

**UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRES
FACULTAD DE CIENCIAS FARMACEUTICAS Y
BIOQUIMICAS
INSTITUTO DE SERVICIOS DE LABORATORIO DE
DIAGNOSTICO E INVESTIGACION EN SALUD “SELADIS”**



**RELACION DE LA ERITROCITOSIS PATOLOGICA DE
ALTURA CON LOS VALORES HORMONALES DE
TESTOSTERONA EN PACIENTES QUE ASISTIERON A LA
UNIDAD DE HEMATOLOGIA DEL HOSPITAL DE CLINICAS
DURANTE ENERO A OCTUBRE DE 2014**

**Tesis de post-grado para obtener el Título de Especialista en Diagnóstico de Laboratorio en
Salud, Mención Hematología**

POR: SILVANA ALEIDA MAGUEÑO FLORES

**LA PAZ – BOLIVIA
2016**

**UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRES
FACULTAD DE CIENCIAS FARMACEUTICAS Y
BIOQUIMICAS
INSTITUTO DE SERVICIOS DE LABORATORIO DE
DIAGNOSTICO E INVESTIGACION EN SALUD “SELADIS”**



**RELACION DE LA ERITROCITOSIS PATOLOGICA DE
ALTURA CON LOS VALORES HORMONALES DE
TESTOSTERONA EN PACIENTES QUE ASISTIERON A LA
UNIDAD DE HEMATOLOGIA DEL HOSPITAL DE CLINICAS
DURANTE ENERO A OCTUBRE DE 2014**

**Tesis de post-grado para obtener el Título de Especialista en Diagnóstico de Laboratorio en
Salud, Mención Hematología**

POR: SILVANA ALEIDA MAGUEÑO FLORES

TUTORES: DRA. ZORKA CASTILLO

DRA. MONICA GUZMAN

LA PAZ – BOLIVIA

2016

TABLA DE CONTENIDO

	Pág
I. INTRODUCCION.....	1
II. JUSTIFICACION.....	4
III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	9
IV. ANTECEDENTES GENERALES DEL PROBLEMA.....	13
V. OBJETIVOS.....	17
A. OBJETIVO GENERAL.....	17
B. OBJETIVOS ESPECIFICOS.....	17
VI. MARCO TEORICO.....	18
A. ERITROCITO.....	18
1) Membrana eritrocitaria.....	18
a) Composición lipida.....	20
b) Composición proteínica.....	21
b.1 Proteínas periféricas.....	22
b.2 Proteínas integrales.....	25
2) Metabolismo del eritrocito.....	26
a) Vía de Embden-Meyerhof.....	27
b) Ciclo de la Hexosa – Monofosfato.....	29
c) Vía de la metahemoglobina reductasa.....	31
d) Ciclo de Rapaport – Luebering.....	31
B. ERITROPOYESIS.....	32
1) Maduración celular.....	34
a) Pronormoblasto.....	35
b) Normoblasto basófilo.....	36
c) Normoblasto policromatofilo.....	36
d) Normoblasto ortocromático.....	36
e) Reticulocito.....	37
f) Eritrocito.....	38
2) Hormonas que intervienen en la eritropoyesis.....	39
a) Eritropoyetina.....	39
b) Testosterona.....	42
3) Regulación de la Eritropoyesis.....	45
a) Regulación por presión de oxígeno.....	48
b) Regulación mediada por testosterona.....	51
C. ERITROCITOSIS.....	52
1) Causas de la Eritrocitosis	53
a) Policitemia Vera.....	54
b) Eritrocitosis secundaria.....	56
b.1 Debida a la altura.....	56
b.2 Enfermedades respiratorias crónicas.....	56
b.3 Alteraciones cardiopulmonares por comunicación derecha – izquierda.....	57
b.4 No hipoxémicas con secreción inadecuada de eritropoyetina.....	57
c) Eritrocitosis de origen genético.....	57
c.1 Hemoglobinas con alta afinidad por el oxígeno..	57

	Pág.
	58
	58
	59
	59
	59
	59
	60
	60
VII. HIPÓTESIS.....	61
1) Hipótesis nula.....	61
2) Hipótesis alternativa.....	61
A. ESTRATEGIA DE EJECUCIÓN.....	61
VIII. OPERACIONALIZACION DE LAS VARIABLES.....	61
IX. DISEÑO METODOLÓGICO.....	62
A. TIPO DE INVESTIGACIÓN.....	62
B. POBLACIÓN EN ESTUDIO.....	62
1) Criterios de Inclusión.....	63
2) Criterios de Exclusión.....	63
C. AMBITO DE ESTUDIO.....	63
D. ASPECTOS ÉTICOS.....	64
E. MATERIALES Y MÉTODOS.....	65
1) Método: Quimioluminiscencia.....	65
2) Equipo.....	65
3) Obtención de la muestra	66
4) Determinación de la Testosterona.....	68
5) Determinación del Estradiol.....	69
6) Determinación de la Eritropoyetina.....	71
7) Determinación de la Ferritina.....	73
8) Determinación de Hierro sérico.....	75
9) Determinación del Valor Hematocrito.....	76
F. PROCESAMIENTO DE LA INFORMACIÓN.....	77
1) Recolección de datos.....	77
2) Elaboración.....	77
X. RESULTADOS	78
XI. DISCUSION.....	92
XII. CONCLUSIONES.....	98
XIII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	
XIV. ANEXOS	

INDICE DE FIGURAS

	Pág
<i>Fig. 1:</i> Estructura de la membrana eritrocitaria	19
<i>Fig. 2:</i> Interacción de las proteínas del citoesqueleto del eritrocito.....	24
<i>Fig. 3:</i> Vías metabólicas esenciales del eritrocito.....	29
<i>Fig. 4:</i> Ciclo de la hexosa monofosfato o shunt de las pentosas.....	30
<i>Fig. 5:</i> Síntesis y regeneración del Glutati3n.....	31
<i>Fig. 6:</i> Esquema general de la eritropoyesis.....	35
<i>Fig. 7:</i> Proceso madurativo del eritrocito	39
<i>Fig. 8:</i> Estructura primaria de la Eritropoyetina.....	40
<i>Fig. 9:</i> Estructura qu3mica de la Testosterona	43
<i>Fig. 10:</i> Representaci3n esquemática de las v3as de uni3n de la EPO a su receptor.....	48
<i>Fig. 11:</i> Fundamento de la Quimioluminiscencia	67

INDICE DE GRÁFICOS

	Pág.
<i>Gráfico No. 1: Correlación lineal entre los valores de Testosterona y Hematocrito en pacientes Eritrocíticos varones.....</i>	83
<i>Gráfico No.2: Correlación lineal entre los valores de Testosterona y la concentración de Hierro en pacientes Eritrocíticos varones.....</i>	84
<i>Gráfico No. 3: Correlación lineal entre los valores de Ferritina, Hierro y la Testosterona en pacientes Eritrocíticos varones.....</i>	85
<i>Gráfico No. 4: Correlación entre las variables de Eritropoyetina-Hematocrito (4a) y la Testosterona – Eritropoyetina (4b) en la población en estudio</i>	86
<i>Gráfico No. 5: Correlación lineal entre los valores de Testosterona y el valor Hematocrito en pacientes Eritrocíticas mujeres.....</i>	88
<i>Gráfico No. 6: Correlación lineal entre los valores de Testosterona y la concentración de Hierro en pacientes Eritrocíticas mujeres.....</i>	89
<i>Gráfico No. 7: Correlación lineal entre los valores de Testosterona y la concentración de Hierro – Ferritina en pacientes Eritrocíticas mujeres.....</i>	90
<i>Gráfico No. 8: Correlación lineal entre las variables de Testosterona – Eritropoyetina (8a) y Eritropoyetina – Hematocrito (8b) en la población en estudio.....</i>	91

INDICE DE CUADROS

	Pág.
<i>Cuadro No. 1: Distribución según género de la población en estudio.....</i>	78
<i>Cuadro No. 2: Prevalencia de Eritrocitosis leve, moderada y severa según Género en la población en estudio</i>	79
<i>Cuadro No. 3: Distribución del grado de eritrocitosis de acuerdo a grupos de edad en los pacientes Eritrocíticos Varones en estudio</i>	80
<i>Cuadro No. 4: Determinación de las concentraciones de Testosterona, Hierro, Estradiol, Ferritina y Eritropoyetina en pacientes Eritrocíticos varones de la población en estudio.....</i>	81
<i>Cuadro No. 5: Determinación de las concentraciones de Testosterona, Hierro, Estradiol, Ferritina y Eritropoyetina en pacientes Eritrocíticas mujeres de la población en estudio.....</i>	82
<i>Cuadro No. 6: Correlación entre los valores de Hematocrito, Hierro, Ferritina, Eritropoyetina y Estradiol con los valores de Testosterona en los pacientes Eritrocíticos varones de la población en estudio</i>	87

DEDICATORIA

A mis papás y a mi querido hermano; en especial a ti mamá por tu apoyo, porque no he conocido mujer más fuerte y decidida, porque con el caminar de tu vida me enseñas el más grande ejemplo de amor ahora y siempre...

AGRADECIMIENTOS

A **Dios** por las bendiciones y las pruebas que me ha dado....

A mis **padres**, por el apoyo, los valores y la paciencia.

A mi **hermano** por su motivación y cariño.

A todos los **docentes** que fueron parte de mi formación en esta especialidad.

A mis **tutoras** por sus consejos y sugerencias para el desarrollo de esta tesis, su capacidad y conocimiento son un gran ejemplo a seguir.

Al **Instituto SELADIS** y a todas las unidades de laboratorio, por abrirme las puertas para continuar mi formación como profesional.

A **mis amig@s**, aprendí mucho de cada un@, compartimos horas de estudio, momentos de alegría; junto a ustedes la palabra amistad cobra gran significado.

A TODOS GRACIAS.....

RELACIÓN DE LA ERITROCITOSIS PATOLÓGICA DE ALTURA CON LOS VALORES HORMONALES DE TESTOSTERONA EN PACIENTES QUE ASISTIERON A LA UNIDAD DE HEMATOLOGIA DEL HOSPITAL DE CLINICAS DURANTE ENERO A OCTUBRE DE 2014

RESUMEN

La eritrocitosis es una patología que se caracteriza por el incremento en los valores de hemoglobina. En el caso de la ciudad de La Paz, se ha determinado que estos valores para mujeres debe ser mayor a 18g/dL y para varones mayor a 19 g/dL. Esta patología afectará al paciente en diferentes aspectos de su diario vivir; por presentar sintomatología característica como ser cefaleas, tinnitus, cianosis, cansancio a menores esfuerzos, que si no es tratado a tiempo derivará en otros problemas sistémicos (sistema cardiovascular o cardio-respiratorio), generando como consecuencia un coste económico adicional que en muchos casos no podrá ser cubierto por el paciente o su entorno familiar.

Si bien la altura es un factor importante para presentar eritrocitosis, pero una eritrocitosis secundaria a hipoxia, serán otros los factores que desencadenen una eritrocitosis patológica de altura (EPA) donde no existe una alteración en los niveles de eritropoyetina. En algunos estudios realizados en países vecinos al nuestro, como es el caso del Perú, se ha analizado la relación que podría existir entre la eritrocitosis y ciertos valores hormonales, como es el caso de la Testosterona, debido a que esta podría modular el proceso de la eritropoyesis de forma positiva actuando a nivel de la células eritropoyéticas progenitoras, incluso promoviendo la síntesis de eritropoyetina o favoreciendo la absorción intestinal de hierro que estaría mediada por la hepcidina.

Para determinar la posible relación entre la presencia de una eritrocitosis patológica de altura y los valores hormonales de Testosterona en la población en estudio se realizó un análisis del valor hematocrito (verificándose la existencia de eritrocitosis); analizándose al mismo tiempo el posible mecanismo por el cual esta hormona intervendría en la eritropoyesis, para ello se cuantificaron los valores de Eritropoyetina, Ferritina y Hierro. En el caso del Estradiol se realizó su determinación para observar su actividad

antagonista a la Testosterona. Los análisis se efectuaron empleando la técnica de Quimioluminiscencia con excepción del Hierro cuya determinación se realizó por análisis colorimétrico de punto final, empleando en cada caso los respectivos controles de calidad. Es importante mencionar que para la obtención de la muestra de sangre en la población estudiada, esta se realizó previa firma del Consentimiento Informado.

Al realizar el análisis estadístico de cada una de las variables del estudio se pudo determinar que existe una relación estadísticamente significativa entre los valores de Testosterona y Hematocrito ($p=0.000$), siendo esta una correlación positiva, es decir a mayor concentración de Testosterona mayor será el valor hematocrito en la población con EPA. Así mismo, se observó que la Testosterona promovería el incremento de la concentración de Hierro sérico, favoreciendo así el proceso de la eritropoyesis, donde la correlación entre ambas variables fue también estadísticamente significativa ($p=0.001$). En nuestro estudio se aplicaron ambas correlaciones tanto a la población masculina como femenina, obteniéndose los mismos resultados. Cabe destacar en este caso que del total de la población estudiada el 22% corresponden a varones jóvenes adultos y 29,6% a mujeres, siendo estos porcentajes mucho más altos en comparación a otras investigaciones.

No se halló una correlación entre los valores de Eritropoyetina y la Testosterona ($p=0,458$), lo que confirmó que la Testosterona no promovería la síntesis de eritropoyetina en los riñones, observándose que de toda la población estudiada ($n=51$) ningún participante presentó un valor elevado de eritropoyetina, hallándose todos dentro de los valores de referencia. La misma situación se observó en los pacientes respecto al Estradiol, donde no existe relación estadísticamente significativa entre ambas variables ($p=0.362$) en este caso se esperaba obtener una relación negativa debido a los efectos antagonistas del Estradiol (proceso de hiperventilación) con respecto a la Testosterona.

Palabras clave: *Eritrocitosis patológica de altura, Testosterona, Hierro, Eritropoyetina.*

**RELATIONSHIP BETWEEN THE HIGH ALTITUDE PATHOLOGICAL
ERYTHROCYTOSIS AND THE TESTOSTERONE HORMONAL VALUES IN
THE PATIENTS WHO ATTENDED THE HEMATOLOGY UNIT OF
“HOSPITAL DE CLINICAS” FROM JANUARY TO OCTOBER YEAR 2014**

ABSTRACT

The erythrocytosis is a pathology which is characterized by the increase of the hemoglobin values. In La Paz city it has been determined a standard value of 18 g/dL for women and 19 g/dL for men. This pathology affect the patients in many aspects of his daily living, they have headaches, tinnitus, cyanosis, fast tiredness; if these are not treated on time can bring to sistemic problems (in cardiovascular or cardio-respiratory systems) generating an aditional economic cost which could not be covered by the patient or his family.

Even when is true that the height above the level of the sea is an important factor to suffer erythrocytosis (a secondary erythrocytosis caused by hipoxia) others factors cause a High Altitude Pathological Erythrocytosis (HAPE) which occur with no change in the erythropoietin values. Some studies realized in near countries, like Peru, have analyzed the relationship between the erythrocytosis and the levels of some hormones included testosterone, due to this could have a positive control above the erythropoiesis process

To determine the possible relationship between the High Altitude Pathological Erythrocytosis and the testosterone hormonal values we realized an analysis of the hematocrit value (previously checking for the existence of erythrocytosis); we analyze at the same time the possible mechanisms through which this hormone affect the erythropoiesis, for this we quantify the erythropoietin, ferritin and iron values.

In the case of stradiol we determined it to observe its antagonist activity to testosterone. These analysis were done using the chemiluminescence technique excepting for the iron which was determined by colorimetric endpoint assay. Like an important note is necessary to say that all the blood samples were taken after signing of the Informed Consent paper.

Through the statistical analysis of every variable in this study we can evidence an statistically significant relationship between the testosterone and hematocrit values ($p=0.000$), being this a positive correlation, what means that a higher testosterone concentration implies an elevation of the hematocrito in people with High Altitude Pathological Erythrocytosis. Likewise we observe how testosterone promotes the increase of the serum iron, this favors the erythropoiesis process, where the relationship between these two variables was statistically significant too ($p=0.0001$). In our study both correlations were applied in men and women, reaching the same results. Note that in this case 22% and 29,6% of the studied population was formed by young adult men and women respectively, being these percentages higher in comparison with other researchs.

It has not been found a correlation between the erythropoietin and testosterone values ($p=0.458$), this confirm that testosterone doesn't promote the erythropoietin synthesis in the kidneys, we observe that the entire studied population ($n=51$) has not presented any participant with a high erythropoietin value, instead, all of them were into reference values. The same situation was observed in the patients in relation with stradiol, where it was not found a statistically significant relation between both variables ($p=0.362$) in this case we hoped to obtain a negative relation due to the antagonic effect of the stradiol (hyperventilation process) respect to testosterone.

Keywords: High Altitude Pathological Erythrocytosis, Testosterone, Iron, Erythropoietin

I. INTRODUCCION

La eritrocitosis se define como el incremento de los hematíes por encima del valor normal, existen diferentes causas que pueden dar lugar a la presentación de esta patología, tal es el caso de la hipertensión pulmonar, la policitemia vera, de neoplasias productoras de eritropoyetina, y una de las causas más importantes, la hipoxia crónica que se presenta en personas que viven en altura.

Debemos considerar que en el mundo unas 140 millones de personas habitan regiones que se hallan por encima de los 2500 msnm, en este sentido estas personas viven en un estado de hipoxia continua debida a la disminución en la presión parcial del oxígeno, lo que deriva como se mencionó anteriormente, en un incremento de los glóbulos rojos secundaria a la hipoxia dando lugar a la enfermedad conocida como Eritrocitosis Patológica de Altura (EPA) que resulta siendo la manifestación hematológica del Mal de Montaña Crónico que fue descrita por Monge en el año 1928 en su publicación la *Enfermedad de los Andes* (1).

Existen diferentes tipos de mecanismos que adopta el organismo cuando se enfrenta a situaciones de hipoxia, sea este de acomodación que se caracteriza por una hiperventilación y taquicardia; de aclimatación que es un mecanismo adoptado por personas que se trasladan de forma temporal a la altura lo que les permite hasta cierto grado tolerar los cambios debido a la misma y por último la adaptación en la que influyen las variaciones genéticas tal y como ocurre en las poblaciones nativas del Tibet y de los Andes que colonizaron hace miles de años estas regiones lo que indica que se requiere de varias generaciones para que se de el proceso de adaptación natural a la altura.

Monge y Whittembury (2) realizaron un estudio donde desarrollaron un modelo matemático que demuestra que no es necesario un valor elevado de hematocrito y hemoglobina para el transporte máximo de oxígeno en la altura. Así mismo Winslow y Monge concluyeron que la eritrocitosis excesiva más que colaborar con el proceso de adaptación conllevaría a generar distintos problemas de salud en los nativos de

altura concluyendo que no es útil en este proceso, tal como se describe en su libro: *Hipoxia, policitemia y mal de montaña crónico* (2)(15).

Entre los problemas de salud más recurrentes que presenta el nativo de altura con eritrocitosis se menciona a la fatiga, dolor de cabeza, pérdida de memoria, insomnio, respiración agitada y taquicardia; y en algunos casos más graves trombosis venosa profunda.

Si bien la hipoxia como tal es un factor importante para el desarrollo de la EPA, deben ser considerados también otros factores, entre ellos y la que más ha llamado la atención es la hormona Testosterona, cuya acción sobre la médula ósea y en los precursores eritropoyéticos aún se halla en estudio. Así pues en algunos estudios se ha observado que la administración de testosterona en pacientes adultos varones conlleva a un incremento de glóbulos rojos (4), que la prevalencia de EPA en mujeres postmenopáusicas es mayor y esto se debería a un incremento en los valores de esta hormona y a una disminución de los valores de Estradiol siendo que este último actuaría como un antagonista de la actividad eritropoyética de la testosterona (25); además que se observó un incremento en el valor de la testosterona en pacientes con eritrocitosis a diferencia de otro grupo de pacientes que no presentan la enfermedad aun cuando estos dos grupos de estudio residían a 4300 msnm en Cerro Pasco (Perú) en las mismas condiciones de hipoxia (41).

En nuestro país el 39,7% de la población (3.981.474 habitantes) (3) viven en la zona andina constituida por La Paz, Oruro y Potosí, cuyas ciudades de mayor crecimiento demográfico, es decir, La Paz y El Alto se hallan a 3600 msnm y 4100 msnm respectivamente, tomando en cuenta estos datos un porcentaje considerable de la población está sometida a un proceso de hipoxia continuo lo que conllevaría a una elevada prevalencia de la EPA, si consideramos que esta se eleva con la altura. En estudios recientes se ha encontrado que la incidencia de la enfermedad en la ciudad de La Paz alcanza a un 5 a 7% (4), la población afectada por esta patología es tratada

siguiendo una terapia diferente en cada caso, siendo común la práctica de la flebotomía que resulta ser un proceso invasivo y moroso para el paciente, además del uso de la aspirineta y aspirina.

Siendo que en muchos casos esta enfermedad es diagnosticada cuando el paciente se realiza un control de rutina; por un dolor de cabeza o dificultad al respirar; debemos tratar de entender cómo es que se regula la aparición de esta patología en el paciente. No hace mucho tiempo que la EPA se asociaba únicamente a la hipoxia, pero con los avances en la medicina, la realización de nuevos análisis de laboratorio y el mismo estudio de diferentes poblaciones sometidas a las mismas condiciones y que no presentaban la EPA se ha dado lugar a nuevas interrogantes, entre ellas la posible asociación de las hormonas con la aparición de la eritrocitosis tal y como se mencionaba anteriormente. Es en este sentido que en este trabajo se ha estudiado a la testosterona y el estradiol para poder evaluar en qué medida estas hormonas están relacionadas con la aparición de la EPA, la evaluación hormonal se realizó empleando el método de quimioluminiscencia, además de la evaluación ferrocínética del paciente (ferritina y hierro) en relación a la misma concentración de testosterona. Se realizó también un cuestionario a cada uno de los participantes del estudio solicitando datos como la edad, género, procedencia y el tiempo que tienen con la enfermedad.

El presente trabajo no solo brinda datos estadísticos significativos sino también pretende demostrar que en base al conocimiento generado se puede pensar en desarrollar alternativas terapéuticas para el tratamiento de la EPA, esto tomando en cuenta que el uso de ciertos medicamentos de primera línea empleados para esta patología como son: la acetazolamida, almitrina, teofilina y el enalapril generaron efectos adversos en los pacientes, además de otros problemas de salud secundarios que afectan la economía de esta población.

I. JUSTIFICACION

La eritrocitosis como tal es una patología que afecta a los habitantes que residen a grandes alturas, derivando en estos mismos diferentes trastornos que afectan su salud, así mismo debemos considerar que no existe un consenso respecto a los valores de hemoglobina y/o hematocrito que nos indiquen la presencia de eritrocitosis, algunos autores a nivel internacional consideran la presencia de eritrocitosis cuando la hemoglobina es mayor a 21 g/dL en varones y mayor a 19 g/dL en mujeres (41)(60)(58)(59); en nuestro medio y en el de países vecinos (Perú) con el mismo problema de salud en sus habitantes se ha considerado eritrocitosis a un valor de hemoglobina mayor a 19 g/dL en varones y de 18 g/dL en mujeres (23)(25)(15).

En las ciudades que se hallan a elevada altura la prevalencia de la patología varía de acuerdo a la edad, al género y la etnia; alcanzando a 17,8% en habitantes del Tibet (60), esta patología hace referencia a su asociación con el Mal de Montaña Crónico que suele presentarse en pacientes que no se adaptaron de forma apropiada a la altura y en si a la hipoxia que implica el vivir o ascender a niveles superiores a los 2500 msnm, se observó que en habitantes que por migración ascendieron a grandes alturas en los últimos años la prevalencia alcanza a 1,5 a 10% en el altiplano tibetano (56).

La incidencia de la enfermedad en la ciudad de La Paz (3600 msnm) alcanzaría a un 5 a 7% de la población (23) esto sin contar con la prevalencia en las comunidades del altiplano donde la altura alcanza a los 4200 msnm. En el año 2014 se realizaron jornadas franco – andinas en el IBBA (Instituto Boliviano de Biología de Altura) donde se presentaron diferentes estudios y al mismo tiempo datos de la prevalencia de la patología donde se observa que un 10% de pacientes jóvenes entre 18 a 25 años presenta eritrocitosis excesiva (35) (62), llegando incluso al 15% (61) de la población, además que se estima que alrededor de un 30% se halla afectada por un problema de eritrocitosis secundaria (62).

Los datos de prevalencia antes descritos dependerán de varios factores, como es el estilo de vida, la genética y el medio ambiente en el que vive el nativo de altura. Así mismo para que una persona presente la EPA tendrán que transcurrir varios meses o incluso años, durante los cuales la adaptación a la altura no haya sido apropiada aun cuando hayan nacido o vivido varios años en estas condiciones (23). Al igual que otras patologías la EPA tiene una etiología multifactorial, como se conoce la reducción de la presión parcial del oxígeno es una de las características de este ambiente biológico y podría ser considerado como uno de los factores predisponentes para que se desarrolle, al mismo tiempo que afectara a todo el organismo de la persona con esta enfermedad (32) (57).

De hecho son varios los síndromes asociados a las grandes altitudes como es el Mal de Montaña Agudo, el Mal de Montaña Crónico, Hemorragia retiniana, Edema Cerebral y Edema Pulmonar estos tres últimos más asociados a una desadaptación completa a la altura (que se da en los Andes y en el Tíbet) (33).

En nuestro medio si al factor de la hipoxia, le sumamos otros factores ambientales como es el frio y la sequedad del aire observaremos que se complica o incluso agrava la salud de la persona con EPA; así en un estudio realizado por el IBBA se determino que existe un incremento del 2,3 difosfoglicerato intraeritrocitario, este al estar aumentado disminuye la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno lo que se consideraría como un coadyuvante en la hipoxia (34), el organismo en estas condiciones daría lugar a la hipertensión pulmonar y la consecuente hipertrofia ventricular derecha, sin que esto signifique que sea un factor determinante para presentar infarto de miocardio (32). Incluso se ha observado una asociación con el envejecimiento prematuro de la pared gástrica en estos habitantes.

Son varios los problemas de salud que acarrea una persona con EPA, estos problemas de salud que se desarrollaran y en grado variable son la cefalea, fatiga física y mental que incluirá dolor de cabeza recurrente, cianosis, disnea, desordenes

del sueño, visión borrosa y alteraciones de la memoria que en muchos casos son las características del llamado síndrome de hiperviscosidad sanguínea.

Se verán afectados en si varios sistemas como ser: el sistema respiratorio, cardiovascular y neurológico y que en muchos casos confundirán al médico al momento de su diagnóstico mucho más si el paciente tratado es una persona adulta mayor, considerando que los síntomas antes mencionados son comunes en diferentes enfermedades, además de que este sector de la población es el que acude con mayor frecuencia a consulta médica.

Como se mencionó son varios los sistemas que podrían ser afectados en un paciente con eritrocitosis de larga data y que no haya sido tratado a tiempo, estos se verán alterados ya sea por la hipoxemia intermitente debido a trastornos respiratorios durante el sueño, por la hiperviscosidad que es un factor de riesgo para enfermedades circulatorias, que podría evolucionar hacia una enfermedad cardiopulmonar crónica o por la formación de trombos que conlleva a una trombosis venosa profunda que son patologías de alto costo de atención médica que no podrían ser solventadas por el paciente, especialmente en la población adulta mayor dado que se constituye en uno de los grupos de mayor vulnerabilidad entre otras por las condiciones de pobreza en la que se encuentra; donde según el CENSO del 2004, el 59% de la población está en nivel de pobreza (según el análisis de Salud de 2011)(36) y de los cuales el 42% no tiene acceso a la salud (37), pese a las políticas del estado de salud pública universal. El mecanismo de muerte en contados casos puede deberse a un embolismo pulmonar, a una trombosis cerebral o a una insuficiencia cardíaca congestiva debido a la insuficiencia ventricular derecha (31).

