



**UNIVERSIDAD DE CUENCA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA**

TÍTULO:

**DETERMINACIÓN SÉRICA DE LA HORMONA TIROTROPINA (TSH) Y
TETRAYODOTIRONINA LIBRE (T₄L) EN MUJERES EMBARAZAS QUE
CURSAN EL PRIMER TRIMESTRE DE GESTACIÓN**

**TESIS PREVIA A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO
BIOQUÍMICO FARMACÉUTICO**

AUTORES:

**CINTHYA KATIUSKA CUEVA APONTE
JUAN FERNANDO HUIRACOCHA PIEDRA**

DIRECTORA:

DRA. NANCY GRACIELA CHÉRREZ VERDUGO

2013



RESUMEN

Las alteraciones de la función tiroidea en el primer trimestre del embarazo pueden ocasionar alteraciones en el desarrollo del sistema nervioso central del feto. El objetivo de la investigación fue determinar el comportamiento de las hormonas tirotropina (TSH) y tiroxina libre (T₄L) en pacientes que cursaban el primer trimestre embarazo. Se desarrolló un estudio no experimental, descriptivo de corte transversal. La muestra estuvo constituida por 60 pacientes (50 gestantes y 10 no gestantes) que asistieron al Laboratorio de la Fundación Pablo Jaramillo durante el período marzo - abril del 2013. Se recopilaron los datos de las hormonas TSH y T₄L en suero, procedencia, edad, semanas de embarazo y antecedentes familiares de enfermedad tiroidea. Los datos se procesaron en el paquete estadístico SPSS v.16.0. No hubo diferencias en cuanto a la procedencia y los antecedentes de enfermedad tiroidea. Hubo una correlación negativa significativa ($r = -0,297$) entre las hormonas TSH y T₄L en el grupo de las pacientes embarazadas, relacionada también con un comportamiento opuesto según los meses de embarazo. Se detectó alteración en la concentración de TSH en un 10 % de las pacientes embarazadas, mientras que la concentración de T₄L solo estuvo disminuida en una de ellas. Es necesario el desarrollo de estudios más detallados que permitan establecer y validar los puntos de corte de estas hormonas para la población de embarazadas ecuatorianas y así estimar una aproximación más exacta al panorama sobre las alteraciones de la función tiroidea durante el embarazo.

PALABRAS CLAVES:

Tiroides, Hormona Tirotropina (TSH), Tetrayodotironina Libre (T₄L), Mujeres Embarazadas Gestación.



ABSTRACT

The thyroid function alterations during the first trimester of pregnancy could cause important alterations in the development of the central nervous system the fetus. The objective of the investigation was determinate the behavior of Thyroid-stimulating hormone (TSH) and free thyroxine (FT4) in patients during the first trimester of pregnancy. Developed a study not experimental, descriptive and cross section. The sample consisted of 60 patients (50 pregnant and 10 not pregnant) that went to the Laboratory of the Pablo Jaramillo Foundation during the period March - April of 2013. We collected the data of the TSH and T4L hormones in serum, the precedence, age, week of pregnancy and family antecedents of thyroid sickness. The Data was processed in the statistical package SPSS v 16.0. We didn't obtain differences between both groups with respect to the patients' precedence and thyroid sickness antecedents. Had a significant negative correlation ($r = -0.297$), between these hormones in the pregnant patients group, also associated with an opposite behavior of both depending on the months of pregnancy. Alteration was detected in the TSH concentration in a 10% of the pregnant patients, while free T4 concentration only was decreased in one of them. Necessary the development of more detailed studies that allow to establish and validate the cut points of these hormones for the Ecuadorian pregnant population and so estimate an approximation more accurate to the scene on the alterations of thyroid function during pregnancy.



ÍNDICE

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN	13
1.1. GLÁNDULA TIROIDES	15
1.1.1. Generalidades	15
1.1.2. Desarrollo de la glándula	15
1.1.2.1. Histogenia de la glándula	17
1.1.3. Anatomía de la glándula tiroideas	17
1.1.4. Vascularización	18
1.1.4.1. Arterias	18
1.1.4.2. Venas	19
1.1.4.3. Linfáticos	20
1.1.5. Fisiología de las hormonas tiroideas	20
1.1.5.1. Transporte de yodo inorgánico (I^-) o proceso de captación	20
1.1.5.2. Oxidación y organificación del I^-	20
1.1.5.3. Síntesis de la tiroglobulina	21
1.1.5.4. Acoplamiento	21
1.1.5.5. Endocitosis coloidal, proteólisis de la Tgb y liberación de las tironinas	22
1.1.6. Metabolismo de las hormonas tiroideas	23
1.1.7. Tironinas circulantes	25
1.1.7.1. Tiroxina (T4)	25
1.1.7.2. Triyodotironina (T3)	25
1.1.7.3. T3 reversa (rT3)	25
1.1.7.4. Monoyodotironina (MIT) y diyodotironinas (DIT)	26
1.1.8. Transporte y regulación de hormonas tiroideas	26
1.1.9. Acción de las hormonas tiroideas	27
1.1.10. Morfofisiología tiroidea en el embarazo	28
1.2. PATOLOGÍAS TIROIDEAS	30
1.2.1. Hipotiroidismo	30
1.2.1.1. Hipotiroidismo y embarazo	31



1.2.1.1.1. Diagnóstico	31
1.2.1.1.2. Tratamiento	32
1.2.2. Hipertiroidismo	32
1.2.2.1. Hipertiroidismo en el embarazo	32
1.2.2.1.1. Diagnóstico	32
1.3. DETERMINACIÓN DE HORMONAS TIROIDEAS	34
1.3.1. Radioinmunoanálisis (RIA)	35
1.3.2. Quimioluminiscencia	35
1.3.3. ELISA	36
1.4. VALORES DE REFERENCIA	36

CAPÍTULO II

2.1. METODOLOGÍA	37
2.1.1. Tipo de investigación	37
2.1.2. Selección de las pacientes	37
2.1.2.1. Criterios de inclusión	37
2.1.2.2. Criterios de exclusión	37
2.1.3. Tamaño de la muestra y muestreo	38
2.1.4. Toma de la muestra	38
2.1.4.1. Aspectos a considerar en la toma de muestra	38
2.1.4.2. Obtención de la muestra	39
2.1.5. Condiciones de almacenamiento de las muestras	39
2.1.6. Transporte y manejo de las muestras	39
2.2. TÉCNICA	40
2.2.1. Principios de la técnica	40
2.2.2. Características del sistema IMMULITE	41



2.3. OPERACIÓN DEL EQUIPO	41
2.3.1. Preparación de las muestras	41
2.3.2. Procesamiento de la muestra	41
2.4. FORMAS DE CONTROL	42
2.4.1. Control interno del equipo IMMULITE	42
2.4.2. Control de estudio realizado	43
2.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	43
 CAPÍTULO III	
3.1. RESULTADOS Y ANÁLISIS	44
3.1.1. Características clínicas, epidemiológicas y demográficas de la muestra.	48
3.1.2. Comportamiento de las concentraciones séricas de las hormonas TSH y T4L según grupo de paciente	49
3.1.3. TSH, T4L y antecedentes de enfermedad tiroidea	54
3.1.4. Hormonas TSH y T4L y procedencia demográfica de la paciente	55
CONCLUSIONES	57
RECOMENDACIONES	59
 BIBLIOGRAFÍA	60
ANEXOS	66



Yo, Cinthya Katiuska Cueva Aponte, autor de la tesis "DETERMINACIÓN SÉRICA DE LA HORMONA TIROTROPINA (TSH) Y TETRAYODOTIRONINA LIBRE (T4L) EN MUJERES EMBARAZAS QUE CURSAN EL PRIMER TRIMESTRE DE GESTACIÓN", reconozco y acepto el derecho de la Universidad de Cuenca, en base al Art. 5 literal c) de su Reglamento de Propiedad Intelectual, de publicar este trabajo por cualquier medio conocido o por conocer, al ser este requisito para la obtención de mi título de Bioquímica Farmacéutica. El uso que la Universidad de Cuenca hiciere de este trabajo, no implicará afección alguna de mis derechos morales o patrimoniales como autor.

Cuenca, 09 de Julio, 2013.

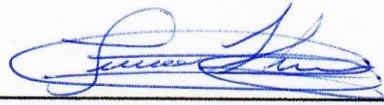


Cinthya Katiuska Cueva Aponte.
070444645-9



Yo, Juan Fernando Huiracocha Piedra, autor de la tesis "DETERMINACIÓN SÉRICA DE LA HORMONA TIROTROPINA (TSH) Y TETRAYODOTIRONINA LIBRE (T₄L) EN MUJERES EMBARAZAS QUE CURSAN EL PRIMER TRIMESTRE DE GESTACIÓN", reconozco y acepto el derecho de la Universidad de Cuenca, en base al Art. 5 literal c) de su Reglamento de Propiedad Intelectual, de publicar este trabajo por cualquier medio conocido o por conocer, al ser este requisito para la obtención de mi título de Bioquímico Farmacéutico. El uso que la Universidad de Cuenca hiciere de este trabajo, no implicará afección alguna de mis derechos morales o patrimoniales como autor.

Cuenca, 09 de Julio, 2013.



Juan Fernando Huiracocha Piedra
0104289053



Yo, Cinthya Katiuska Cueva Aponte, autor de la tesis “DETERMINACIÓN SÉRICA DE LA HORMONA TIROTROPINA (TSH) Y TETRAYODOTIRONINA LIBRE (T₄L) EN MUJERES EMBARAZAS QUE CURSAN EL PRIMER TRIMESTRE DE GESTACIÓN”, certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autor/a.

Cuenca, 09 de Julio, 2013.



Cinthya Katiuska Cueva Aponte.
070444645-9



Yo, Juan Fernando Huiracocha Piedra, autor de la tesis "DETERMINACIÓN SÉRICA DE LA HORMONA TIROTROPINA (TSH) Y TETRAYODOTIRONINA LIBRE (T₄L) EN MUJERES EMBARAZADAS QUE CURSAN EL PRIMER TRIMESTRE DE GESTACIÓN", certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autor/a.

Cuenca, 09 de Julio, 2013.



Juan Fernando Huiracocha Piedra
0104289053



AGRADECIMIENTOS

A Dios por habernos dado la fuerza para culminar con éxitos nuestro trabajo.

A nuestra familia por habernos apoyado de manera incondicional a lo largo de toda nuestra carrera.

A nuestra Directora Graciela Chérrez por su paciencia y dedicación en la orientación de nuestro proyecto de tesis.

A nuestra Asesora Dra. Maritza Lamulle por estar guiándonos en la parte práctica de nuestro trabajo de investigación.

Al Dr. Dariel Darce por la constante dedicación, estímulo y conocimientos brindados para la realización de este trabajo.



DEDICATORIA

A mi padre José Cueva, a mi madre Narcisita Aponte, a mi hermana Verónica Cueva, a mi sobrino José Andrés, a mis demás familiares y amigos por ser ellos el pilar fundamental en todo lo que soy, en toda mi educación, tanto académica, como de la vida, por su incondicional apoyo perfectamente mantenido a través del tiempo.

Todo este trabajo ha sido posible gracias a ellos.

Cinthya Katiuska Cueva Aponte.

A mi padre Juan Pablo Huiracocha, a mi madre Carmita Piedra, a mis hermanos Juan Pablo, Edisson Andrés, Katherine Lisseth, a mis tíos Bernardo y Eugenia, por ser un apoyo y parte fundamental tanto en mi desarrollo personal, como profesional, a mis compañeros de estudio, a mis maestros y amigos, quienes sin su ayuda nada de esto hubiera sido posible.

Juan Fernando Huiracocha Piedra.



INTRODUCCIÓN

Las hormonas tiroideas tienen un efecto fundamental sobre el metabolismo y el desarrollo del ser humano, especialmente durante el embarazo, período en el cual la hipofunción o hiperfunción de la glándula tiroides conduce a importantes alteraciones morfo-funcionales sobre el binomio madre-hijo. (1, 2, 3)

Durante las primeras 10 a 12 semanas de gestación el feto depende completamente de las hormonas tiroideas maternas y aunque al final del primer trimestre la tiroides fetal comienza su función endocrina, aún depende de una adecuada ingesta de yodo por parte de la madre. (4, 5) Es por ello que la Organización Mundial de la Salud recomienda un consumo diario de unos 200 ug por día de este mineral durante el embarazo, para mantener una adecuada concentración de estas hormonas. (6, 7)

Tanto el aumento como la disminución de la función tiroidea implica importantes riesgos para la salud materno-fetal. El efecto de las hormonas tiroideas sobre el desarrollo del sistema nervioso central es quizás uno de los más conocidos y estudiados (1, 4, 8, 9, 10), sin embargo, también se conoce su relación con la hipertensión gestacional, partos pretérminos, *Abruptio placentae*, abortos espontáneos, bajo peso para la edad gestacional, entre otros. (4, 11, 12)

A pesar de lo anterior existe cierta controversia mundial sobre la utilidad del pesquisaje rutinario de la función tiroidea previo o durante los primeros meses del embarazo. (13) Esta pudiera ser una de las causas por las cuales aún no estén bien definidos los puntos de corte más eficientes para evaluar la presencia de alteraciones morfo-funcionales de la glándula tiroides durante la gestación, lo que inevitablemente conduce a que no se tenga entonces una información más precisa sobre la incidencia y prevalencia de este problema de salud en la mayoría de los países. (11, 14)

Considerando lo expuesto anteriormente y los escasos estudios encontrados sobre este tema en el ámbito nacional, es que se decidió determinar el comportamiento de las hormonas tirotropina (TSH) y tiroxina libre (T4L) en



mujeres que cursan los tres primeros meses de gestación y en aquellas no gestantes.

Este trabajo pretende aportar datos que permitan sustentar la necesidad de orientar nuevas investigaciones para esclarecer el panorama epidemiológico nacional sobre las alteraciones funcionales de la tiroides antes, durante y después de la gestación, en aras del diseño e implementación de estrategias diagnóstico-preventivas y terapéuticas en este grupo poblacional de riesgo.



CAPITULO I

1.1. GLÁNDULA TIROIDES

1.1.1. Generalidades

La glándula tiroides recibe su nombre del griego *thureos* que significa escudo o protector, es un órgano con un peso total de 15 a 20 gramos (la mayor parte de él es aportado por el coloide). Posee dos lóbulos principales, uno a cada lado del tercio inferior de la tráquea.

