico y biológico, además de adquirirse nuevas habilidades y capacidades para el buen desempeño profesional de un Químico Farmacéutico Biológico en dicha área, obteniéndose de igual manera conocimientos en materia de salud pública

En el reporte no se presentan resultados debido a que los datos son confidenciales, sin embargo durante la realización de este servicio social, los resultados obtenidos se presentaron en las bitácoras oficiales del Hospital General José Vicente Villada (área de laboratorio).

Por otro lado es importante hacer conocer que en laboratorio de la realización de este servicio social se promueve la calidad y calidez de los servicios de salud pública, para contribuir al ejercicio pleno de las capacidades de la población del Estado de México

Agradecimientos

A la Dra. Tomasa Verónica Barón Flores por su guía, paciencia y apoyo en el desarrollo de este proyecto.

Al Q.F.B Jesús Mejía Ramírez por brindarme la oportunidad de realizar el servicio social en la institución.

Calendario de actividades

Actividad	MARZO	ABRIL	MAYO	JUNIO	JULIO	AGOSTO	SEPTIEMBRE
1. Búsqueda de información bibliográfica	X	X	X	X	X		
2. Evaluación clínica de muestras hematológicas	X	X	X	X	X		
3. Evaluación clínica de muestras hematológicas en el área de urgencias					X	X	X
4. Reporte final						X	X

Bibliografía:

- Briozzo, G., Perego, M. D. C., & Moirón, M. D. C. (2008). *Fosfatasa Alcalina: valores de referencia en la paciente embarazada*. *Bioquímica y Patología Clínica*, 72(1), 32.
- Carreño, L. Hernandez, A. Ibañez, M. Jaimes, H. Lozano, C. Martínez, C. Mercedes, M. Oseguera, B. Peñafort, V. Perez, H. Santiago, J. & Vega, L. (2017). *Manual de prácticas de Bioquímica Clínica*. Ciudad de México: Instituto Politécnico Nacional.
- Liu, Z., Que, S., Xu, J., & Peng, T. (2014). *Alanine aminotransferase-old biomarker and new concept: a review*. *International journal of medical sciences*, 11(9), 925.
- Núñez, J. (2017). *Blood urea nitrogen to creatinine ratio in acute heart failure: an old concept brought to reality?* *Heart*, 103, 402-403.

- Orbea, T., & Belén, M. (2016). *Determinación de Niveles de la Enzima Lactato Deshidrogenasa y su Relación con los Trastornos Hipertensivos Durante el Embarazo* (Bachelor's thesis, Universidad Técnica de Ambato.-Facultad de Ciencias de la Salud.-Laboratorio Clínico).
- Organización Mundial de la Salud. (2012). *Instrumento para la Evaluación de Laboratorios*. Marzo 25, 2018, de OMS Sitio web: http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/76769/WHO_HSE_GCR_LYO_2012.2_spa.pdf;jsessionid=C06273A29F245818D3FA2F60D0382C44?sequence=1
- Pundir, C. S., & Narwal, V. (2018). *Biosensing methods for determination of triglycerides: a review*. *Biosensors and Bioelectronics*, 100, 214-227.
- Sozen, E., & Ozer, N. K. (2017). *Impact of high cholesterol and endoplasmic reticulum stress on metabolic diseases: an updated mini-review*. *Redox biology*, 12, 456-461.
- Velázquez, R. (2009). *MANUAL DE PRÁCTICAS BIOQUÍMICA CLÍNICA*. Abril 10, 2018, de UNAM FACULTAD DE QUÍMICA Sitio web: http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/MANUALBIOQUIMICACLINICA_10817.pdf?fbclid=IwAR3nH9vV8n_Z_wy-mi5sZlip8JtVSZGWGFHWYK5aaaz3sKANtal_7Mf-bC0
- Wang, Y. C., Zhao, N., Ma, J. W., Liu, J., Yan, Q. J., & Jiang, Z. Q. (2019). *High-level expression of a novel α -amylase from *Thermomyces dupontii* in *Pichia pastoris* and its application in maltose syrup production*. *International Journal of Biological Macromolecules*.