Por las complicaciones de salud que se presentan en un paciente con eritrocitosis es que esta enfermedad ha sido declarada como un problema prioritario de salud pública a través de la Resolución No. 382, durante la XXIV Reunión de Ministros de Salud del Área Andina efectuada en Lima- Perú, el año 2002. Es por este motivo que se realizan más estudios para conocer los factores ambientales y genéticos que

intervienen en el desarrollo de la misma; siendo importante la causa para poder así realizar un tratamiento efectivo en el paciente.

Por ende debe diferenciarse a la eritrocitosis patológica de altura de otras eritrocitosis secundarias a enfermedades pulmonares y crónicas como es el caso del enfisema, bronquitis crónica, broquiectasia, fibrosis quística, el cáncer de pulmón o cualquier otra patología que incremente la hipoxia en el paciente, el personal médico por su parte cuando observa a un paciente con EPA , debe solicitar pruebas de función pulmonar clásica, sin embargo si estas pruebas se hallan dentro de la normalidad se ve por conveniente realizar exámenes complementarios como es el caso de la eritropoyetina (EPO), como hormona que estimula la eritropoyesis; sin embargo se ha observado que en los nativos de los Andes hay una gran variabilidad en los niveles de esta hormona y la respuesta eritrocítica a la altura, estableciéndose que no hay correlación entre los niveles séricos de EPO en nativos de la altura que presentan eritrocitosis excesiva de aquellos habitantes que viviendo en la altura no desarrollan esta condición patológica (7). Lo mismo se ha observado en un estudio realizado en La Paz, donde la concentración de EPO sérica de los pacientes con EPA está dentro de los valores normales (23).

Analizando los puntos anteriores se pensó que la estimulación de la eritropoyesis en estos pacientes estaría relacionada a otra hormona, la Testosterona, que podría jugar un papel sumamente importante para el desarrollo de la EPA, dado que no solo estimula la eritropoyesis sino que también inhibe la ventilación (2)(23)(15). Se ha visto que la eritrocitosis excesiva es el principal problema asociado a la administración de testosterona en varones adultos (4)(43). La testosterona probablemente actúa directamente en la médula ósea a nivel de los eritroblastos policromatofilos estimulando a sus precursores (2)(42)(63), o favoreciendo la absorción intestinal de hierro para su posterior empleo en la eritropoyesis (46); algunos autores incluso observaron la posible estimulación de la testosterona sobre la producción de eritropoyetina (42)(64).

Es por los puntos antes mencionados que se realizó este estudio, para determinar la relación de los valores hormonales de la testosterona como causa para la aparición de la EPA analizándose al mismo tiempo cual sería el posible mecanismo por el cual esta hormona intervendría en el proceso de eritropoyesis, en este sentido se estudió así su probable relación con la elevación o sobreproducción de eritropoyetina, o con la estimulación de la absorción de hierro (estudio de la concentración de hierro y ferritina) y por último se realizó la valoración del estradiol como hormona antagonista de la testosterona.

Otro punto a considerar importante para la realización de este estudio fue que de hallarse una estrecha relación entre la EPA y la testosterona esto podría significar la apertura de nuevos estudios ya con miras a una alternativa terapéutica para tratar al paciente con EPA; dado que muchas veces este debe someterse a tratamientos que conllevan tiempo por ejemplo por la espera de la realización de una flebotomía, el uso de otros fármacos que derivan en otros problemas de salud, o afrontar un cambio de residencia que en muchos casos no es posible por el costo económico que conllevaría.

II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Más de 140 millones de personas de todo el mundo viven en lugares por encima de los 2500 msnm, en América muchas poblaciones habitan en zonas de gran altitud, tal es el caso de Colorado en los Estados Unidos, México DF y Toluca en México, Bogotá en Colombia, Quito en Ecuador (25) y una importante población en Bolivia que llega a casi un 39,7% del total de la población estando dos centros urbanos importantes a más de 3000 msnm, tal es el caso de La Paz (3600 msnm) y El Alto (4100 msnm). La Paz es la capital sede de gobierno con una población que se mueve entre el altiplano, la zona subandina y la zona andina, la topografía de esta ciudad es muy particular, y está caracterizada por importantes variaciones de altura y como consecuencia variación en la presión barométrica (1). La distribución de las diferentes zonas en la ciudad tiene un gradiente que varían entre los 4000 msnm y los 3233 msnm sometiendo a sus habitantes a condiciones de hipoxia, en muchos casos de forma constante que darán lugar a consecuencias biológicas en la salud como es el caso de la reproducción (25).

Desde que se empezó a utilizar el barómetro, hacia el siglo XVII, se conoce que la presión atmosférica disminuye al aumentar de altitud, así a mayor altura disminuye la presión atmosférica y la presión parcial de oxígeno, con la consiguiente hipoxia que es una de las características ambientales con las que el hombre del altiplano tiene que coexistir; aunque el aire tenga la misma composición que a nivel del mar, se respira menos oxígeno en la altura e incluso a los 3600 msnm (altura en la ciudad de La Paz) se reduce a hasta en un 60% es decir pasa de 20,9% a tan solo 12,6%. (26). Por otro lado la temperatura desciende a razón de unos 7°C por cada 1000 metros de ascensión.

Con la altitud, la hemoglobina que transporta el oxígeno tiene una menor afinidad por este, lo que origina un incremento de la ventilación pulmonar y por ende un incremento del gasto cardiaco (que aumenta hasta 6 y 7 veces con el esfuerzo) y la presión arterial (presión sistólica en un 180 a 200 mm) (26), todos estos eventos ocurren hasta que se da el proceso de aclimatación en el caso de personas que viven

a nivel del mar y por diferentes motivos tuvieron a ascender a la altura. Este proceso de aclimatación completa requiere de días e incluso semanas, donde gradualmente el cuerpo compensa la alcalosis respiratoria por medio de la excreción de bicarbonato, se reduce la producción de lactato, decrece el volumen del plasma y se incrementa el número de eritrocitos; todos y cada de uno de estos eventos permiten a estas personas tolerar la altura (27). En caso de que la persona no se aclimate al cambio podría sufrir de complicaciones cardiovasculares y cerebrovasculares (7).

Pero y ¿qué sucede con el individuo habitante natural de la altura? Estos individuos desarrollan una tolerancia natural genética a la altura como sucede con los sherpas del valle de Khumbu en Nepal que llevan generaciones viviendo en las alturas, o las poblaciones nativas que colonizaron Los Andes hacía más de 25000 y 11000 años atrás, la disminución en la presión parcial de oxígeno dio lugar a una selección natural. Así los habitantes en el Tíbet evolucionaron de forma favorable donde la concentración de hemoglobina es similar a los habitantes a nivel del mar gracias al proceso de adaptación que permite a los individuos nacer, crecer y reproducirse en la altura de forma natural. En el caso de los nativos de Los Andes evolucionaron a una concentración de hemoglobina elevada en relación a los individuos a nivel de mar; de esta manera en la actualidad se consideran normales los valores de 14 a 17 g/dL para mujeres y de 15 a 18 g/dL para varones en los habitantes de la ciudad de La Paz y El Alto (23).

El ambiente de altura es un complejo ecológico multifactorial cuyo fenómeno natural determinante: la disminución de la presión del oxígeno (PO_2) ocasiona cambios fisiológicos por la homeostasis de la altura, como Galeno dijo: “el organismo es un todo con su ambiente y no puede ser considerado aparte de su ambiente”. (28)

Si bien el hombre que vive en la altura ha desarrollado un mecanismo de adaptación a través de varias generaciones, existe una parte de esta misma población que se ve afectada por una sobreproducción de glóbulos rojos dando lugar así a la aparición de la eritrocitosis.

Monge y Whittembury desarrollaron un modelo matemático donde demostraron que el hombre en la altura no requiere un hematocrito o valor alto de hemoglobina para el transporte de oxígeno máximo y que por ende la eritrocitosis debe considerarse como una mala adaptación a la altura (29).

La eritrocitosis como patología es uno de los signos de mayor importancia que se presenta en la población que vive en la altura dado que la misma genera diferentes alteraciones biológicas en el paciente con la consecuente modificación en su estilo de vida.

Como se ha considerado, la hipoxia es un factor relevante y que se ha postulado como causa de la eritrocitosis patológica de altura, así mismo este factor biológico promovería la producción de eritropoyetina que a su vez desencadenaría la sobreproducción de eritrocitos, sin embargo y como ya se había indicado anteriormente la EPO en muchos casos se encuentra en dentro de los valores normales en pacientes con EPA, lo que dio lugar a pensar que podría ser otro el mecanismo para el incremento de los glóbulos rojos en estos pacientes; es en este sentido que intervendría otra hormona que daría una explicación a este fenómeno, la Testosterona. En un estudio en varones con eritrocitosis de Cerro de Pasco, en Perú a 4340 msnm se ha observado que estos tienen niveles más altos de testosterona en comparación a aquellos viviendo a la misma altitud pero que no presentan eritrocitosis excesiva (2). También se ha observado en residentes de los Himalayas que la mayor eritrocitosis se presenta después de la pubertad (2). De hecho se ha indicado que la testosterona podría actuar sobre el organismo de diferentes maneras; regulando por ejemplo la ventilación dado que es una hormona que promueve la hipoventilación que conduciría a la reducción en la saturación arterial de oxígeno, hipoxemia y estímulo de la eritropoyesis, que podría actuar directamente sobre la eritropoyesis e incluso podría regular la biodisponibilidad del hierro en el organismo a través de la regulación de la hepcidina (39) (42).

Al mismo tiempo que intervendría como factor importante en el proceso de adaptación a la altura, en un estudio realizado en el país a 3600 msnm se observó

que los varones de zonas urbanas presentaron valores más altos de testosterona y hemoglobina en comparación a los aymaras de zonas rurales que tienen mayor antigüedad generacional viviendo en la altura (2).

Como se ha postulado la testosterona podría ser un punto clave para desarrollar la EPA, sin embargo esta hormona aún no ha sido considerada con la importancia del caso, mientras tanto las alteraciones biológicas relacionadas a esta patología continúan manifestándose tal es el caso del síndrome de hiperviscosidad sanguínea que está caracterizado por cefalea, disnea, tinnitus, cianosis proximal o distal (30). Los eventos trombóticos tampoco estarán ausentes llegando a presentarse en un 15% de los casos.

En los pacientes que padecen de eritrocitosis es evidente que con el paso del tiempo la hipoventilación alveolar y la hipoxia crónica agravan la eritrocitosis produciendo un efecto nocivo en forma gradual, que si no es tratado de forma oportuna daría lugar a serias complicaciones de salud, siendo las más frecuentes tromboflebitis, edema cerebral, bronconeumonía, trombosis venosa profunda, accidente cerebro vascular y hemorragia retiniana.

Por lo tanto, al considerar que la testosterona juega un rol en el proceso de eritropoyesis en el organismo, sea como modulador en la producción de EPO, como potenciador de la absorción del hierro a nivel intestinal, o su papel en el proceso de hipoventilación; y que en todos estos casos serian considerandos factores predisponentes para la EPA, es que se planteó la siguiente **pregunta de investigación:**

¿Cuál es la relación en la eritrocitosis patológica de altura con los valores hormonales de la testosterona en estos pacientes?

III. ANTECEDENTES

La eritrocitosis es una patología que se presenta en las personas que viven a más de 2500 msnm, se estima que alrededor de 140 millones de personas viven en esta condición ambiental, si bien no todos ellos presentarían la patología, otra parte de esta población sí se verá afectada, la afección de esta patología aun no es muy conocida, la prevalencia de la eritrocitosis excesiva por una desadaptación a la altura es estimada en La Paz, Bolivia entre el 5 a 15% de la población, respecto a la eritrocitosis excesiva secundaria no se tienen datos y se estima que el 30% de la población está afectada (40). En otros estudios en un país vecino, en Cerro Pasco se ha observado que la prevalencia de eritrocitosis excesiva en mujeres a 4340 msnm (Hematocrito mayor a 56%) fue de 8,8 % (25); en otro estudio en Junín, Perú se ha observado una prevalencia en hombres de 17,2% a 4100 msnm que fue similar a la observada en hombres en Cerro Pasco que alcanzaba a 15,6% (41).

Muchas de las personas con esta patología asisten a consulta debido al síndrome de hiperviscosidad sanguínea que está caracterizada por: cefaleas, parestesias, tinnitus, hipersomnias y cianosis distal. En un estudio realizado en La Paz se observó que el 11,3% de los pacientes con eritrocitosis secundaria presentaron algún evento trombotico y el 11,8% de los pacientes con eritrocitosis patológica de altura presentaron hipertensión arterial sistémica (23).

Como la población afectada por la eritrocitosis excesiva presentara el síndrome de hiperviscosidad sanguínea esta podría verse complicada con la presencia de otras patologías asociadas tal es el caso del síndrome metabólico que incrementa la probabilidad de un evento trombotico en un 5% (39).

Si bien la eritrocitosis excesiva que se presenta en una eritrocitosis patológica de altura podría estar relacionada a un incremento de eritropoyetina por la hipoxia presente en este ambiente, es de llamar la atención que no se ha dado esta asociación en estudios recientes, así por ejemplo en un grupo de 10 pacientes estudiados con EPA todos ellos presentaron valores normales de EPO, este estudio se efectuó en la ciudad de La Paz (23), en otro estudio realizado por Winslow, Chapman y Monge

estudiaron a los nativos de Nepal a 3700 msnm y encontraron que los niveles de eritropoyetina se aproximan a los valores normales sin presentar un incremento significativo (25), efectivamente, en los casos de eritrocitosis excesiva los niveles de eritropoyetina no son diferentes a los de aquellos individuos nativos de altura que no tienen esta patología.

La eritropoyetina juega un papel importante en el proceso de la eritropoyesis y por ende podríamos asociar este papel como un factor coadyuvante a la presencia de la eritrocitosis excesiva, pero los estudios mencionados anteriormente no demuestran una relación entre esta y el incremento de la hormona; es así que se presenta en escena la testosterona, que podría desarrollar un papel quizá mucho más relevante para la aparición de esta patología, recientes estudios han determinado un rol significativo de esta hormona en el proceso de la eritropoyesis, se han postulado varias hipótesis del efecto de esta hormona sobre este proceso fisiológico, sin embargo aún no es muy claro cuáles son los mecanismos de acción sobre la eritropoyesis.

En estudios en animales y humanos se ha observado que la administración de andrógenos promueve la síntesis y secreción de eritropoyetina. La administración de andrógenos a ratones hembras resultó en una hipertrofia del tejido renal promoviendo de esta manera la secreción de eritropoyetina, donde la testosterona se une específicamente a receptores citoplasmáticos de las células renales originando el incremento de la actividad de la RNA polimerasa en pocas horas, produciéndose así la EPO (42).

Se ha mencionado que la acción directa que provocaría la testosterona sobre la eritropoyesis es su estimulación sobre la CFU-E en la médula ósea, así se ha observado que cultivos suplementados con testosterona resultan en la formación de colonias eritroides (42).

El incremento de la hemoglobina y del hematocrito es un efecto predecible de la terapia realizada con testosterona, siendo la eritrocitosis el evento adverso más reportado (43). En esta terapia son sin embargo los hombres adultos los que parecen

ser más sensibles a los efectos eritropoyéticos de la testosterona en comparación a la población de hombres jóvenes. El mecanismo por el cual la testosterona estimula la eritropoyesis aun es pobremente conocido (43)(57) y como se mencionaba anteriormente se realizan estudios que podrían dar una pauta de su mecanismo de acción. En un estudio realizado por Coviello *et al* estudiaron los efectos de la testosterona sobre la eritropoyetina y los receptores solubles de transferrina y no observaron ningún incremento significativo de estos durante la administración de testosterona (43).

Así mismo se ha reconocido que la testosterona mejora la absorción de hierro a nivel intestinal, la incorporación de hierro en los glóbulos rojos y la síntesis de hemoglobina (44).

Respecto al punto anteriormente planteado se ha estudiado la interacción de la testosterona sobre la hepcidina, este último es un péptido recientemente descubierto hacia 2001 y se la ha atribuido un papel importante en la regulación del hierro, tomando en cuenta su transporte, absorción y eliminación en el organismo (45); se ha observado que la administración de testosterona suprime la expresión de la hepcidina tanto en ratones hembra y macho y también en los niveles de circulación de hepcidina en hombres (46). La supresión de la hepcidina y la consecuente desregulación de la ferroportina incrementan la exportación de hierro aumentando así la biodisponibilidad de este elemento para la síntesis de hemoglobina dentro del eritrocito (46).

Así en un estudio realizado por Gonzales en el Perú observaron que existe una diferencia entre los valores de testosterona entre los habitantes de Cerro Pasco que tienen eritrocitosis excesiva de aquellos que no tienen esta patología (2).

La testosterona en mujeres como ocurre en varones incrementa la eritropoyesis, al contrario del estradiol y de la progesterona que reducirían la posibilidad de presentar eritrocitosis excesiva, esto no ocurre durante la menopausia, etapa que se caracteriza por una disminución de los niveles de estradiol y progesterona debido al cese de la actividad ovárica (25). Se ha observado en un estudio que se incrementa el valor del

hematocrito en mujeres postmenopáusicas a un valor de $53 \pm 6,35\%$ en mujeres de 60 a 70 años en comparación al valor de $45 \pm 6,45\%$ en mujeres de entre 20 a 39 años (25). Así mismo la prevalencia de eritrocitosis excesiva en mujeres a 4340 msnm (Hto > 56%) fue de (8,8%) y en el área de Cerro Pasco (Perú) se demostró que el hematocrito era más alto en las mujeres post-menopaúscas que en las pre-menopaúscas (24).

En la población nativa de los Andes peruanos se ha observado un incremento en los valores de testosterona basal en las personas que sufren de eritrocitosis excesiva, esto dio una pauta a Gonzales *et al* que pudo indicar que la elevada actividad androgénica a elevadas alturas da como consecuencia la aparición de la eritrocitosis (15).

La testosterona también podría jugar un papel importante en el proceso de adaptación a la altura, en un estudio realizado a pobladores aymaras bolivianos se observó que la población con mayor antigüedad generacional presentaron valores menores de testosterona que los pacientes varones de zonas urbanas, sugiriendo así que la testosterona en el rango normal alto puede comprometer el proceso de adaptación a la altura. Y esto no solo es observado en la población aymara, también podría ocurrir en la población Himalaya donde los varones de la población Han son más propensos a presentar eritrocitosis excesiva debido a su corto tiempo de exposición a la altura que es de apenas 60 años en comparación a la población nativa del Tíbet que tiene una antigüedad generacional de más de 25000 años (2).

IV. OBJETIVOS

A. OBJETIVO GENERAL

- ✓ Determinar la relación de la eritrocitosis patológica de altura con los valores hormonales de la Testosterona en pacientes que asistieron a la Unidad de Hematología del Hospital de Clínicas durante Enero a Octubre de 2014.

B. OBJETIVOS ESPECIFICOS

- ✓ Determinar la concentración sérica de Testosterona, Estradiol y Eritropoyetina en la población en estudio por el método de Quimioluminiscencia.
- ✓ Determinar la concentración sérica de Hierro y Ferritina (perfil ferrocínético) en la población en estudio.
- ✓ Determinar la relación entre los valores hormonales de Testosterona con el Hematocrito en la población en estudio.
- ✓ Evaluar la relación entre el valor hormonal de Testosterona con la concentración de Hierro y Ferritina en la población en estudio.
- ✓ Evaluar la relación entre el valor hormonal de Testosterona con los valores de Estradiol y Eritropoyetina en la población en estudio.
- ✓ Determinar la distribución de la Eritrocitosis Patológica de Altura de acuerdo al género y la edad de la población en estudio.

V. MARCO TEÓRICO

Es importante describir tanto la morfología como la fisiología del eritrocito, y por ende los factores que regulan la eritropoyesis para así comprender la patología de las eritrocitosis, los factores que intervienen en este proceso, el diagnóstico diferencial y las características más importantes de cada una de ellas, puntos que serán descritos a continuación.

A. ERITROCITO. El eritrocito fue uno de los primeros elementos formes conocidos y descritos después del descubrimiento del microscopio. Por siglos fueron considerados partículas inertes, sin función alguna. No fue sin embargo hasta 1865 que estos glóbulos comenzaron a ser comprendidos cuando Hoppe – Seyler descubrió la capacidad de la hemoglobina, para el transporte de oxígeno dentro de los corpúsculos (5). Sin embargo esta no es la única función que cumplen los eritrocitos, por ejemplo tienen una gran cantidad de anhidrasa carbónica, una enzima que cataliza la reacción reversible entre el dióxido de carbono y el agua para formar ácido carbónico, aumentando la reacción varios miles de veces. La rapidez de esta reacción posibilita que el agua de la sangre transporte enormes cantidades de CO_2 en forma de ion bicarbonato desde los tejidos hasta los pulmones donde se convierte en CO_2 y se expulsa a la atmósfera como un producto de desecho del organismo. En si la hemoglobina de estas células es un excelente amortiguador ácido básico (propiedad de la mayoría de las proteínas), de manera que los eritrocitos son responsables de la mayor parte del poder amortiguador ácido básico de la sangre completa (6).

En la actualidad el eritrocito es considerado una de las células más altamente especializada del cuerpo (5).

1) Membrana eritrocitaria. La membrana es responsable de la característica discoide del eritrocito, y contribuye decisivamente a mantener su deformabilidad y elasticidad. Tiene las mismas

características de cualquier otra membrana biológica, está constituida por lípidos (40%), proteínas (52%) e hidratos de carbono (8%), siguiendo el modelo de mosaico fluido, los lípidos forman un bicapa lipídica en la que se hallan sumergidas las proteínas (proteínas integrales) cuya superficie interna se halla cubierta por una estructura fibrilar de proteínas que forman el esqueleto (Ver Fig. 1).

Las proteínas del esqueleto carecen de contacto con el componente lipídico de la membrana y su unión está establecida por medio de las proteínas integrales. La interacción entre estos tres componentes (lípidos, proteínas integrales y proteínas del esqueleto) le confieren al eritrocito la forma bicóncava, que pone de relieve la existencia de un exceso de superficie en relación al volumen. Gracias a esto los eritrocitos tienen una gran capacidad de deformabilidad, lo que les permite atravesar espacios de diámetro muy inferior al suyo como ocurre en los capilares esplénicos cuyas fenestraciones alcanzan a medir 3 μm de diámetro (8).

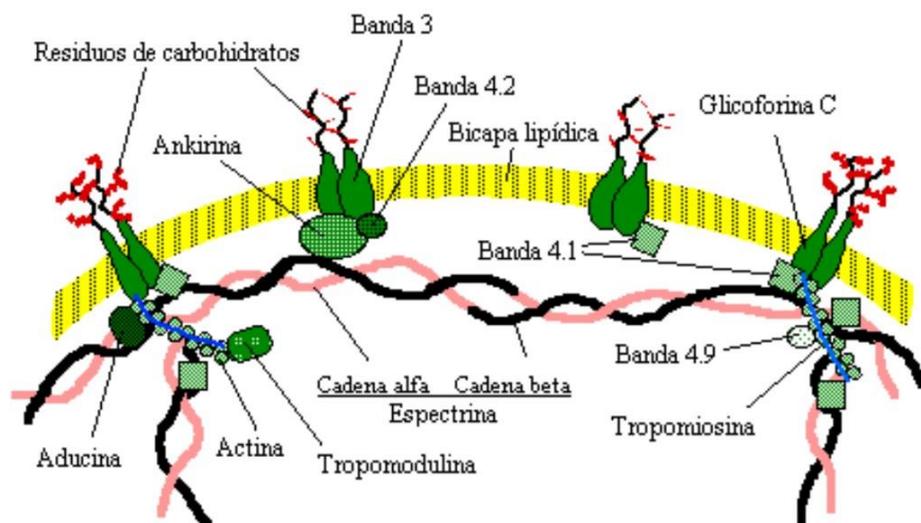


Fig 1. Estructura de la membrana eritrocitaria
Fuente: Michaely B. Hematología. 1995

Cualquier disminución de la deformabilidad de la membrana o en la fluidez del contenido resulta en una disminución de la deformabilidad eritrocitaria. En consecuencia la célula se ve atrapada en los cordones esplénicos y es destruida por los macrófagos. La deformabilidad disminuida también lleva a la fragmentación de la célula bajo la presión normal de la circulación.

Una membrana intacta normal es absolutamente esencial para la función normal del eritrocito y su supervivencia. Cerca del inicio del siglo XX, Hedin realizó experimentos que demostraron las propiedades osmóticas y la permeabilidad selectiva del eritrocito. Las propiedades antigénicas de la célula se conocieron muchos años después por Landsteiner. Él descubrió que el suero humano provocaba aglutinamiento de los eritrocitos en diferentes individuos. Se dividió a estos en tres grupos diferentes A, B y C, de acuerdo a los patrones de aglutinación con el suero humano. En la actualidad se emplea la terminología de grupo A, B y O para identificar los grupos sanguíneos en estos patrones de aglutinación. Cientos de otros antígenos eritrocitarios se han identificado en los últimos 80 años, muchos se han descubierto a partir de 1940 (5).

a) Composición lípida. Constituyen alrededor del 40% del peso en seco de la membrana del cual aproximadamente el 95% consiste en cantidades iguales de colesterol no esterificado y fosfolípidos y el restante en ácidos grasos libres y glucolípidos (8). El colesterol influye en el área de la superficie de la célula y es responsable de la permeabilidad pasiva de los cationes de la membrana. Pueden estar presentes algunas cantidades menores de otros fosfolípidos como la lisolecitina, pero existen cuatro tipos principales de fosfolípidos que se encuentran en la membrana eritrocitaria: fosfatidiletanolamina, fosfatidilcolina, esfingomiélin y fosfatidilserina (5).

Las moléculas de los fosfolípidos están dispuestas con sus cargas polares dirigidas hacia dentro y hacia afuera de las células, y sus extremos hidrofóbicos dirigidos hacia el interior de la doble capa. Los fosfolípidos de colina se concentran en la capa externa, mientras que los amino fosfolípidos y el fosfatidil inositol predomina en la capa interna. Existe prueba considerable que la movilidad de los fosfolípidos dentro de la membrana contribuye a la fluidez de la membrana, además de la disposición asimétrica de las proteínas incluidas parcial o totalmente en la membrana (5)(8).

El movimiento intramolecular de los extremos hidrofobicos se acompaña de movimiento lateral de las moléculas a través de la capa de lípidos. Los lípidos relacionados con las proteínas que penetran en la membrana (proteínas integrales) parecen difundir como una sola unidad en unión con las proteínas. La función de estas proteínas que acompañan a los lípidos está íntimamente involucrada con estos. Las enzimas de membrana relacionadas con lípidos necesitan la presencia de estos para alcanzar una actividad enzimática completa. Una pequeña parte de los lípidos de membrana son glucolípidos en forma de glucoesfingolípidos, estos son responsables de algunas de las propiedades antigénicas de la membrana, dando lugar a la definición del grupo sanguíneo (8).

b) *Composición proteínica.* Las proteínas de la membrana constituyen aproximadamente el 52% del peso en seco de la membrana, pueden hallarse total o parcialmente sumergidas en la doble capa lipídica (proteínas integrales) o fuera de ellas (proteínas periféricas) (8).