La glándula es ricamente irrigada por cuatro arterias tiroideas, dos superiores y dos inferiores y tiene un flujo de aproximadamente 4-6 mL/minuto/gramo de tejido. La glándula posee, además, una doble inervación autonómica, adrenérgica de los ganglios cervicales y colinérgica de los nervios vagos. Esta inervación cumple básicamente una función regulatoria del flujo sanguíneo, lo que modula el aporte de la hormona tiroestimulante (TSH), el yodo y otros sustratos metabólicos para la tiroides. En cada tirocito o unidad funcional celular del folículo, se cumplen diferentes funciones que conducen a la replicación celular y a la síntesis y secreción de hormonas tiroideas. Este proceso se inicia con la captación de yodo inorgánico (I^-) y se le denomina hormogénesis intratiroidea. (15, 16)

1.1.2. Desarrollo de la glándula

La glándula tiroides es la primera glándula endocrina que se desarrolla en el embrión. Aparece alrededor de 24 días después de la fecundación a partir de un engrosamiento endodérmico medial en el suelo de la faringe primitiva (figura 1) que a continuación forma una pequeña evaginación, el primordio tiroideo. Cuando el embrión y la lengua crecen, la glándula tiroides en desarrollo desciende por el cuello, hasta ocupar una posición ventral al hueso hioideo y a los cartílagos laríngeos en desarrollo. (1, 17)

Durante un corto tiempo, la glándula tiroides permanece unida a la lengua por un estrecho tubo, el conducto tiroglosa (figura 1 B y C). Al principio, el primordio tiroideo es hueco, pero pronto se convierte en una masa sólida de células y se

divide en lóbulos derecho e izquierdo conectados por el istmo de la glándula tiroides (figura 2), que se encuentra por delante del segundo y tercer anillos traqueales en desarrollo. (1, 17, 18, 19)

Hacia la séptima semana, la glándula tiroides tiene ya su forma definitiva y suele estar situada en su localización final en el cuello (figura 1 D). En ese momento, y en condiciones normales, el conducto tiroglosa ha degenerado y desaparecido. La abertura proximal del conducto persiste como una pequeña depresión en el dorso (superficie posterior) de la lengua, el llamado agujero ciego. En alrededor de 50% de las personas, la glándula tiroides tiene un lóbulo piramidal que se extiende en sentido craneal desde el istmo. El lóbulo piramidal se diferencia a partir del extremo distal del conducto tiroglosa y se fija al hueso hioides mediante tejido fibroso o músculo liso, el músculo elevador de la glándula tiroides (figura 2). (1, 17, 18, 19)

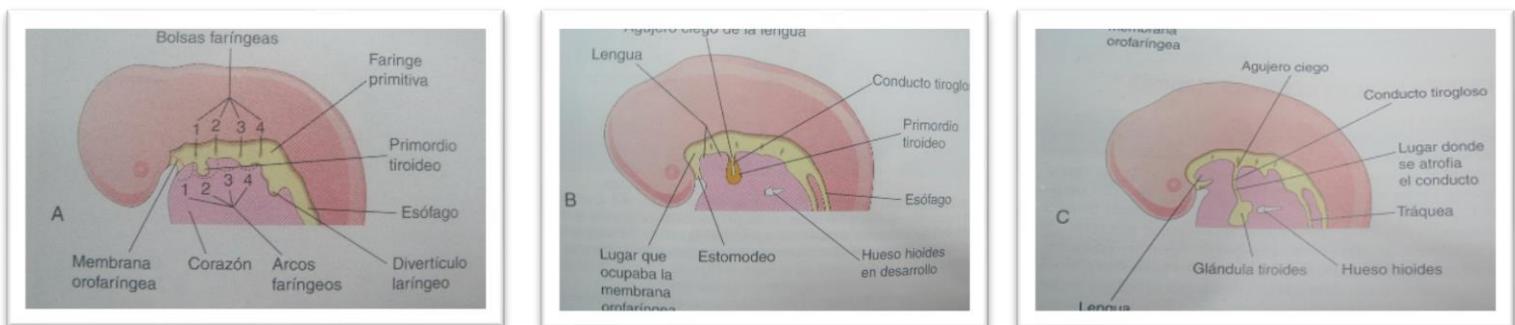
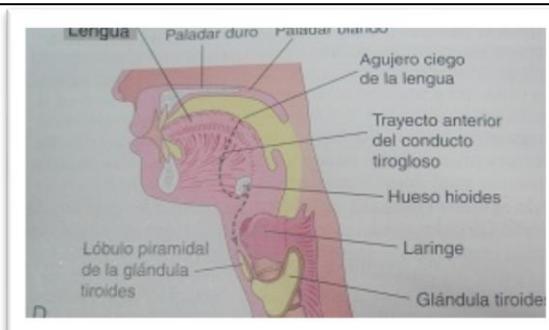


Figura 1: Desarrollo de la glándula tiroides. A, B y C. Cortes sagitales esquemáticos de las regiones de la cabeza y el cuello de embriones de 4, 5 y 6 semanas ilustrando los estadios sucesivos del desarrollo de la glándula tiroides. (Keith L., Persaud T. (2008). Embriología clínica (8va ed). Barcelona, España: Elsevier)



D. Corte similar de una cabeza y un cuello adulto mostrando la vía que sigue la glándula tiroides durante su descenso embrionario (indicado por el trayecto anterior del conducto tiroglosa). (Keith L., Persaud T. (2008). Embriología clínica (8va ed). Barcelona, España: Elsevier)

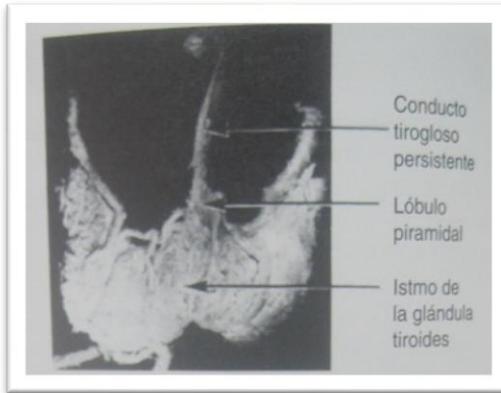


Figura 2: Superficie anterior de una glándula tiroides adulta disecada mostrando la persistencia del conducto tiroglosso. Obsérvese el lóbulo piramidal ascendiendo desde el borde superior del istmo. Este lóbulo corresponde a una porción persistente del extremo inferior del conducto tiroglosso que ha formado tejido tiroideo. (Keith L., Persaud T. (2008). Embriología clínica (8va ed). Barcelona, España: Elsevier)

1.1.2.1. Histogenia de la glándula

El primordio tiroideo consiste en una masa sólida de células endodérmicas. Más tarde, este agregado celular se divide en una red de cordones epiteliales a medida que es invadido por el mesénquima vascular que lo rodea. Hacia la décima semana los cordones se han dividido en pequeños grupos de células. En cada uno de ellos aparece una luz alrededor de la cual se disponen las células formando una sola capa. Durante la semana 11 comienza a aparecer coloide en estas estructuras, los folículos tiroideos y a partir de ese momento puede demostrarse la acumulación de yodo y la síntesis de hormonas tiroideas. Hacia la semana 20, las concentraciones de tirotropina y de tiroxina fetales empiezan a aumentar hasta alcanzar los valores del adulto en la semana 35. (1, 17)

1.1.3. Anatomía de la glándula tiroides

La tiroides es una glándula de secreción interna situada en la región anterior e inferior del cuello, por delante de los primeros anillos traqueales y de las partes laterales del cartílago tiroides. Su cuerpo es una masa glandular, de superficie lisa, color pardo rojizo y consistencia blanda, formado por dos lóbulos laterales cuyas dimensiones aproximadas son: 5cm de alto, 2cm de ancho y de 2-3 cm antero posterior. Ambos lóbulos están unidos, a la altura de los dos primeros

anillos traqueales, por una porción estrechada o istmo, que mide 1-2 cm de alto y menos de 0.5 cm de espesor. En la línea media, se desprende desde el borde superior del istmo o del lóbulo izquierdo, una estructura cónica o cilíndrica que se dirige por delante de la laringe hasta niveles del hueso hioideo, (figura 3). (16, 20)

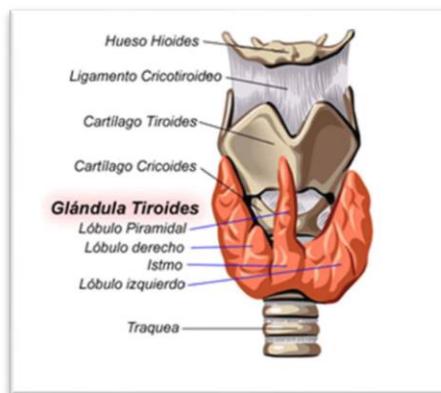


Figura 3.- Glándula tiroides: Forma y Localización.
E-BOOK, TRATADO ARGENTINO DE TIROIDES.
<http://www.tratadodetiroides.com.ar/swf/cap2/Cap2.aspx>

1.1.4. Vascularización

1.1.4.1. Arterias

Desde el punto de vista de su irrigación, esta nutrida por 4 arterias principales, dos denominadas tiroideas superiores que nacen de la arteria carótida interna, y las 2 arterias tiroideas inferiores las cuales lo hacen a través de las arterias subclavias, encargadas sobretodo de la irrigación de las glándulas paratiroides, (figura 4). (16, 20)

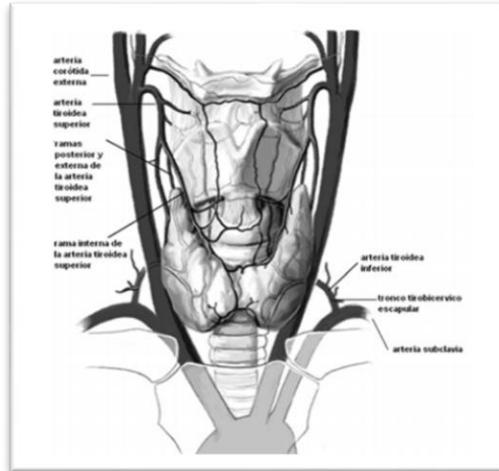


Figura 4.- Arterias de la Glándula tiroides.
E-BOOK, TRATADO ARGENTINO DE TIROIDES.
<http://www.tratadodetiroides.com.ar/swf/cap2/Cap2.aspx>

1.1.4.2. Venas

La glándula tiroides es drenada por tres pares de sistemas venosos, (figura 5): (16, 20)

- Las venas tiroideas superiores.
- Las venas tiroideas medias existen en más de la mitad de los pacientes.
- Las venas tiroideas inferiores.

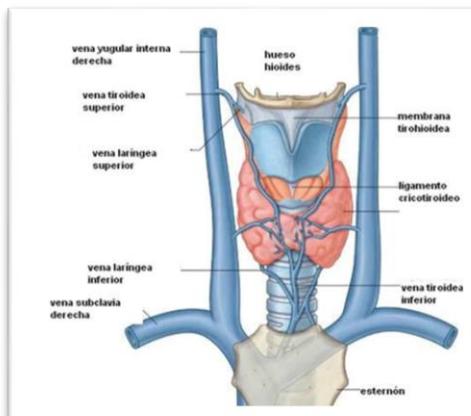


Figura 5.- Venas de la Glándula tiroides.
E-BOOK, TRATADO ARGENTINO DE TIROIDES.
<http://www.tratadodetiroides.com.ar/swf/cap2/Cap2.aspx>



1.1.4.3. Linfáticos

La glándula tiroidea y las estructuras vecinas presentan una rica red linfática que la drena hacia todas direcciones. El sistema de drenaje linfático comienza por debajo de la cápsula tiroidea en canales linfáticos que comunican ambos lóbulos, y a través del istmo se conectan con las estructuras de la región tiroidea para drenar en los ganglios linfáticos regionales.

El drenaje linfático de la tiroides es muy rico y extenso, con abundantes conexiones intra y peri glandulares que justifican la posibilidad de afectación contralateral de las patologías. La importancia de su drenaje en la región cervical radica al momento de plantear el tratamiento quirúrgico de las neoplasias. (20)

1.1.5. Fisiología de las hormonas tiroideas

El proceso de la hormonogénesis intratiroidea es complejo, comprendiendo las siguientes etapas:

1.1.5.1. Transporte de yodo inorgánico (I^-) o proceso de captación

Ocurre en la membrana basal, es TSH estimulado y aunque es activo, o sea que requiere la energía de reacciones de oxidación y fosforilación, es saturable porque posiblemente utiliza un transportador proteico o fosfolipídico (lecitinas). Se correlaciona con la Na^+K^+ -ATPasa de membrana, que a su vez también es TSH estimulada aunque de manera no paralela con el trasporte de I^- (cotrasporte de Na^+ y I^-). De esta manera, se conforma un sistema de antagonistas competitivos que bloquean el ingreso de I^- al tirocito. El transporte también es autorregulado por los niveles intratiroideos del mismo I^- , aumentando en los estados de depleción y disminuyendo en los de exceso. (15, 21, 22, 23, 24)

1.1.5.2. Oxidación y organificación del I^-

El I^- intracelular rápidamente es oxidado, quedando con una estructura aún no conocida, tal vez iodinium: I^+ ; u otro radical similar. Durante la oxidación se forma transitoriamente peróxido de hidrógeno (H_2O_2) en las mitocondrias; este



compuesto parece ser el verdadero oxidante del I⁻ y se cree que esta transformación del yodo ocurre por un proceso de autoxidación de la nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADPH) citocromo C reductasa. Una vez oxidado el yodo es organificado, o sea fijado mediante uniones covalentes a unos 15 de los 120 residuos tirosil de la tiroglobulina (Tgb), dando origen a residuos mono y diyodinizados (MIT y DIT). A partir de este momento del proceso, el yodo ya no es desplazable por los miembros del sistema de antagonistas competitivos que bloquean el ingreso del I⁻. La formación de MIT y DIT ocurre en las vesículas exocíticas más cercanas a la membrana celular apical. Tanto la oxidación como la organificación son catalizadas por una peroxidasa que se encuentra en la pared de las vesículas exocíticas, en la interfase tirocito coloide. La enzima es inhibida por las tioúreas y por altas concentraciones de yodo (efecto Wolff-Chiakoff). (7, 15, 25, 26)

1.1.5.3. Síntesis de la tiroglobulina

La Tgb es una glicoproteína de 660000 Dalton de peso molecular y con sólo 10% en carbohidratos. Constituye el 75% de las proteínas tiroideas y posee dos subunidades no covalentemente unidas. Está codificada por un RNA con 8600 nucleótidos, que es trasladado como mRNA por los polirribosomas grandes, que se encuentran unidos al retículo endoplásmico rugoso. Al sintetizarse la porción peptídica comienza la glucosilación en el mismo retículo y luego en el aparato de Golgi. Una vez terminada la glucosilación, la Tgb se incorpora a las vesículas citoplasmáticas exocíticas, que finalmente migran hacia la membrana apical para fusionarse con ella. Acá, la Tgb completamente glucosilada, es apta para ser yodinada y luego almacenada en el lumen folicular. (7, 15, 26, 27)

1.1.5.4. Acoplamiento

Es el proceso de formación de yodotironinas, en uno o más dominios de la molécula de Tgb. Ocurre mediante la unión de residuos yodotirosil (MIT o DIT) dentro de la Tgb intacta, por un proceso de oxidación también catalizado por la peroxidasa tiroidea microsomal. En la formación de yodotironinas se remueve el



anillo yodinado de uno de los residuos yodotirosil y se forma un residuo dehidroalanil como radical libre; éste contiene el grupo hidroxifenólico o anillo beta de la tirosina. El anillo yodinado es entonces unido por un enlace éter a otro residuo yodotirosil de la misma Tgb, dando origen a las tironinas: triyodotironina (T3) y tetrayodotironina o tiroxina (T4). (2, 7, 15, 26)

Los procesos de oxidación, organificación y acoplamiento también son TSH estimulados y yodo regulados como el mecanismo de transporte del yodo inorgánico. (15)

1.1.5.5. Endocitosis coloidal, proteólisis de la Tgb y liberación de las tironinas

La Tgb es captada del lumen folicular mediante un mecanismo de pinocitosis en la membrana apical. A partir de las extensiones pinóticas se forman las vesículas exocíticas, que migran por el citosol hacia la membrana basal del tirocito. Durante la migración la vesícula se fusiona con lisosomas ricos en esterasas y fosfatasas, formándose un fagolisosoma. Dentro de éstos se continua el trasporte de la Tgb y se inicia la hidrólisis mediante la reducción de los puentes disulfuro de la molécula por acción de hidrolasas ácidas similares a la catepsina D. En este proceso también interviene el glutatión reducido. (7, 15, 27)

Una pequeña porción de la Tgb no se hidroliza y es liberada intacta a la circulación, pudiendo ser medida por métodos enzimáticos e inmunoquímicos. En los estados de exceso de yodo se incrementa la yodinación de la Tgb, lo que la hace resistente a la hidrólisis. Luego de la hidrólisis de la Tgb, se inicia la proteólisis y se reconstituyen los lisosomas, liberándose las yodotironinas MIT y DIT, las cuales, rápidamente son sujetas a la acción de deshalogenasas (enzimas microsómicas dependientes de la NADPH), que liberan el yodo. Una vez ha ocurrido este proceso, se limita la secreción de tironinas no activas metabólicamente. Las deshalogenasas o desyodinasas son activadas indirectamente por la TSH al incrementar esta hormona las concentraciones intratiroideas de NADPH. El yodo liberado es almacenado en dos acúmulos o

depósitos, uno pequeño que contiene el yodo recién liberado y que es fuente para el recambio rápido, y uno grande, con la mayoría del yodo antiguo. Parte del yodo almacenado es reutilizado en la síntesis hormonal y el resto escapa de la glándula tiroides hacia la circulación general del organismo, para ser excretado por los riñones. (15)

La secreción de la triyodotironina y de la tiroxina hacia el líquido extracelular y la circulación sistémica es mediada por un sistema de microtúbulos y microfilamentos. Durante este proceso hay deyodinación parcial de la T4 hacia T3, lo que explica por qué en la secreción glandular la concentración de la T3 es mayor que lo esperado del contenido en la Tgb. El proceso de la secreción también es inhibido por el yodo y por el litio, los cuales bloquean la adenilciclasa, enzima activada fisiológicamente por la TSH y patológicamente por las inmunoglobulinas estimuladoras del receptor de TSH (abreviadas internacionalmente en inglés como TSI). (15)

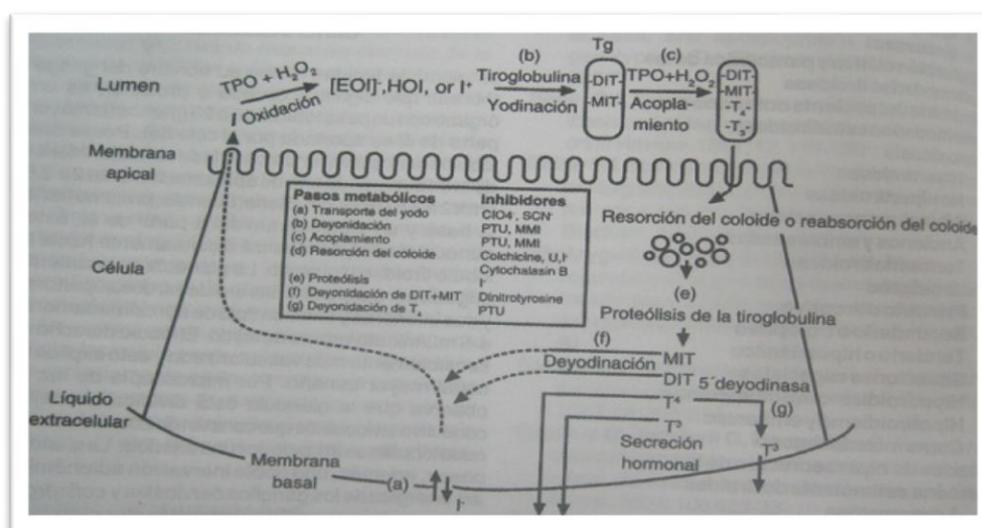


Figura 6.- Biosíntesis y liberación de las hormonas tiroideas. (Vélez H, Rojas W, Borrero J, Restrepo J, Orrego A. (2007). *Endocrinología* (6ta ed.). Medellín, Colombia: Quebecor Word Boqotá S.A.)

1.1.6. Metabolismo de las hormonas tiroideas

La glándula tiroides secreta diariamente 80 - 100 µg de hormonas tiroideas. La T4 es catabolizada en un 80% por deshalogenasas tipo desyodinasas, en las

posiciones 5' - y 5 - de la molécula, hacia T3 (40%) y T3 reversa (3,3',5'-T3, de manera abreviada rT3), en un 40% y en un 37-40% respectivamente; el restante 20% del catabolismo de la T4 da origen a compuestos de baja actividad biológica. La fuente principal de T3 es entonces la 5'-deyodinación de la T4, ya que sólo un 20% a 24% de la secreción diaria de la glándula tiroides corresponde a esta hormona. De igual manera, en sujetos normales, el 97.5% de la rT3 es producto de la deyodinación periférica de la T4.

Se conocen tres tipos de 5'- desyodinasas, todas microsómicas:

- La tipo I es más sensible al propiltiouracilo que la tipo II y se encuentra en tejidos periféricos como el hígado, los riñones y la misma glándula tiroides.
- La tipo II se ha encontrado principalmente en el cerebro y la hipófisis.
- La tipo III es una desyodinasa periférica del anillo interno, no sensible al propiltiouracilo, ampliamente distribuida en tejidos extrahepáticos.

La T3 se cataboliza principalmente mediante una 5-deyodinación a 3,3'-diyodotironina. La rT3 parece que es desyonizada también por la 5'-desyodinasa tipo I y da origen a la 3,3'-diyodotironina, a la 3',5'-diyodotironina y a otros compuestos menores, (figura 7). (15, 26)

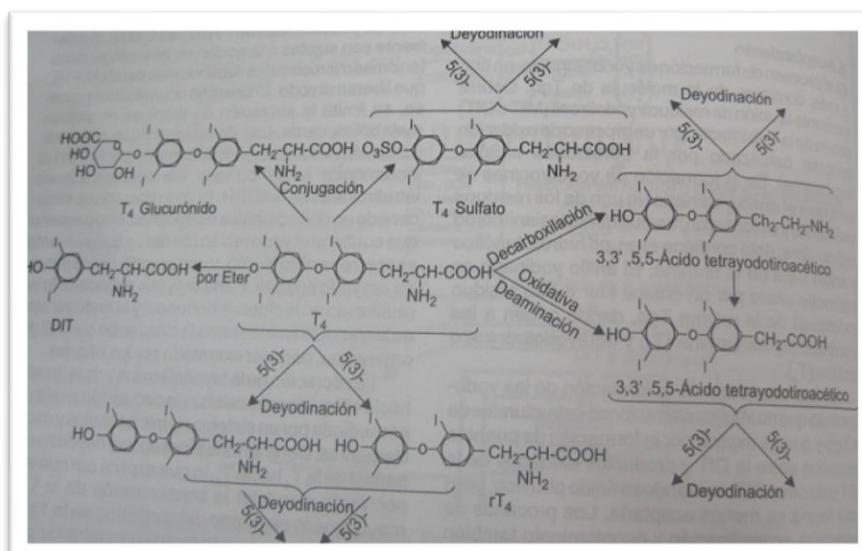


Figura 7.- Metabolismo de las hormonas tiroideas.
(Vélez H, Rojas W, Borrero J, Restrepo J, Orrego A. (2007). *Endocrinología* (6ta ed.). Medellín, Colombia: Quebecor Word Bogotá S.A.)



1.1.7. Tironinas circulantes

1.1.7.1. Tiroxina (T4)

Se producen diariamente 80 - 100 µg, todo por secreción tiroidea. La T4 circula en forma libre en sólo un 0.05% de su concentración sérica, y el resto unida a diferentes proteínas plasmáticas, principalmente a la globulina transportadora de T4 (TBG) y en menor grado a la albúmina y a la prealbúmina. La tasa de recambio diario es de sólo el 10% de dicho acúmulo y esto explica la presencia de la hormona en suero por varias semanas en ausencia de nueva secreción. La T4 es metabolizada en un 80% por deyodinación por partes iguales a T3 y rT3. El 20% restante del T4 da origen a metabolitos de baja actividad biológica (conjugados de sulfato de glucorónico, ácido tetrayodotiroacético – TETRAC – y ésteres). (15)

1.1.7.2. Triyodotironina (T3)

Diariamente se producen 30 – 40 µg. El 80% es derivado de la 5' deyodinación extratiroidea de la T4, el 20% restante proviene de secreción tiroidea directa. La T3 circula en un 0.5% de su concentración sérica en forma libre, el resto lo hace unida como la T4, a proteínas plasmáticas. El acúmulo extratiroideo es de sólo 50 µg y la mayoría se encuentra intracelular. A diferencia de la T4, tiene una tasa de recambio diario alto, cercano al 75%. La T3 se cataboliza en un 50% mediante la 5-deyodinación, y en un pequeño porcentaje es metabolizada a 3,5 diyodotironina y el resto se deamina para formar ácido triyodotiroacético (TRIAC). (15)

1.1.7.3. T3 reversa (rT3)

Su producción es casi toda extratiroidea (90%), pero se conoce poco del sitio donde esto ocurre, lo mismo que del proceso de regulación. Diariamente se producen 30 – 40 µg, pero no se sabe a cuánto asciende el acúmulo extratiroideo. Parece que la tasa de recambio es alta y que mediante una 5' deyodinasa similar a la T4 5'- tipo I se metaboliza a 3,3'diyodotironina, 3,5'diyodotironina y posiblemente a otros compuestos menores. (15)



1.1.7.4. Monoyodotironinas (MIT) y diyodotironinas (DIT)

Presentes en bajas concentraciones en la circulación, se origina en la dieta y en el pequeño escape tiroideo de ellas. La DIT pasa finalmente por acción de la tironina deyodinasa a monotironina (MIT), pero también se desconoce el sitio donde ocurre este proceso y su mecanismo de regulación. (15)

1.1.8. Transporte y regulación de hormonas tiroideas

Las hormonas tiroideas son casi insolubles en agua y circulan en sangre ligadas a proteínas transportadoras y en una menor proporción libres. Estas proteínas juegan un importante rol en la distribución de las yodotironinas en los distintos tejidos. Este sistema de transporte está conformado por tres proteínas que varían en su concentración, afinidad y velocidad de disociación de las hormonas: globulina fijadora de tiroxina (TBG), transtiretina (TTR) y albúmina. Las hormonas se unen a las proteínas por enlaces no covalentes y se mantienen en un equilibrio reversible constante con una pequeña cantidad de hormona libre. Esta fracción es la que atravesará las membranas y ejercerá sus efectos metabólicos. (27, 28)

Se consideran dos sistemas reguladores de la función tiroidea: uno a nivel del eje tiroideo, que responde a estímulos externos o a cambios metabólicos. Esto involucra, por un lado un control regulador positivo mediado por la acción de un factor liberador de TSH (TRH), que es tripéptido, sintetizados en el hipotálamo, y por el otro el potente efecto inhibitorio (feedback negativo) ejercido por las hormonas tiroideas sobre los tirotropos y en menor medida sobre las neuronas hipotalámicas productoras de TRH. (21, 28)

El estímulo primario para regular la TRH, es el metabolismo corporal. Si es bajo, aumenta automáticamente dicho factor, lo cual a su vez aumenta la producción de TSH y por tanto de triyodotironina, conocida como T3 y tetrayodotironina, conocida como T4, si el metabolismo es excesivo, el hipotálamo deja de segregar factor liberador TRH disminuyendo la producción de TSH y por tanto disminuye también la concentración de T4 y T3. (3, 21, 28)



El otro sistema regulador, en cambio, es a nivel local en cada tejido en particular, que responde a diferentes necesidades ante una determinada situación. (28)

1.1.9. Acción de las hormonas tiroideas

Las hormonas tiroideas, tiroxina (T4) y triyodotironina (T3), tienen un amplio efecto sobre el desarrollo y el metabolismo. Algunos de los más destacados efectos del déficit de la hormona tiroidea ocurren durante el desarrollo fetal y en los primeros meses que siguen al nacimiento. En el niño, las alteraciones más destacadas son el déficit del desarrollo intelectual y el retraso en el crecimiento. El déficit intelectual, que es proporcional al tiempo que persista la falta de hormonas, es irreversible; el retraso en el crecimiento parece ser de origen puramente metabólico, ya que el crecimiento se adapta rápidamente a su ritmo normal después de la instauración del tratamiento. (29)

Considerando sólo las más importantes podemos citar las siguientes acciones: (2, 9, 26, 29)

- Son necesarias para un correcto crecimiento y desarrollo.
- Tienen acción calorígena y termorreguladora.
- Aumentan el consumo de oxígeno.
- Estimulan la síntesis y degradación de las proteínas.
- Regulan las mucoproteínas y el agua extracelular.
- Actúan en la síntesis y degradación de las grasas.
- Intervienen en la síntesis del glucógeno y en la utilización de las grasas.
- Son necesarias para la formación de la vitamina A, a partir de los carotenos.
- Estimulan el crecimiento y la diferenciación.
- Son imprescindibles para el desarrollo del sistema nervioso central y periférico.
- Intervienen en los procesos de la contracción muscular y motilidad intestinal.
- Participan en el desarrollo y erupción dental.

En resumen, las hormonas tiroideas intervienen prácticamente en la totalidad de las funciones orgánicas, activándolas y manteniendo el ritmo vital.



1.1.10. Morfofisiología tiroidea en el embarazo

Después de la concepción se producen cambios hormonales y metabólicos que contribuyen a sustentar la continuidad del embarazo. Existe una interacción hormonal constante entre el feto, la madre y la placenta, con respecto a la producción de esteroides en las glándulas suprarrenales y en las gónadas fetales y a la producción de hormonas polipeptídicas en la hipófisis fetal y la placenta. Despues de la concepción se observa un rápido aumento de los niveles de gonadotropina coriónica humana (hCG), lo cual garantiza una concentración suficiente de progesterona para el mantenimiento del embarazo antes de que esta función pueda ser desempeñada por la placenta. La función tiroidea materna durante el embarazo es regulada por tres factores independientes pero relacionados entre sí: (4, 5, 8, 30)

1. El aumento de la concentración de hCG que estimula la glándula tiroides.
2. El aumento significativo de la excreción urinaria de yodo que determina una disminución de su nivel plasmático.
3. El aumento del nivel de globulina fijadora de tiroxina (TBG) durante el primer trimestre de embarazo.