Las proteínas periféricas están fuera del complejo lipídico en el lado citoplasmático de la membrana, pero adherido a los lípidos de la membrana o a las proteínas integrales mediante ligaduras iónicas y de hidrogeno. Ambos tipos de proteína de membrana son

sintetizados durante el desarrollo celular. Las proteínas serán identificadas mediante un número de acuerdo a su separación por electroforesis de gel de poliacrilamida (PAGE) en sulfato dodecil sódico, el cual homogeniza la carga eléctrica de las proteínas y hace que éstas se separen de acuerdo a su peso molecular (8).

b.1 Proteínas periféricas. Estas proteínas conforman lo que se denomina el esqueleto de la membrana eritrocitaria que está formado por largos filamentos de α y β -espectrina, dispuestos en una red de estructura hexagonal y con conglomerados de proteínas. Esta estructura establece dos interacciones básicas, denominadas zonas de anclaje o de unión, con la doble capa lipídica en las proteínas integrales banda 3 y glicoforina C. Las proteínas del esqueleto presentan gran diversidad estructural, sin embargo su núcleo básico lo constituyen la espectrina (banda 1 y 2), la actina (banda 5), anquirina, banda 4.2, banda 4.1, aducina, banda 4.9 y la tropomiosina (8).

Las proteínas del esqueleto le dan a la membrana sus propiedades viscoelásticas y contribuyen a la forma celular en su deformabilidad y estabilidad de membrana.

La espectrina, actina, banda 4.1, aducina, banda 4.9 y la tropomiosina proporcionan soporte estructural para la doble capa de lípidos; mientras que la anquirina interactúa con las bandas 4.2 y 3 para asegurar el esqueleto estructural a la capa de lípidos de la membrana.

El entretejido esquelético proteínico consiste en hexágonos altamente organizados (en ocasiones heptágonos y pentágonos). La espectrina es la proteína estructural dominante del entretejido que constituyen los lados del hexágono. La espectrina es una proteína grande dimerica compuesta de cadenas α (banda 1) y β

(banda 2), las cuales están enlazadas. Estas cadenas diméricas se unen a pequeños filamentos de actina de forma que cada seis unidades de espectrina se unen a un oligomero de actina, formando una red irregular de estructura aproximadamente hexagonal. La interacción de la actina y la espectrina no es entendida por completo, pero la relación de estas proteínas requiere proteína de banda 4.1 que es la encargada de estabilizar el enlace que al mismo tiempo será reforzada por la tropomiosina y la aducina, proteínas que forman un nudo proteico denominado *junctional complex* (12). Si bien la aducina promueve la unión de la espectrina a la actina se cree que compite con la proteína de banda 4.1 por el sitio de unión.

El entretejido esquelético se halla fijo a la membrana mediante varias uniones. La anquirina sirve para unir la red esquelética de proteína al lado interno de la doble capa de lípidos. Une al centro de los tetrámeros de la espectrina (una distancia corta desde el sitio de unión de cabeza a cabeza) con la proteína banda 3, una proteína integral de membrana, esto se constituye como el principal punto de unión del esqueleto a la bicapa lipídica (interacción vertical). En si existe una molécula de anquirina para cada tetrámero de espectrina y la banda proteica 4.2 interactúa con la anquirina y la banda 3.

En el lado citoplasmático de la membrana, la banda 3 une a la hemoglobina y enzimas glucolíticas a la anquirina. En el extremo distal del tetrámero de espectrina, esta se halla unida a la membrana por medio de la proteína de banda 4.1 y la glucoforina C (Ver Fig 2).

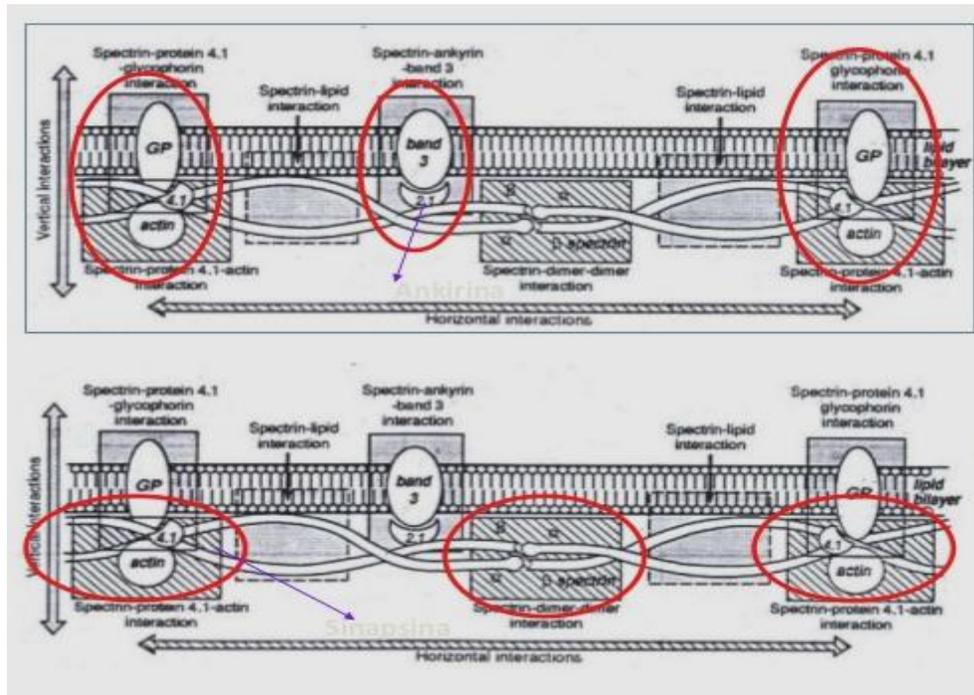


Fig 2: Interacción de las proteínas del citoesqueleto del eritrocito

Fuente: **García Ramírez, R.** Características y componentes de la membrana eritrocitaria, 2014

Las proteínas del esqueleto de soporte no están inmovilizadas, sino se hallan en un equilibrio continuo de unión-disociación unas con otras y con los sitios de anclaje. Este fenómeno ocurre debido a los estímulos físicos y químicos que afectan el desplazamiento de los eritrocitos mientras se desplazan a través del todo el organismo.

Un otro componente de la membrana que es importante de ser mencionado es el calcio. La mayor parte del calcio intracelular (80%) se encuentra en relación con la membrana del eritrocito. El calcio se mantiene en una concentración intracelular extremadamente baja por la actividad de la bomba de ATP (adenosin trifosfato). Aquellas condiciones que permiten la acumulación de este catión en el eritrocito provocan la disminución en la deformabilidad de esta célula.

b.2 Proteínas integrales. Forman parte estructural de la doble capa lipídica, a la que se unen mediante fuertes enlaces de carácter apolar. En este sentido, estas proteínas se hallan total o parcialmente incluidas en el espesor de la bicapa lipídica, de forma que muchas de ellas pueden desplazarse libremente a lo largo y ancho de la membrana, brindándole gran fluidez. Las principales proteínas integrales de membrana del eritrocito son la banda 3 y las glicoforinas A, B, C y D (8).

Las glicoforinas son proteínas integrales de características similares a la banda 3, se caracterizan por poseer una elevada cantidad de ácido siálico en su composición. Las tres principales glicoforinas A, B y C están conformadas en tres dominios: el citoplásmico, el hidrofóbico que atraviesa la doble capa, y el extracelular, en la superficie externa de la membrana (contenido de ácido siálico). Las glicoforinas se encargan del transporte de antígenos; la A transporta antígenos MN, la B los antígenos Ss y la C el antígeno de Gerbich. La glucoforina C también desempeña una función importante al adherir el esqueleto proteínico en el lado citoplasmático a la doble capa a través de su interacción con la proteína 4.1. El grupo carboxilo del ácido siálico, que está adherido a las glucoforinas de membrana, proporciona una fuerte carga negativa al exterior de la célula.

La proteína de banda 3 es conocida también como canal aniónico o *anión exchange* (AE1) cuyo dominio intramembranoso participa en el intercambio de iones, tiene dos funciones principales: unir la membrana del esqueleto a la capa lipídica y transporta iones entre el interior y el exterior del eritrocito (12).

2) Metabolismo del eritrocito. La maduración del eritrocito conlleva a la desaparición de, prácticamente, todas las vías metabólicas de cualquier otra célula, de manera que el eritrocito maduro es incapaz de sintetizar lípidos o proteínas y de obtener energía a través del ciclo del ácido tricarbóxico y de la fosforilación oxidativa, su única fuente energética es la glicolisis anaerobia, que rinde dos moléculas de ATP por cada molécula de glucosa oxidada (5). Debemos además tomar en cuenta que este metabolismo es limitado debido a la ausencia del núcleo, mitocondria y otros organelos subcelulares; en el caso del transporte, liberación de oxígeno y del dióxido de carbono son procesos pasivos que no requieren de energía, pero si existen otros muchos procesos que requerirán de la energía y para ello se emplearan diferentes rutas metabólicas.

Por ende debemos indicar que la actividad metabólica del eritrocito depende de la disponibilidad de glucosa en el plasma. Las investigaciones de Gustav Embden y Otto Meyerhoff relacionadas con la glucolisis permitieron la descripción del desdoblamiento anaerobio de la glucosa a lactato. La vía que propusieron sirvió como guía para investigaciones posteriores, las cuales revelaron también detalles de pasos intermedios como la producción del 2,3 difosfoglicerato (2,3 DPG) (8).

El eritrocito no tiene la capacidad de fosforilación oxidativa, y debe conservar la dotación de enzimas y compuestos durante los aproximadamente 120 días que permanece en circulación. El eritrocito recién formado posee una alta concentración enzimática, que va disminuyendo paulatinamente a medida que envejece sin tener mayores consecuencias, mientras se mantiene por encima del 50% de su concentración original (47).

Las vías metabólicas más importantes para el eritrocito necesitan de la glucosa como sustrato principal. Estas vías se refieren a 1) Vía de

Embden-Meyerhoff, 2) Vía de la hexosa-monofosfato 3) Vía de hemoglobina reductasa y 4) Ciclo de Rapoport-Luebering. Estas vías contribuyen generando una fuente energética que es suficiente para que el eritrocito desarrolle funciones que permiten su supervivencia en la circulación, estas funciones son: 1) iniciar y mantener la glucólisis, 2) sintetizar glutatión, 3) mantener el hierro de la hemoglobina en estado reducido, 4) proteger la hemoglobina, proteínas estructurales y enzimas de la oxidación, 5) mantener el transporte iónico y el contenido acuoso intraeritrocitario y 6) participar en todos aquellos procesos que contribuyen a garantizar la plasticidad de la membrana eritrocitaria.

a) **Vía de Embden-Meyerhof:** Debemos mencionar que la glucosa ingresa al eritrocito a través del transporte facilitada por una proteína acarreadora, esta proteína es la Banda 3a, y solo se activa con los D-isómeros de glucosa, excluyendo así a la fructosa, así mismo esta proteína no requiere de la actividad de la insulina (12). El ingreso de la glucosa es relativamente rápido, donde cada eritrocito contiene aproximadamente unos 300000 sitios de unión en la membrana para la glucosa (12).

El eritrocito obtiene energía en forma de ATP del desdoblamiento de la glucosa. Aproximadamente el 90 a 95% del consumo celular de oxígeno utiliza esta vía, así los eritrocitos dependen por completo de la glucosa ambiental para la glucólisis.

Se necesitan de cantidades adecuadas de ATP para mantener la forma, flexibilidad e integridad de la membrana del eritrocito, mediante la regulación de la concentración intracelular de cationes. Los cationes de sodio, magnesio, potasio y calcio se mantienen en el eritrocito a concentraciones muy diferentes a las del plasma. El sodio y el calcio están más concentrados en el plasma mientras que el potasio y el magnesio lo hacen dentro de la célula. Por lo regular el

equilibrio osmótico del eritrocito se mantiene tanto por permeabilidad selectiva de la membrana, como por las bombas de cationes localizadas en la membrana celular. La bomba de sodio y potasio hidroliza un mol de ATP en la expulsión de 3 de Na^+ y el ingreso de 2 de K^+ (8).

El calcio se mantiene en concentraciones bajas mediante la acción de una bomba de cationes parecida, pero independiente, que también utiliza ATP como combustible. El calcio realiza también una función para mantener la permeabilidad de la membrana baja para potasio y sodio.

Se necesitan enormes cantidades de ATP para mantener límites normales de estos cationes intracelulares en contra de sus gradientes de concentración. Una vez consumida la glucosa, el combustible para la bomba de cationes ya no está disponible. Por lo tanto las células no logran mantener sus concentraciones normales de cationes intracelulares, lo que provoca la muerte celular.

Esta vía posee tres enzimas que al catalizar reacciones irreversibles, constituyen etapas limitantes. Tales enzimas son la hexoquinasa, que transforma la glucosa en glucosa 6-fosfato, la fosfofructoquinasa que transforma la fructosa 6-fosfato en fructosa 1,6 disfosfato y la piruvatoquinasa que transforma el fosfoenolpiruvato en piruvato. El déficit de una de estas enzimas es suficiente para bloquear esta vía, generando por ende alteraciones en la deformabilidad del eritrocito (12).

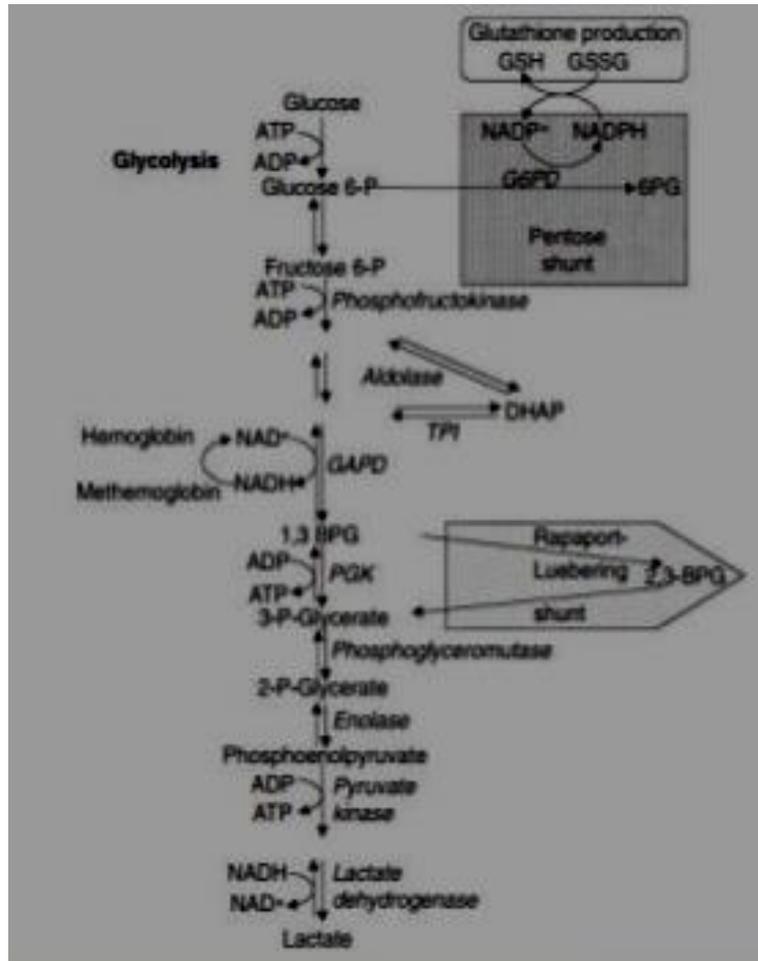


Fig 3: Vías metabólicas esenciales del eritrocito
Fuente: www.fbyoyf.unr.edu.ar/METABOLISMODELGR.pdf

b) Ciclo de la Hexosa- Monofosfato: Conocida también como la vía de las pentosas fosfato, que en condiciones normales deriva en un 5 a 10% del catabolismo de la glucosa. Se diferencia de la vía anterior dado que funciona mediante el consumo de oxígeno (glucólisis aerobia) (8). Este es un sistema auxiliar para producir sustancias reductoras, por esta vía se produce adenin-dinucleotidofosfato de nicotinamida (NADPH) y glutatión.

Por la función que desarrolla el eritrocito, que es el transporte de oxígeno, este suele verse sometido a agresiones oxidantes, y el NADPH, es insuficiente para amortiguarla, la célula dispondrá así del glutatión que en estado reducido se encargara de realizar esta función (12). El glutatión es un tripeptido sintetizado por el propio eritrocito por medio de dos enzimas la glutatión sintetasa y la glutamilcisteina sintetasa que precisan de energía (8).

El glutatión reducido (GSH) protege a la célula de cualquier lesión oxidante permanente. Los oxidantes dentro de la célula oxidan a los grupos sulfhidrilo (-SH) de la hemoglobina, a menos que los oxidantes sean reducidos por el GSH. Existe un proceso de reducción que oxida al glutatión (GSSG), el cual reducido nuevamente a GSH mediante valores adecuados de NADPH.

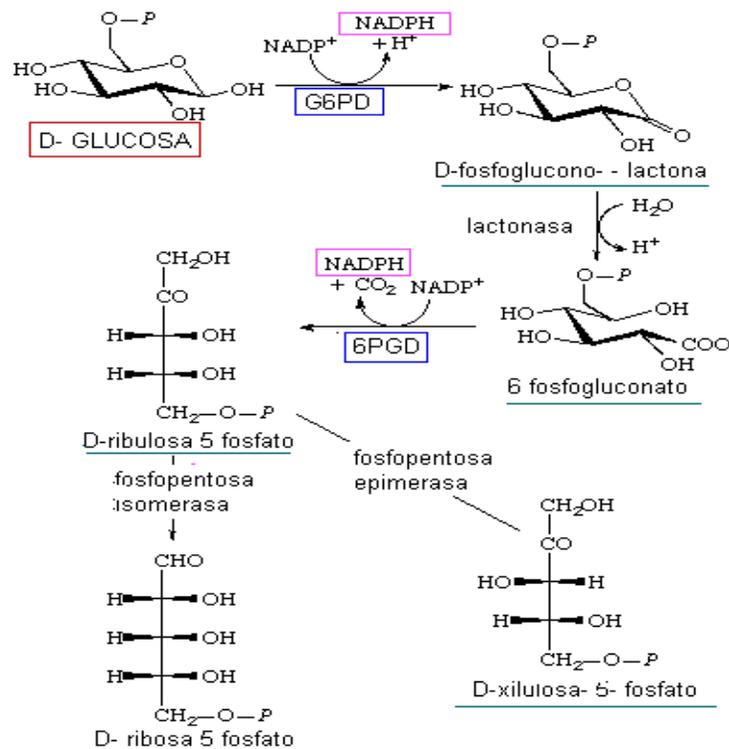


Fig 4: Ciclo de la hexosa-monofosfato o shut de las pentosas
Fuente: [www.fbyoyf.unr.edu.ar /METABOLISMODELGR.pdf](http://www.fbyoyf.unr.edu.ar/METABOLISMODELGR.pdf)

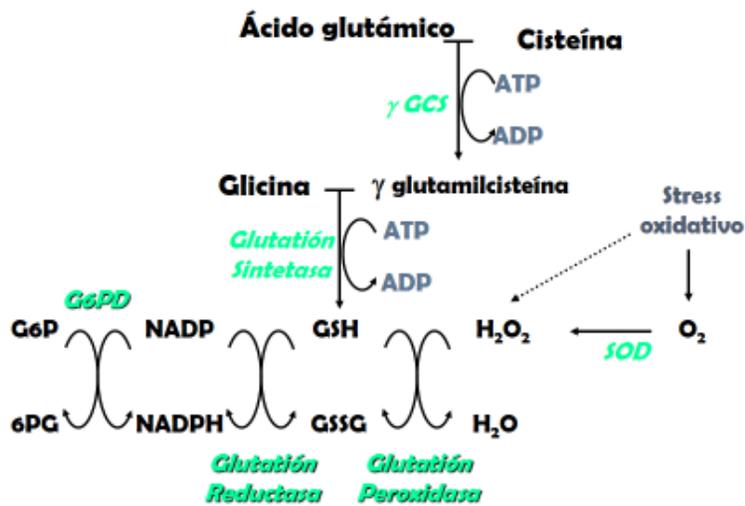


Fig 5: Síntesis y regeneración del Glutatión
 Fuente: Izquierdo, J. Metabolismo del eritrocito, 2011

c) **Vía de la metahemoglobina reductasa o sistema diaforásico:** El mantenimiento de la función respiratoria de la hemoglobina requiere mantener el hierro en estado reducido, el Fe^{++} . A este proceso contribuye la enzima diaforasa o metahemoglobina reductasa

La hemoglobina con el hierro en estado férrico, metahemoglobina, no logra combinarse con oxígeno, en este proceso la metahemoglobina reductasa en unión con NADH producido por la vía de Embden-Meyerhof protege al hierro hem de la oxidación. Sin este sistema, el 2% de la metahemoglobina formada todos los días, puede llegar a elevarse a un 20 a 40% limitando gravemente la capacidad transportadora de oxígeno en la sangre (8).

d) **Ciclo de Rapaport-Luebering:** Es parte de la vía de Embden-Meyerhof. Evita la formación de 3-fosfoglicerato y ATP a partir del 1,3 difosfoglicerato (1,3 – DPG), lo que da lugar a la formación de 2,3 difosfoglicerato que es catalizado por una mutasa y difosfoglicerato sintetasa. Por tanto, el eritrocito sacrifica uno de sus

dos pasos en la producción de ATP, para formar el 2,3 DPG. El DPG se une con fuerza a la desoxihemoglobina, manteniendo a la hemoglobina en estado desoxigenado facilitándose la liberación de oxígeno. El incremento en la concentración de BPG facilita la liberación de oxígeno a los tejidos mediante la disminución en la afinidad de la hemoglobina para el oxígeno (5).

B. ERITROPOYESIS. Es un proceso ordenado por el cual se forman los eritrocitos manteniendo su número constante, en este proceso de regulación de producción de los nuevos eritrocitos están implicados distintos factores y mecanismos que en condiciones normales el balance entre producción y destrucción se mantiene a un ritmo sorprendentemente constante. Tanto hormonas endocrinas como exocrinas tienen importantes contribuciones a este mecanismo dinámico, bien controlado. (7) (Tabla 1).

Factores de Crecimiento	Otras Hormonas
Factor de célula madre	Andrógenos
Eritropoyetina	Corticosteroides
Interleucina -3	Tiroxina
GM - CSF	Prastaglandina E2
	Hormona de Crecimiento

Tabla 1. Hormonas que estimulan la eritropoyesis

Fuente: Mazza, Joseph. *Hematología Clínica.* 2004

La eritropoyesis se inicia hacia el día 15 a 18 de la vida embrionaria en el saco vitelino (fase mesoblástica), formándose eritrocitos nucleados. A partir del día 35 y hasta el 42, aproximadamente, la eritropoyesis tiene lugar en el hígado y el bazo (fase hepatoesplénica), y se inicia la formación de eritrocitos anucleados con un contenido prácticamente absoluto de hemoglobina fetal (HbF). Después del nacimiento y durante toda la vida adulta, la eritropoyesis

se aloja en la cavidad medular de los huesos (fase mieloide), especialmente en el esqueleto axial, vertebras, cráneo y extremos proximales (epífisis) de los huesos largos (8).

A partir de los 6 meses de edad, los eritrocitos son los propios de un individuo adulto normal, y su contenido mayoritario es HbA con una pequeña fracción de HbF (menor a 1%) y HbA₂ (2,5 – 3,5%). Conforme avanza la edad, el tejido hematopoyético es reemplazado por células grasas, aunque en ciertas circunstancias como, por ejemplo, un estímulo eritropoyético intenso o un trastorno mieloproliferativo, puede producir una reversión del fenómeno y un gran aumento de la regeneración eritroblastica (8).

La eritropoyesis se desarrolla en dos compartimentos funcionales y que al mismo tiempo son secuenciales en el proceso de diferenciación, y que están constituidos por células progenitoras y células precursoras, respectivamente. Las células progenitoras derivan directamente de la célula madre pluripotente (CMP), que debido a su elevado grado de inmadurez, no pueden ser identificada morfológicamente como pertenecientes a la serie eritroide. La dotación de todas estas células se mantiene siempre constante a lo largo de toda la vida gracias a un mecanismo de auto duplicación y, periódicamente algunas de ellas inician un proceso de diferenciación por el cual adquieren un compromiso madurativo hacia la línea eritroblastica. A partir de ese momento, se las conoce como progenitores comprometidos (*committed stem-cells*), ya que se transforman indefectiblemente en células precursoras eritroides (eritroblastos) y, finalmente en eritrocitos maduros (8).

En el proceso de la eritropoyesis, la primera célula progenitora comprometida es multilineal (granulocito /eritrocito /macrófago/ megacariocito) y se conoce como CFU-GEMM y se diferencia primero a BFU-E (unidad formadora de brotes eritroides) y más tarde a CFU-E (unidad formadora de colonias eritroides). Las BFU-E producen agregados de colonias de gran tamaño y aspecto coalescente, y cada BFU-E es capaz de formar una colonia con más

de 1000 células eritroides, cuya proliferación parece estar controlada por factores de crecimiento derivados de otras células sanguíneas normales, en especial de linfocitos y de macrófagos. Las CFU-E pueden producir colonias individuales de hasta 100 células y por tanto, su tamaño es mucho menor que las BFU-E. Las CFU-E son sensibles a la eritropoyetina, y esta sensibilidad aumenta con la diferenciación hacia eritroblastos (8).

La estimulación hormonal de las células madre eritroides comprometidas (BFU-E y CFU-E) conllevan a la proliferación, diferenciación y maduración de los precursores celulares en la médula ósea, así finalmente el progenitor CFU-E se transforma en el primer precursor o célula identificable morfológicamente como de línea eritroide conocida como proeritroblasto o pronormoblasto.

Estas células progenitoras son inducidas a proliferar y diferenciarse por algunos factores de crecimiento que actúan de manera sinérgica con la eritropoyetina, incluso el factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos (FEC-GM), interleucina -3 (IL-3) e Interleucina -4 (IL -4).

A cada paso en la diferenciación, las células toman cada vez más características específicas de los eritrocitos. En el periodo de UFC-E, las células desarrollan los antígenos Rh y los receptores de eritropoyetina (5).

1) *Maduración celular.* La maduración del llamado pronormoblasto sigue una secuencia definida y ordenada. En el proceso se da una disminución gradual del tamaño, junto a la condensación y finalmente la expulsión del núcleo. Al mismo tiempo que el pronormoblasto madura existe un aumento gradual de la producción de hemoglobina. Aunque estas etapas de maduración eritrocitarias son descritas paso a paso, la maduración real es un proceso gradual (5).

Los normoblastos por lo general tardan entre 5 a 7 días en la maduración y proliferación en el compartimento de la médula ósea. Después de la maduración en la médula ósea, el reticulocito es liberado dentro de los

senos medulares e ingresa a sangre periférica. El reticulocito liberado continúa su maduración en sangre periférica por un día más. El eritrocito maduro se mantiene circulante por 100 a 120 días.