Los efectos de estos factores sobre la función tiroidea materna se tornan más evidentes en presencia de otras condiciones anómalas, tales como la deficiencia de yodo o una enfermedad tiroidea autoinmune. (31)

Desde el punto de vista morfológico, hay modificaciones en el volumen medio de los dos lóbulos tiroideos determinado por ultrasonografía. En el primer trimestre el volumen total es de 12.1 mL y aumenta en un promedio del 18% a lo largo de la gestación, ocasionalmente puede ser tan alto como del 25%. El aumento del volumen tiroideo se correlaciona positivamente con el volumen de la glándula al inicio de la gestación, con el incremento en las concentraciones séricas de Tgb y con la relación de T3:T4 al momento del parto. En la figura 8 se presenta una síntesis de los hallazgos más frecuentes en el curso de un embarazo normal. (4, 8, 15, 30)

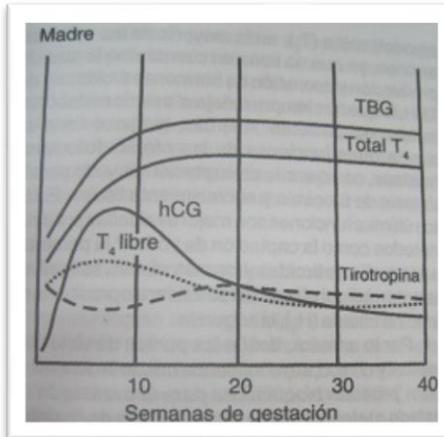


Figura 8.- Cambios relativos en los parámetros de función tiroidea durante la gestación.
(Vélez H, Rojas W, Borrero J, Restrepo J, Orrego A. (2007). *Endocrinología* (6ta ed.). Medellín, Colombia: Quebecor Word Bogotá S.A.)

La TRH materna cruza la barrera placentaria y parece tener algún rol en la maduración del eje pituitario tiroideo en el feto; al contrario la TSH no cruza la barrera placentaria y así no tiene ningún efecto en la vida fetal. En la mujer embarazada, las concentraciones séricas de T3 y T4 totales se elevan debido a un aumento, en promedio de 2 veces, en la síntesis y concentración sérica de la TBG y a una reducción de la tasa de degradación periférica de la misma. Este aumento de la TBG ocurre especialmente por el aumento en las concentraciones séricas de los estrógenos maternos, los cuales inducen desde el día 20 postovulatorio, una mayor síntesis hepática de la TBG. La mayor concentración sérica de la TBG se alcanza entre las semanas 20 – 24, luego se mantiene establemente elevada hasta unas pocas semanas postparto. A diferencia de lo que ocurre con la TBG, las otras proteínas fijadoras de hormonas tiroideas no se elevan. De hecho, la concentración de la albúmina disminuye por el aumento del volumen vascular propio del embarazo y la prealbúmina permanece estable. (8, 15, 30)

De otro lado, las concentraciones libres de la T3 y de la T4, como las de TSH, varían de acuerdo a los métodos de determinación que se usen. En general se puede afirmar que las concentraciones libres de T3 y T4 descienden hasta



aproximadamente un 30%, con una estabilización hacia la semana 20, pero permaneciendo en el rango de normalidad. En el primer trimestre del embarazo hay un aumento de las demandas de producción diaria de T4 entre el 1% y el 3%. Una tercera parte de las mujeres en los primeros tres meses de la gestación tienen alguna evidencia de hipotiroxinemia relativa, debido a que tienen un menor índice de saturación de la TBG, una concentración más baja de T4 libre, un ligero pero normal aumento de la TSH y una relación T3:T4 alta. (8, 15, 30)

La Tgb sérica también aumenta al inicio de la gestación, especialmente en las últimas semanas del primer trimestre, en aproximadamente el 60 – 70% de las mujeres. (15)

1.2. PATOLOGÍAS TIROIDEAS

Las afecciones más comunes de la morfo-función tiroidea se pueden clasificar en:

a) Según la alteración de la función:

- Hipertiroidismo (hiperfunción tiroidea)
- Hipotiroidismo (hipofunción tiroidea)

b) Según las alteraciones del tamaño:

- Bocio
- Nódulo tiroideo

1.2.1. Hipotiroidismo

El hipotiroidismo consiste en una disminución de la función o actividad hormonal tiroidea. El más común es el hipotiroidismo primario diferenciándose dos tipos: (32)

- Hipotiroidismo clínico: generalmente sintomático, TSH elevado y T4 libre disminuida.
- Hipotiroidismo sub-clínico: asintomático, TSH elevado y T4 libre normal, afecta alrededor de 5-15% de personas, dependiendo de la edad.



Entre sus manifestaciones clínicas más frecuentes en el adulto se pueden citar (32)

- Piel seca y fría, retraso de cicatrización de heridas, pelo quebradizo, uñas frágiles y estriadas, voz ronca, anorexia, gastritis, aclorhidria, estreñimiento, alteraciones de la absorción intestinal.
- Somnolencia, depresión, alteraciones sensitivas. Sordera, ceguera nocturna.
- Calambres, dolor y rigidez muscular.
- Amenorrea, menorrhagias, disminución de fertilidad, abortos, pubertad precoz o retrasada, hiperprolactinemia. Anemia, hemorragia.

1.2.1.1. Hipotiroidismo y embarazo

Las causas más frecuentes de hipotiroidismo en las mujeres en edad fértil son las autoinmunes. La incidencia de hipotiroidismo durante la gestación ha sido poco estudiada. En el 2,5% de los embarazos existe una concentración elevada de TSH. En una zona geográfica con disponibilidad de yodo, la principal causa de hipotiroidismo durante el embarazo es la enfermedad o tiroiditis de Hashimoto. (5, 33)

1.2.1.1.1. Diagnóstico. El diagnóstico de hipotiroidismo durante el embarazo es crucial debido a los efectos potenciales adversos sobre la madre y el feto. Solamente entre el 20% y el 30% de los pacientes son sintomáticos y aun así los síntomas son ignorados por el médico y se los suele atribuir al propio embarazo. La mejor forma de documentar el diagnóstico es detectando una elevación de la TSH aunque esto no se da en todos los casos de hipotiroidismo del embarazo.

A pesar de que las mujeres hipotiroideas tienen menos tendencia a la fertilidad, también se pueden embarazar y las complicaciones para la madre y el feto dependerán de la gravedad del hipotiroidismo. (5, 11, 13, 34)

RIESGOS ASOCIADOS CON HIPOTIROIDISMO (5, 11, 13, 35)	
BEBÉ	MUJER
Tamaño más pequeño de lo normal	Pre-eclampsia: padecimiento del embarazo en el que ocurren niveles elevados de presión arterial, hinchazón debido a la retención de líquidos, y función renal (riñones) anormal
Parto prematuro (nace antes de la semana 37 de embarazo)	Abrupción placentaria: estado donde la placenta se ha comenzado a separar de la pared interna del útero antes de que nazca el bebé
Capacidad mental deficiente	

1.2.1.1.2. Tratamiento: El tratamiento de elección en la mujer gestante con hipotiroidismo es también la levotiroxina, buscando obtener en el menor plazo posible la normalización bioquímica y clínica de la paciente. Se recomienda hacer una medición de la concentración sérica de la TSH y de la T4 libre a las 4 semanas de iniciada la levotiroxina, ambas deben estar dentro de límites normales. En promedio, el aumento de los requerimientos de la levotiroxina, se sitúa entre 25 y 50 µg/día pero pueden ser tan altos como 100 µg/día. Kaplan, en 1992 (36), recomendó guiarse por el valor de la TSH sérica en la primera evaluación durante la gestación así:

Las evaluaciones bioquímicas de la TSH y la T4 libre se deben realizar durante el primer trimestre y entre las semanas 20 a 24 y 28 a 32.

Dos advertencias finales respecto a la levotiroxina en la mujer gestante, la primera es que el uso concomitante con sulfato ferroso reduce la eficacia de la primera posiblemente por fijación del hierro a la tiroxina y por esto las dos drogas deben administrarse con un intervalo de tiempo mayor de 2 horas. En segundo lugar, en el período del posparto inmediato, la dosis de levotiroxina debe necesariamente ser reducida al valor pregestación. (15)



Durante la gestación se debe controlar regularmente la TSH y ajustar la dosis de levotiroxina para mantener los valores de TSH en ≤2,5 uUI/ml. (33)

1.2.2. Hipertiroidismo

Se define “hipertiroidismo” al exceso de hormonas tiroideas, procedentes de una mayor síntesis y secreción hormonal por parte de la glándula tiroides. Sus manifestaciones clínicas dependen de la gravedad de la enfermedad, edad del paciente, alteraciones extra tiroideas, y la causa desencadenante. (21)

Toda condición clínica y bioquímica que se presenta con exceso de hormonas tiroideas circulantes, independientemente de su origen, se la denomina “tirotoxicosis”. (37)

El diagnóstico se determina por la clínica y el laboratorio, con la medición de los niveles de TSH, hormonas tiroideas, y anticuerpos Antiperoxidasa (ATPO), Antitiroglobulina (ATG) y Anticuerpos estimulantes del receptor de TSH (TRAb). (37)

1.2.2.1. Hipertiroidismo en el embarazo

El hipertiroidismo constituye la enfermedad tiroidea más frecuente de la gestación. Se presenta aproximadamente en el 0,05 al 0,2 % de los embarazos. Entre las causas se destacan la enfermedad de Graves, el bocio multinodular tóxico, el adenoma tóxico, la tirotoxicosis facticia, la tiroiditis subaguda, la tiroiditis silente y la tirotoxicosis gestacional transitoria. (12, 38)

1.2.2.1.1. Diagnóstico clínico

Las manifestaciones de hipertiroidismo durante el embarazo suelen estar enmascaradas, porque sus síntomas se solapan con los de la gestación. Ambos comparten síntomas y signos comunes debidos al hipermetabolismo y circulación hiperdinámica, responsables de la intolerancia al calor, las palpitaciones, el nerviosismo, la dificultad para ganar peso a pesar de mantener el apetito (especialmente en el primer trimestre) y la taquicardia en reposo (más de 90

latidos por minuto). Asimismo, se produce un aumento del volumen del tiroides por hiperplasia glandular (bocio), y la producción de hormonas tiroideas se incrementa un 50 % en relación con la del estado pregestacional. (38)

La enfermedad de Graves es la causa más común de hipertiroidismo (80-85 %), se observa en 1 de cada 500 mujeres embarazadas, aparece con mayor frecuencia en el primer trimestre y el posparto, y puede agravarse si existen niveles elevados de gonadotropina coriónica humana (hCG) durante el primero. (38)

RIESGOS ASOCIADOS CON HIPERTIROIDISMO (12, 38)	
BEBÉ	MUJER
Tamaño más pequeño de lo normal	Latidos cardíacos irregulares o insuficiencia cardíaca
Parto prematuro	Crisis tiroidea
Possible muerte	

Durante la gestación se debe garantizar la interrelación entre el médico general integral y el personal especializado (ginecobstetra, genetista y endocrinólogo). La valoración se realizará cada 4-6 semanas, enfocada en síntomas clínicos, tamaño del tiroides, ganancia adecuada del peso corporal y normalización de la frecuencia cardiaca. Además se debe determinar cada 4 o 6 semanas los niveles séricos de T₄, T₃ libres y TSH (en su defecto T_{4t} y T_{3t}, el seguimiento obstétrico y la ecografía fetal correspondientes). (38)

1.3. DETERMINACIÓN DE HORMONAS TIROIDEAS

La medición de los niveles circulantes de las hormonas libres, fundamentalmente la T4 libre, es lo que mejor refleja la magnitud del hipertiroidismo del paciente. La evaluación de las hormonas totales puede también ser muy importante, en particular cuando no hay correlación entre las hormonas libres y aquellas unidas a



las proteínas transportadoras, así como también la evaluación de tirotropina y anticuerpos anti tiroideos.(37)

Tirotropina: En los casos de hipertiroidismo primario la TSH estará disminuida o suprimida debido al exceso, relativo o absoluto, respectivamente, de las hormonas tiroideas periféricas (T4 y T3). La TSH tiene una mayor sensibilidad para el diagnóstico del hipertiroidismo que la T4 libre, por eso es fundamental en el diagnóstico del hipertiroidismo subclínico. (4, 37)

Anticuerpos antitiroideos: Se pueden determinar dos tipos de anticuerpos: los ATG y los ATP, por un lado, y los TRAb, por el otro. La positividad de los ATG y/o ATPO indica la presencia de una enfermedad autoinmune de la tiroides, como puede ser la enfermedad de Graves o la tiroiditis de Hashimoto. Sin embargo, lo que es patognomónico de la enfermedad de Graves es la presencia de los TRAb, que estimulan la glándula tiroides y aportan información en el diagnóstico, seguimiento y recidiva de esta enfermedad. (4, 37)

Para la determinación de dichas hormonas, podemos realizar exámenes de sangre utilizando diferentes técnicas, entre las que citaremos las más usadas:

1.3.1. Radioinmunoanálisis (RIA)

Es un ensayo de competición. La técnica se basa en medir la cantidad de antígeno marcado que se desplaza de los lugares de unión del anticuerpo debido a la llegada posterior de un antígeno frío, conociendo así la cantidad de antígeno frío que teníamos en nuestra muestra. La medición se realiza de la fracción libre que quedas, antes y después de la adición del antígeno frío. (4)

1.3.2. Quimioluminiscencia

Se basa en el principio de la emisión de radiación electromagnética, normalmente en la región del visible o infrarrojo cercano, producida por una reacción química. Para que se dé la QL es necesario que la reacción produzca un exceso de energía, lo cual es bastante frecuente sobretodo en reacciones redox, pero el hecho de que este exceso de energía se disipe con emisión quimioluminiscente,



depende en gran medida de la estructura molecular de los intermedios o productos de reacción. (4, 39)

1.3.3. ELISA

Se basa en la detección de un antígeno inmovilizado sobre una fase sólida mediante anticuerpos que directa o indirectamente producen una reacción cuyo producto, por ejemplo un colorante, puede ser medido espectrofotométricamente. (4)

1.4. VALORES DE REFERENCIA

Dado el desconocimiento sobre la prevalencia de hipotiroidismo subclínico en la población general, es posible que el rango de referencia utilizado para TSH (0.4-4.0 uUI/ml) esté incluyendo a este grupo de pacientes con afectación tiroidea oculta. (5, 13) Además, el 95% de la población eutiroidea estudiada rigurosamente tiene valores entre 0.4 y 2.5 uUI/ml, existiendo evidencias de que sería adecuado bajar el límite superior del rango de referencia, especialmente en mujeres que cursan el primer trimestre de embarazo. (28)

En cuanto a la T4 libre, los valores de referencia que se tienen de acuerdo a la técnica utilizada, están comprendidos entre 0.89-1.76 ng/dL, aunque también varían en diferentes poblaciones y períodos del embarazo (4, 5, 14)



CAPITULO II

2.1. METODOLOGÍA

2.1.1. Tipo de investigación

El presente estudio se enmarca dentro de una Investigación no experimental, de corte transversal y descriptivo, entre mujeres embarazadas que cursan el primer trimestre de embarazo, y mujeres no embarazadas en edad fértil como grupo control, con el propósito de determinar la concentración sérica de tirotropina (TSH) y tetrayodotironina libre (T4L).

2.1.2. Selección de las pacientes

Para el estudio se tomó en cuenta los siguientes criterios de inclusión y exclusión en la selección de las pacientes.

2.1.2.1. Criterios de inclusión

Se incluyeron a mujeres embarazadas con las siguientes características:

- Que cursen los tres primeros meses de gestación
- Sin enfermedad tiroidea comprobada
- Edad fértil entre 18-35 años

Para el grupo control se incluyeron a mujeres no embarazadas con las siguientes características:

- Edad fértil entre 18 y 35 años
- Sin suplementación hormonal

2.1.2.2. Criterios de exclusión

Se excluyeron a mujeres embarazadas con las siguientes características:

- Que no cursen los tres primeros meses de gestación
- Que padecan enfermedad tiroidea
- Menores de 18 años y mayores de 35 años



Para el grupo control se excluyeron a mujeres no embarazadas con las siguientes características:

- Menores de 18 años y mayores de 35 años
- Con suplementación hormonal

2.1.3. Tamaño de la muestra y muestreo

Para este estudio se trabajó con 60 pacientes que cumplían con los criterios de inclusión, de las cuales 50 son mujeres embarazadas y 10 mujeres no embarazadas tomadas como grupo control.

2.1.4. Toma de la muestra

Para la toma de muestra se consideraron varios aspectos, tales como: lugar donde fue extraída, aspectos éticos y legales, obtención de datos relevantes, materiales empleados.

2.1.4.1. Aspectos a considerar en la toma de muestra

Las muestras de sangre de las pacientes que participaron en el estudio fueron tomadas en el Laboratorio Clínico de la Fundación Pablo Jaramillo, de la ciudad de Cuenca, Ecuador.

A las pacientes que voluntariamente decidieron participar en el estudio, se les explicó resumidamente de manera verbal y luego más detalladamente por medio de un consentimiento informado (Anexo 1), el propósito del estudio, así como los riesgos y los beneficios que obtendrían al participar del mismo. Luego de comprender y aceptar procedieron a firmar el escrito. Posteriormente se procedió a realizarles una encuesta con los datos más relevantes para dicho estudio (Anexo 2).



2.1.4.2. Obtención de la muestra

Para la obtención de la muestra de sangre se siguió el procedimiento estandarizado en el laboratorio de la siguiente manera:

- Se preparan los materiales a utilizar como los tubos Vacutainer sin anticoagulante, con gel separador, agujas 21G y campana de Vacutainer.
- Etiquetamos el tubo Vacutainer a emplear.
- Toma de muestra sanguínea por punción venosa, extrayendo aproximadamente 5 ml.
- Una vez formado el coágulo se procedió a centrifugar las muestras a 2500 rpm durante 5 minutos.
- Se separó el suero con una pipeta automática a 2 tubos eppendorf aproximadamente 500 µl a cada uno.
- El primer tubo se utilizó para el estudio, y el segundo tubo se conservó como respaldo.

(ANEXO 3)

2.1.5. Condiciones de almacenamiento de las muestras

Los tubos eppendorf se mantuvieron en congelación a -20°C en el congelador del Laboratorio Clínico de la Fundación Pablo Jaramillo hasta su procesamiento. La técnica empleada indica que el suero se puede conservar un periodo de 5 días a una temperatura de 2 a 8 °C o hasta dos meses a una temperatura de -20°C.

2.1.6. Transporte y manejo de las muestras

Las muestras de suero fueron transportadas el día que iban a ser procesadas desde el Laboratorio Clínico de la Fundación Pablo Jaramillo, en un *cooler* con geles de refrigeración, de manera inmediata hacia el Laboratorio de Atención al Público, de la Universidad de Cuenca.



2.2. TÉCNICA

La técnica utilizada en nuestra investigación para el análisis de las muestras fue Quimioluminiscencia, utilizando el equipo IMMULITE (ANEXO 4).

El equipo IMMULITE, es un analizador automatizado, destinado a realizar inmunoensayos quimioluminiscentes. Su fabricante es DPC (*Diagnostic Products Corporation*). (40)

Posibilita la detección de sustancias que circulan en la sangre en bajísimas concentraciones, lo que es de gran utilidad en el diagnóstico precoz y seguimiento de diversas enfermedades. (41)

2.2.1. Principios de la técnica

El sistema IMMULITE opera con una unidad de test exclusiva la cual contiene en su interior una perla de poliestireno de 6.4 mm, dicha perla está recubierta de anticuerpo (Ac). Las unidades de test son identificadas por códigos de barras las cuales funcionan como tubo de reacción durante todo el procedimiento. Es decir que una vez ingresada la muestra del paciente en el equipo se pueden colocar a continuación las diversas unidades de test para los diferentes analitos a dosificar. Los reactivos utilizados en éste sistema son marcados con fosfatasa alcalina la cual permite una separación rápida y el lavado eficiente de la perla. Quedando la perla libre de material no ligado residual. El material ligado es cuantificado por medio del sustrato quimioluminiscente que produce luz hasta su hidrólisis. La medición de la señal se realiza midiendo las cuentas de fotones en tubo fotomultiplicador, los conteos por segundos (cps) son convertidos a concentraciones de analitos utilizando las curvas estándar que fueron guardadas en el software del equipo y las cuales deben ser periódicamente ajustadas, por medio de dos ajustadores alto y bajo más los tres niveles de controles. El resultado de ésta es la obtención de inmunoensayos precisos y sensibles tanto en altas concentraciones como bajas. (42)



2.2.2. Características del sistema IMMULITE

(ANEXO 4)

2.3. OPERACIÓN DEL EQUIPO

(ANEXO 4)

2.3.1. Preparación de las muestras

El suero del paciente, se coloca en unas copas transparentes desechables, las cuales a su vez son contenidas en otras copas rotuladas, las cuales poseen códigos de barras que reconoce el equipo y permite la identificación correcta de la muestra a analizar.

El suero utilizado para este análisis, ha sido previamente separado y conservado a -20°C. Por lo tanto, antes de ser procesada la muestra, esta debe ser descongelada.

Luego se colocan 500 ul de la muestra en las copas que van a ser colocadas en el equipo IMMULITE para su procesamiento.

2.3.2. Procesamiento de la muestra

En la cadena de carga se coloca cada muestra seguida de las copas de reacción, las cuales contienen la perla recubierta de anticuerpos monoclonales murinos

En la pantalla del monitor, encontramos todas las opciones de trabajo del equipo IMMULITE, de las cuales, presionamos el menú DATA ENTRY, escogiendo la opción PATIENT ENTRY y procedemos a ingresar los datos del paciente, tomando en cuenta el número de copa que ingresamos al equipo.

En el display del equipo, presionamos GO, para que las muestras sean procesadas.

Dicho procesamiento dentro del equipo, es de la siguiente manera:

- Identificación de la muestra y reactivos, por medio del código de barras.
- Pipeteo de las muestras y reactivos dentro de la copa de reacción.



- Incubación a 37°C con agitación periódica.
- Lavado por centrifugación.
- Adición del sustrato.
- Lavado.
- Reporte de resultados.

2.4. FORMAS DE CONTROL

2.4.1. Control interno del equipo IMMULITE

Todo equipo es previamente calibrado. En caso del equipo IMMULITE, cada kit viene con dos ajustadores o viales (bajo y alto), los cuales deben ser previamente reconstituidos para luego poder ser colocados en el equipo, donde posteriormente se genera una curva de calibración, dando un límite superior y otro inferior.

TSH	
AJUSTADOR BAJO	AJUSTADOR ALTO
4 ml de agua bidestilada	4 ml de agua bidestilada
Mezclar suavemente por inversión.	Mezclar suavemente por inversión.

T4 LIBRE	
AJUSTADOR BAJO	AJUSTADOR ALTO
2 ml de agua bidestilada	2 ml de agua bidestilada
Mezclar suavemente por inversión.	Mezclar suavemente por inversión.



2.4.2. Control de estudio realizado

Para verificar y constatar la especificidad del equipo IMMULITE, hemos decidido emplear 10 duplicados de manera aleatoria de las 50 muestras de las pacientes embarazadas que cursan el primer trimestre de gestación de la Fundación Pablo Jaramillo.

2.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

El procesamiento estadístico se realizó empleando el tabulador Microsoft Excel y los programas estadísticos SPSS v.16.0 y EPIDAT 3.0.

Para las variables cuantitativas continuas se calcularon la media como estadígrafo de posición y la desviación estándar como estadígrafo de dispersión. Las variables cualitativas se resumieron mediante el cálculo de las frecuencias absolutas y relativas en tablas de contingencias.

Para evaluar la relación entre las determinaciones del control de reproducibilidad de los resultados se empleó el coeficiente de correlación bivariada de Pearson. Para la comparación de las medias de dos grupos independientes (embarazadas y control) se empleó la prueba T de Student, previa demostración de la distribución normal de los datos por la prueba de Kolmogorov Smirnov y la homogeneidad de varianzas por la prueba de Levene. Para la comparación de las medias de más de dos grupos se empleó el ANOVA de una vía, bajo las mismas condiciones que la prueba anterior.

Las tablas de contingencia se evaluaron a través del Test Exacto de Fisher para muestras pequeñas, dado los impedimentos para aplicar la prueba Ji-cuadrado de Pearson.

En todos los casos el nivel de significación estadística empleada fue de $\alpha = 0,05$.

CAPITULO III

3.1. RESULTADOS Y ANÁLISIS

Para expresar los resultados de la investigación, se ha hecho uso de tablas y gráficos con su respectivo análisis, como se detalla a continuación.

Tabla 3.1.- Datos y resultados de la población de mujeres que cursan el primer trimestre de embarazo.

Nº de Paciente	Edad (años)	Procedencia	Semanas de gestación	Antecedentes Patológicos Familiares	TSH (uUI/ml)	T4L (ng/dL)
1	18	Urbana	6	No	0.671	1.5
2	28	Rural	10	No	2.04	1.0
3	23	Urbana	4	No	1.7	1.1
4	22	Urbana	4	No	1.44	1.1
5	26	Urbana	4	No	0.905	1.2
6	19	Urbana	8	No	2.46	1.2
7	25	Urbana	4	No	1.75	1.0
8	20	Urbana	8	No	0.9	1.3
9	20	Urbana	8	No	0.658	1.1
10	24	Urbana	4	No	1.9	1.0
11	20	Urbana	8	No	1.6	1.2
12	27	Urbana	4	No	2.33	1.0
13	35	Urbana	8	No	2.27	1.1
14	32	Urbana	6	No	1.7	1.2
15	21	Urbana	8	No	1.35	1.0
16	25	Urbana	8	No	2.07	1.2
17	27	Urbana	6	No	1.10	1.3
18	19	Urbana	8	No	73.7	0.84
19	24	Urbana	4	No	0.859	1.1
20	31	Rural	6	No	1.12	1.2
21	29	Urbana	7	No	0.819	1.0
22	22	Urbana	6	No	0.816	1.0
23	22	Urbana	12	No	2.29	1.2
24	35	Urbana	4	No	1.30	1.4
25	23	Urbana	6	No	0.349	1.4
26	22	Urbana	11	No	1.83	1.0
27	24	Urbana	8	No	0.159	1.6
28	33	Urbana	4	No	2.70	1.2
29	22	Rural	12	No	0.555	1.3

Nº de Paciente	Edad (años)	Procedencia	Semanas de gestación	Antecedentes Patológicos Familiares	TSH (uUI/ml)	T4L (ng/dL)
30	18	Urbana	6	Si	1.39	1.2
31	27	Urbana	3	No	0.781	1.1
32	28	Urbana	9,5	Si	1.02	1.1
33	26	Urbana	7	No	0.614	1.2
34	22	Urbana	7	No	0.905	1.2
35	21	Urbana	7	No	1.85	1.3
36	21	Urbana	7	Si	1.22	1.2
37	18	Urbana	12	No	0.76	1.0
38	20	Urbana	4	No	1.66	1.2
39	18	Urbana	6	No	1.48	1.2
40	25	Urbana	4	No	1.66	1.3
41	34	Urbana	7	No	1.71	1.2
42	28	Urbana	10	No	1.49	1.1
43	19	Urbana	12	No	2.18	1.0
44	28	Urbana	4	No	3.44	1.0
45	21	Urbana	4	No	1.32	1.1
46	24	Urbana	4	No	1.32	1.4
47	23	Rural	9	No	0.83	1.1
48	27	Urbana	8	No	1.68	1.4
49	22	Urbana	8	No	0.475	1.0
50	27	Urbana	12	No	1.64	0.99

Tabla 3.2.- Datos y resultados de mujeres no embarazadas, utilizadas como grupo control.

Nº de Paciente	Edad (años)	Procedencia	Antecedentes Patológicos Familiares	TSH (uUI/ml)	T4L (ng/dL)
GC1	23	Urbana	No	0,513	1,3
GC2	23	Urbana	No	1,45	1,0
GC3	35	Urbana	No	1,99	1,2
GC4	26	Urbana	No	1,65	1,1
GC5	35	Urbana	No	2,38	1,2
GC6	19	Urbana	No	0,606	1,3
GC7	28	Urbana	No	1,85	1,3
GC8	33	Urbana	No	0,807	1,1
GC9	30	Urbana	No	1,01	1,0
GC10	27	Urbana	No	1,25	1,0

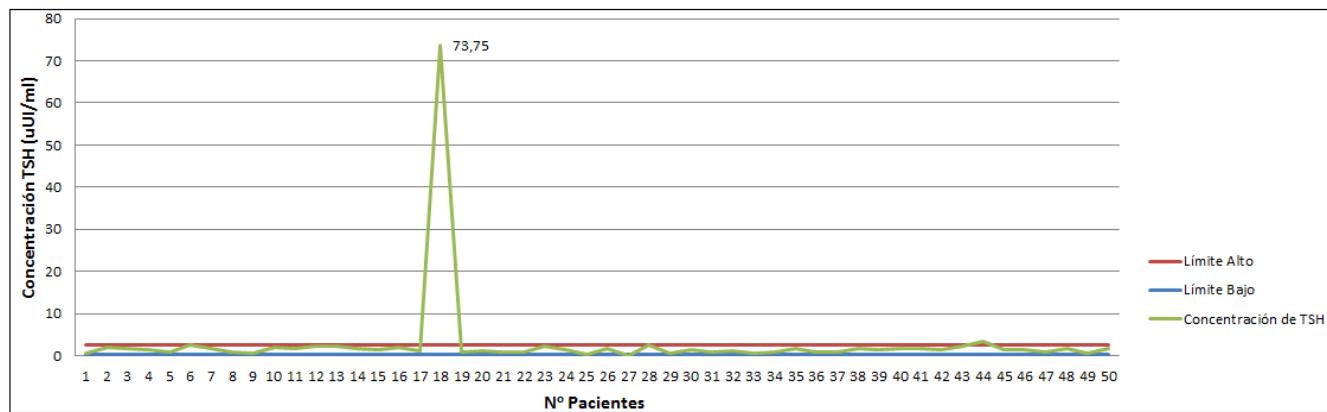
Como se mencionó anteriormente, en la metodología, como otra forma de control de calidad en la determinación, se procedió a realizar duplicados de 10 muestras tomadas de manera aleatoria para analizar la reproducibilidad de los resultados según el procedimiento empleado, en las cuales se obtuvo un rango de variación

de 0 – 0.1, con coeficientes de correlación significativos y fuertes entre las mediciones de las réplicas ($p < 0,05$); **Tabla 3.3.**

Tabla 3.3.- Datos y resultados de los duplicados para el control de calidad de la técnica