En si los cambios celulares que se producen durante la eritropoyesis están dirigidos principalmente a: aumentar la cantidad de hemoglobina que puede transportar el eritrocito, disminuir la cantidad del ARN, eliminar el núcleo y eliminar las organelas citoplasmáticas (9) (ver Fig. 6)

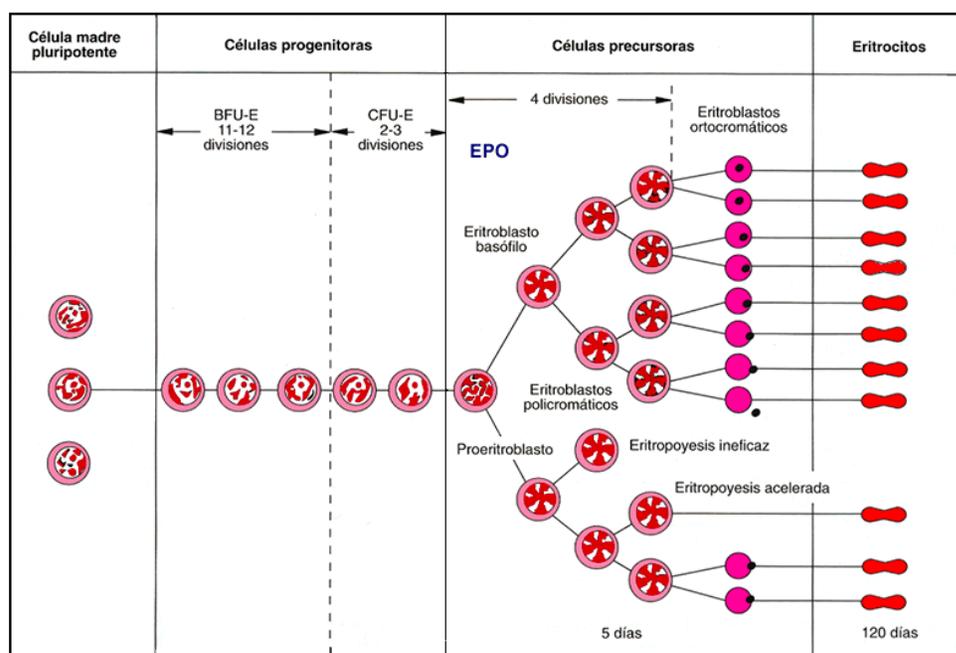


Fig 6. Esquema general de la eritropoyesis
Fuente: Sans- Sabrafen J. Hematología Clínica, 2006.

a) **Pronormoblasto.** Es el precursor más tempranamente reconocible es una célula unipotencial originada de la célula madre pluripotencial. Es asignada al linaje eritrocítico. Cada una de estas células genera alrededor de 8 a 32 eritrocitos maduros. Es una célula grande con un diámetro de 12 a 20 um de diámetro y un gran índice núcleo: citoplasma. El núcleo se tiñe de forma homogénea y contiene una fina red de cromatina denominada cromatina de encaje (predominio de eucromatina), en esta célula es característica la intensa basofilia

del citoplasma y la presencia de uno o dos nucléolos. Con frecuencia el aparato de Golgi aparece como una gran área sin teñir, que es adyacente al núcleo. El área sin teñir que rodea al núcleo, el denominado halo perinuclear, representa a la mitocondria. Se sintetiza hemoglobina, pero debido a la gran cantidad de ribosomas basófilos, esto pasa desapercibido.

- b) Normoblasto basófilo.** Es más pequeño que el pronormoblasto, con un tamaño que varía entre 10 y 16 μm . Es una célula redonda cuya relación núcleo: citoplasma disminuye. El citoplasma es más abundante y algo más oscuro que el del pronormoblasto. Existen cantidades variables de hemoglobina que pueden teñir al citoplasma con varias tonalidades rosas. El núcleo muestra un engrosamiento del patrón de cromatina y ausencia de nucléolos. Ocasionalmente un nucléolo llega a ser observado. Pueden observarse unas pocas masas de cromatina aglutinadas a lo largo del borde de la membrana nuclear. En ningún caso el citoplasma de estas células contiene células u organelas reconocibles mediante el microscopio óptico (5).
- c) Normoblasto policromatófilo.** Mide de 10 a 12 μm . La relación núcleo: citoplasma se halla disminuida. La cromatina nuclear es irregular y burdamente aglutinada (predominio de heterocromatina). El cambio más característico de esta etapa es la presencia de abundante citoplasma azul grisáceo. Las propiedades de coloración del citoplasma se deben a la síntesis de grandes cantidades de hemoglobina (acidófila) y cantidades disminuidas de ribosomas (basófilos), lo que confiere a la célula un color peculiar mezcla de rojo y azul (eritroblasto policromático) (8). Esta es la última etapa en la que puede realizarse mitosis.
- d) Normoblasto ortocromático.** Mide entre 8 a 10 μm de diámetro. El núcleo, el cual ocupa más o menos una cuarta parte del volumen

celular contiene cromatina muy condensada que aparece de una tonalidad azul oscuro. Los estadios tardíos están acompañados por un núcleo fragmentado, sin estructura (picnótico), que se halla localizado en forma excéntrica o excluido de forma parcial (5). En el citoplasma predomina el color rosa sobre el azul, debido a la intensa hemoglobinización por ello esta célula también es conocida también como normoblasto eosinofílico. Esta secuencia termina cuando el núcleo picnótico es expulsado por extrusión de la célula dando origen a un reticulocito inmaduro (8). Estos normoblastos no pueden sintetizar DNA y por tanto no logran dividirse. Se menciona que desde el proeritroblasto hasta esta etapa solo se dan tres divisiones mitóticas, siendo el intervalo intermitótico de 16 horas aproximadamente, por tanto este proceso se completa en aproximadamente 48 horas (5).

e) **Reticulocito.** El reticulocito inmaduro (reticulocito tipo I) permanece en medula ósea durante dos o tres días más. En el momento de expulsar el núcleo, el reticulocito tipo I (neocito) contiene dos tercios de su contenido final de hemoglobina, por lo que la síntesis de esta continúa durante dos o tres días hasta completarse. Ello conlleva a una disminución notable del RNA residual y las mitocondrias del citoplasma, además de una disminución del volumen celular, que se aproxima al del eritrocito maduro circulante. En este momento, el reticulocito ya maduro, atraviesa la pared sinusoidal de los capilares de la medula ósea y penetra en la circulación (10).

Los reticulocitos circulantes mantienen vestigios de RNA durante unas 24 horas más y finalmente se transforman en eritrocitos maduros (8).

Los reticulocitos son un poco más grandes (8 a 10 μm) que los eritrocitos y significan más o menos el 1% de los eritrocitos circulantes. Aproximadamente 65% de la hemoglobina de la célula se sintetiza durante los estadios normoblastos. El 35% restante de la hemoglobina se produce durante el estadio de reticulocito. Por lo regular, los reticulocitos contiene pequeñas cantidades de hierro las cuales son dispersadas a través del citoplasma en forma de hemosiderina o ferritina. El bazo es responsable de la remoción de estos gránulos en exceso y el eritrocito normal maduro carece de estas inclusiones granulares (5).

El termino reticulocito deriva de la apariencia que adquiere después de su exposición *in vitro* a ciertos tintes básicos como el azul de metileno nuevo, que se une al RNA además de otras estructuras las cuales se hallan particuladas como las mitocondrias y restos de ferritina (12).

f) Eritrocito. El eritrocito es un disco bicóncavo de aproximadamente 7 a 7,5 μm de diámetro y de 80 a 100 fL de volumen. Se tiñe de color rosa a naranja debido a la gran cantidad de proteína acidofila intracelular, la hemoglobina. La célula ha perdido su RNA residual así como sus mitocondrias y algunas enzimas importantes: por tanto es incapaz de sintetizar nuevas proteínas o lípidos. El promedio de vida normal del eritrocito es de 100 a 120 días.

En conjunto, el tiempo de formación de un eritrocito maduro es 5 a 7 días, desde la división del proeritroblasto hasta su salida de la medula ósea y su ingreso a sangre periférica (Fig. 7).

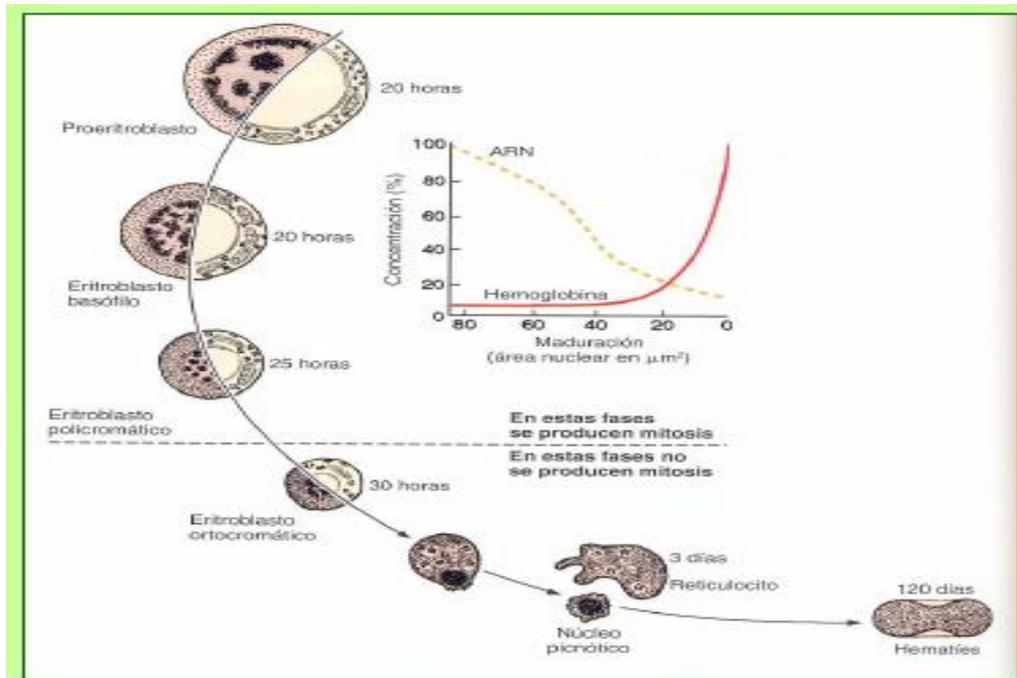


Fig 7. Proceso madurativo del eritrocito
Fuente: Izquierdo, J. Metabolismo del eritrocito. 2011.

2) Hormonas que intervienen en la eritropoyesis. La eritropoyesis es un proceso hormonalmente regulado, al menos dos hormonas han sido descritos con propiedades que inducen la producción de los eritrocitos, estas son la eritropoyetina y la testosterona (15).

a) Eritropoyetina. El gen de la EPO humana está localizado en el cromosoma 7, que presenta cinco exones y cuatro intrones y codifica una proteína de 193 aminoácidos (16). Durante la vida fetal, el hepatocito es la principal célula productora de eritropoyetina, después del nacimiento se sintetiza en las células peritubulares del riñón, y en menor medida, en el hígado y otros tejidos. Los astrocitos y los queratinocitos de la piel también producen eritropoyetina pero no pueden suplir el déficit de la eritropoyetina que se produce en enfermedades renales crónicas (17).

Es una glicoproteína de 34kDa y posee un alto contenido de carbohidratos (39%) distribuidos en cuatro grupos: tres N- glicosilaciones en los residuos de asparagina en las posiciones 24, 38 y 83 y una O-glicosilacion en el residuo de la serina en posición 126. Algunos de estos carbohidratos terminan en grupos de ácido siálico, que permiten la unión de la EPO a los receptores específicos de superficie de los precursores eritroides estimulando su diferenciación y maduración clonal. La presencia del ácido siálico sobre los grupos carbohidrato retarda la depuración hepática de la EPO y garantiza su estimulación más prolongada de los receptores eritroides (Ver Fig 8) (15).

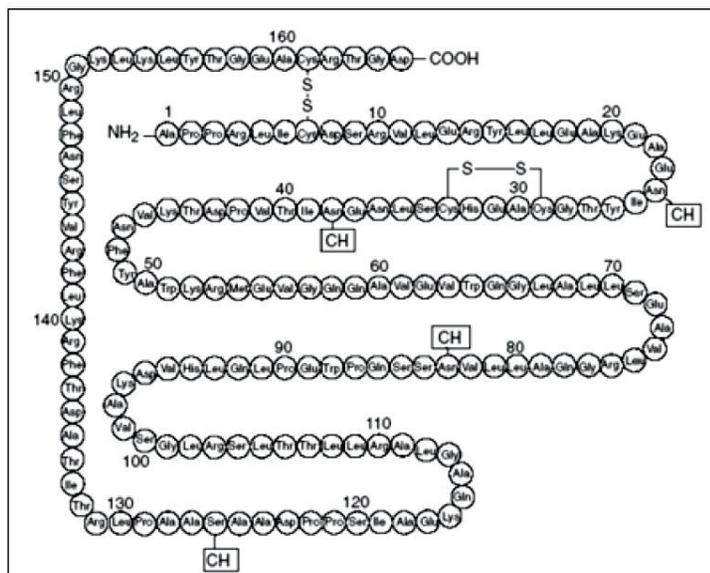


Figura 8: Estructura primaria de la eritropoyetina

Fuente: **Peñuela, O.** Eritropoyetina: Más allá de la proliferación y maduración eritroide, 2010

Otra característica importante de la estructura de la EPO son los dos enlaces disulfuro que posee, uno que se forma entre las dos cisteínas localizadas en las posiciones 7 y 161, y el otro entre las cisteínas de las posiciones 29 y 33. Su estructura terciaria está definida por cuatro hélices alfa anti paralelas con asas adjuntas, logrando así mantener la

conformación correcta que le permite unirse a su receptor; si la pierde, su actividad biológica es abolida (16).

La eritropoyetina cumple su función gracias a la unión con su *receptor (EPOr)*, esta es una proteína de 66 a 78 kDa conformada por tres dominios: uno extracelular, uno transmembranal y uno intracelular. Cuando una molécula de EPO se une a dos receptores localizados sobre la superficie de la célula, se induce a la fosforilación de las tirosinas del dominio intracelular, iniciándose así la cascada de señalización intracelular que regula la expresión génica que controla la supervivencia, proliferación y diferenciación de los precursores eritroides.

La EPO no solamente actúa sobre este tipo de células, sino que su actividad se ve en diferentes tejidos, como el nervioso, que es capaz de sintetizar EPO para su desarrollo, funcionamiento y protección en la isquemia, de manera que los pacientes anémicos tratados con EPO recombinante presentan una mejoría importante en su función cognitiva (17).

Debido a que se ha encontrado que la EPO puede ser producida por el SNC y por los órganos reproductores femeninos, se ha buscado ver cuál es su función y como es la regulación de la producción en estos sitios que son diferentes a las del riñón.

La función principal que tiene esta hormona es de estimular la producción de eritrocitos y la concentración de oxígeno en los tejidos es la que regula su producción. La hipoxia como tal induce la activación transcripcional de los genes de la EPO y el incremento de esta a su vez induce la producción de eritrocitos. La EPO actúa en el organismo por tres mecanismos diferentes autocrina, endocrina y paracrina. La acción endocrina se inicia en el riñón, donde la hipoxia da lugar a un incremento en la producción de la EPO por acción del

factor 1 inducible por hipoxia (HIF-1), la actividad paracrina se evidencia en las neuronas cerebrales, donde las células que producen EPO están en estrecha vecindad con las células receptoras y, finalmente algunas células cerebrales, que en determinadas situaciones como la isquemia tisular, producen su propia EPO, reflejándose así la actividad autocrina (16).

La interacción de la EPO con su receptor determina un cambio conformacional en las unidades del EPOr, con la activación de la maquinaria de transducción de señales intracelulares. Estas vías son muy complejas y recién comienzan a caracterizarse. La EPO se une a los receptores de superficie de los precursores eritroides en la medula ósea para regular su proliferación, maduración y supervivencia. Aparentemente estos receptores son expresados principalmente en la UFC-E y en los pronormoblastos. Los EPOr localizados sobre la superficie de las UFC-E son muy escasos, lo cual explicaría la poca sensibilidad de estas células a la EPO.

b) Testosterona. Los andrógenos, y básicamente la testosterona, son segregados por los testículos, pero también por los ovarios en la mujer (androstenediona) y por la corteza suprarrenal (principalmente dihidroepiandrosterona). En el hombre el 10% de los andrógenos tienen origen suprarrenal. Los testículos también producen estradiol que ejerce algunas acciones metabólicas y androgénicas.

Los andrógenos son esteroides derivados del ciclo pentanoperhidrofenantreno. La testosterona tiene 19 átomos de carbono, una doble ligadura entre el C4 y C5, un átomo de oxígeno en C3 y un hidroxilo en C17 (ver Figura 9). Esta estructura es necesaria para el mantenimiento de la actividad androgénica. La testosterona puede ser aromatizada en varios tejidos para formar estradiol (20).

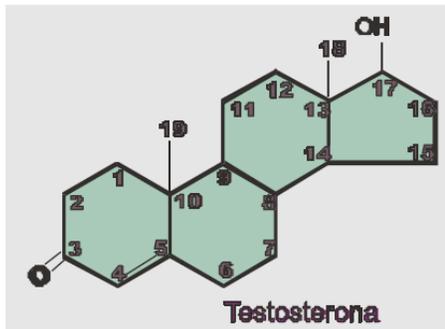


Fig 9. Estructura química de la Testosterona

Fuente: Margor – Valcecia. *Hormonas sexuales masculinas*, 2000.

La testosterona es una de las hormonas que se producen en las células intersticiales de Leyding, que están situadas en los intersticios existentes entre los túbulos seminíferos y que constituyen alrededor del 20% de la masa del testículo adulto. Las células de Leyding son casi inexistentes en los testículos en la niñez, en la que los testículos apenas secretan testosterona, pero muy numerosas en el recién nacido varón durante los primeros meses de vida y en el varón adulto en cualquier momento después de la pubertad (6).

Por otra parte la Hormona Luteinizante (LH) es el regulador específico de la producción de la testosterona. La LH suele ser llamada también *hormona estimulante de las células intersticiales (ICSH)*. La LH o ICSH, esta mediada por la activación de la adenilciclase y proteínas específicas reguladoras de nucleótidos de guanidina (proteínas G), para la producción celular intracelular de AMPc. Otras hormonas que influyen en grados variables a la síntesis de la Testosterona, son la Prolactina, el Cortisol, la Insulina, Estradiol y la Inhibina (20).

El AMPc activa la captación de acetato procedente de la glucosa o del metabolismo lipídico y la síntesis del colesterol en retículo endoplasmico liso. El colesterol es transformado por enzimas mitocondriales en pregnenolona, que es el precursor de la

testosterona, vía 17- α pregnenolona, dihidroepiandrosterona, androstenediona y finalmente testosterona (20).

Tras la secreción por los testículos, alrededor del 97% de la testosterona se une de forma laxa a la albumina plasmática o, con mayor afinidad, a una globulina beta denominada *globulina fijadora de hormonas sexuales*. De esta forma circula por la sangre durante periodos que oscilan desde 30 minutos a varias horas. En este intervalo, la fija a los tejidos o se degrada a productos inactivos que luego se excretan (6). La concentración plasmática de la testosterona en el adulto normal es de 300 a 800 ng/dL. Antes de la pubertad la concentración es menor a 20 ng/dL. En el hombre adulto el testículo produce entre 2,5 y 11 mg/día de testosterona. En la mujer los ovarios y las glándulas suprarrenales producen aproximadamente 0,25 mg/día de testosterona (20).

Esta hormona juega también un rol importante en la eritropoyesis, es por ello que se observa una concentración de hemoglobina más alta en el hombre adulto que en la mujer o en los niños.

Se ha observado que los andrógenos llegan a estimular la producción en el riñón de la eritropoyetina y la proliferación de progenitores eritroides. La diferencia en el recuento de glóbulos rojos tanto en mujeres y varones puede estar en parte estar relacionada a los efectos de los andrógenos sobre la producción de eritropoyetina; se ha observado que los varones adultos excretan cerca de tres veces más eritropoyetina bioactiva con la orina que las mujeres o varones pre púberes (48).

Fisher et al en 1968 aislaron riñones de perro y observaron una producción significativamente más alta de eritropoyetina cuando los riñones del animal fueron pretratados con testosterona (48).

Cabe mencionar que el efecto eritropoyetico de la testosterona no se ha observado en ratas nefrectomizadas bilateralmente, ni en ratas normales que previamente recibieron anticuerpos contra la eritropoyetina (20).

Otra explicación del efecto de esta hormona es que probablemente actúa directamente sobre la medula ósea a nivel de los eritroblastos policromatofilos o estimula la actividad de síntesis del RNA ribosomal en los precursores eritroides. Actualmente se ha observado efectos directos estimulantes de la eritropoyesis en cultivos de medula ósea por la testosterona. En este sentido fue demostrado un aumento del desarrollo del número de colonias eritroides BFU-E y CFU-E en placas de cultivo conteniendo testosterona (20). Entre otras varias explicaciones de la actividad de la testosterona sobre la eritropoyesis es su función sobre la ferrocínica, donde regula la actividad de la hepcidina, en asociación con la disminución de la retención del hierro esplénico favoreciendo la incorporación del hierro dentro de los eritrocitos (46).

Además, se ha observado que la testosterona estimula la producción de células rojas en varones de forma dosis – dependiente, especialmente en hombres mayores (15).

Si bien la testosterona promueve la eritropoyesis, los estrógenos inhiben este mismo proceso tanto a nivel renal como medular, *Peschle et al* observaron que se requiere del estradiol para reducir la producción de eritropoyetina y así disminuir el proceso de la eritropoyesis. Estos resultados indican que los andrógenos pueden inhibir como estimular el proceso de la eritropoyesis (48).

3) Regulación de la eritropoyesis. Como se había mencionado anteriormente el eritrocito dispersa receptores en la superficie de su

membrana para la eritropoyetina lo que activa una serie de cascadas de transducción de señales intercelulares que inicialmente producen la síntesis de hemoglobina y hace que los reticulocitos actúen de manera más rápida y estos sean liberados a la circulación (18).

El factor de transcripción Hif-1, presenta en su secuencia un aminoácido, prolina, cuyo radical es un grupo hidroxilo, el que se mantiene así en presencia de oxígeno. Ante condiciones normales de oxígeno, el radical de esta prolina siempre estará hidroxilado, lo que permite que sea reconocido y así se unirá al Hif alfa, para que luego sea destruido en el sistema proteosomal (18).

En el caso de una hipoxemia, donde la hidroxilación no es posible debido a la falta de oxígeno, el Hif-1 no se hidroxila, por lo que quedara susceptible a unirse a otra subunidad que es el Hif-1 beta y solamente cuando alfa y beta están unidos, se encontrara el factor de transcripción óptimo para que pueda unirse a regiones promotoras y funcione como un factor de transcripción para síntesis de eritropoyetina.

Una vez que la eritropoyetina se une a su receptor específico, estimula a las colonias eritroides maduras (CFU-E). El proceso molecular que ocurre cuando una molécula de EPO activa a su receptor es inducir su dimerización y el cambio conformacional que es necesario para la activación, esta es mediada por la transfosforilación de la proteína Janus tirosina quinasa (JAK2), que se encuentra unida al receptor en el dominio transmembranal. A su vez la JAK2 fosforila ocho residuos de tirosina en el dominio citoplasmático del EPOr, los que sirven de sitios de acople para varias proteínas de señalización intracelular. Estas proteínas son fosforiladas y activadas en sus residuos de tirosina.

Una de estas proteínas es el transductor de señal y activador de la transcripción o STAT5, que se disocia del EPOr y se transloca al núcleo

para activar numerosos genes blanco, tales como el Bcl-x que es un inhibidor de la apoptosis (16).

La expresión de la proteína STAT5 declina rápidamente en los estadios finales de la maduración eritroide (eritroblasto policromatofilo y ortocromático). La inhibición de la apoptosis por vía EPOr activado – JAK2, es fundamental para la diferenciación eritroide (16).

La EPO así mismo induce la activación de otros elementos que incluyen por ejemplo, la proteína Shc y la fosfolipasa C γ 1 (inducen la proliferación celular) y la fosfatidil inositol quinasa 3 (PI3K) que promueve la sobrevivencia eritroide.

Así mismo, la EPO induce la expresión del factor transcripcional GATA-1, un factor fundamental en el control de la diferenciación eritropoyética; los niveles más altos de GATA-1 son los encontrados en las UFC-E y en los proeritroblastos.

Por último, se ha demostrado que la regulación del calcio intracelular por la EPO es otro de los mecanismos de señalización que controlan la proliferación y diferenciación de las células eritroides, a través de los canales de calcio independientes de voltaje. La EPO estimula la entrada de calcio a la célula, no solamente en ciertos progenitores eritroides como las UFC-E, sino también en células no eritroides (Ver Fig. 10) (16).

Además de la hipoxia tisular se identificaron otros factores que podrían influir en la estimulación de la producción de eritropoyetina. Se conoce que la testosterona estimula la eritropoyesis. A continuación se describirán algunos mecanismos por los cuales se regula la eritropoyesis: la regulación por presión de oxígeno y la regulación mediada por la testosterona.

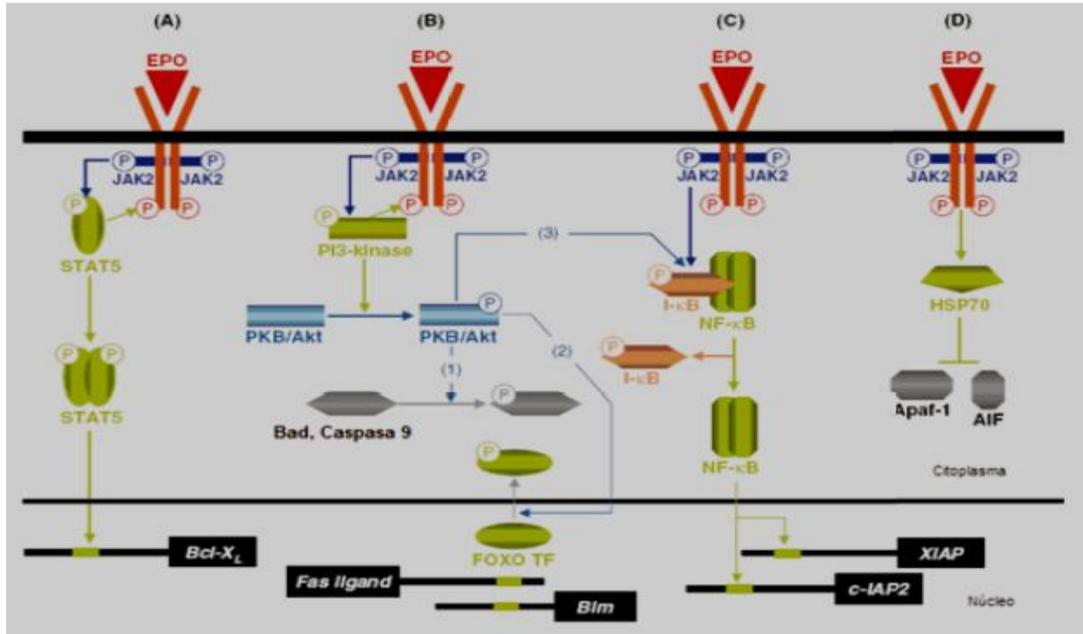


Fig 10. Representación esquemática de las vías de unión de la EPO a su receptor
Fuente: Peñuela, O. Eritropoyetina: más allá de la proliferación y la maduración eritroide, 2010.

a) **Regulación por presión de oxígeno.** Principalmente ocurre en el caso de la hipoxemia, en una anemia, o en una isquemia renal.

La tensión tisular de oxígeno depende de la oferta y la demanda de oxígeno en el organismo. El suministro de oxígeno es una función compleja de esta interacción, pero las variables son semi-independiente, incluyendo el flujo de sangre, la concentración de hemoglobina en la sangre, la saturación de oxígeno de la hemoglobina, y la afinidad por el oxígeno de la hemoglobina. Cada una de estas funciones se puede alterar para compensar la deficiencia (16).

Así en el caso de una anemia grave, el gasto cardíaco y la frecuencia respiratoria puede aumentar, y la afinidad por el oxígeno de la hemoglobina puede reducirse a través del efecto de 2,3-difosfoglicerato. En caso contrario, en una insuficiencia respiratoria, se produce policitemia secundaria.

En el caso de la policitemia secundaria moderada, esta conduce a una tensión de oxígeno aumentada y a una mayor tolerancia a la hipoxia. Estos cambios se producen a pesar del aumento en la viscosidad de la sangre que acompaña a la policitemia, lo que sugiere que la resistencia vascular periférica disminuye para compensar el aumento de la viscosidad. Sin embargo, con grados avanzados de policitemia, el aumento de la viscosidad puede ser suficiente para anular las ventajas del aumento de la capacidad de transporte de oxígeno.