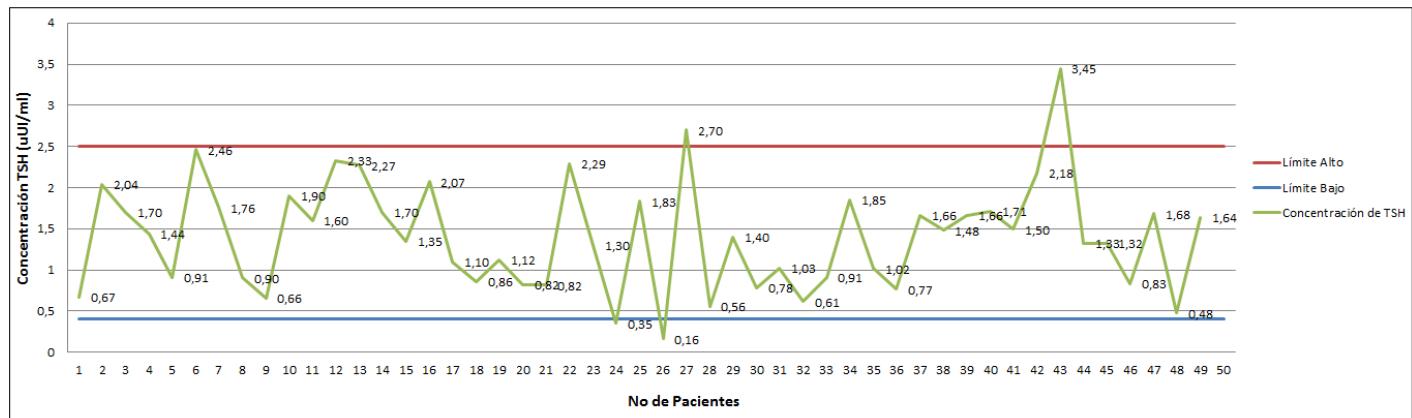
Nº de Paciente	TSH (uUI/ml)	T4L (ng/dL)
7	1.75	1.0
	1.76	1.1
17	1.10	1.3
	1.09	1.3
18	73.7	0.84
	73.8	0.83
30	1.39	1.2
	1.40	1.3
32	1.02	1.1
	1.01	1.0
36	1.22	1.2
	1.23	1.1
37	0.76	1.0
	0.77	0.99
42	1.49	1.1
	1.50	1.1
44	3.44	1.0
	3.45	1.0
45	1.32	1.1
	1.33	1.0
Coeficiente de correlación (P)	0,999	0,742

Grafico 3.1. Valores séricos de TSH en las 50 pacientes embarazadas, cuyos datos han sido tomados de la tabla 3.1



En este gráfico se representan los valores séricos obtenidos de la hormona TSH para cada una de las pacientes que cursan el primer trimestre de embarazo, de las cuales, 5 pacientes mostraron valores fuera del rango de referencia (0.4-2.5 uUI/ml), de los cuales uno presentó valores anormalmente elevados.

Grafico 3.2 Valores séricos de TSH, excluyendo la paciente con el resultado muy elevado, cuyos datos han sido tomados de la Tabla 3.1



El gráfico 3.2 representa los valores séricos obtenidos de la hormona TSH para las pacientes que cursan el primer trimestre de embarazo, excluyendo el dato bien elevado (73.75 uUI/ml). Pudiéndose observar de una mejor manera los 4 valores restantes que se encuentran fuera del rango de referencia (0.4-2.5 uUI/ml).

Grafico 3.3. Porcentajes de pacientes dentro y fuera del rango de referencia para TSH, cuyos datos han sido tomados de la Tabla 3.1

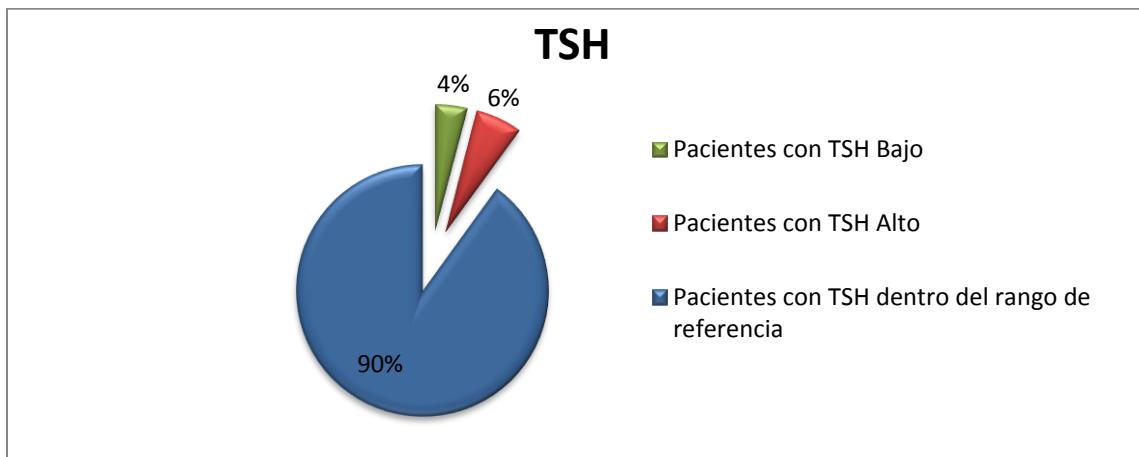
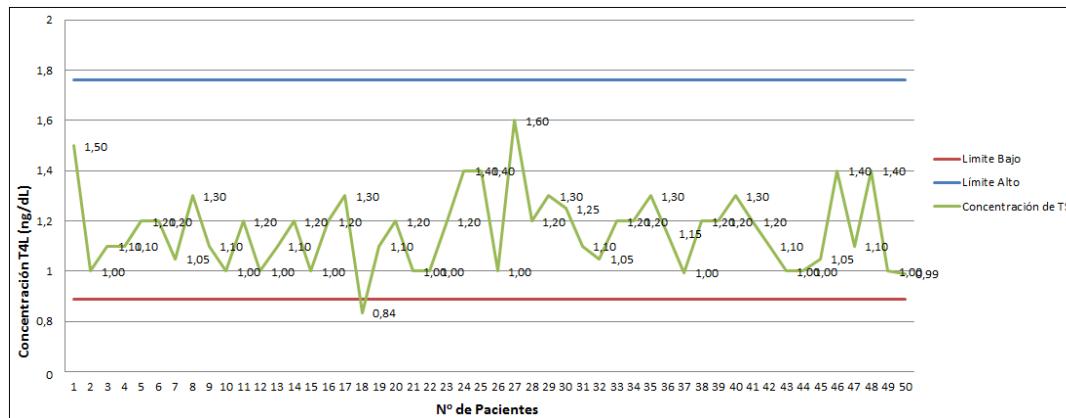
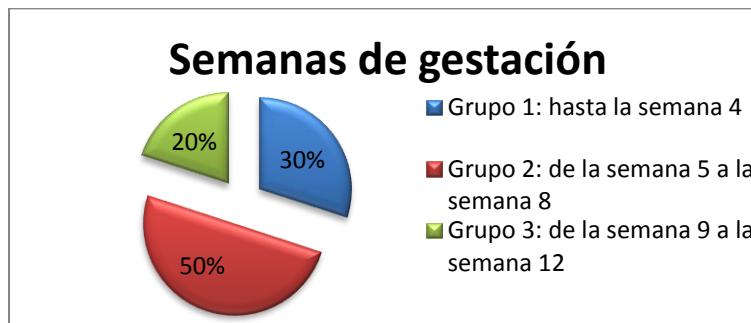


Grafico 3.4. Valores séricos de T4 libre de las 50 pacientes embarazadas, cuyos datos han sido tomados de la tabla 3.1



El gráfico 3.3 representa los valores séricos obtenidos para la hormona T4L para las pacientes que cursan el primer trimestre de embarazo, de las cuales solo se obtuvo un valor fuera del rango de referencia (0.89-1.76 ng/dL).

Grafico 3.5. Porcentajes según el periodo de gestación, de las 50 pacientes embarazadas, cuyos datos han sido tomados de la Tabla 3.1



3.1.1. Características clínicas, epidemiológicas y demográficas de la muestra.

Tabla 3.4. Variables clínicas, epidemiológicas y demográficas.

Paciente	N	Edad (Años)	Semana Gestacional	APF		Procedencia		Mes de embarazo		
				No	Sí	Urbana	Rural	1º	2º	3º
Embarazada	50	24 ± 5	7 ± 3	47	3	45	5	15	25	10
Control	10	28 ± 5	-----	10	0	10	0	-----	-----	-----
P	<0,01	0,031	-----	0,435	0,363			0,030		

APF: Antecedentes patológicos familiares

La **Tabla 3.4** resume los resultados para las variables clínicas, epidemiológicas y demográficas estudiadas. En la muestra predominaron las pacientes embarazadas, en una relación 5:1 respecto a las no gestantes del grupo control.

La edad estuvo comprendida entre 18 a 35 años, siendo ligeramente superior en las pacientes controles.

La edad gestacional estuvo comprendida entre las 3 y 12 semanas, correspondiente al primer trimestre de embarazo, no obstante predominaron las gestantes en el segundo mes de embarazo.

A pesar de que los antecedentes familiares de enfermedad tiroidea y el origen rural se presentaron solo entre las pacientes embarazadas, el pequeño tamaño muestral no permite discernir si existen diferencias entre ambos grupos.

3.1.2. Comportamiento de las concentraciones séricas de las hormonas TSH y T4L según grupo de paciente.

Tabla 3.5. Resultados de la prueba de Kolmogorov-Smirnov para verificar normalidad en las concentraciones de TSH y T4L según grupo de paciente.

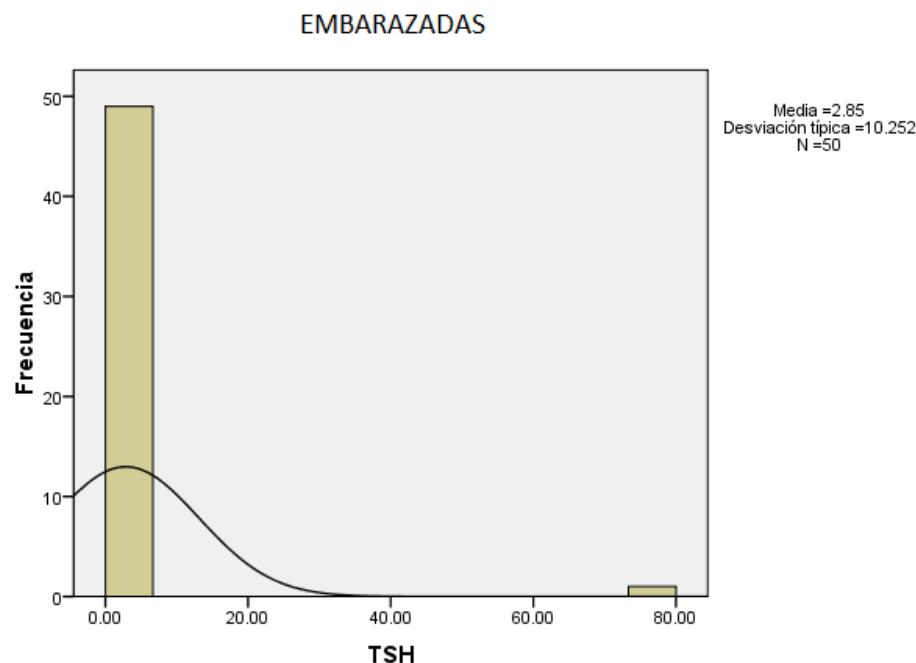
Prueba de Kolmogorov-Smirnov para una muestra			
tipopa	N	TSH	T4L
0	N		
	Parámetros normales*	Media	50
		Desviación típica	50
	Diferencias más extremas	Absoluta	2.8542
		Positiva	10.25216
		Negativa	.466
	Z de Kolmogorov-Smirnov		.15284
	Sig. asintót. (bilateral)		.466
			.156
			.466
			-.396
			.156
			-.114
			3.295
			1.101
			.000
			.177
1	N		
	Parámetros normales*	Media	10
		Desviación típica	10
	Diferencias más extremas	Absoluta	1.3506
		Positiva	.62317
		Negativa	.108
	Z de Kolmogorov-Smirnov		.12693
	Sig. asintót. (bilateral)		.108
			.181
			.108
			-.089
			.181
			.343
			.573
			1.000
			.897

a. La distribución de contraste es la Normal.

Tipopa (tipo de pacientes): grupo de pacientes. 0: Embarazadas, 1: Control.

El análisis de las distribuciones de frecuencias de los datos para las concentraciones séricas de las hormonas estudiadas sugieren una aproximación a la distribución normal o Gaussiana para la T4L mas no para la TSH, especialmente para el grupo de las embarazadas (**Tabla 3.5**).

Gráfico 3.6. Distribución de frecuencias observadas y esperadas según la distribución normal para la concentración de TSH para las pacientes embarazadas.



El escrutinio de los datos revela que esta desviación se debe fundamentalmente al valor desmesuradamente alto para esta hormona en una de las pacientes (Gráfico 3.6), resultado que al eliminarse no solo conduce a la normalidad de la distribución (Gráfico 3.7), sino también a la homogeneidad de varianzas necesaria para aplicar las pruebas paramétricas pertinentes y más potentes para detectar las diferencias entre los grupos estudiados (**Tabla 3.6**).

Gráfico 3.7. Distribución de frecuencias observadas y esperadas según la distribución normal para la concentración de TSH para las pacientes embarazadas, después de eliminar el dato muy elevado.

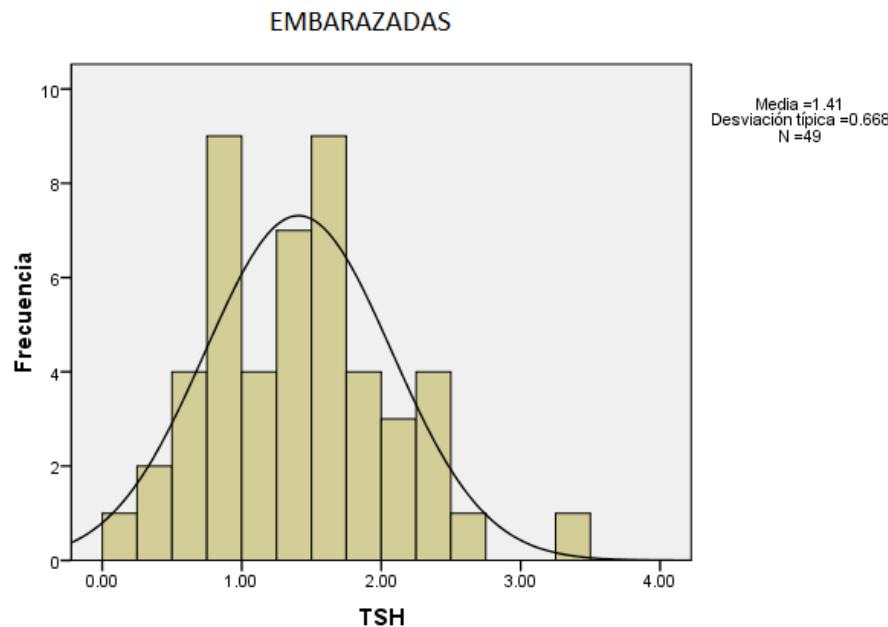


Tabla 3.6. Resultados de la prueba de Kolmogorov-Smirnov para verificar normalidad en las concentraciones de TSH en las pacientes embarazadas, después de eliminar el dato muy elevado.

Prueba de Kolmogorov-Smirnov para una muestra

Tipopa		TSH
0	N	49
	Parámetros normales ^a	
	Media	1.4073
	Desviación típica	.66829
	Diferencias más extremas	
	Absoluta	.098
	Positiva	.098
	Negativa	-.044
	Z de Kolmogorov-Smirnov	.687
	Sig. asintót. (bilateral)	.733
1	N	10
	Parámetros normales ^a	
	Media	1.3506
	Desviación típica	.62317
	Diferencias más extremas	
	Absoluta	.108
	Positiva	.108
	Negativa	-.089
	Z de Kolmogorov-Smirnov	.343
	Sig. asintót. (bilateral)	1.000

a. La distribución de contraste es la Normal.

Tipopa: grupo de pacientes. 0: Embarazadas, 1: Control.

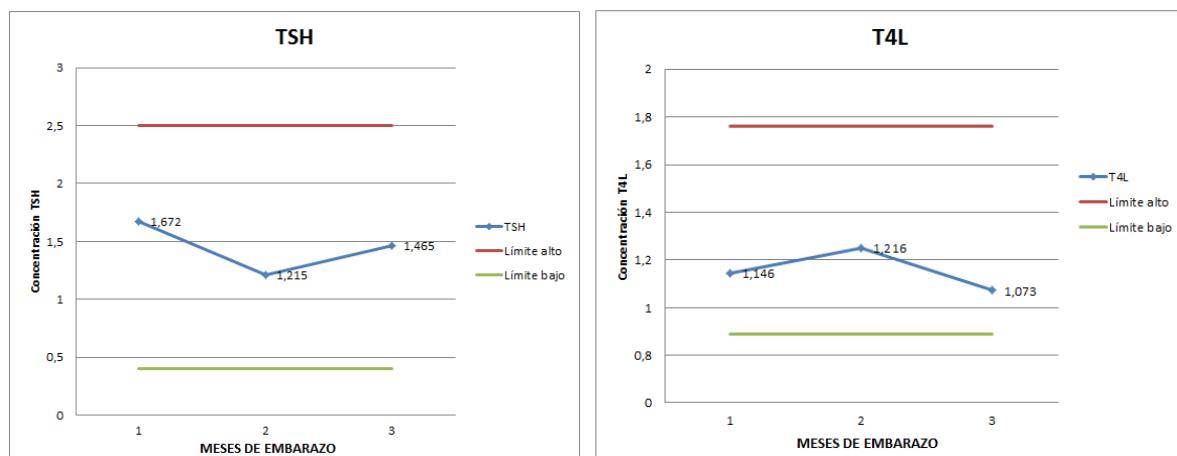
Incluir el dato extremadamente alto, si bien es importante para estimar la incidencia de alteraciones de la función tiroidea en las pacientes de estudio, puede falsear los resultados del análisis de la comparación entre grupos al tener que emplear pruebas estadísticas menos potentes que no tienen en cuenta la distribución de los resultados (pruebas no paramétricas). Por ello, no se consideró este valor para las comparaciones de las medias entre los grupos de pacientes, solo para las estimaciones de las tasas de incidencia de disfunción tiroidea.

Tabla 3.7. Comportamiento de las concentraciones séricas de TSH y T4L en los grupos control y embarazadas.

Paciente	N	TSH (uUI/mL)	T4L (ng/dL)
Embarazadas	49	1,41 ± 0,67	1,17 ± 0,15
Controles	10	1,35 ± 0,62	1,15 ± 0,13
P	---	0,806	0,748

La concentración media de TSH y de T4L en el suero de las pacientes embarazadas no presentó diferencias significativas respecto a las controles (**Tabla 3.7**). Sin embargo, al analizar el comportamiento de estas hormonas por meses de embarazo, se detectaron diferencias significativas para la hormona T4L, la cual presenta un máximo en el segundo mes de gestación (**Gráfico 3.8**).

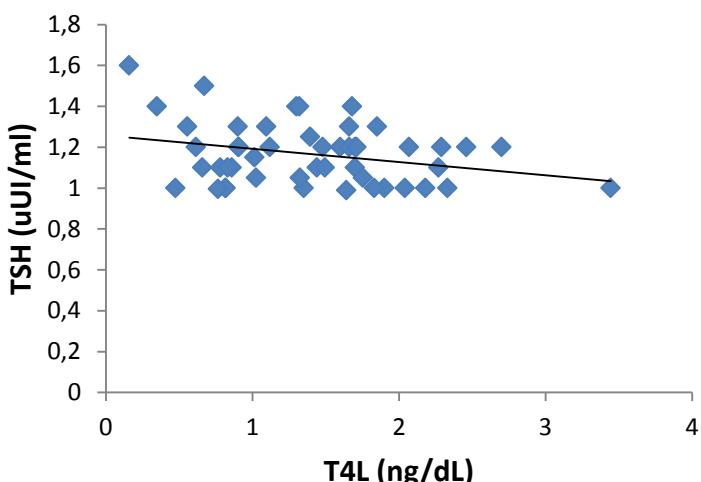
Gráfico 3.8. Comportamiento de la concentración de las hormonas TSH y T4L según meses de embarazo.



Estos resultados concuerdan con lo descrito en la literatura científica sobre las variaciones de esta hormona durante el embarazo, la que alcanza un máximo alrededor de las 8 semanas presumiblemente por una combinación de factores destacándose el aumento de la secreción de hCG con efecto tirotrópico y la síntesis de TBG estimulada por los estrógenos entre otros (4, 28, 30).

Aunque la concentración de la TSH no mostró diferencias según el tiempo de gestación, al observar su concentración con la de T4L en el **Gráfico 3.8** se observa una posible relación negativa la cual queda corroborada por el coeficiente de correlación de Pearson de $r = -0,297$ ($p = 0,038$) (**Gráfico 3.9**). Este resultado está en consonancia con el efecto de control negativo que ejerce la T4L sobre el hipotálamo y la adenohipófisis para controlar la secreción de la TSH (5, 8, 21).

Gráfico 3.9. Relación entre las concentraciones de TSH y T4L ($r = -0,297$; $p = 0,038$).



Con anterioridad se hizo mención a que algunos autores sugieren que el rango de referencia para la TSH reportadas como normales (0,4 a 4,0 uUI/ml) pudieran incluir a pacientes con hipotiroidismo subclínico, dado que el 95 % de las personas se encuentran distribuidos entre valores menores (0,4 a 2,5 uUI/ml). (5, 13) Los autores de este trabajo decidieron tomar como referencia este último intervalo para poder detectar el máximo posible de pacientes con riesgo o alteraciones de la

función tiroidea. Con estos límites se detectaron cinco pacientes con alteraciones en las concentraciones de TSH o T4L para una tasa de incidencia de 10,0 %: una de las pacientes (2 %) con hipotiroidismo primario (TSH elevada y T4L disminuida), dos de las pacientes (4 %) con hipotiroidismo subclínico (TSH elevada y T4L normal), y dos (4 %) con hipertiroidismo subclínico (TSH baja y T4L normal), presentes todas en el grupo de las gestantes.

Estudios previos realizados en diferentes países indican que la incidencia de las alteraciones de la función tiroidea (hipo e hipertiroidismo clínico, subclínico y secundario) oscilan entre 0,5 y 19 % de las pacientes embarazadas según el país, manifestándose principalmente en los tres primeros meses de embarazo (4, 34, 43, 44, 45, 46, 47). Los datos aportados en la presente investigación caen dentro de este rango sin embargo debe notarse que los puntos de corte empleados en algunos de estos estudios son diferentes y relativamente superiores en las investigaciones anteriores.

En lo anterior debe considerarse también el comportamiento de otras hormonas y factores no analizados en el presente estudio que como es conocido afectan directa o indirectamente el funcionamiento del eje hipotálamo-hipofisario-tiroideo como la HCG y los estrógenos, entre otros.

3.1.3. TSH, T4L y antecedentes de enfermedad tiroidea.

Tabla 3.8. Concentración media de las hormonas TSH y T4L en suero de pacientes embarazadas según la presencia de antecedentes familiares.

Antecedentes Familiares	N	TSH (uUI/mL)	T4L (ng/dL)
No	46	1,42 ± 0,69	1,17 ± 0,15
Sí	3	1,15 ± 0,22	1,15 ± 0,10
P	---	0,497	0,847

La **Tabla 3.8** resume el comportamiento de las concentraciones de TSH y T4L según la presencia de antecedentes familiares de enfermedad tiroidea. Los valores medios de estas hormonas no presentaron diferencias significativas entre los grupos estudiados. Además si bien todos los pacientes con antecedentes

estuvieron en el grupo de las embarazadas, en ninguno de estos se obtuvieron evidencias de alteraciones del funcionamiento del eje hipotálamo-hipofisario-tiroideo.

La relación entre las concentraciones séricas de TSH, hormonas tiroideas y la herencia, están en parte documentados por estudios recientes en grupos familiares y en gemelos. Así se considera actualmente que la heredabilidad de la concentración de estas hormonas en sangre se encuentra entre 23 % y 67 %, expresado como por ciento de la varianza explicada. Actualmente se describen varios genes que pudieran estar implicados en ello (48).

Los resultados acá presentados pueden estar nuevamente afectados por el pequeño tamaño muestral empleado. De este modo, a pesar de que las pacientes con antecedentes familiares solo se presentaron entre las gestantes y ninguna de ellas tuvo alteraciones en la función tiroidea, no se observaron diferencias significativas respecto a las embarazadas sin antecedentes (**Tabla 3.9**).

Tabla 3.9. Alteraciones de la función tiroidea en las gestantes según sus antecedentes familiares.

Antecedentes Familiares	Alteración de la función tiroidea	
	No	Sí
No	42	5
Sí	3	0
P	0,724	

3.1.4. Hormonas TSH y T4L y procedencia demográfica de la paciente.

Tabla 3.10. Concentración de hormonas TSH y T4L según la zona de procedencia demográfica.

Procedencia	N	TSH (uUI/mL)	T4L (ng/dL)
Rural	4	1,43 ± 0,67	1,17 ± 0,15
Urbana	45	1,13 ± 0,64	1,15 ± 0,13
P	---	0,405	0,822

El lugar de procedencia demográfica de las pacientes embarazadas tampoco mostró diferencias para las concentraciones de las hormonas evaluadas (**Tabla 3.10**).

La zona urbana o rural presupone una diferente exposición a factores de riesgo ambientales. Las pacientes embarazadas que viven en zonas rurales agrícolas pueden estar expuestas a múltiples compuestos agroquímicos que afectan el normal funcionamiento de la tiroides (49, 50, 51) así como a diferente disponibilidad de yodo en su dieta. (45, 52, 53) En este sentido los resultados de Chevier y su equipo (51) indican que los pesticidas organoclorados y bifenilos se correlacionan de forma negativa con las concentraciones plasmáticas de las hormonas tiroideas libres, mientras que el Consejo Internacional para el Control de los Desórdenes por Deficiencia de Yodo plantea que la región montañosa de los Andes presenta una deficiencia moderada de yodo en la dieta (54), aspecto corroborado parcialmente por autores nacionales en la ciudad de Ibarra de la provincia de Imbabura (55).

Tabla 3.11. Alteraciones de la función tiroidea en pacientes gestantes según su zona de procedencia.

Procedencia	Alteración de la función tiroidea	
	No	Sí
Urbana	40	5
Rural	5	0
P	0,577	

A pesar de lo anterior, otros autores muestran que la prevalencia de este tipo de desórdenes endocrinos, si bien pueden ser relativamente frecuentes tanto en población general (56) como en embarazadas (43, 44), esta no se relaciona con la procedencia de los pacientes. Los resultados de la presente investigación están en consonancia con los de estos autores, al no detectar diferencias significativas entre las pacientes embarazadas con posibles alteraciones de la función tiroidea y la procedencia (**Tabla 3.11**).



CONCLUSIONES

1. Los valores obtenidos de los coeficientes de correlación en el análisis estadístico para el control de calidad del equipo IMMULITE son: para TSH ($p = 0,999$) y para T4L ($p = 0,742$), lo que indica que los resultados son seguros y confiables.
2. De acuerdo a los datos recolectados, en cuanto a la edad de las pacientes, fue ligeramente superior en las del grupo control y con respecto al grupo de las embarazadas el período de gestación, predominó el segundo mes.
3. No hubo diferencias en el comportamiento de estas hormonas según los antecedentes familiares de enfermedad tiroidea o la procedencia de las pacientes.
4. Las concentraciones séricas de las hormonas TSH y T4L se comportaron de manera similar entre los grupos de pacientes embarazadas y grupo control.
5. Se observó una diferencia significativa en las concentraciones de la hormona T4L al analizar el comportamiento de esta frente a los meses de embarazo de las pacientes.
6. La concentración de la hormona T4L en el grupo de las pacientes embarazadas presentó un ligero aumento dentro del rango de referencia en el segundo mes de gestación, presumiblemente por una combinación de factores, destacándose el aumento de la secreción de hCG con efecto tirotrópico y la síntesis de TBG estimulada por los estrógenos, entre otros.
7. Las concentraciones de TSH y T4L se correlacionan de forma negativa en el grupo de las pacientes embarazadas. Presumiblemente asociado a los



meses de embarazo. Esto sugiere que pueden existir otros factores concomitantes como la presencia de hormonas propias del embarazo que estén influyendo en los resultados del presente estudio.

8. Tomando en cuenta los valores de referencia de la TSH (0.4-2.5 uUI/ml) y de T4L (0.89-1.76 ng/dL), de las 50 pacientes que participaron en el presente estudio, se detectó la presencia de concentraciones anormales de TSH en un 10 % de las embarazadas, mientras que la T4L lo estuvo en un 2 %. De las cuales se presume que, una de las pacientes (2%) puede presentar hipotiroidismo primario por tener TSH elevada y la T4L disminuida; dos de las pacientes (4%) pueden padecer hipotiroidismo subclínico, en donde la TSH se encuentra elevada y T4L normal y dos (4%) con hipertiroidismo subclínico en donde la TSH se encuentra disminuida y T4L normal.



RECOMENDACIONES

Realizar estudios con mayor número de muestras para obtener más datos sobre los puntos de corte de las hormonas T4L y TSH y los aspectos epidemiológicos de las alteraciones de la función tiroidea en la población de pacientes embarazadas del Ecuador.

Socializar los resultados de la presente investigación a través de eventos científicos para que sirvan de base al personal de la salud y la población en general sobre la presencia de alteraciones de la función tiroidea en las pacientes embarazadas y sus riesgos materno-fetales.



BIBLIOGRAFÍA

1. Langman S. Embriología Médica con orientación clínica. 10^a Edición. Editorial Médica Panamericana, Madrid, 2007; pp: 280-81.
2. Navarro Despaigne D. Interrelación entre las hormonas tiroideas y crecimiento: importancia clínica. Rev Cubana Endocrinol (Revista en la Internet) 2005 (Citado el 10 de enero de 2013);16(3). Disponible en: http://www.bvs.sld.cu/revistas/end/vol16_3_05/end07305.htm
3. Obregón MJ. Obesidad, termogénesis y hormonas tiroideas. Rev Esp Obes 2007;5(1):27-38.
4. Pérez Cocarico GE. Determinación del perfil tiroideo (TSH, T4Libre, T4 total y T3 total) en mujeres embarazadas que cursan el primer trimestre de gestación y mujeres no embarazadas en edad fértil que acuden al Instituto SELADIS en el periodo de junio a diciembre de 2008. Tesina para optar por el grado de Licenciatura en Bioquímica. Universidad Mayor de San Andrés. Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas. La Paz, Bolivia, 2009; 55 págs.
5. Córdova Ramírez N, García Botina HD, Boiles Barrera CA. Cambios fisiológicos de la función tiroidea en el embarazo: bases para la interpretación de las pruebas tiroideas. Iatreia 2013;26(2):185-96.
6. Freire W, León N. Los desórdenes por deficiencia de yodo (DDI) y la yodación de la sal. Guía para los trabajadores de salud. División de Promoción y Protección de la Salud. Programa de Alimentación y Nutrición. Organización Panamericana de la Salud/Organización Mundial de la Salud. (Archivo en la Internet); 18 págs. Disponible En: <http://94.23.146.173/ficheros/7349b6f61c2a586433a88f0529ebd524.pdf>
7. Morreale de Escobar G, Escobar del Rey F. Metabolismo de las hormonas tiroideas y el yodo durante el embarazo. Endocrinol Nutr 2008;55(Supl 1):7-17.
8. Abalovich MS. Fisiología tiroidea y embarazo. Aspectos maternos, placentarios y fetales. Rev Arg Endocrinol Metab 2003;40(1):23-31.