La hipoxia tisular es el estímulo fundamental para la regulación de la eritropoyesis tal y como lo sugirió Miescher en 1983, la hipoxia estimula la producción de EPO, estos sensores se encuentran dentro del riñón y la producción de EPO puede ser inducida por la constricción de la arteria renal o por perfusión hipóxica del riñón aislado.

En hipoxia, el principal mecanismo que activa la transcripción del gen es un “potenciador” de esta, activado por los factores de transcripción inducibles por hipoxia (HIFs). El factor HIF-2 es el principal factor de transcripción implicado en la expresión de la eritropoyetina como se ha descrito más arriba.

El mecanismo por el cual la hipoxia conduce a la síntesis de EPO se ha determinado por una secuencia localizada en una región que flanquea el extremo 3' del gen de la EPO, la cual, es oxígeno sensible y está implicada en la regulación de su expresión. El ligando para este potenciador sensible al oxígeno posee un peso molecular de 120kDa, esta proteína es denominada factor inducible por hipoxia 1 (HIF - 1) y está estrechamente regulada por la tensión de oxígeno intracelular y sirve como regulador fisiológico de la transcripción de EPO (16).

Estos HIFs, son factores de transcripción heterodiméricos compuestos de dos subunidades, una proteína lábil al oxígeno, HIF - α , y una

subunidad β expresada constitutivamente, HIF - β . Son tres genes presentes en el genoma humano, HIF1A, HIF2A y HIF3A, lo que codifican las diferentes isoformas de HIF- α , en esta caso HIF- α se refiere a HIF-1 α o HIF-2 α .

La concentración y actividad transcripcional de HIF - α , aumenta en forma geométrica después de la exposición a la hipoxia. El mRNA de HIF- α se expresa constitutivamente en condiciones de normóxia, pero la proteína se degrada rápidamente a través del complejo proteosomal.

Bajo condiciones de hipoxia, poco o nada de la hidroxilación de prolina se lleva a cabo; por lo tanto, la HIF - α , se acumula en el núcleo, heterodimeriza con HIF - β , y recluta a los coactivadores transcripcionales p300 con todo el complejo y luego se une al potenciador de EPO para influir positivamente en la actividad y la transcripción de genes para promover la síntesis de EPO. El reclutamiento de p300 en el complejo en sí puede ser inhibida por hidroxilación de asparagina (Asp 803) en HIF- α , que es catalizada por la asparaginil -hidroxilasa, otra enzima sensible al oxígeno.

Esto indicaría que estas dos hidroxilasas de aminoácidos, actuarían en el riñón, como sensor de oxígeno en las células intersticiales productoras de EPO, y, mediante la regulación de la función de HIF - α en dos puntos distintos, finalmente se controlaría la síntesis de EPO y su producción (16).

Una vez sintetizada la EPO, esta actuaría directamente sobre los progenitores eritroides (UFB-E y las UFC-E), controlando su proliferación, diferenciación y supervivencia. Para ello junto a con su acción mitogenica, disminuye la apoptosis celular y se activa la diferenciación de las UFC-E a proeritroblastos. Y junto a esta acción

se incrementa la expresión de los receptores de la transferrina favoreciendo así su maduración final a eritrocitos (8).

b) Regulación mediada por testosterona. La testosterona inhibe directamente la señalización de BMP (bone morphogenetic protein, proteína citoplasmática) en los hepatocitos que conducen a la supresión de la transcripción de hepcidina.

La hepcidina actúa bloqueando el flujo de hierro celular hacia el plasma a partir de los macrófagos que reciclan el hierro, desde los depósitos hepáticos y de los enterocitos de absorción. Los precursores de los eritrocitos utilizan el hierro que, al estar limitado por un aumento en la producción de testosterona, lleva rápidamente a la hipoferremia.

La hepcidina se libera a la sangre en respuesta a niveles elevados de hierro sérico o como resultado de una inflamación. Al llegar a sus tejidos diana, se une a la ferroportina y posteriormente es responsable de su internalización y degradación. Reduce la disponibilidad de hierro a través de dos mecanismos: disminución de la absorción por el tracto intestinal y la inhibición del flujo de hierro a través de la ferroportina, los macrófagos y hepatocitos con disminución de la liberación de hierro desde el sistema retículo endotelial.

Como los eritrocitos de la médula ósea continúan utilizando hierro en su proceso de maduración, el hierro plasmático se depleta en pocas horas, produciendo la hipoferremia. Por lo tanto habrá una inhibición de la producción de hepcidina y eventualmente un bloqueo de la respuesta eritropoyética (16).

La testosterona regula el alza de la expresión de GATA-1 y los genes GATA-dependientes, lo que podría aumentar la sensibilidad de EPO y estimular la eritropoyesis. Por otro lado, la testosterona produce un

metabolito activo por la enzima aromatasa llamado estradiol (E2), que también puede regular la transcripción de hepcidina (16).

C. ERITROCITOSIS.

En la práctica diaria se emplean los términos Eritrocitosis, Poliglobulia y Policitemia para designar el aumento del número de hematíes circulantes por encima de los valores normales, sin especificar si se trata de un aumento real o relativo (19).

Habitualmente se emplean indistintamente los tres términos aunque el término policitemia se considera más apropiado para designar a la eritrocitosis primaria o *policitemia vera* y el de solo eritrocitosis para las formas secundarias.

El examen analítico del hemograma que mejor se relaciona con la masa eritrocitaria es el hematocrito, así si un hematocrito superior al 60% en varones y de 56% en mujeres sugieren una eritrocitosis absoluta. Los valores superiores al 51% en varones y al de 48% en mujeres corresponde a eritrocitosis absoluta o relativa, siendo necesario en estos casos la determinación de la masa eritrocitaria por técnicas isotópicas.

En el caso de las eritrocitosis relativas, debido generalmente a la disminución del volumen plasmático, se produce una discreta elevación de la hemoglobina, sin que se de en estos casos un aumento de la masa eritrocitaria (19).

Las poliglobulias (eritrocitosis) pueden producirse a través de diferentes orígenes y mecanismos. Basta, por ejemplo, la existencia de una hipoxia histica ($Sa O_2 < 92\%$) derivada de una insuficiencia respiratoria para que se produzca un incremento secundario de eritropoyetina directamente responsable de la poliglobulia, enfermedades respiratorias, grandes alturas, enfermedades cardiovasculares (21); o bien que se instaure una patología que sin existir hipoxia alguna, determine una producción excesiva de eritropoyetina (como ocurre en algunos tumores) para que se produzca

también poliglobulia. Junto a estos diversos mecanismos existen otros cuyo vehículo es el tejido hematopoyético propiamente dicho y que desencadena la poliglobulia por afectar a la célula germinal pluripotente y de forma más importante a la célula germinal específica, responsable directa de la eritropoyesis. En esta situación, la poliglobulia real que se origina no es secundaria a un aumento de la producción de eritropoyetina, sino primaria y derivada de una excesiva producción de hematíes, que aumenta el volumen de estos (8).

Como se mencionó la poliglobulia secundaria se presenta cuando el tejido se vuelve hipoxico debido a una disminución parcial del oxígeno en la altura, o porque el oxígeno no llega a los tejidos de forma apropiada, desencadenando en el paciente otras alteraciones que afectan sus condiciones de vida. Este tipo de eritrocitosis secundaria aparece en individuos que viven en altitudes por encima de los 2000 msnm, donde el oxígeno atmosférico es muy bajo (6).

Así mismo, la eritrocitosis relativa debida a pérdida de volumen plasmático (p. ej., en la deshidratación grave, quemaduras) no representa un verdadero incremento en la masa eritrocitaria total.

El aumento de eritrocitos con tamaño normal, con un supuesto volumen plasmático también normal, depara en un aumento de la masa o volumen eritrocitario y ello da lugar a la complicación fundamental de las eritrocitosis que es la hiperviscosidad sanguínea, dificultad de flujo intravascular (con disminución del suministro de oxígeno a los tejidos) con riesgo de lesión tisular isquémica (21) (22).

1) Causas de la Eritrocitosis.

La policitemia o eritrocitosis puede ser debida a varias causas, así la policitemia absoluta que a su vez puede ser clasificada en primaria o secundaria; en el caso del tipo primaria (policitemia vera) se debe a un

aumento de las células madre mieloides y se presenta en síndromes mieloproliferativos.

Existe a su vez poliglobulias transitorias que pueden ser debidas a diferentes situaciones: pérdidas importantes por vómitos y diarrea, fiebre, sepsis, cetoacidosis diabética, perdidas plasmáticas en quemados o por intoxicación etílica; sin embargo estas situaciones se resuelven con el adecuado aporte externo de fluidos. Otro ejemplo de poliglobulia relativa es el síndrome de Gaisböck que consiste en la presencia de moderada elevación del hematocrito sin elevación de la masa celular eritroide de manera crónica. Se atribuye a la disminución en la complianza venosa y suele observarse en hombres obesos, de edad media, fumadores e hipertensos. La importancia de esta patología radica en el elevado riesgo de desarrollar complicaciones vasculares trombóticas debido a la obesidad, la hipertensión arterial (HTA) y hábito tabáquico asociados. El tratamiento debe ir dirigido a corregir los factores de riesgo cardiovascular (19).

Entre otras causas de las eritrocitosis se encuentran: las neoplasias productoras de eritropoyetina (p. ej., hipernefroma, hemangioma cerebeloso), hipoxemia crónica (p. ej., grandes alturas, afección pulmonar), exceso de carboxihemoglobina (p. ej., fumadores), variantes de hemoglobina de alta afinidad, síndrome de Cushing y exceso de andrógenos.

a) Policitemia vera. Es el resultado de la proliferación anormal de una célula madre pluripotente, que da lugar a una hematopoyesis clonal de hematíes, granulocitos y plaquetas, predominando la hiperplasia eritroide sobre el resto de las líneas hematopoyéticas, esta es considerada como policitemia primaria.

Los primeros estudios de clonalidad en la PV se llevaron a cabo por Adamson y Fialkow en 1976, a través del estudio de las isoenzimas

de la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa, demostrándose que los hematíes, los granulocitos y las plaquetas tenían la misma isoenzima, lo que demostró la clonalidad y su origen en una célula madre hematopoyética pluripotente. Análisis posteriores, utilizando diversas técnicas moleculares de estudio de la clonalidad, señalan que el 60 a 80% de los pacientes con PV presentan un patrón clonal.

Las colonias formadoras de unidades eritroides (CFU-E) normales requieren eritropoyetina para preservar su papel esencialmente progenitor frente al mecanismo abortivo de la apoptosis. En los cultivos *in vitro* de progenitores hematopoyéticos de pacientes con PV, si bien se ha demostrado sensibilidad de los progenitores a la acción de la eritropoyetina, se ha evidenciado, la formación de colonias Epo-independientes. Se han observado valores elevados de la proteína Bcl-xL, inhibidora de la apoptosis, lo que podría explicar el por que estas colonias pueden sobrevivir sin eritropoyetina. Por el contrario, las colonias eritroides de sujetos normales afectados de eritrocitosis secundaria, expresan valores de proteína Bcl-xL muy disminuidos o ausentes (59).

Adicionalmente se ha constatado que el receptor de la trombopoyetina (c-Mpl) se halla también disminuido, circunstancia que sugiere que la proliferación y diferenciación de los megacariocitos en la PV es independiente de la trombopoyetina. Se trata de una situación análoga a la de la eritropoyetina y la CFU-E. Por todo ello, cabe considerar que la PV se origina a partir de la proliferación anómala de una célula madre pluripotente que adquiere así diversas alteraciones genéticas entre las que cabe incluir las que afectan a la trombopoyetina y al sistema Bcl-2 (5).

La policitemia vera clínicamente se caracteriza por esplenomegalia, complicaciones hemorrágicas y tromboticas, astenia, cefalea y gota.

En medula ósea se observa una hiperplasia global. Las principales causas de morbilidad y mortalidad son las complicaciones tromboticas. Las trombosis arteriales se presentan fundamentalmente en la circulación cerebral, coronaria y arterial periférica, mientras que las trombosis venosas inciden en venas profundas de miembros inferiores, pudiendo complicarse con embolismo pulmonar (19).

b) Eritrocitosis secundaria:

b.1 Debida a la altura. En zonas de elevada altitud, como consecuencia de la situación de hipoxia se produce hiperventilación generando una eritrocitosis secundaria que es la manifestación hematológica de la llamada Enfermedad Crónica de la Altura o enfermedad de Monge, que se manifiesta clínicamente por el síndrome de hiperviscosidad sanguínea y cianosis (23).

La hipoxia tisular estimulara la producción de EPO q a su vez intervendrá en el proceso de la eritropoyesis generando mayor producción y liberación de glóbulos rojos al torrente sanguíneo. Para entender todo este proceso debemos considerar el intercambio gaseoso de oxígeno que se da a nivel pulmonar que a grandes alturas se halla disminuido lo que genera la hiperventilación, este es sin embargo un mecanismo adaptativo a esta situación (24).

b.2 Enfermedades respiratorias crónicas. Este grupo de enfermedades se caracteriza por presentar hipoxemia arterial crónica como consecuencia de la pérdida de tejido pulmonar y la alteración en el intercambio de gases.

Debido a la baja saturación de oxígeno se estimula la producción renal de EPO, lo que provoca el aumento de la masa eritrocitaria y de la liberación de oxígeno a los tejidos. En los pacientes con patología pulmonar grave, la presión arterial de oxígeno es inferior a 67 mmHg,

lo que estimula la secreción excesiva de EPO. El tratamiento con oxigenoterapia crónica mejora la situación de hipoxia y reduce levemente las cifras del hematocrito. Las flebotomías han demostrado ser un método eficaz para reducir la masa eritrocitaria en este grupo de pacientes. En pacientes con eritrocitosis se recomienda realizar flebotomías de manera periódica.

b.3 Alteraciones cardiopulmonares por comunicación derecha-izquierda En pacientes con enfermedad cianótica congénita que presentan un hematocrito superior al 80% se ha relacionado la elevación del hematocrito con la aparición de eventos tromboticos pulmonares y cerebrales. Estos pacientes presentan, además, alteraciones de la coagulación secundarias a disfunción hepática y a coagulopatía crónica.

Las flebotomías son un tratamiento eficaz en aquellos pacientes que presentan síntomas de hiperviscosidad.

b.4 No hipoxémicas con secreción inadecuada de eritropoyetina. Puede darse en casos de eritrocitosis secundarias a tumores, donde la secreción de EPO es independiente de la hipoxia. Los tumores renales (carcinoma renal, tumor de Wilms) representan aproximadamente un tercio de los casos de eritrocitosis asociados a tumores. También se observa eritrocitosis en pacientes con carcinoma hepatocelular, tumores de ovario o en el hemangioblastoma cerebelar. La EPO es producida por el tejido tumoral, resolviéndose la eritrocitosis, por tanto, con la eliminación del tumor.

c) **Eritrocitosis de origen genético.** Existen defectos ya sea a nivel morfológico o metabólico del eritrocito que puede originar eritrocitosis secundaria. Podemos mencionar los casos siguientes:

c.1 Hemoglobinas con alta afinidad por el oxígeno. Existen más de 100 mutaciones de la hemoglobina que implican mayor

afinidad de la hemoglobina por el oxígeno y disminución de la capacidad liberadora de oxígeno, lo que provoca la eritrocitosis compensadora. Se trata de eritrocitosis benignas en las que el paciente se mantiene habitualmente asintomático. El diagnóstico se realiza mediante la P50 (presión parcial de oxígeno en la que la hemoglobina está oxigenada en un 50%). En estos pacientes, las flebotomías no aportan beneficio alguno, por el contrario disminuyen la tolerancia al ejercicio. Los niveles de EPO pueden ser normales o pueden estar ligeramente elevados (59).

c.2 Deficiencia de 2,3-difosfoglicerato eritrocitario. El 2,3- difosfoglicerato es sintetizado por la vía de las pentosa fosfato (pág. 31). Esta es una rara alteración congénita de la serie roja, producida por la deficiencia de la bifosfoglicerol mutasa. Esta enzima se encarga de modificar la configuración de la hemoglobina para facilitar su capacidad de fijación al oxígeno. Habitualmente se encuentra en concentraciones elevadas en la serie roja, pero en esta patología existe una deficiencia de la misma que se traduce en una mayor afinidad por el oxígeno y una disminución de la capacidad liberadora de oxígeno en los tejidos, derivando en una eritrocitosis compensadora. El diagnóstico se establece realizando la prueba P50 que se encuentra baja, junto a la disminución de la 2,3-difosfoglicerato (59).

c.3 Metahemoglobinemia congénita. La principal causa de la metahemoglobinemia congénita es la deficiencia en la citocromo b5 reductasa. Otras causas menos frecuentes son las alteraciones de las globinas. Estos pacientes presentan una coloración cianótica de la piel y las mucosas, debido al distinto espectro de absorción de la metahemoglobina en comparación con la oxihemoglobina. Clínicamente pueden presentar cefalea y astenia

ante pequeños esfuerzos. Las cifras de metahemoglobina en estos pacientes suponen el 40% del total de la hemoglobina.

d) Mutaciones del receptor de la eritropoyetina. Las mutaciones que se producen en la porción C-terminal citoplasmática de EPO-R presentan un aumento de sensibilidad a la EPO, y una prolongada autofosforilación EPO-inducida de JAK2, que estimula la proliferación de progenitores eritroides. Los pacientes afectados son usualmente asintomáticos cuyos progenitores eritroides presentan hipersensibilidad a la eritropoyetina exógena.

e) Eritrocitosis familiares idiopáticas. Se denominan también eritrocitosis benigna o eritrocitosis autosómica dominante y representan una causa rara de eritrocitosis.

A pesar de ser considerada benigna, puede predisponer a problemas cardiovasculares graves. Analíticamente se caracteriza por presentar:

a) aumento de la masa eritroide, pero no de la serie leucocitaria ni plaquetaria; b) niveles de vitamina B12 normales; c) curva de disociación de oxígeno-hemoglobina normal; d) niveles séricos de EPO bajos, y e) hipersensibilidad a la EPO de los progenitores hematopoyéticos *in vitro*.

La lesión molecular causante de este cuadro parece estar localizada a nivel del receptor de la EPO. Se han descrito 12 mutaciones a este nivel, de las cuales 9 producen alteraciones en su extremo citoplasmático carboxi-terminal y se asocian a esta patología (19).

f) Eritrocitosis de mecanismo desconocido

f.1 Eritrocitosis idiopática adquirida. Se trata de un grupo heterogéneo de patologías que incluye eritrocitosis secundarias de causa no filiada, formas latentes de policitemia vera, etc. Presentan eritrocitosis absoluta, sin causa aparente, y sin cumplir criterios de policitemia vera. Deben tener cifras normales de EPO,

de plaquetas y leucocitos con saturación de oxígeno arterial normal. Algunos casos pueden evolucionar a policitemia vera.

f.2 Post- trasplante renal. La eritrocitosis post-trasplante renal ocurre en el 15% de los casos. Habitualmente se desarrolla entre los 8 y 24 meses post-trasplante, y se soluciona de manera espontánea en el 25% de los pacientes en los dos primeros años. Son factores predisponentes para su aparición ser varón, fumador, diabético, presentar estenosis de la arteria renal trasplantada, niveles bajos de ferritina o niveles de EPO normales o elevados previo al trasplante. Cuando el Hto es superior al 60% tienen mayor riesgo de episodios trombóticos. En estos pacientes a pesar de que los niveles de EPO pueden encontrarse dentro del rango de la normalidad, las cifras de EPO siguen siendo inadecuadas al grado de eritrocitosis.

2) Tratamiento

En el caso de una eritrocitosis secundaria, es obvio que el tratamiento de la causa, si es posible, es el objetivo principal. El tratamiento recomendado usualmente es la sangría (flebotomía) cuando las cifras de hematocrito (Hto) son mayores de 60% (tomando en cuenta los valores de referencia en altura, donde el valor hematocrito en mujeres es de 45 a 50% y para varones de 50 a 55%), se considera un método eficaz para reducir la masa eritrocitaria y la hiperviscosidad. Se recomienda realizar dos o tres sangrías en un plazo de 7 a 14 días. Es recomendable la reposición hipovolémica con suero salino, muy especialmente en ancianos o en pacientes con riesgo arterioesclerótico. Independientemente de la causa, otros tratamientos como la administración de fósforo radiactivo o hidroxiurea también son considerados en pacientes con policitemia vera confirmada.

VI. HIPOTESIS

1. **Hipótesis Nula (H_0):** No existe relación estadísticamente significativa entre la eritrocitosis patológica de altura y los valores hormonales de testosterona en los pacientes en estudio.
2. **Hipótesis Alternativa (H_i):** Existe relación estadísticamente significativa entre la eritrocitosis patológica de altura y los valores hormonales de testosterona en los pacientes en estudio.

A. ESTRATEGIA DE EJECUCION

Para confirmar o rechazar las hipótesis de trabajo y al mismo tiempo responder a la pregunta de investigación, se realizó la determinación de la concentración de la Testosterona, el Valor Hematocrito, Estradiol, Eritropoyetina, Hierro y Ferritina; para establecer la relación de la Testosterona (variable independiente) con los otros parámetro de estudio antes indicados (variables dependientes).

VII. OPERACIONALIZACION DE LAS VARIABLES

Variable	Definición	Dimensión	Tipo de Escala	Indicador
Edad	Tiempo transcurrido desde el nacimiento por el número de años	Biológica Continua	Intervalo	Años
Género	Termino que hace referencia a la diferencia biológica, social y psicológica de hombres y mujeres	Biológica Discreta	Nominal	Masculino Femenino
Variable independiente: Testosterona	Hormona esteroide del grupo andrógeno, producida principalmente en los testículos en varones, y los ovarios en las mujeres.	Biológica Continua	Nominal	Concentración (ng/dL)

Variables dependientes: Hierro sérico Ferritina	Marcadores biológicos que indican el proceso de metabolismo del hierro en el organismo.	Biológica Continua	Nominal	Concentración ng/mL
Variable dependiente: Hematocrito	Es la relación entre el volumen de glóbulos rojos y el volumen total de sangre.	Biológica Continua	Intervalo	Porcentaje
Variable dependiente: Eritropoyetina	Hormona secretada principalmente por el riñón en el adulto y por el hígado en el feto, que estimula la producción de glóbulos rojos	Biológica Continua	Nominal	Concentración (mUI/mL)
Variable dependiente: Estradiol	Hormona esteroidea sexual femenina, cuya concentración disminuye después de la menopausia.	Biología Continua	Nominal	Concentración (pg/mL)

VIII. DISEÑO METODOLÓGICO

A. TIPO DE INVESTIGACIÓN

Se trató de un estudio de investigación de tipo observacional prospectivo de corte transversal analítico.

B. POBLACION EN ESTUDIO

La población en estudio para esta investigación estuvo constituido por 59 pacientes, tanto mujeres y varones cuya edad oscilaba entre 23 y 79 años, cada uno de los cuales presenta eritrocitosis como enfermedad de base, se trataron de pacientes externos que asistieron a la Unidad de Hematología del Hospital de Clínicas realizando sus controles respectivos debido a esta patología durante los meses de enero a octubre de la gestión 2014; a cada uno de los cuales se les realizo un cuestionario (Anexo 1) previo Consentimiento Informado (Anexo 2). El muestreo realizado para el estudio

fue de tipo no aleatorio debido a que la población en estudio fue determinada mediante proceso de selección en base a los siguientes criterios:

1) Criterios de Inclusión

- Pacientes externos que asistieron a la Unidad de Hematología del Hospital de Clínicas, cada uno de los cuales presenta eritrocitosis como enfermedad de base.
- Pacientes eritrocíticos cuya función cardio respiratoria se halle dentro de parámetros normales.
- Pacientes eritrocíticas mujeres post-menopáusicas.

2) Criterios de Exclusión

- Pacientes con patología endocrina o pacientes que estén empleando terapia hormonal.
- Pacientes con patología cardio – respiratoria.
- Pacientes que no consintieron su participación en este estudio.

C. AMBITO DE ESTUDIO

El presente trabajo de investigación se realizó en la ciudad de La Paz, en la zona de Miraflores, donde se halla ubicado el “Hospital de Clínicas”, que cuenta con varios servicios a disposición de la población; entre los servicios prestados se halla la Unidad de Hematología a cargo de la Dra. Mónica Guzmán, a esta unidad de servicio asisten pacientes externos, además de que se cuenta con una sala de internación de la especialidad; al mismo tiempo se realizan interconsultas de pacientes que se hallan en otros nosocomios todos ellos con alguna alteración hematológica en estudio.

Siendo los pacientes externos que acuden a este servicio los participantes de este estudio, fue en este ambiente donde se realizó el levantamiento de datos y la toma de muestras en una primera etapa (enero a febrero de 2014).

Durante los meses posteriores de marzo a octubre de 2014; la recolección de muestras, el levantamiento de datos se realizó en el Instituto SELADIS.

El procesamiento de cada una de las muestras obtenidas en este periodo de tiempo fue realizado en los laboratorios de Hematología, Endocrinología y Bioquímica Clínica del Instituto de Servicios de Laboratorio de Diagnóstico e Investigación en Salud “SELADIS” ubicado en la zona de Miraflores No.2224. Este instituto de tercer nivel realiza análisis de laboratorio de baja, mediana y alta complejidad contando para ello con once unidades de laboratorio cuya finalidad de trabajo es brindar exámenes de laboratorio fidedignos que contribuyan al bienestar del paciente ya sea para control, seguimiento o diagnóstico de alguna patología.

D. ASPECTOS ÉTICOS

- Se consideró para este estudio los principios enunciados en la Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial, esta es una propuesta de normas éticas que sirven para orientar a médicos y otros profesionales que realizan investigación en seres humanos y que incluye la investigación en material biológico proveniente de los mismos. Según esta Declaración se debe brindar a cada uno de los pacientes el Consentimiento Informado, que consta de la Evaluación Informada y del Formulario de Consentimiento Informado propiamente. (Anexo 2 y 2A), para que pueda participar de un estudio de forma voluntaria.
- En retribución de la participación en este estudio, los pacientes contaron con la entrega de los resultados de análisis del Valor Hematocrito, Valores Hormonales y de determinación de Hierro y Ferritina.
- La participación en este estudio no represento ningún riesgo al paciente, dada que la toma de muestra sanguínea fue realizada por personal capacitado para este cometido.

E. MATERIALES Y MÉTODOS

1) Método: Quimioluminiscencia

La quimioluminiscencia (QL) se define como la emisión de radiación electromagnética (normalmente en la región del visible o del infrarrojo cercano) producida por una reacción química. Como la intensidad de emisión está en función a la concentración de las especies químicas implicadas en la reacción, entonces es posible cuantificar al analito de estudio. La aplicación de la quimioluminiscencia se llevó a cabo gracias al estudio de varias sustancias como el luminol y la lucigenina (49).

2) Equipo

El equipo empleado para la cuantificación de la Ferritina, Estradiol, Testosterona y Eritropoyetina fue INMULITE 1000, que es un equipo automatizado que cuenta con un sistema complejo que monitorea de manera constante los reactivos, identificando las muestras mediante código de barras al igual que el tipo de pruebas a ser realizadas en cada una de las muestras; debido a su elevada especificidad y sensibilidad se ha empleado esta técnica/equipo en la detección de marcadores tumorales y hormonas principalmente.



Equipo: INMULITE 1000

3) Obtención de la muestra

- ✓ Mediante punción venosa se obtuvo la cantidad de sangre requerida; a partir de las venas de la flexura del codo (vena mediana basílica, vena mediana del antebrazo), para después alicuotarla primero en un tubo que contenía 20 uL de EDTA al 7% (para un volumen final de 1 mL de sangre) y en segundo lugar en un tubo colector sin anticoagulante (para un volumen final de 8 a 9 mL), cada uno de estos tubos fueron identificados previamente con nombre y código designado.
- ✓ Una vez obtenida la muestra, se procedió al llenado del cuestionario (Anexo No.1) según lo establecido previa firma del Consentimiento Informado (Anexo No. 2).
- ✓ Una vez coagulada la muestra, esta fue centrifugada a 2500rpm durante 10 minutos, para obtener al menos 800 uL de suero (que no contenga restos de fibrina ni presente hemolisis dado que son interferentes para la cuantificación de Testosterona, Estradiol, Eritropoyetina y Ferritina).
El suero obtenido fue alicuotado a dos tubos de eppendorf, el primero de 300 uL para la cuantificación de Hierro; y el segundo para la cuantificación de Testosterona, Estradiol, Eritropoyetina y Ferritina. Ambos tubos de eppendorf fueron guardados a -20°C para su conservación hasta su análisis que en el caso del Hierro no podía ser más de 2 semanas desde la obtención de la muestra.
- ✓ La muestra de sangre entera con EDTA al 7% fue analizada rápidamente determinando el Valor Hematocrito y Hemoglobina en cada uno de los casos (Anexo No. 3).

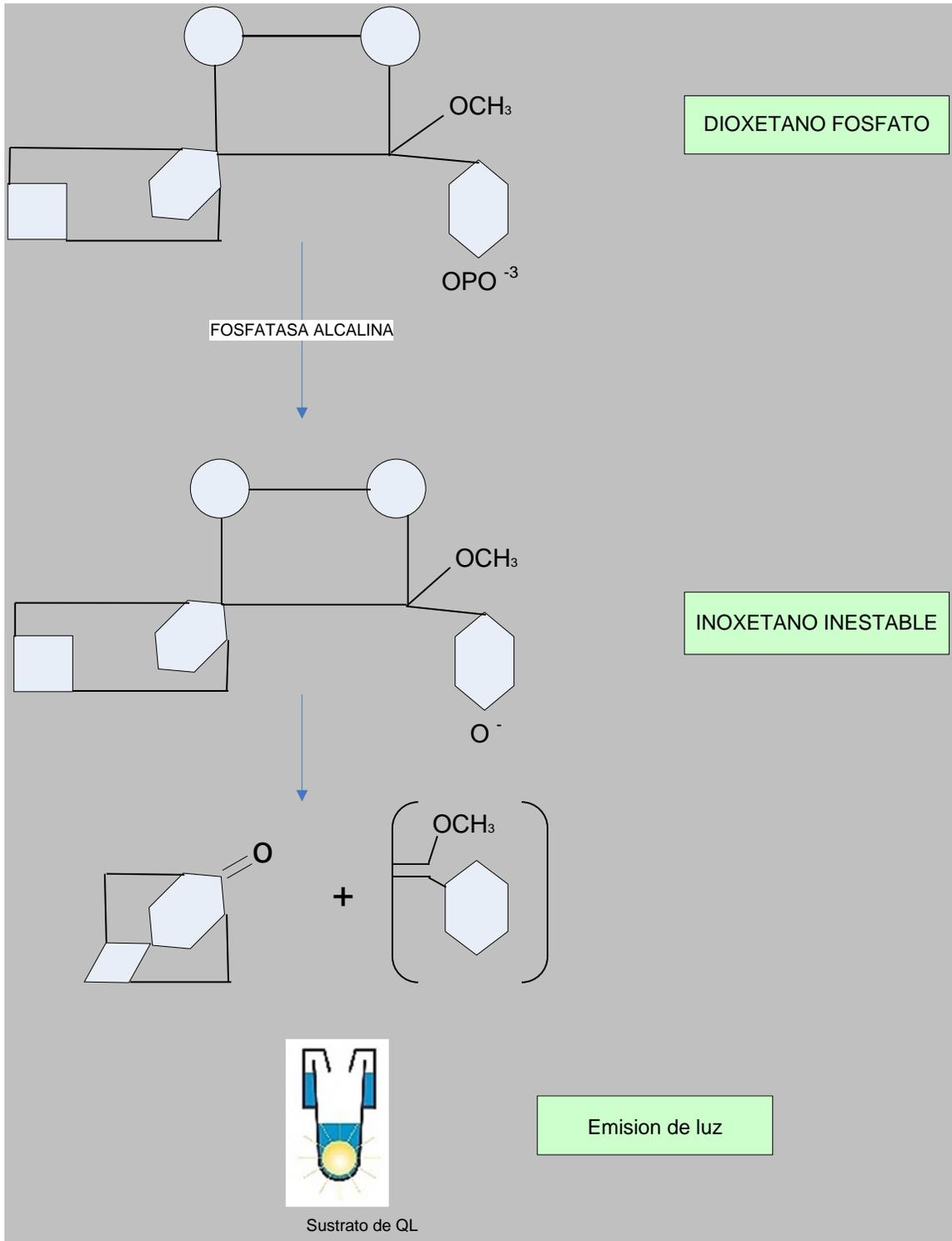


Fig 11. Fundamento de la Quimioluminiscencia
Fuente: García, AM. Quimioluminiscencia una interesante alternativa para detección analítica en sistemas de flujo, 2001

4) Determinación de la Testosterona por Quimioluminiscencia

a. Utilidad del análisis

El análisis es empleado para la medición cuantitativa de Testosterona total en suero y en plasma heparinizado, como ayuda en el diagnóstico y seguimiento de las patologías con exceso o defecto de este andrógeno (50).

b. Método

Se trata de un inmunoensayo enzimático quimioluminiscente competitivo en fase sólida.

c. Fundamento del análisis

La fase sólida (microesfera) está recubierta con anticuerpo policlonal de conejo anti-testosterona. La fase líquida contiene fosfatasa alcalina (de intestino bovino de ternero) conjugada con testosterona.

La muestra del paciente y el reactivo se incuban junto con la microesfera durante 60 minutos. Durante este periodo la testosterona de la muestra compite con la testosterona conjugada con la enzima del reactivo por un número limitado de sitios de unión del anticuerpo unido a la microesfera. La muestra del paciente no unida y el conjugado con la enzima se eliminan después mediante lavados. Al finalizar, el sustrato quimioluminiscente se añade a la unidad de análisis que contiene la microesfera y la señal se genera en proporción a la enzima ligada (50).

d. Límites del ensayo

Los anticuerpos heterofílicos en el suero humano pueden reaccionar con las inmunoglobulinas de los componentes del ensayo provocando interferencia con el ensayo. Las muestras de los pacientes que frecuentemente están expuestos a animales o a productos séricos animales pueden presentar este tipo de interferencia que potencialmente ocasione un resultado anómalo (50).

e. Técnica

Técnica: Determinación de Testosterona por Quimioluminiscencia	
Principio	La testosterona presente en la muestra compete con el análogo de testosterona marcado con enzima por los sitios de unión presentes en la bola de poliestireno.
Método	Inmunoensayo enzimático quimioluminiscente competitivo en fase sólida
Ciclos de incubación	1 x 60 minutos
Tipo de Muestra	Se puede emplear suero o plasma heparinizado
Volumen requerido de muestra	20 uL de suero. La copa de muestra debe contener como mínimo 100 uL más el volumen total requerido
Conservación	Se puede conservar durante 7 días a 2-8°C, o 2 meses a -20°C.
Unidades	Los resultados se expresan en ng/dL
Valores de referencia	Mujeres post-menopáusicas ND- 43 ng/dL Varones 20 – 49 años 72 – 800 ng/dL Varones mayores a 49 años 129 - 767 ng/dL

f. Características analíticas

Intervalo de calibración. De 20 a 1600 ng/dL

Sensibilidad analítica. A partir de 15 ng/dL

Especificidad. El anticuerpo es altamente específico para la testosterona y exhibe baja reactividad cruzada con otras sustancias presentes en la muestra del paciente.

5) Determinación del Estradiol por Quimioluminiscencia

a. Utilidad del análisis

El análisis es empleado para la determinación cuantitativa de estradiol (estradiol- 17 β , E2) en suero, como ayuda en el diagnóstico diferencial de amenorrea y monitorización en técnicas de reproducción asistida (51).

b. Método

Se trata de un inmunoensayo competitivo de fase solida marcado con enzimas.

c. Fundamento del análisis

La fase solida del ensayo (microesfera) está recubierta con anticuerpo policlonal de conejo anti-estradiol. La fase liquida contiene fosfatasa alcalina (intestino bovino de ternero) conjugado con estradiol.

La muestra del paciente y el reactivo se incuban con microesfera recubierta por 60 minutos. Durante este tiempo, el estradiol de la muestra compite con el estradiol conjugado con la enzima del reactivo por un número limitado de sitios de unión de anticuerpo de la microesfera. La muestra del paciente no unida y el conjugado con la enzima se eliminan después mediante lavados por centrifugación. Por último, el sustrato quimioluminiscente es añadido a la unidad de análisis que contiene la microesfera y la señal se genera en proporción a la enzima unida (51).

d. Límites del ensayo

Los anticuerpos heterofilicos en el suero humano pueden reaccionar con las inmunoglobulinas de los componentes del ensayo provocando interferencias con los inmunoanálisis *in vitro*. Se deberá tener cuidado con el análisis de muestras tomadas a pacientes neonatos, dado que puede ocasionar reacción cruzada con los esteroides, incluyendo el estriol, que circulan a altas concentraciones en este periodo lo que generaría resultados falsamente altos. No se pueden emplear sueros altamente ictericos y hemolizados dado que puede afectar a la precisión del ensayo.

e. Técnica

Técnica: Determinación de Estradiol por Quimioluminiscencia	
Principio	El estradiol presente en la muestra compete con el análogo de estradiol marcado con enzima por los sitios de unión presentes en la bola de poliestireno.
Método	Inmunoensayo enzimático quimioluminiscente competitivo en fase sólida
Ciclos de incubación	1 x 60 minutos
Tipo de Muestra	Se puede emplear solo suero para el ensayo
Volumen requerido de muestra	25 uL de suero. La copa de muestra debe contener como mínimo 100 uL más el volumen total requerido
Conservación	Se puede conservar durante 2 días a 2-8°C, o 2 meses a -20°C.
Unidades	Los resultados se expresan en pg/mL
Valores de referencia	Mujeres post-menopáusicas sin Tto. ND- 30 pg/mL Mujeres post-menopáusicas con Tto. ND- 93 pg/mL Varones ND -54 pg/mL

f. Características analíticas

Intervalo de calibración. De 20 a 2000 pg/mL

Sensibilidad analítica. A partir de 15 pg/mL

Especificidad. El antisuero fue generado con un derivado en la posición 6 del estradiol, y es altamente específico para el estradiol.

6) Determinación de la Eritropoyetina por Quimioluminiscencia

a. Utilidad del análisis

El análisis es empleado para la determinación cuantitativa de eritropoyetina en suero o plasma heparinizado, como ayuda en el diagnóstico de anemias y policitemias. Con la administración de EPO recombinante como terapia biológica para aumentar la masa eritrocitaria, el ensayo EPO se puede emplear también como ayuda en

la predicción y monitorización de la respuesta al tratamiento con EPO recombinante en personas con anemia (52).

b. Método

Se trata de un ensayo inmunométrico quimioluminiscente en fase sólida marcado con enzimas.

c. Fundamento del análisis

La fase sólida del ensayo (microesfera) está recubierta con antígeno derivado de la estreptavidina. La fase líquida consta de anticuerpo monoclonal de ratón anti-EPO marcado con ligando y de fosfatasa alcalina (intestino bovino de ternero) conjugada con anticuerpo monoclonal de ratón anti-EPO.

La muestra del paciente y el reactivo se incuban junto con la microesfera durante 30 minutos. Durante este tiempo la eritropoyetina de la muestra se une al anticuerpo monoclonal de ratón anti-EPO conjugado con enzima formando un complejo sándwich. El complejo inmune es a su vez capturado por la estreptavidina de la microesfera por medio del anticuerpo anti-EPO biotinilado.

El conjugado de enzima no unida se elimina mediante lavados por centrifugación. Por último, el sustrato quimioluminiscente se añade a la microesfera y la señal se genera en proporción a la enzima unida (52).

d. Límites del ensayo

Se ha observado variaciones en los resultados de EPO en presencia de anticuerpos antiespecie. No se ha analizado la interferencia de ninguna droga en el ensayo. El plasma con EDTA no se puede emplear como tipo de muestra. Con fines diagnósticos, los resultados obtenidos con este ensayo siempre deben ser usados en combinación con el examen clínico y la historia clínica del paciente.

e. Técnica

Técnica: <i>Determinación de la Eritropoyetina por Quimioluminiscencia</i>	
Principio	La eritropoyetina presente en la muestra es capturada por un anticuerpo marcado con ligando, al mismo tiempo se une a la estreotavidina presente en la fase solida de la reacción (microesfera)
Método	Ensayo inmunometrico quimioluminiscente en fase solida marcado con enzimas
Ciclos de incubación	1 x 30 minutos
Tipo de Muestra	Se puede emplear suero o plasma heparinizado
Volumen requerido de muestra	100 uL de suero. La copa de muestra debe contener como mínimo 250 uL más el volumen total requerido
Conservación	Se puede conservar durante 7 días a 2-8°C, o 2 meses a -20°C. Evitar congelaciones y descongelaciones repetidas.
Unidades	Los resultados se expresan en mUI/mL
Valores de referencia	10,5 (3,7 – 29,5) mUI/mL

f. Características analíticas

Intervalo de calibración. De 1 a 750 mUI/mL

Sensibilidad analítica. 0,5 mUI/mL

Especificidad. Este ensayo es muy específico para EPO.

7) **Determinación de la Ferritina por Quimioluminiscencia**

a. Utilidad del análisis

El análisis es empleado para la cuantificación de ferritina en suero, como ayuda en el diagnóstico clínico de la sobrecarga o deficiencia de hierro (53).

b. Método

Se trata de un ensayo quimioluminiscente inmunométrico en fase sólida marcado con enzimas.

c. Fundamento del análisis

La fase sólida del ensayo (microesfera) está cubierta con anticuerpo monoclonal de ratón anti-ferritina. La fase líquida contiene fosfatasa alcalina (intestino bovino de ternero) conjugada con anticuerpo policlonal de cabra anti-ferritina.

La muestra del paciente y el reactivo se incuban junto a la microesfera recubierta durante 30 minutos. Durante este tiempo, la ferritina de la muestra forma el complejo sándwich de anticuerpos con anticuerpo monoclonal de ratón anti-ferritina en la microesfera y el anticuerpo policlonal de cabra anti-ferritina conjugada con la enzima en el reactivo. La muestra del paciente no unida y el conjugado con la enzima se eliminan después mediante lavados por centrifugación. Finalmente, el sustrato quimioluminiscente se añade a la unidad de reacción que contiene la microesfera y la señal se genera en proporción a la enzima unida (53).

d. Límites del ensayo

Se ha observado que los anticuerpos heterofílicos presentes en el suero humano pueden reaccionar con las inmunoglobulinas de los componentes del ensayo provocando interferencias con los inmunoanálisis *in vitro*. Las muestras de los pacientes que frecuentemente están expuestos a animales o a productos séricos animales pueden presentar este tipo de interferencia que potencialmente ocasiona un resultado anómalo.

e. Técnica

Técnica: Determinación de la Ferritina por Quimioluminiscencia	
Principio	La ferritina presente en el suero del paciente es capturada formando un complejo sándwich de anticuerpos.
Método	Ensayo quimioluminiscente inmunométrico en fase sólida marcado con enzimas
Ciclos de incubación	1 x 30 minutos
Tipo de Muestra	Se puede emplear suero únicamente
Volumen requerido de muestra	10 uL de suero. La copa de muestra debe contener como mínimo 100 uL más el volumen total requerido
Conservación	Se puede conservar durante 7 días a 2-8°C, o 2 meses a -20°C. Evitar congelaciones y descongelaciones repetidas.
Unidades	Los resultados se expresan en ng/mL
Valores de referencia	Varones 28 – 397 ng/mL Mujeres 6 – 159 ng/mL

f. Características analíticas

Intervalo de calibración. De 1 a 1500 ng/mL

Sensibilidad analítica. 1,5 ng/mL

Especificidad. El anticuerpo es altamente específico para la ferritina.

8) Determinación de la concentración de Hierro sérico

a. Método

Se trata de un sistema para la determinación de hierro sérico en muestras de sangre con reacción de punto final.

b. Fundamento del análisis

Los iones férricos se disocian de la transferrina por la acción de un tampón de pH ácido y son reducidos a la forma de ion ferroso por acción de la hidroxilamina. Después de la adición de ferrozina se

forma un complejo carmín brillante cuya absorbancia medida entre 540 a 580 nm, es proporcional a la cantidad de hierro en la muestra.

c. Límites del ensayo

Se ha observado que valores de bilirrubinas superiores a 19 mg/dL y de triglicéridos mayores a 900 mg/dL producen resultados falsamente elevados.

d. Técnica

<i>Técnica: Determinación de la concentración de Hierro</i>					
Principio	El hierro presente en la muestra es disociado de la transferrina, para luego ser reducido a ion ferroso que formara un complejo con la ferrozina (complejo de color carmín).				
Método	Reacción de punto final				
Tipo de Muestra	Se puede emplear suero únicamente				
Volumen requerido de muestra	Aproximadamente 300 a 500 uL				
Conservación	Se puede conservar durante 5 días entre 15 – 25 °C, o 7 días entre 2 – 8°C.				
Unidades	Los resultados se expresan en ug/dL				
Valores de referencia	<table style="width: 100%; border: none;"> <tr> <td style="width: 30%;">Varones</td> <td style="text-align: right;">65 – 170 ug/dL</td> </tr> <tr> <td>Mujeres</td> <td style="text-align: right;">50 – 170 ug/dL</td> </tr> </table>	Varones	65 – 170 ug/dL	Mujeres	50 – 170 ug/dL
Varones	65 – 170 ug/dL				
Mujeres	50 – 170 ug/dL				

e. Características analíticas

Sensibilidad analítica. De 1,02 ug/dL

Especificidad. Método con especificidad metodológica adecuada.

9) Determinación del Valor Hematocrito

- Llenar un capilar con la muestra de sangre con anticoagulante EDTA 7%, previa homogeneización de la muestra. Limpiar con algodón por fuera del capilar.
- Sellar un extremo con plastilina, y dejar en el soporte para hematocrito. Centrifugar a 12000rpm por 5 minutos y sacar inmediatamente de la microcentrifuga para su lectura.

- Realizar la lectura con el lector hematocrito, realizar este procedimiento por duplicado para cada muestra.

F. PROCESAMIENTO DE LA INFORMACION

1. Recolección de datos

Se efectuó la recolección de los datos de los pacientes empleando un formulario y cuestionario que se aplicó a cada uno de ellos respetando su individualidad y confidencialidad (Anexo No.1 y 3).

2. Elaboración

a. Etapa de revisión

Todos los cuestionarios y formularios fueron revisados descartando así la ausencia de algún dato o un error en el llenado de los mismos.

b. Etapa de clasificación

Los datos obtenidos, y así mismo los resultados fueron clasificados en función a cada una de las variables del estudio: género, Testosterona, Hematocrito, Hierro, Ferritina, Eritropoyetina y Estradiol.

c. Análisis estadístico

Se introdujeron los datos de los pacientes en dos paquetes estadísticos SPSS 22 y Microsoft EXCEL.

Para el análisis de los datos se aplicó el análisis descriptivo de la población, obteniendo datos de promedio, desviación estándar, valor máximo y valor mínimo así como la frecuencia. Para observar la distribución de los datos se aplicó el estadístico de Kolmogorov – Smirnov (distribución normal)

Para verificar la correlación entre variables se aplicó regresión lineal además de tablas de contingencia que permitió obtener el valor de Coeficiente de Pearson, se trabajó en todos los casos con un nivel de significancia del 95%.

IX. RESULTADOS

Para realizar un análisis adecuado de la población en estudio se determinó la distribución según el género de los pacientes eritrocíticos que asisten a su control al Servicio de Hematología del Hospital de Clínicas; se puede apreciar en el cuadro No.1 que el 70,6 % corresponden a varones y solo el 29,4% a mujeres.

Se realizó esta diferenciación en cuanto a la distribución de género; por observarse la diferencia que existe en cuanto a las concentraciones de Testosterona, Hierro, Ferritina y el grado de eritrocitosis presente entre ambos grupos de la población.

Cuadro 1. Distribución según género de la población en estudio

<i>Pacientes Eritrocíticos</i>	<i>Frecuencia</i>	<i>Porcentaje</i>
<i>Varones</i>	36	70,6%
<i>Mujeres</i>	15	29,4%
<i>TOTAL</i>	51	100%

Es importante considerar también que la prevalencia de la eritrocitosis leve, moderada y severa varía de acuerdo al género, dado que los valores de Hematocrito considerados para diferenciar los tres grados de eritrocitosis varían de acuerdo a esta variable como puede observarse en el Cuadro No.2.

Se puede apreciar en este mismo cuadro que el porcentaje más alto corresponde en ambos casos para la eritrocitosis moderada, siendo de 38,8% y 46,7% para varones y mujeres respectivamente, en cuanto a los valores de distribución para eritrocitosis leve y severa en ambas poblaciones no presentan diferencia alguna siendo el porcentaje similar.

Cuadro No 2. Prevalencia de Eritrocitosis leve, moderada y severa según Género en la población en estudio

MASCULINO			FEMENINO		
	n	%		n	%
Eritrocitosis leve: <i>Hto 59 a 64%</i>	11	30,6	Eritrocitosis leve: <i>Hto 55 a 60%</i>	4	26,7
Eritrocitosis moderada: <i>Hto 65 a 69%</i>	14	38,8	Eritrocitosis moderada: <i>Hto 61 a 65%</i>	7	46,7
Eritrocitosis severa: <i>Hto mayor a 70%</i>	11	30,6	Eritrocitosis severa: <i>Hto mayor a 65%</i>	4	26,7
TOTAL	36	100	TOTAL	15	100

Considerando que la población masculina representa en el estudio al 70,6%, es importante conocer la distribución de la eritrocitosis de acuerdo a la edad de este grupo de la población en estudio. Como se observa en el cuadro No.3 el mayor porcentaje de eritrocitosis en diferentes grados ya sea leve, moderada o grave llega al 52,8 % en la población comprendida entre los 23 a 46 años, lo que nos indica que más de la mitad de los sujetos de estudio que se ven afectados con la eritrocitosis corresponden a población en edad reproductiva y económicamente activa (porcentajes marcados con color plomo). Así mismo se debe indicar que no existe una relación entre el hecho mismo de pertenecer a un grupo de edad y presentar un determinado grado de eritrocitosis ($r = - 0.140$).

Cuadro 3. Distribución del grado de eritrocitosis de acuerdo a grupos de edad en los pacientes Eritrocíticos Varones en estudio

EDAD	ERITROCITOSIS			TOTAL
	<i>Leve</i> (Hto 59 a 64%)	<i>Moderado</i> (Hto 65 a 69%)	<i>Severo</i> (Hto mayor a 70%)	
23 a 30 años	2 (18,2%)	5 (35,7%)	2 (18,2%)	9 (25%)
31 a 38 años	2 (18,2%)	1 (7,1%)	3 (27,3%)	6 (16,7%)
39 a 46 años	1 (9,1%)	2(14,3%)	1(9,1%)	4(11,1%)
47 a 54 años	1(9,1%)	1(7,1%)	2(18,2%)	4(11,1%)
55 a 62 años	2 (18,2%)	3 (21,4%)	2(18,2%)	7(19,4%)
63 a 70 años	1(9,1%)	0(0,0%)	1(9,1%)	2(5,6%)
71 a 79 años	2(18,2%)	2(14,3%)	0(0,0%)	4(11,1%)
TOTAL	11 (30,6%)	14 (38,8%)	11 (30,6%)	36 (100%)

Determinacion de la concentración de Testosterona, Hierro, Ferritina y Estradiol en la población en estudio

Se realizó la determinación de Testosterona, Hierro, Ferritina y Estradiol en la población en estudio (N = 51 pacientes; 36 varones y 15 mujeres), como se ha mencionado anteriormente se presenta la distribución de estas variables en función al género de la población dado que se conoce las diferencias en cuanto a los valores de referencia para cada género.

Como se observa en el cuadro No. 4 se hace referencia a la determinación de cada una de las variables en estudio en los pacientes Eritrocíticos varones de la población. En cuanto a los valores de Testosterona debemos mencionar que la media de la población es de 714, 28 ng/dL a diferencia de la media que se presenta en una población normal (sin eritrocitosis) siendo esta de 410 ng/dL, no se observa una distribución normal respecto a la concentración de esta hormona donde $p = 0.10$ dado que existen valores bajos de esta hormona que llegan incluso a 281 ng/dL. Los

valores de referencia de la Testosterona para esta población en estudio hace también una diferencia en cuanto a la edad, sin embargo el valor máximo esperado es de 800 ng/dL y el valor mínimo esperado es de 72 ng/dL.

Cuadro 4. Determinación de las concentraciones de Testosterona, Hierro, Estradiol, Ferritina y Eritropoyetina en pacientes Eritrocíticos varones de la población en estudio

	N*	Mínimo	Máximo	Media	Desviación estándar
Testosterona (ng/dL)	36	281	1440	714,28	248,481
Hierro (ug/dL)	36	20,40	198,20	128,0583	43,19085
Estradiol (pg/mL)	36	20,00	56,30	27,1667	10,52583
Ferritina (ng/mL)	36	6,02	415,00	77,9589	84,65513
Eritropoyetina (mUI/mL)	36	4,08	25,30	14,3931	6,19853

*N: Numero de varones eritrocíticos que constituyen la población en estudio (36 pacientes).

La concentración de Hierro presenta una media de 128,05 ug/dL, presentando una máxima de 198,20 ug/dL, en este caso también la variable no presenta una distribución normal en la población en estudio donde $p = 0.126$. En este caso debemos considerar que los valores de referencia para varones son de 65 a 170 ug/dL. La Ferritina como tal está relacionada con la concentración de Hierro sérico, como se conoce esta es una proteína encargada del almacenamiento de hierro dado que a nivel fisiológico se conoce que este es un marcador de incremento o deficiencia del mismo, lo que se comprobó realizando el estadístico de correlación de Pearson donde se aprecia que $r = 0.6$ lo que implica que existe una correlación entre ambas variables. La hormona Estradiol presenta una media de 27,2 pg/mL, siendo la máxima de 56,30 pg/mL que se halla ligeramente por encima del valor de referencia que es de 54 pg/mL para varones. En este caso se asume que los datos siguen una distribución normal donde $p = 0.001$.

Tomando en cuenta el Test de Kolmogorov - Smirnov para la prueba de normalidad se indica que los valores de Estradiol son más próximos a la media y que algunos de estos valores se hallan más concentrados a la izquierda con respecto a la media que

los valores de la derecha. Cabe destacar que unos pocos datos de la hormona se hallan por encima del valor normal (n=3), es interesante observar esta situación pues en estos casos, los valores del hematocrito son muy altos (mayor a 70%) lo que podría indicarnos que la hormona Estradiol se halla levemente elevada como un mecanismo que trataría de contrarrestar el incremento de la eritropoyesis y favorecer así mismo, en estos pacientes eritrocíticos severos el proceso de ventilación, como un proceso fisiológico mediado por esta hormona.

En el Cuadro No. 5 se puede apreciar los valores de las concentraciones de Testosterona, Hierro, Eritropoyetina, Estradiol y Ferritina para la población femenina del estudio. En cuanto a los datos de la hormona Testosterona podemos indicar que la media corresponde a 42,9 ng/dL y cuyo valor máximo es 68,10 ng/dL. Se pueden apreciar valores mucho más bajos en la población femenina debido a las características de producción de hormonas en esta población, que además esta constituida únicamente por mujeres post-menopáusicas. Sin embargo llama la atención que existan valores altos de Testosterona por encima de los valores de referencia que es hasta 43 ng/dL en esta población; la distribución de los valores siguen una distribución normal donde $p < 0.001$ siendo en este caso la distribución igual tanto hacia la derecha como la izquierda con respecto a la media.

Cuadro 5. Determinación de las concentraciones de Testosterona, Hierro, Estradiol, Ferritina y Eritropoyetina en pacientes Eritrocíticas mujeres de la población en estudio

	N*	Mínimo	Máximo	Media	Desviación estándar
Testosterona (ng/dL)	15	20,00	68,10	42,8667	14,11264
Hierro	15	48,30	157,20	109,0600	36,95630
Eritropoyetina	15	1,00	28,50	13,0567	8,82774
Estradiol(pg/mL)	15	20,00	33,70	24,2000	4,86533
Ferritina	15	13,20	180,00	58,1933	42,84224

*N: Número de mujeres Eritrocíticas que constituyen la población en estudio (15 pacientes).

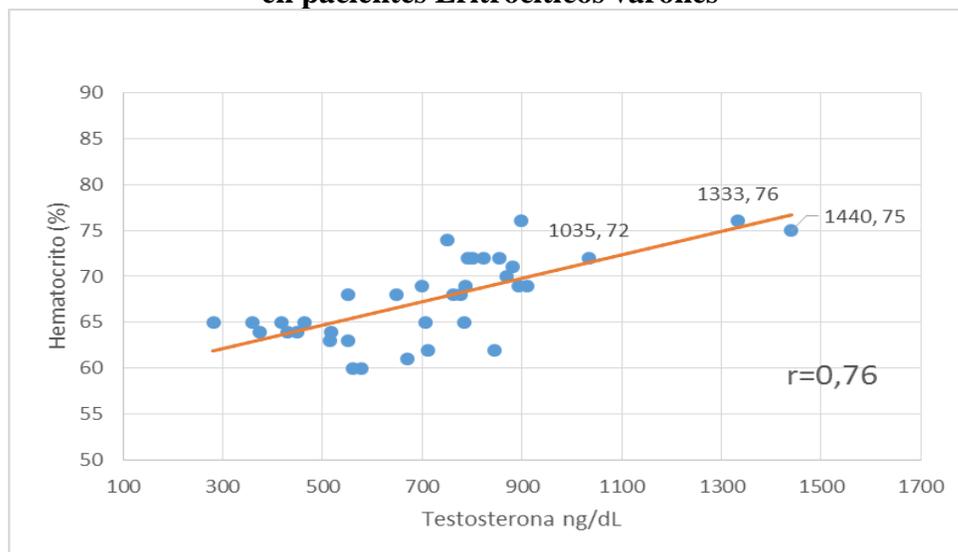
Los valores de Hierro y Ferritina cuya media para ambos es de 109,06 ug/dL y 58,19 ng/mL respectivamente, no presentan ningún dato que se halle por encima de

los valores de referencia que son designados a una población considerada normal, dado que los valores de referencia para Hierro es de 50 a 170 ug/dL y para Ferritina es de 6 a 159 ng/mL. Los valores de la hormona Estradiol se hallan disminuidos en la mujeres post-menopaúsicas por el cese de la función ovárica, sin embargo aún en esta etapa están presentes trazas de la hormona; en este sentido se observa en la población algunos valores que se hallan levemente elevados respecto al valor de referencia (hasta 30 pg/mL), sin embargo la tendencia de distribución de los datos de esta hormona están centralizados hacia la media con algunos datos que están más hacia la derecha e izquierda con respecto a este valor de tendencia central ($p=.004$).

Correlación entre las variables de Hematocrito, Hierro, Ferritina y la Testosterona en los pacientes Eritrocíticos varones de la población en estudio

Primero se realizó el análisis de los datos de los pacientes Eritrocíticos varones; como ya se ha indicado los valores tanto de Testosterona como de Hematocrito varían para esta población en función al género; cabe destacar que la correlación entre ambas variables existe y es positiva ($r=0,76$) es decir que a valores mayores de Testosterona se observaran valores mayores de Hematocrito en la población.

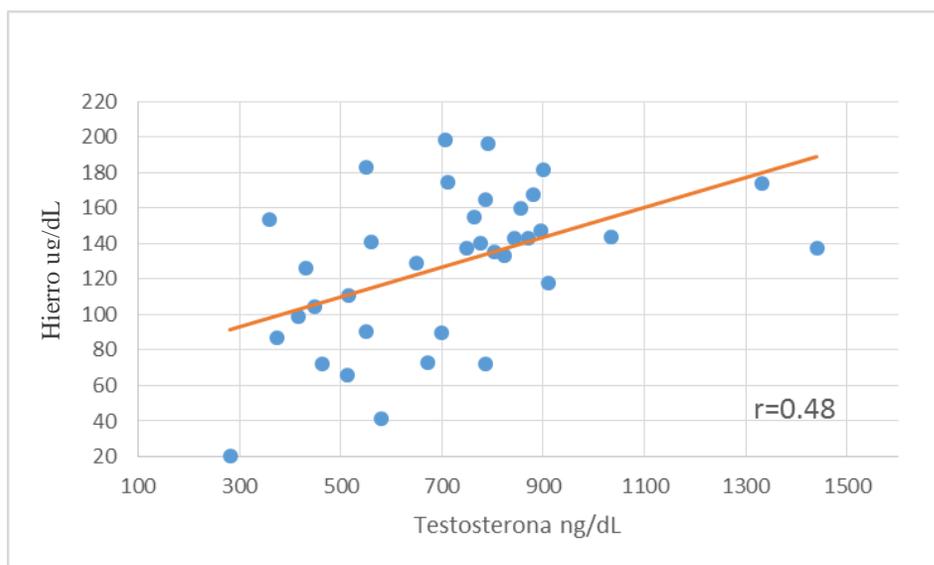
Gráfico No 1. Correlación lineal entre los valores de Testosterona y el Hematocrito en pacientes Eritrocíticos varones



Existe dispersión de algunos datos, específicamente de 3 pacientes con una eritrocitosis severa cuyo Hematocrito es mayor a 70% con valores muy por encima del corte de referencia de Testosterona tal y como se observan en la gráfica, asociación de un Hematocrito de 76 y 75% con valores de 1333 y 1440 ng/dL de Testosterona respectivamente. Existe una acumulación cercana de la población con una eritrocitosis moderada que llega al 38.8% (Cuadro No.3), en este grupo de la población los valores de Testosterona se hallan por encima del valor de referencia que en este caso no hace diferenciación en cuanto a la edad de la población en estudio siendo esta mayor a 800 ng/dL.

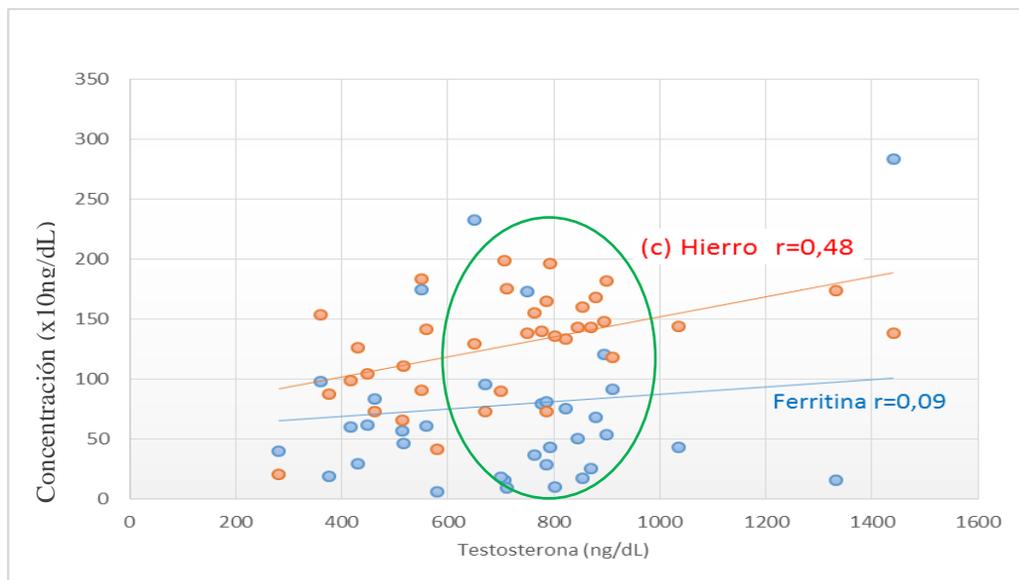
Respecto a la asociación y la posible intervención de la Testosterona como factor hormonal que influye sobre la ferrocinética de la población en estudio, se puede observar en el gráfico No.2 que existe una correlación positiva entre ambas variables ($r=0.48$) siendo así que a valores altos de Testosterona se observan valores próximos y levemente más altos que el valor máximo del rango de referencia.

Gráfico No 2. Correlación lineal entre los valores de Testosterona y la concentración de Hierro en pacientes Eritrocíticos varones



Al igual que en caso anterior existe un tendencia central de los valores de hierro asociados a valores de Testosterona entre 800 a 900 ng/dL como se puede observar claramente en la gráfica; la asociación entre ambas variables es independiente de la edad debido a que el 100% de los pacientes son adultos varones.

Gráfico No 3. Correlación lineal entre los valores de Ferritina, Hierro y la Testosterona en pacientes Eritrocíticos varones



En la gráfica No.3 se puede observar una correlación lineal muy escasa ($r=0,09$) entre los valores de la Ferritina y de la Testosterona, se esperaría sin embargo que la relación entre ambas variables fuera similar a la observada entre el Hierro y la Testosterona lo que también es comparado en esta gráfica; como se menciona no significa que no existe una asociación entre estas variables, que se daría en caso de que $r=0,00$; al no encontrarse una asociación significativa entre ambas variables debemos mencionar que la síntesis de la Ferritina no está asociada con el incremento de la Testosterona en los pacientes; pero si existiría una asociación entre la movilidad del Hierro en el organismo relacionado a su absorción a nivel intestinal con los valores de Testosterona a través de la intervención de la Hecpidina. Sin embargo realizando una comparación de ambos marcadores en la gráfica puede observarse que ciertos valores elevados de Ferritina están a su vez próximos o

asociados a valores altos de Hierro, con la misma tendencia central hacia valores de Testosterona de entre 800 a 900 ng/dL.

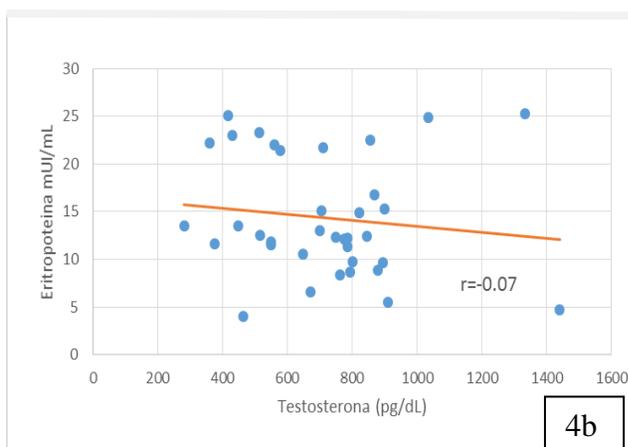
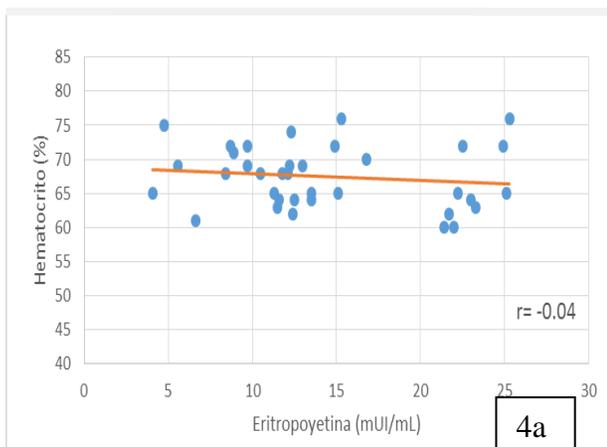
Correlación entre los valores de Estradiol y las variables en estudio

Realizando los parámetro de correlación lineal entre la hormona Estradiol y la variable de estudio de Hematocrito, no se encontró ninguna asociación entre estas variables ($r=0.00$), se habría esperado que la asociación entre ambas variables fuera negativa es decir que a valores mayores de Hematocrito exista una disminución muy cercana al valor menor de referencia del Estradiol; debido a que la Testosterona influiría sobre los valores de Estradiol en la población, asociando así los niveles bajos de la hormona con una disminución en el proceso de ventilación en el organismo.

Correlación entre los valores de Testosterona, Eritropoyetina y Hematocrito en la población en estudio.

Como se puede apreciar en la gráfica No. 4 no se observa una correlación significativa entre los valores de eritropoyetina y hematocrito en la población de varones Eritrocíticos, donde todos los valores de EPO encontrados en la población se hallan dentro del valor de referencia, esto si consideramos a una población normal que no se halla afectada por la eritrocitosis, siendo incluso algunos valores bajos próximos al valor menor de referencia (3,7 mUI/mL) para un valor Hematocrito alto de pacientes con eritrocitosis severa en la población (4a).

Gráfico No 4. Correlación entre las variables de Eritropoyetina - Hematocrito (4a) y la Testosterona - Eritropoyetina (4b) en la población en estudio



En el caso de la sobreproducción y/o síntesis elevada de EPO en función a valores elevados de Testosterona no se encontró asociación ($r=-0.007$) entre ambas variables, en estudios anteriores se había indicado la posibilidad de que la hormona Testosterona podría influir de forma positiva en la síntesis de EPO para que esta a su vez actué por retroalimentación positiva en el proceso de la eritropoyesis (4b).

En síntesis y de acuerdo a los datos proporcionados en las gráficas anteriores se puede apreciar un resumen general en el Cuadro No.6, la cual nos permite correlacionar los datos y observar el nivel de significancia estadístico de cada una de las variables con respecto a los valores de Testosterona.

Cuadro No 6. Correlación entre los valores de Hematocrito, Hierro, Ferritina, Eritropoyetina y Estradiol con los valores de Testosterona en los pacientes Eritrocíticos varones de la población en estudio

	Hematocrito (%)	Hierro (ug/dL)	Ferritina (ng/mL)	Eritropoyetina (mUI/mL)	Estradiol (pg/mL)
Testosterona (ng/dL)	r = 0,706 p= 0.000*	r= 0,481 p=0,001*	r= 0.090 p= 0.602*	r= 0,07 p= 0,458*	r=0,00 p=0.362*
r = Coeficiente de Pearson					
p= nivel de significancia					
*La correlación es significativa si $p \leq 0.001$					

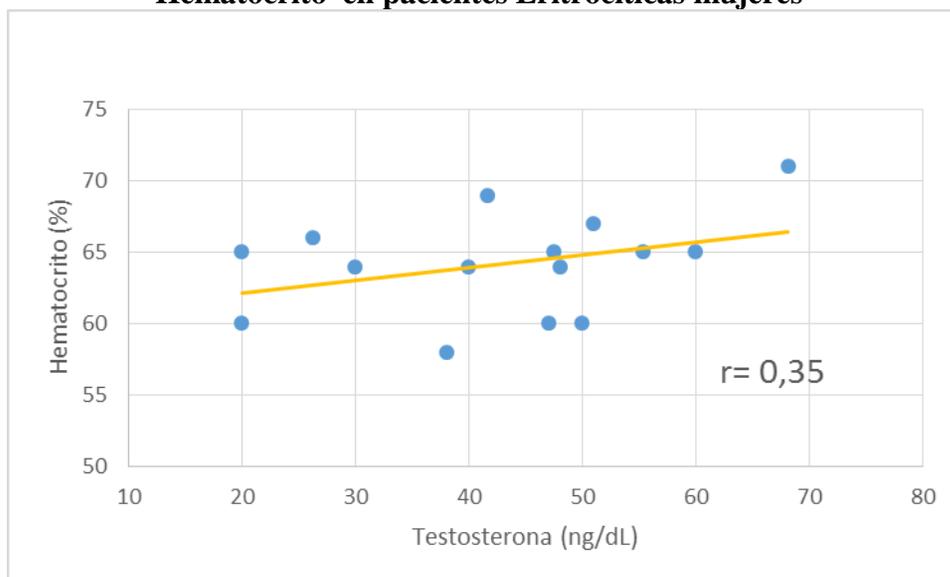
Así se podría indicar que la relación entre la Testosterona y los niveles de valor Hematocrito es estadísticamente significativo ($p=0.000$) cuya correlación es elevada ($r= 0,76$); lo mismo ocurre entre los valores de Testosterona y la concentración de Hierro hallada en la población donde se observa correlación ($r=0,48$) con significancia estadística ($p=0.001$). Lo que no ocurre con las otras variables de estudio es decir; la Ferritina, Eritropoyetina y Estradiol.

Correlación entre las variables de Hematocrito, Hierro, Ferritina y la Testosterona en las pacientes Eritrocíticas mujeres de la población en estudio.

Como ya se había mencionado anteriormente se realizó una diferenciación en cuanto al género de la población en estudio, esto debido a que los valores de referencia para cada una de estas variables son diferentes tanto para mujeres como para varones.

La población muestral respecto al género represento el 29,4% (n=15) del total de la población. En el grafico No. 5 se observa que existe una correlación entre los valores levemente más elevados de Testosterona (rango de referencia hasta 43 ng/dL para mujeres post-menopáusicas) y los valores elevados de hematocrito ($r= 0,35$), destacándose en este sentido que una de la pacientes presenta un valor de hematocrito de 71% (eritrocitosis severa) con un valor de Testoterona de 68 ng/dL; se observa una correlación positiva, sin embargo y se puede observar en el gráfico que algunos datos se hallan muy por debajo de la pendiente de la regresión lineal que estaría asociada a pacientes con eritrocitosis leve de la población en estudio.

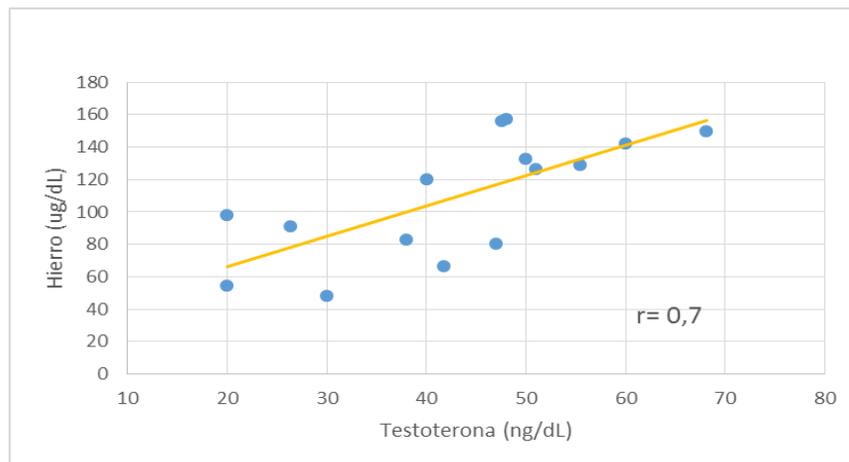
Gráfico 5. Correlación lineal entre los valores de Testosterona y el valor Hematocrito en pacientes Eritrocíticas mujeres



Claro está que no se espera que los valores de Testosterona en esta población sean mucho más altos de los presentados en el estudio, dado que valores mucho más altos estarían relacionados a otras patologías propiamente endocrinas.

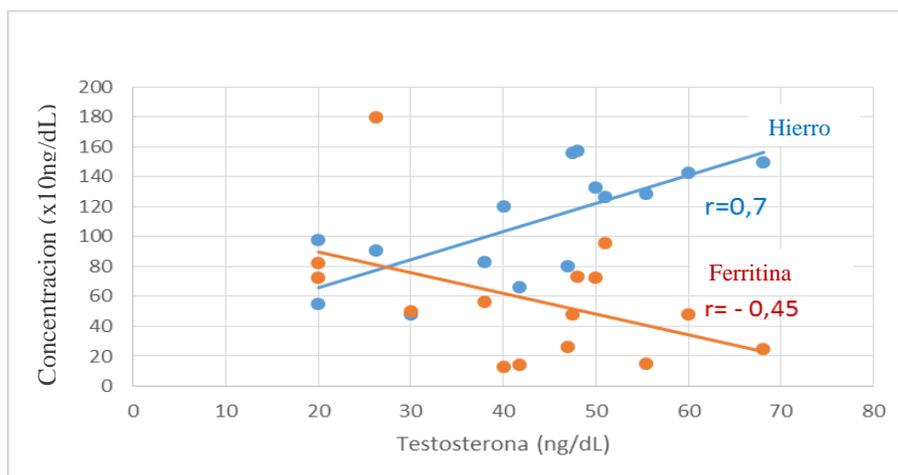
Al observarse esta asociación entre estas variables (Testosterona – Hematocrito), se esperaba encontrar al mismo tiempo una correlación entre los valores de Hierro y la Testosterona de las pacientes mujeres tal y como ocurrió con la población masculina del estudio, lo que se corrobora con la gráfica No. 6; donde se observa una correlación positiva ($r=0,7$) entre ambas variables. La correlación entre ambas variables es incluso mucho más elevada en esta población en comparación a la masculina ($r=0,48$); esto puede deberse primero a que los valores de referencia de Ferritina para esta población oscila de 6 a 159 ng/mL, además de que los valores si bien no se hallan por fuera del rango de referencia se hallan muy próximos al valor máximo. Cabe mencionar además que la distribución de la población femenina no es porcentualmente similar.

Gráfico 6. Correlación lineal entre los valores de Testosterona y la concentración de Hierro en pacientes Eritrocíticas mujeres



En el gráfico No. 7 se observa la correlación que existe entre los valores de Hierro y Ferritina en la población en estudio, como variables de estudio de la ferrocínética, en este sentido podemos mencionar que si bien existe una correlación entre los valores de Testosterona y la Ferritina esta es muy baja ($r= -0,45$), siendo similar a

Gráfico 7. Correlación lineal entre los valores de Testosterona y la concentración de Hierro – Ferritina en pacientes Eritrocíticas mujeres



los datos observados en la población masculina en el estudio, lo que denotaría nuevamente la relación entre la movilidad del hierro en sangre más no así el proceso de almacenamiento a nivel hepático que estaría asociado al aumento de la síntesis y/o producción de Ferritina.

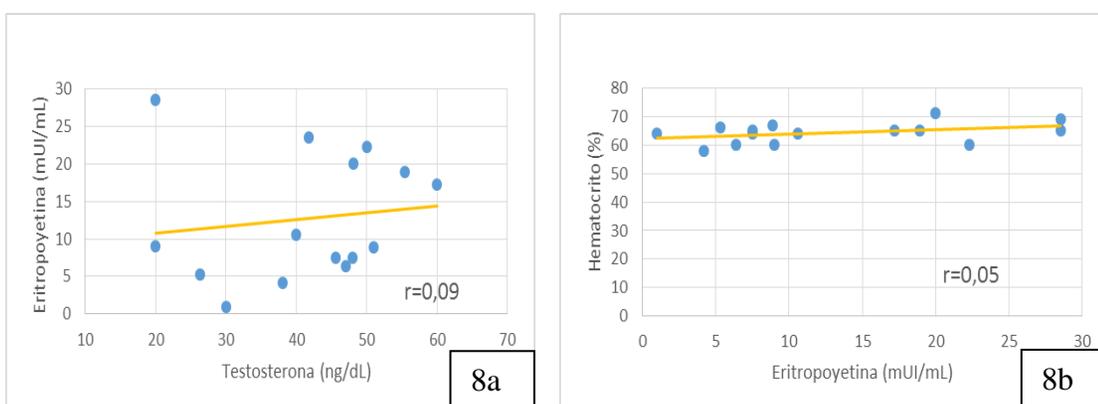
Correlación entre los valores de Estradiol y las variables en estudio

Realizando un estudio de correlación entre la hormona Estradiol y los valores de Hematocrito y Testosterona en la población femenina, se debe indicar que al igual que en el caso de la población masculina del estudio no se observó ninguna correlación entre estas variables ($p= 0,171$); debemos mencionar sin embargo que los valores de Estradiol de esta población se hallaran bajos debido a que se tratan de pacientes post-menopáusicas, e incluso y como se había comentado ya anteriormente en algunos apartados se habría asociado la disminución de esta hormona para la aparición de la eritrocitosis en diferentes grados dado que el Estradiol controlaría en parte el proceso ventilatorio en el organismo. Así mismo se cuestionó que el Estradiol podría estar asociado a los valores hormonales de Testosterona, sin embargo no se observa correlación de estas variables en esta investigación ($r=0,00$).

Correlación entre los valores de Testosterona, Eritropoyetina y Hematocrito en las pacientes Eritrocíticas mujeres de la población en estudio

Como se puede observar en los gráficos abajo presentados no existe una correlación significativa entre estas variables de estudio, lo mismo ocurrió en la población masculina donde las estadísticas son similares, los valores se hallan ampliamente dispersos sin demostrar relación, se habría esperado que existiera una correlación entre los valores de Eritropoyetina y los valores de Hematocrito (Gráfico 7b), sin embargo no se observan valores elevados de EPO que sugieran tener una asociación con la eritrocitosis presente en la población en cualquiera de sus grados ($r=0,05$). En el caso de la correlación entre la Testosterona y la Eritropoyetina (Gráfico 7a), tampoco se observa una relación significativa, siendo esta muy baja ($r=0,09$), lo que denota que no existe una estimulación por parte de la hormona Testosterona para la producción de Eritropoyetina a nivel renal; además que los valores no alcanzan un valor muy elevado sino que se hallan algo por encima del valor de referencia para esta población en estudio.

Gráfico No 8. Correlación lineal entre las variables de Testosterona - Eritropoyetina (8a) y Eritropoyetina – Hematocrito (8b) en la población en estudio



X. DISCUSIÓN

Como ya se conoce una gran parte de la población mundial se halla habitando zonas de gran altura, es decir a más de 2500 msnm, son varias las personas que han desarrollado sus actividades diarias en torno a un hábitat que exigirá mucho más de su organismo; son varios los factores medioambientales que deben soportar estos habitantes de altura entre ellos el frío, la sequedad del aire que en muchos casos agrava ciertas patologías que se presentan propiamente en la altura; tal es el caso de la eritrocitosis patológica de altura que fue descrita por primera vez por Monge en 1928 (1) y que a la fecha ha dado lugar a varios estudios para poder dilucidar la causa y/o mecanismos por los cuales el organismo trata de compensar el vivir a grandes altitudes.

En nuestro país es la zona geográfica del altiplano la que se encuentra a gran altitud, misma región en la que puede observarse una distribución considerable de personas que llega a 39,7% de toda la población del país, esta misma población ha vivido y desarrollado sus actividades a una altura de 3600 msnm y 4100 msnm en las ciudades de La Paz y El Alto respectivamente, todas las personas que habitan ambas ciudades de crecimiento demográfico al encontrarse expuestas a la hipoxia de la altura serán más susceptibles de presentar eritrocitosis patológica de altura que no es más que la manifestación hematológica del Mal de Montaña Crónico, la incidencia de esta patológica en la ciudad de La Paz llega al 5 a 7% (23), aunque se ha indicado en otros estudios recientes que llegaría incluso al 10%. (35).

Para el presente trabajo solo se tomaron en cuenta a todos aquellos pacientes cuyas características estuvieron asociadas a una EPA (eritrocitosis patológica de altura), es decir un incremento del valor de glóbulos rojos y hemoglobina (en varones hemoglobina mayor a 19 g/dL y en mujeres hemoglobina mayor a 18 g/dL), ausencia de patologías cardiovasculares y sintomatología asociada al síndrome de viscosidad sanguínea. Considerando los parámetros antes descritos, se excluyeron a 8 de los 59 pacientes en el presente estudio dado que su enfermedad fue catalogada

como eritrocitosis secundaria a un incremento franco de la Eritropoyetina, de manera que se estudió a una población total de 51 pacientes entre hombres y mujeres.

El porcentaje de eritrocitosis secundaria de este estudio dista del presentado en otras investigaciones donde se describe una distribución diferente de la población, donde el 49% de los pacientes presentaron una eritrocitosis secundaria (23) con una elevación de Eritropoyetina; a diferencia del nuestro que como se mencionó alcanzó únicamente al 13,6 % (n=8), 2 pacientes mujeres y 6 varones; siendo catalogados 51 personas (86,4%) como pacientes con EPA.

La distribución de pacientes en nuestro estudio según el género varía considerablemente siendo de este el 70,6% (n=36) varones y el 29,6% (n=15) mujeres; era de esperarse si se toma en cuenta los criterios de exclusión en el estudio, donde únicamente se consideran a pacientes postmenopáusicas para esta investigación; se tomó en cuenta a esta población únicamente debido al cambio hormonal que significa el estar en esta etapa de vida donde existe un cese de la producción del Estradiol, que es una hormona que inhibe la eritropoyesis y estimula la ventilación; es así que un incremento de los estrógenos se asocia con valores mayores de saturación de oxígeno (2); se han estudiado en otras investigaciones las diferencias de los valores de Hematocrito de acuerdo a la edad cronológica en mujeres donde se ha observado un incremento significativo para el grupo de entre 50 a 70 años (valores de Hematocrito que oscilan entre 50 a 59%) esto debido y según el estudio por la menopausia (25).

La investigación anterior asocio una diferencia de edad con el valor del hematocrito, y para ello tomo en cuenta tanto a la población de mujeres postmenopáusicas como a mujeres en edad fértil; en nuestro caso como se pretendía asociar la presencia de EPA con ciertos valores hormonales es que se excluyó al grupo de mujeres en edad fértil, considerando además que en esta etapa las pacientes presentan un recambio hormonal constante, lo que incluso no proporcionaría datos concluyentes en este caso. Así mismo se ha asociado a la menopausia como un factor de riesgo para

presentar EPA y el Mal de Montaña Crónica, se ha observado que mujeres postmenopáusicas presentan una reducción significativa de la presión parcial de oxígeno asociado a un incremento de la concentración de hemoglobina (41).

La prevalencia en nuestro estudio de mujeres con EPA es de 29,6% a diferencia de lo descrito en Cerro de Pasco en Perú donde la prevalencia fue de 8,8% para mujeres postmenopáusicas (23).

Se hace mención y diferenciación en el género de la población en estudio, debido a la diferencia existente entre los valores de referencia de cada una de las variables como son la Testosterona, Estradiol, Ferritina y Hierro, lo que no se da en el caso de la Eritropoyetina cuyo valor de referencia es único para ambas poblaciones.

Si bien la población femenina estuvo conformada por mujeres mayores de 52 años, es importante mencionar que la población masculina con EPA no estuvo conformada solamente por pacientes adultos mayores, llama la atención que pacientes jóvenes de 23 años de edad presenten esta patología, de los cuales en muchos de los casos el diagnóstico fue meramente accidental. Del total de la población masculina el 52,8% (varones de entre 23 a 46 años) presentan EPA; de este porcentaje el 22% corresponden a jóvenes adultos, siendo mucho mayor al descrito por estudios realizados en el IBBA donde la prevalencia en edad joven llegaba al 10% (población entre 18 a 25 años) (35). Ahora bien el restante 47,2 % corresponde a población mayor a 50 años de edad, viéndose así una prevalencia diferente en esta población de estudio esto en comparación a otras poblaciones donde la prevalencia de la EPA estuvo asociada más a población masculina adulta mayor; sin embargo estos datos pueden ser relativos pues se consideraron a pacientes que efectivamente asisten a consulta, dejando de lado a sujetos de la población que si bien presenta la sintomatología propia (cefaleas, cansancio, coloración de la piel, tinnitus) aún no fueron diagnosticados.

Ahora bien una vez verificados los valores de hematocrito de cada uno de los pacientes del estudio podemos observar una correlación positiva entre los valores de testosterona y el valor hematocrito tanto en la población masculina como en la

femenina, siendo en el primer caso $r=0.706$ y en el segundo $r=0.35$; dando por sentado que efectivamente la testosterona es un factor importante en la aparición de la EPA, donde valores de hematocrito altos se vieron asociados a valores de testosterona muy altos llegando incluso a cerca de 1500 ng/dL con un valor hematocrito por encima del 70%, lo que coincide con estudios realizados en Perú donde se ha observado el incremento de los niveles séricos de testosterona en pacientes con Eritrocitosis, observándose una asociación directa similar a la nuestra, donde a mayor nivel de testosterona mayor será el hematocrito (2). Por otro lado una pauta importante del efecto de la testosterona se ha observado en pacientes adultos mayores donde la administración de esta hormona presenta como efecto secundario adverso la aparición de eritrocitosis (43), es por ello que se recomienda que la terapia hormonal sea continuamente monitorizada al menos durante los primeros 6 meses, que es el tiempo estimado de aparición de la eritrocitosis (41).

Recientes estudios han demostrado que la testosterona jugaría un papel incluso mucho más importante que la eritropoyetina en la aparición de la EPA, dado que esta hormona podría intervenir en el mismo proceso de la eritropoyesis en medula ósea, sin quedar claro aún el mecanismo de acción sobre este proceso. Otros autores indicaron la posible intervención de la testosterona sobre la absorción del hierro a nivel intestinal, la misma incorporación de este elemento al glóbulo rojo así como la síntesis de la hemoglobina mediante la intervención sobre la hepcidina que jugaría un papel importante sobre la regulación del hierro (44)(45); en nuestro estudio podemos observar una correlación significativa tanto entre los niveles de testosterona como la concentración de hierro plasmático; lo que denotaría la actividad de esta hormona sobre la biodisponibilidad de este componente esencial para la producción de glóbulos rojos, claro está que esta correlación se da en ambos grupos de estudio, es decir tanto para mujeres como para varones, siendo en ambos casos $r > 0$, denotando la correlación con un nivel de significancia de $p = 0.001$ (nivel de significancia de $p \leq 0.001$) que es estadísticamente significativa, esta correlación es también positiva observándose que ha mayor concentración de

testosterona mayor es la concentración de hierro presente en el paciente. Se observó que la testosterona suprime la actividad de la hepcidina causando una desregulación de la ferroportina incrementando la exportación de hierro (46) mas esta hormona no influiría sobre los niveles de ferritina, siendo esta una proteína de almacenamiento, probablemente porque la síntesis de esta última se efectúa a nivel hepático donde la testosterona no intervendría biológicamente, por ello no se halló una correlación estadísticamente significativa entre estas variables, es decir testosterona y ferritina ($p=0.090$).

Como tal en otros estudios se ha observado que la testosterona influirá sobre la síntesis y/o producción de eritropoyetina (41)(42) es más se había planteado que la testosterona promovería la secreción de esta hormona (42) debido posiblemente a que la administración o ciertas concentraciones de testosterona generarían una hipertrofia del tejido renal incrementando la secreción de EPO(42), sin embargo en nuestro estudio no se observa ninguna relación entre los valores de la testosterona y de la eritropoyetina, aun en los casos donde la testosterona alcanza valores mayores o iguales al doble del valor de referencia.

La eritropoyetina en el 100% de los casos se halla dentro de los valores normales como es característico en la población de pacientes con EPA, presentando una distribución normal en el estudio. En otra investigación realizado en la ciudad de La Paz se pudo observar que el total de 10 pacientes con EPA presentaron valores normales de eritropoyetina (23), y en otro estudio realizado por Winslow *et al* verificaron que en nativos de Nepal con eritrocitosis los valores de eritropoyetina se aproximan a los valores normales sin presentar un incremento significativo; estos estudios coinciden con el nuestro, donde como se mencionaba no se halló correlación entre el valor de hematocrito de los pacientes y la eritropoyetina ($p=0.458$) así como entre los valores de testosterona y eritropoyetina; considerando incluso que en algunos estudios se había indicado que la testosterona estimula la producción de eritropoyetina y este sería su mecanismo de acción sobre la eritropoyesis (63)(42).

Por ultimo debemos considerar la variable hormonal del estradiol, y su relación con los valores de la testosterona, se habría esperado un incremento de los valores de esta hormona que habrían favorecido el proceso de ventilación y disminuido el de eritropoyesis ayudando al paciente con eritrocitosis, así mismo no se observó un incremento de esta hormona en función a los valores de testosterona, tanto en varones como en mujeres; esto puede explicarse por el hecho mismo de que la testosterona jugaría un papel contrario por acción de una retroalimentación negativa sobre el estradiol (15).

XI. CONCLUSIONES

Considerando los resultados obtenidos se concluye que:

- Los pacientes con Enfermedad Patológica de Altura se constituyen como un porcentaje importante al momento de observar la distribución y clasificación de las eritrocitosis llegando a constituirse en un 89,4 % del total de la población estudiada (n=59).
- El porcentaje de mujeres con Eritrocitosis Patológica de Altura es mucho más alto en nuestro estudio en comparación a otros estudios realizados en países vecinos (8,8%) llegando en nuestro estudio a un porcentaje del 29,6%. Cabe mencionar que del total de la población masculina estudiada el 22% corresponden a jóvenes adultos en edad reproductiva, lo que representaría el doble del porcentaje obtenido según estudios por el IBBA, donde reconoce un 10% (pacientes jóvenes de entre 18 a 25 años) de población afectada por la eritrocitosis sin realizar una diferenciación de la causa de esta patología.
- Se observó una relación estadísticamente significativa entre los valores de Testosterona y Hematocrito en la población en estudio ($p=0.000$), siendo esta correlación positiva entre ambas variables, es decir que a mayor concentración de testosterona se registraron valores más elevados de hematocrito. Se realizó una diferenciación de la población tomando en cuenta el género, debido a que los valores de referencia son diferentes con respecto a la testosterona, al igual que en el caso del valor hematocrito, que al mismo tiempo nos permitió realizar una clasificación apropiada de las eritrocitosis en leves, moderadas o severas; así mismo en ambas poblaciones se observó la misma correlación significativa, dando por aceptada la hipótesis alternativa de nuestro estudio que considera a la Testosterona como

un factor importante para la aparición de la eritrocitosis patológica de altura.

- Como se ha confirmado la relación existente entre estas dos variables, testosterona y hematocrito (asociado a la eritrocitosis patológica de altura), fue interesante dilucidar el motivo por el cual la testosterona generaría la eritrocitosis, como este no es un mecanismo muy conocido, se realizaron diferentes estudios donde se asoció a la testosterona como elemento importante en el proceso de eritropoyesis a nivel medular, otro como estimulante de la síntesis de eritropoyetina y finalmente como estimulador de la absorción de hierro (afectando así sobre la ferrocínética del paciente); lo que se pudo observar es que la testosterona efectivamente influye sobre los niveles de hierro disponibles en el organismo, y este último a su vez favorecería el proceso de eritropoyesis en los pacientes con eritrocitosis; se observó en este sentido una relación estadísticamente significativa entre ambas variables ($p=0.001$).
- No se ha observado una correlación entre los valores de Testosterona y Ferritina en la población en estudio ($p=0.090$) debido a que esta hormona no promueve ni inhibe la síntesis de ferritina a nivel hepático en el organismo, dando por sentado una vez más que la testosterona promovería como mecanismo central la absorción y movilidad de hierro en el organismo estimulando así el proceso de la eritropoyesis en estos pacientes a través de la hepcidina.
- Con respecto a la correlación entre los valores de testosterona y eritropoyetina se puede mencionar que tal correlación no existe, y que la concentración de la eritropoyetina de los pacientes del estudio se halla dentro de los valores normales de referencia, en ninguno de los casos se observa siquiera un valor próximo al valor máximo de referencia, lo que no es estadísticamente representativo para este

estudio $p=0.458$. El mismo caso se observó en relación a la hormona estradiol, esto puede deberse al efecto de retroalimentación negativa que ocurre *in vivo* de parte de la testosterona, que inhibiría la síntesis de Estradiol.

XIII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- (1) Monge M. La enfermedad de los Andes: Síndromes eritremicos. Anales de la Facultad de Medicina 2008. 11:1- 314
- (2) Gonzales G. Hemoglobina y Testosterona: Importancia en la aclimatación y adaptación a la altura. Revista Peruana Medica Salud Publica 2011; 28: 92 – 100
- (3) De Mesa J, Gisbert T, De Mesa C. Historia de Bolivia – Apartado Datos del INE. Séptima Edición. Editorial Gisbert y Cía. La Paz – Bolivia 2008.
- (4) Vargas E. Excessive erythrocythemia and chronic mountain sickness, studies from the IBBA. Project Alfa 2005.
- (5) Mc Kenzie S. Hematología Clínica. Segunda edición. Editorial El Manual Moderno. México 2000.
- (6) Guyton A, Hall J. Fisiología Médica. Décimo primera edición. Editorial Elsevier. España 2006.
- (7) Mazza J. Hematología Clínica. Primera Edición. Editorial Marban Libros. España 2004.
- (8) Sans S. Hematología Clínica. Primera Edición. Editorial Doyma. Madrid 1988.
- (9) Silva García M, García Bermejo M. Técnicos especialistas de Laboratorio del Servicio de Vasco de Salud – Osakidetza. Editorial MAD. Segunda Edición. España 2006.
- (10) Miale J. Hematología: Medicina del Laboratorio. Editorial Reverte S.A. Primera edición. España 1985.
- (11) Michaely B. The ANK repeats of erythrocyte ankyrin form two distinct but cooperative binding site for the erythrocyte anion Exchange. Journal of Biology Chemistry 1995; 270: 2250 – 7.
- (12) Delanghe J, Bollen M, Beullens M. Testing for recombinant erythropoietin. American Journal of Haematology 2008. 83: 237 – 241.
- (13) García Ramirez R. Características y componentes de la membrana eritrocitaria. Disponible en: <http://www.es.slideshare.net//caracterisiticas-membrana-eritrocitaria>

- (14) Metabolismo del eritrocito. Disponible en:
<http://www.fbroyf.unr.edu.ar/...php.../Metabolismo%20DEL%GR.pdf>
- (15) Gonzales G, Gasco M, Tapia V, Gonzales C. High serum testosterone levels are associated with excessive erythrocytosis of chronic mountain sickness in men. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2009. 296: 1319 – 1325
- (16) Peñuela O, Gómez L. Eritropoyetina: Más allá de la proliferación y maduración eritroide. *Revista Médica* 2010. 18: 67 – 76.
- (17) Jelkmann W. Regulation of erythropoietin production. *J Physiol* 2011. 589: 1251- 1258.
- (18) Gho Brito C. Regulación de la eritropoyesis. Facultad de Medicina – Universidad de Chile 2010. 1 -10.
- (19) Rivas Pollmar I, Salvatierra Calderón G. Aproximación diagnóstica y terapéutica a las eritrocitosis no clonales. *Medicine* 2008. 10: 1354 – 61.
- (20) Malgor – Valsecia. Hormonas sexuales masculinas. *Acta Phisiol. Et Pharmacol Latinoam* 1988. 38: 211- 219.
- (21) Martinez-Sanchez G, Fernández –Delgado N. Estabilización de los indicadores hematológicos en pacientes con policitemia absoluta secundaria tratado con Vimang. *Revista Cubana de Farmacia* 2009. 43: 1-7.
- (22) García –Conde J, San Miguel J. Hematología. Editorial Aran SL. España 2003.
- (23) Amaru R, Hortencia M, Peñaloza R. Eritrocitosis Patológica de Altura: Caracterización biológica, diagnóstico y tratamiento. *Revista Médica La Paz* 2013. 19: 5-17.
- (24) Jandl J. *Blood Text of Haematology*. Primera edición. Library of Congress. 1997.
- (25) Gonzales G, Tapia V. Hemoglobina, Hematocrito y Adaptación a la altura: su relación con los cambios hormonales y el periodo de residencia multigeneracional. *Revista Médica* 2007. 15: 80 – 93.
- (26) Bernaloa A. Los riesgos de la altitud y su prevención Seguridad y Salud en el Trabajo 2012. Vol 68.

- (27) Efectos de la altitud en los humanos. Disponible en: http://www.wikipedia.org/wiki/Efecto_de_la_altitud_en_los_humanos
- (28) Monge C. La vida sobre los Andes y el mal de Montaña Crónico. Anales de la Facultad de Medicina 2008. 69 Suplemento 2.
- (29) Monge C, Whittembury J. Chronic mountain sickness and the physiopathology of hypoxemic polycythemia. New York. Thieme Stratton.
- (30) Poliglobulias. Disponible en: <http://www.monografias.com/trabajos81/lo-que-debe-saber-poliglobulico.html>
- (31) Uscamayta Quispe N. Eritrocitosis de Altura Patológica. Científica 2007. Vol. 5 No.5
- (32) Guzmán R. Eritrocitosis secundaria: Artículo de Revisión. Rev. Hematología y Hemoterapia. 2008.
- (33) Monge CC. Regulación de la concentración de Hemoglobina en la policitemia de altura: modelo matemático. Bull Inst Fr Etud Andines 1990. 19: 455 – 67.
- (34) Coy L, Castillo M. Enfermedad Crónica de Montaña o Síndrome de Monge. Rev Médica 2006.
- (35) Gonzales M. Influencia de la hipoxia intermitente en el MCM. Altura, Salud y Ambiente. Jornadas Franco – Andinas. Bolivia 2014.
- (36) Bolivia: Nivel de Pobreza. Disponible en: http://www.pieb.com.bo/sipieb_estadistica.php?idn_6750
- (37) Ministerio de Salud. Plan sectorial de desarrollo 2010 – 2020: Hacia la salud universal. Primera edición. Bolivia 2010.
- (38) Bigham A, Wilson M. Andean and Tibetan Pattern of Adaptation to High Altitude. American Journal of Human Biology 2013. 25: 190- 197.
- (39) Wen G, Bachman M, Li M. Testosterone administration inhibits Hcpidin Transcription and is Associated with Increased Iron Incorporation into Red Blood Cells. National Institute of Health 2013. 12: 280 – 291.
- (40) Organización Mundial de la Salud. Altura, Salud y Ambiente: Resúmenes Jornadas Franco – Andinas. Primera edición. Bolivia 2014.

- (41) Gonzales G, Rubio J, Gasco M. Chronic mountain sickness score was related with health status score but not with hemoglobin levels at high altitude. *Respiratory Physiology and Neurobiology* 2013. 188: 152 – 160.
- (42) Shahani S, Braga-Basaria M, Maggio M. Androgens and erythropoiesis: Past and present. *Journal Endocrinology* 2009. 32: 704 – 716.
- (43) Coviello A, Kaplan B, Kishore M. Effects of Graded Doses of Testosterone on Erythropoiesis in Healthy Young and Older Men. *J Clin Endocrinol Metab* 2008. 93: 914 – 919.
- (44) Naets J, Wittck M. The mechanism of action of androgens on erythropoiesis. *An NY Acad Sci* 1968. 149: 366 – 376.
- (45) Follerat – Barrios M. Regulación de la Hepcidina y homeostasis del hierro: Avances y perspectivas. *Revista Cubana de Hematología, Inmunología y Hemoterapia* 2012. Vol 23 No 4.
- (46) Peñaloza D. High Altitude pulmonary hypertension and Chronic Mountain Sickness – Reappraisal of the consensus on Chronic and subacute high altitude diseases. *Problems of High Altitude Medicine and Biology* 2007. 11 – 37.
- (47) Metabolismo de eritrocito. Disponible en: <http://www.fbyof.unr.edu.ar/evirtual/pluginfile.php/course/section/metabGR.pdf>
- (48) Jelkmann W. Renal Erythropoietin: Properties and Production. *Rev Physiol Biochem Pharmacol* 1986. Vol 104: 140 – 190.
- (49) García – Campaña AM, Baeyens WR, Zhang X. Quimioluminiscencia: Una interesante alternativa para la detección analítica en sistemas de flujo. *Ars Farmacéutica* 2001. 81 – 107.
- (50) INMULITE. Inmulite 1000 systems Total Testosterone 2010. 1-29.
- (51) INMULITE. Inmulite 1000 systems Estradiol 2011. 1-31.
- (52) INMULITE. Inmulite 1000 systems Eritropoyetina 2012: 1-39.
- (53) INMULITE. Inmulite 1000 systems Ferritin 2012: 1-32.
- (54) Vargas Pacheco E. Origen Neonatal del Mal Crónico de Altura. *Jornadas Franco – Andinas. Bolivia* 2014.

- (55) Gonzales Isidro M. Influencia de la Hipoxia intermitente en el Mal Crónico de Montaña. Jornadas Franco – Andinas. Bolivia 2014.
- (56) León Velarde F. Factores de riesgo adicional para el Mal de Montaña Crónico. Jornadas Franco – Andinas. Bolivia 2014.
- (57) Grocott M, Montgomery H. High-altitude physiology and pathophysiology: implications and relevance for intensive care medicine. *Critical Care* 2007, 11:203.
- (58) Peñaloza, D. High altitude pulmonary hypertension and chronic mountain sickness-reappraisal of the consensus on chronic and subacute high altitude diseases. *Problems of High Altitude Medicine and Biology* 2007, 11-37.
- (59) Patnaik M, Tefferi A. The complete evaluation of erythrocytosis: congenital and acquired. *Leukemia* 2009. 23: 834-844.
- (60) Chunhua J, Jian Ch, Fuyu L. Chronic mountain sickness in Chinese Han males who migrated to the Qinghai – Tibetan plateau: application and evaluation of diagnostic criteria for chronic mountain sickness. *BMC Public Health* 2014, 14:701.
- (61) León Velarde F, Vargas Pacheco E. Resumen general de la exposiciones y recomendaciones Sesión “Mal Crónico de Montaña”. Jornadas Franco – Andinas. Bolivia 2014.
- (62) Murillo Jáuregui C. Estudio comparativo de la función ventricular derecha en participantes sanos y Mal Crónico de Montaña. Jornadas Franco – Andinas. Bolivia 2014.
- (63) Gordon A, Wenig J. Mechanism of Testosterone action in erythropoiesis. *Nature* 1965. 8: 270 – 272.
- (64) Fried W, Gurney C. The erythropoietic-stimulating effects of androgens. *Annals New York Academy of Sciences* 1980: 356 – 364.



ANEXOS



RELACION DE LA ERITROCITOSIS PATOLOGICA DE ALTURA CON LOS VALORES HORMONALES DE TESTOSTERONA EN PACIENTES QUE ASISTIERON A LA UNIDAD DE HEMATOLOGIA DEL HOSPITAL DE CLINICAS DURANTE ENERO A OCTUBRE DE 2014



A. Nombre.....

B. Edadaños

C. Género.....

D. Residencia actual.....

<p>Tiene usted algún otro problema de salud diferente a la eritrocitosis?</p>	<p>SI..... NO..... Cuál?</p>
<p>Qué tratamiento recibe para tratar la eritrocitosis?</p>	<p>Toma aspirina..... Atorvastatina..... Hormonas..... Flebotomía.....</p>
<p>Si fuera su tratamiento la flebotomía ¿Cuántas veces la realizó?</p>	<p>.....</p>

Fecha:



**RELACION DE LA ERITROCITOSIS PATOLOGICA
DE ALTURA CON LOS VALORES HORMONALES DE
TESTOSTERONA EN PACIENTES QUE ASISTIERON
A LA UNIDAD DE HEMATOLOGIA DEL HOSPITAL
DE CLINICAS DURANTE ENERO A OCTUBRE DE 2014**



FORMULARIO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Yo....., acepto participar de forma voluntaria en el estudio “**RELACION DE LA ERITROCITOSIS PATOLOGICA DE ALTURA CON LOS VALORES HORMONALES DE TESTOSTERONA EN PACIENTES QUE ASISTEN A LA UNIDAD DE HEMATOLOGIA DEL HOSPITAL DE CLINICAS**” tomando en cuenta que los resultados proporcionados ayudaran al mantenimiento y bienestar de mi salud. También acepto que conozco los exámenes que me realizaran, así como conozco que los datos que proporcione en el cuestionario serán de absoluta confidencialidad.

C.I.....

La Paz,.....de..... de 2014



**RELACION DE LA ERITROCITOSIS PATOLOGICA DE
ALTURA CON LOS VALORES HORMONALES DE
TESTOSTERONA EN PACIENTES QUE ASISTIERON
A LA UNIDAD DE HEMATOLOGIA DEL HOSPITAL DE
CLINICAS DURANTE ENERO A OCTUBRE DE 2014**



EVALUACION DEL FORMULARIO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

1. Nombre.....

2. ¿Conoce el contenido del Formulario del Consentimiento Informado?

SI

NO

3. ¿Hizo preguntas con respecto al Formulario de Consentimiento Informado?

SI

NO

4. ¿Hizo preguntas sobre las dudas que tenía con respecto al Formulario de Consentimiento Informado?

SI

NO

5. ¿Ha tenido suficiente información con respecto a este estudio?

SI

NO

6. ¿Su participación en este estudio es voluntario?

SI

NO

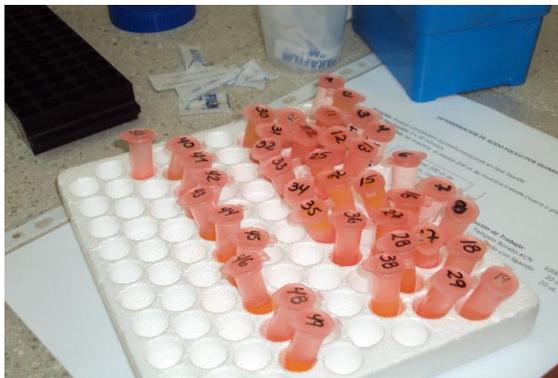
Firma



Muestras obtenidas por punción venosa

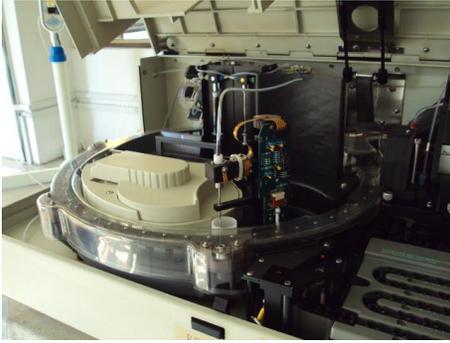


Equipo Immulite 1000

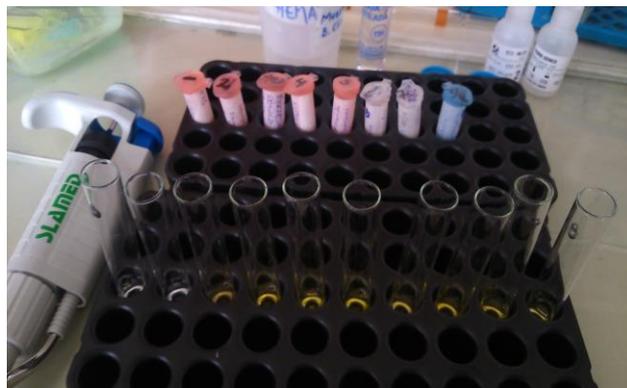


Procesamiento de las muestras de suero

ANEXO No. 5: Cuantificación de Testosterona, Estradiol, Ferritina, Eritropoyetina y Hierro



Incubación de las muestras y ejecución de las pruebas de Testosterona, Estradiol, Eritropoyetina y Ferritina



Determinación de la concentración de Hierro