9. Montero Pedraza A. Modulación de la neurogénesis y de la conducta por las hormonas tiroideas en ratas adultas. Tesis Doctoral. Universidad Autónoma de Madrid. 2006;102 págs.
10. Bernal Carrasco J. Las hormonas tiroideas en el desarrollo del cerebro. Monografías Real Acad Nac Farm (SA); XXIX:139-169.
11. Basterra Gortari FJ, Pineda JJ, Martínez JP. Comentarios a la carta: ¿Está indicado el examen sistemático de la función tiroidea durante el embarazo? An Sist Sanit Navar 2007;30(1):125-9.
12. Martínez Perea HV, Hernández Hernández MC. Hipertiroidismo y embarazo. Rev Cubana Endocrinol 2012;23(3):299-305.
13. Cano FD, Paredes VA. Hipotiroidismo y embarazo: diagnóstico y tratamiento. Rev Obst Ginecol Hosp Santiago Oriente Dr. "Luis Tisné Brouse" 2009;4 (2):143-8.
14. Guadiana Romualdo LG, González Morales M, Martin-Oranza MC, Martín García E, Martínez Uriarte J, Blázquez Abellán A, et al. Valoración de la función tiroidea durante la gestación: intervalos de referencia de tirotropina y tiroxina no unida a proteína durante el primer trimestre. Endocrinol Nutr 2010;57(7):290-5.
15. Vélez H, Rojas W, Borrero J, Restrepo J, Orrego A. Endocrinología. 6^a Edición. Editorial Quebecor Word Bogotá SA, Medellín, Colombia, 2007.
16. Diéguez González C, Pavía Sesma C, Yturriaga Matarranz R. Tiroides. Editorial McGraw-Hill Interamericana, España, 1999; 364 pp.
17. Keith L, Persaud T. Embriología clínica. 8^a Edición. Editorial Elsevier, Barcelona, España, 2008.
18. Cassola Santana JR, Gil Jiménez I. Embriología y ectopias tiroideas. Gland Tir Paratir 2008;17:22-27.
19. García MM, Valdés Encina MA. Embriogénesis de la glándula tiroides. Rev Costa Rica y Centroam 1998;LV(545):141-4.
20. Ballén Vanegas MA. Monografía de la morfología de la glándula tiroides. Maestría en Morfología Humana. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias Médicas. Departamento de Morfología. 2012; 72 pp.



21. Arce VM, Catalina PF, Mallo F. Endocrinología. Ediciones Universidad Santiago de Compostela, España, 2006;pp:153-422.
22. Colmener LF, Bastianello M, Zúñiga S, Estrada E. Papel de la glucosa y la 18F-FDG en tumores malignos, con enfoque en el cáncer de tiroides (parte I). Alasbim J (Revista en la Internet) 2012. ISSN:0717-4055. Disponible en: <http://www.alasbimjournal.net/contenidos/conceptualizando-vii-papel-de-la-glucosa-y-la-18f-fdg-en-tumores-malignos-con-enfoque-en-cancer-de-tiroides-parte-ii-109>
23. Bernal Pinilla E. El transporte de yodo hacia el lumen del folículo tiroideo: efecto de la amiodarona. Tesis para optar por el título de Magíster en Bioquímica. Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Medicina. Bogotá, Colombia. 2010: 60 págs.
24. De la Vieja A, Dóhan O, Ginter CS et al. La saga del transportador de yoduro (NIS): de su identificación molecular a su papel clínico en el cáncer. Mens Bioq 2002;XXVI:55-72.
25. Granner DK. La diversidad del sistema endocrino. En: Murray RK, Rodwell VW, Granner DK. Harper. Bioquímica Ilustrada. 17^a Edición. Editorial El Manual Moderno. México. 2009; pp:415-86.
26. Galofé JC, Santos J, Salvador J. Marcadores de la función tiroidea (II). Evaluación de la acción tisular. Rev Med Univ Nav 2006;50(2):13-20.
27. Vázquez AM. Regulación de la función tiroidea. Rev Endocrinol Ginecol Reprod 2001:22-6.
28. Sociedad Argentina de Endocrinología Ginecológica y Reproductiva-SAEGRE. Diagnóstico y terapéutica en Endocrinología Ginecológica y Reproductiva. Ediciones Journal, Argentina, 2006.
29. Marin M. Principios básicos de la función tiroidea. En: Ardila Ardila E, Castellano Bueno R, Editores. Fascículos en Endocrinología. Fascículos Tiroideos. Período 2009-2011; pp:7-12.
30. Rosillo I. Función tiroidea durante el embarazo. Arch Med (Revista en la Internet) 2009 (citado el 20 de enero de 2013);2(2). Disponible en: <http://imedpub.com/ojs/index.php/archmed/article/view/9/8>



31. Burrow G, Ferris TF. Complicaciones médicas durante el embarazo. 5^a Edición. Editorial Médica Panamericana, Argentina, 1996; 627p.
32. Pallardo L, Lucas Morante T, Marazuela Azpiroz M Robira Loscos A. Endocrinología Clínica. 2^a Edición. Editorial Díaz de Santos. 2006;p: 47-83.
33. LeBeau SO, Mandel SJ. Thyroid disorders during pregnancy. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2006;35(1):117-36.
34. Castillo C, García M, Martínez C. Alta Frecuencia de patología tiroidea funcional y autoinmune en mujeres embarazadas chilenas catalogadas como sanas. *Rev Chil Endocrinol Diabetes* 2009;2(3):147-53.
35. Maccia CL, Sánchez Flores JA. Hipotiroidismo en el embarazo. *Rev Col Obst Ginecol* 2007;58(4):316-21.
36. Kaplan MM. Monitoring thyroxine treatment during pregnancy. 1992;2:147-52.
37. Nepomniscze H. Tratado Argentino de Tiroides. Ediciones Química Montpellier, 2011; 350p.
38. Gargallo Fernández M. Hipertiroidismo y embarazo. *Endocrinol Nutr (Revista en la Internet)*. 2013 (Citado 20 de enero de 2013). Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.endonu.2012.11.006>
39. Meseguer Lloret S. Métodos Quimioluminiscentes en Química Analítica. Tesis Doctoral. Universitat de València, Valencia, España. 2004;276p.
40. Med Wow. Equipamientos médicos. Estados Unidos. Disponible en: <http://es.medwow.com/used-immunoassay-analyzer.enzyme/diagnostic-products-corporation-dpc/immulite/684447938.item>
41. García Campaña AM, Baeyens WRG, Zhang X, Alés F, Gámiz L. Quimioluminiscencia: una interesante alternativa para la detección analítica en sistemas de flujo. *Ars Pharmaceutica* 2001;42(1):81-107.
42. Battut M. Manual técnico radioisótopos. (Manual en Internet) Junio de 2009 (Citado el 20 enero de 2013); Disponible en: <http://tecnicoradioisotopos.blogspot.com/2009/introduccio-todos-las-dosificaciones.html>
43. Cerezo Solana F, Ovejero Corrales B, Gallego Palomino C, Benavente París J, Corroto Rioja F, Villarín Castro A. Estudio de las alteraciones tiroideas en



- el embarazo en cuatro Zonas Básicas de Salud de Toledo. Matronas Prof 2010;11(3-4):77-82.
44. García Mayor RV, Ríos M, Galofré JC. Epidemiología de las enfermedades de la glándula tiroideas en Galicia. Rev Univ Navar 2006;50(1):11-16.
 45. Blumenthal NN, Byth KK, Eastman CJ. Iodine intake and Thyroid function in pregnant women in a private clinical practice in Northwestern Sydney before mandatory fortification of bread with iodised salt. J Thyroid Res. (Revista en la Internet) 2012 (Citado el 20 de enero de 2013); aprox. 6p. Disponible en: <http://www.hindawi.com/journals/jtr/2012/798963/>
 46. Galofré JC, Davies TF. Disfunción tiroidea en el embarazo. Endocrinol Nutr 2007;54(10):535-46.
 47. Parma RB. Hipertiroidismo en el embarazo. Glánd Tir Paratir 2007; (16): 38-41
 48. Panicker V. Genetics of thyroid function and disease. Clin Biochem Rev. 2011;32(4):165-75.
 49. Oliva A, Biasatti R, Cloquell S, González C, Olego S, Gelen A. ¿Existe relación entre los factores ambientales y la salud reproductiva en la Pampa Húmeda Argentina? Cad Saúde Publica, Río de Janeiro 2008;24 (4):785-92.
 50. De Coster S, Larebeke N. Endocrine-disrupting chemicals: associated disorders and mechanisms of action. J Envir Pub Helth (Revista en la Internet) 2012 (citado 10 de febrero de 2013); 52p. Disponible en: <http://www.hindawi.com/journals/jeph/2012/713696/>
 51. Chevrier J, Eskenazi B, Holland N, Bradman A, Barr DB. Effects of exposure to polychlorinated biphenyls and organochlorine pesticides on thyroid function during pregnancy. Am J Epidemiol 2008;168(3):298-310.
 52. Brent GA. Environmental exposures and autoimmune thyroid diseases. Thyroid 2010;20(7):755-61.
 53. Cuéllar Cuéllar AA. Desórdenes por deficiencia de yodo: bocio endémico. Correlación entre la presencia de bocio y factores de crecimiento. Trabajo de grado para optar por el título de Endocrinólogo. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Medicina, Bogotá, Colombia. 2010;35p.



54. Zimmermann MB. Iodine deficiency. *Endocrine Rev* 2009;30(4):376-408.
55. Ortega Aguilar VE, Pozo Morillo ML. Incidencia y prevalencia del hipotiroidismo en los usuarios del Hospital Regional (IESS) de la ciudad de Ibarra provincia Imbabura. Período julio del 2008 a junio del 2010. Tesis previa a la obtención del título de Licenciada en Enfermería. Universidad Técnica del Norte. Facultad de Ciencias de la Salud. Escuela de Enfermería. Ibarra, Ecuador. 2010, 93p.
56. Mari Silva MC, Toderesen P, Alonso Gardo JM, Pérez Rodríguez MI, Sánchez González MC, Dumbraveanu A. Hipotiroidismo en tratamiento en el Área de Salud de Guadalajara (España): características y prevalencia estimadas a partir del consumo de hormonas tiroideas. *Rev Clin Med Fam* 2012;5(2):89-96.



ANEXO 1

CONSENTIMIENTO INFORMADO

DETERMINACION SERICA DE LA HORMONA TIROTROPINA (TSH) Y TETRAYODOTIRONINA LIBRE (T₄L) EN MUJERES EMBARAZADAS QUE CURSAN EL PRIMER TRIMESTRE DE GESTACION

Durante el control de las pacientes gestantes, por lo general no se incluye en los exámenes de laboratorio, perfil tiroideo, lo cual es de gran importancia realizar durante el embarazo, siendo el primer trimestre más crítico, puesto que desempeñan un papel crucial en el desarrollo del sistema nervioso central del feto, debido a la imposibilidad del tiroides fetal de secretar yodotironinas antes del tercer mes de gestación. En caso de no ser tratada a tiempo estas patologías tiroideas, se pueden presentar ciertas complicaciones en el embarazo e incluso puede causar aborto o la muerte.

Queremos saber más sobre cómo ayudar a las mujeres embarazadas, en caso de presentar alteraciones en los niveles séricos de TSH y T4 libre.

Para esta determinación, realizaremos una punción venosa, centrifugaremos y obtendremos el suero, que es con el cual vamos a proceder al análisis. Todos los procedimiento se realizarán considerando los mínimos riesgos para la salud y garantizando el anonimato de los pacientes.

Su participación es completamente voluntaria y en ningún caso sus datos personales serán revelados, a excepción de su médico tratante, a quien se le harán llegar los resultados obtenidos, para que tome las medidas que corresponden.

Agradecemos muy sinceramente su colaboración.

FIRMA DE LA PACIENTE



ANEXO 2

HOJA DE RECOLECCION DE DATOS

CODIGO: _____

HISTORIA CLINICA: _____

EDAD: _____

PROCEDENCIA:

RURAL _____

URBANA _____

SEMANAS DE GESTACION: _____

ANTECEDENTES TIROIDEOS:

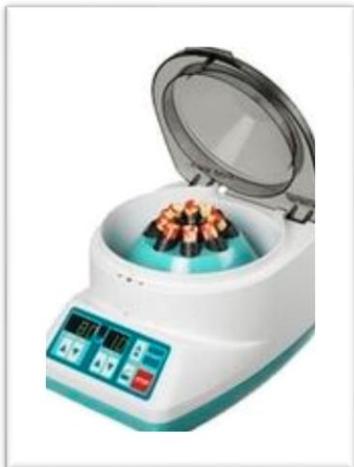
SI _____ NO _____

En caso de responder SI

¿Quién? Madre: _____ Hermanos: _____

Padre: _____ Otros: _____

ANEXO 3



Centrifugación de los tubos.



Suero



Tubos en los que se separó el suero.

ANEXO 4



Equipo IMMULITE



ANEXO 4

CARACTERÍSTICAS DEL SISTEMA IMMULITE

Existen tres aspectos importantes que se deben tomar en cuenta para el funcionamiento del equipo IMMULITE, para poder obtener resultados correctos.

4. **La Unidad de Prueba:** Contiene una bola de poliestireno recubierta de anticuerpo específico para lo que se desea cuantificar. La unidad de prueba sirve como el vaso de reacción para la reacción inmune, los procesos de incubación, de lavado y el desarrollo de la señal. (22).
5. **Técnica de Lavado:** Después de incubar la muestra con el reactivo de fosfatasa alcalina, la mezcla de reacción liquida contenida en la unidad de prueba se separa rápidamente de la perla cuando se lava la perla y la unidad de prueba gira a gran velocidad sobre su eje vertical. Todo el contenido de los fluidos se transfiere a una cámara de desecho localizada en la unidad de prueba. La perla queda sin marca residual suelta. La marca limitada se cuantifica mediante un substrato que produce luz y la computadora del sistema elabora informes impresos de cada muestra. (22)
6. **Calibración:** Los resultados obtenidos, son calculados por medio de las curvas de calibración almacenadas en el equipo, las mismas que han sido generadas con la ayuda de dos ajustadores, un alto y un bajo.

ANEXO 4

OPERACIÓN DEL EQUIPO

Antes de procesar las muestras, se debe verificar que el equipo se encuentre listo para el análisis.

Se siguen los siguientes pasos:

