

**ESTUDI DE LA VARIABILITAT BIOLÒGICA EN EL  
POSTTRASPLANTAMENT RENAL: OPTIMITZACIÓ  
DEL PROTOCOL ANALÍTIC ASSISTENCIAL**

**CARME BIOSCA I ADZET**

**TESI DOCTORAL**

**UNIVERSITAT AUTÒNOMA DE BARCELONA**  
**DEPARTAMENT DE BIOQUÍMICA I BIOLOGIA MOLECULAR**

**ESTUDI DE LA VARIABILITAT BIOLÒGICA EN EL  
POSTTRASPLANTAMENT RENAL: OPTIMITZACIÓ DEL  
PROTOCOL ANALÍTIC ASSISTENCIAL**

**Memòria presentada per CARME BIOSCA I ADZET per optar al grau de Doctora per la Universitat Autònoma de Barcelona, havent realitzat el programa de doctorat de Bioquímica Clínica i Patologia Molecular, de l'esmentada universitat, dirigida per la Dra. CARMEN RICÓS I AGUILÁ.**

**Barcelona, abril de 2002**

***Als meus pares,  
Al Lluís,  
A la Cristina i a l'Alícia***

## AGRAÏMENTS

A la Dra. Carmen Ricós, Directora d'aquesta tesi, per la seva inestimable aportació científica, la seva entrega i la seva dedicació. Però sobretot, per la seva alta qualitat humana; d'ella he après que, amb constància i esforç, es poden fer de petites idees grans projectes.

A la Prof. Dra. Margarita Sentís, Tutora d'aquesta tesi, que amb el seus consells adequats i suggeriments encertats, hi ha contribuït decisivament.

Al Prof. Dr. August Corominas, Cap del Servei de Bioquímica Clínica de l'Hospital Universitari "Germans Trias i Pujol" on ha estat realitzada aquesta tesi, per posar al meu abast totes les facilitats possibles, pels seus consells, l'estímul, la motivació i també per la dedicació plena i continuada al llarg de tots aquests anys.

Al Dr. Roman Galimany, el meu més gran agraïment per haver-me ensenyat a treballar rigorosament en el camp de la Bioquímica Clínica i per la seva valuosa ajuda i comprensió.

Al Dr. Per Hyltoft Petersen , per les seves orientacions, els seus consells i assessorament científics i per la seva confiança i el seu recolzament demostrats al llarg de tots aquests anys.

El meu agraïment al Dr. Ricardo Lauzurica del Servei de Nefrologia de l'Hospital Universitari "Germans Trias i Pujol", per la seva contínua ajuda i el seu assessorament.

Als companys del Servei de Bioquímica Clínica de l'Hospital Universitari "Germans Trias i Pujol", per la seva paciència i el seu recolzament oferts en tot moment.

Als companys del Servei de Nefrologia de l'Hospital Universitari "Germans Trias i Pujol", dirigit pel Prof. Dr. Ramón Romero, per la seva col·laboració i la seva ajuda en la realització d'aquesta tesi.

## ABREVIATURES

CsA	ciclosporina A
CV	coeficient de variació
CV <sub>a</sub>	coeficient de variació analític
CV <sub>g</sub>	coeficient de variació biològic interindividual
CV <sub>i</sub>	coeficient de variació biològic intraindividual
CV <sub>i+a</sub>	coeficient de variació biològic intraindividual més analític
CV <sub>i+a</sub> (%)( )	coeficient de variació biològic intraindividual més analític, el més alt
CV <sub>i+a</sub> (%)( )	coeficient de variació biològic intraindividual més analític, el més baix
FK506 ,FK	tacrolimus
I.H.	índex d'heterogeneïtat
I.I.	índex d'individualitat
n	nombre de pacients
n <sub>c</sub>	nombre de determinacions de sèrum control
NC	resultats negatius certs
NF	resultats negatius falsos
n <sub>i</sub>	nombre de determinacions de cadascun dels pacient
PC	resultats positius certs
PF	resultats positius falsos
PF(1)	probabilitats teòriques d'obtenir resultats positius falsos (utilitzant els valors de referència d'un canvi de un sol constituent)
PF(2)	probabilitats teòriques d'obtenir resultats positius falsos (utilitzant els valors de referència d'un canvi de dos constituents combinats)

PT renals	pacients posttransplantats renals
QP(-)	quocient de probabilitat negatiu
QP(+)	quocient de probabilitat positiu
r	coeficient de correlació
s	desviació estàndard
$s_g^2$	variància biològica interindividual.
$s_i^2$	variància biològica intraindividual.
$s_{i+a}^2$	variància intraindividual més analítica.
$s_{i+a}^2$ pacient	variància intraindividual més analítica de cadascun dels pacients
$s_t^2$	variància total
$s_a$	desviació estàndard analítica
$s_a^2$	variància analítica
VB	variabilitat biològica
VP <sub>neg</sub>	valor predictiu d'un resultat negatiu
VP <sub>pos</sub>	valor predictiu d'un resultat positiu
VRC	valor de referència d'un canvi
x	mitjana aritmètica
$x_c$	cadascuna de les determinacions de sèrum control
$\bar{x}_c$	mitjana aritmètica de les determinacions de sèrum control
$x_i$	cadascuna una de les determinacions de cada pacient
$\bar{x}_i$	mitjana aritmètica de les determinacions de cadascun dels pacients
$x_{temps}$	mitjana aritmètica dels intervals de temps d'obtenció de les mostres, expressada en dies
$Z_p$	factor que depèn de la probabilitat seleccionada

# ÍNDEX

## INTRODUCCIÓ

1.1	Factors que influencien els resultats de les proves analítiques.....	1
1.2	Variabilitat biològica.....	2
1.3	Estimació de la variabilitat biològica.....	4
1.4	Variabilitat biològica en “certs estats de salut”.....	5
1.5	Trasplantament renal.....	6
1.5.1	Rebuig.....	7
1.5.2	Tractaments immunosupressors.....	8
1.5.3	Complicacions del trasplantament renal.....	9
1.6	Variabilitat biològica en el pacient posttrasplantat renal.....	10
1.7	Utilitat del “Valor de Referència d’un Canvi” (VRC).....	12
1.8	Influència de les proves del laboratori en la presa de decisions clíniques.....	14

<b>OBJECTIUS</b> .....	16
------------------------	----

## MATERIAL I MÈTODES

### PART I

#### ***Establiment de l'equilibri homeostàtic en el posttrasplantament renal***

1.1	MATERIAL	
1.1.1	Pacients.....	20
1.1.2	Mostres.....	21
1.1.3	Determinacions analítiques.....	21

1.2	MÈTODES	
1.2.1	Determinació de l'inici del període d'estabilitat.....	22
1.2.2	Determinació del final del període d'estabilitat.....	23

## **PART II**

### ***Components de la variabilitat biològica en el posttrasplantament renal***

2.1	Influència de l'interval d'obtenció de mostres en l'estimació dels components de la variabilitat biològica.....	25
2.1.1	Pacients.....	25
2.1.2	Determinacions analítiques.....	26
2.1.3	Anàlisi estadística.....	26
2.2	Càlcul dels components de la variabilitat biològica.....	27
2.2.1	Càlcul de la variabilitat analítica.....	27
2.2.2	Càlcul de la variabilitat biològica intra i interindividual.....	28
2.2.3	Càlcul de l'índex d'individualitat.....	30

## **PART III**

### ***Valors de referència d'un canvi (VRC) en el seguiment del posttrasplantament renal***

3.1	Valors de referència d'un canvi (VRC) dels constituents que tenen utilitat en el seguiment del posttrasplantament renal.....	33
3.1.1	Comprovació d'independència entre constituents.....	33
3.1.2	Càlcul del valor de referència d'un canvi (VRC).....	33
3.1.3	Combinació dels VRC per incrementar el valor predictiu.....	35



3.2	Validesa diagnòstica dels VRC.....	36
3.2.1	Pacients.....	37
3.3	Elaboració d'una enquesta dirigida als clínics per conèixer les necessitats mèdiques que defineixen el valor de referència d'un canvi (VRC).....	39
3.3.1	Tipus de qüestions.....	40
3.3.1.1	Qüestions generals.....	40
3.3.1.2	Qüestions basades en casos clínics.....	40
3.4	Aplicació del model VRC combinat.....	42

## **RESULTATS I DISCUSSIÓ**

### **PART I**

#### ***Establiment de l'equilibri homeostàtic en el posttrasplantament renal***

1.1	Determinació de l'inici del període d'estabilitat.....	44
1.2	Determinació del final del període d'estabilitat.....	47

### **PART II**

#### ***Components de la variabilitat biològica en el posttrasplantament renal***

2.1	Influència de l'interval d'obtenció de mostres en l'estimació dels components de la variabilitat biològica.....	54
2.2	Càlcul dels components de la variabilitat biològica.....	57

## **PART III**

### ***Valors de referència d'un canvi (VRC) en el seguiment del posttrasplantament renal***

3.1	Valors de referència d'un canvi (VRC) dels constituents que tenen utilitat en el seguiment del posttrasplantament renal.....	63
3.1.1	Comprovació d'independència entre constituents.....	63
3.1.2	Càlcul del valor de referència d'un canvi (VRC).....	64
3.2	Validesa diagnòstica dels VRC.....	65
3.3	Criteri dels nefròlegs i objectius clínics.....	77
3.3.1	Qüestions generals.....	78
3.3.2	Qüestions basades en casos clínics.....	78
3.4	Aplicació del model VRC combinat.....	81

<b>CONCLUSIONS</b> .....	87
--------------------------	----

<b>BIBLIOGRAFIA</b> .....	89
---------------------------	----

<b>ANNEX QÜESTIONARI</b> .....	100
--------------------------------	-----

<b>ANNEX PUBLICACIONS</b> .....	111
---------------------------------	-----

# **INTRODUCCIÓ**

Les proves del laboratori es sol·liciten per obtenir informació sobre la presència o l'absència d'una malaltia o patologia determinada i així poder proporcionar un tractament i fer un seguiment adequat als pacients.

Els avenços en la metodologia, l'automatització del laboratori i la tecnologia informàtica han aportat uns guanys importants pel que fa a la productivitat del laboratori i, per tant, han incrementat en gran manera la quantitat de dades i la informació disseminada des del laboratori clínic.

A més, el desenvolupament de noves proves de laboratori i la millora de les ja establertes han incrementat les capacitats diagnòstiques dels clínics. Malgrat que la certesa absoluta en el diagnòstic de l'estat patològic d'un pacient no és possible, l'objectiu per part del laboratori és reduir el grau d'incertesa per tal de prendre una decisió diagnòstica i terapèutica òptima (1).

En el sentit d'optimitzar la utilització de les proves del laboratori, s'ha de ser coneixedor del valor informatiu que es desprèn del resultat analític, i saber quan s'arriba al punt en què la prova afegeix poca informació addicional a les opcions diagnòstiques disponibles. Desafortunadament conèixer aquest punt és considerat com un art après intuïtivament a través de l'experiència dels clínics en una determinada patologia .

## **1.1 Factors que influencien els resultats de les proves analítiques**

El propòsit de l'anàlisi de les mostres dels pacients és obtenir una informació que descrigui la condició del pacient en funció de la concentració d'un component de la sang o d'altres fluids corporals.

La validesa del resultat d'una prova depèn de la qualitat de la interpretació en relació a la informació esperada, independentment de si el resultat és utilitzat per al cribatge, al diagnòstic, a la monitorització o bé, per a d'altres propòsits.

Les determinacions analítiques poden aportar una informació extra molt valuosa quan les dades són utilitzades apropiadament en una situació clínica ben definida i perfectament protocol·litzada.

Els resultats de les determinacions analítiques es veuen influenciats per molts factors. Alguns dels factors que emmascaren el senyal metrològic (per exemple sexe i edat) es poden documentar. Altres són controlables, com el moment en el temps de l'obtenció de la mostra o la qualitat analítica. I, finalment, altres no són controlables però sí estandaritzables, com la inherent variabilitat biològica aleatòria intraindividual inherent a la mostra (2).

Per poder ser interpretats correctament, els resultats de les determinacions analítiques han de comparar-se en algun marc de referència. Així, disposar de dades del mateix individu en períodes anteriors a l'actual constitueix un gran ajut a l'hora d'interpretar els resultats longitudinalment.

La selecció de proves amb òptim "senyal", en les quals la concentració obtinguda correspongui al constituent pur amb un mínim component de "soroll", és un requisit essencial per optimitzar la utilitat de les determinacions analítiques en el Laboratori Clínic i, a la vegada, incrementar la seva rendibilitat. Cal, doncs, reduir el "soroll" corresponent als factors no controlables, per la qual cosa és important utilitzar la variabilitat biològica.

## **1.2 Variabilitat biològica**

La variabilitat biològica (VB) és la fluctuació fisiològica dels nivells de concentració dels diferents constituents de l'organisme al voltant d'un punt homeostàtic. Aquest concepte ha estat àmpliament utilitzat en el laboratori clínic amb diversos objectius o propòsits, com ara derivar-ne especificacions de la qualitat analítica, determinar la diferència crítica o significativa d'un

canvi entre resultats seriatos, assessorar la utilitat dels valors de referència, etc. (3).

Les magnituds biològiques estan sotmeses a variabilitat, que pot ser deguda a causes fisiològiques i analítiques. La variabilitat biològica es desglossa en variabilitat biològica intraindividual i interindividual.

Les diferències observades en els resultats obtinguts de la mesura d'una de les magnituds biològiques entre els individus són les que constitueixen la variabilitat biològica interindividual; en canvi, les variacions observades en els resultats de la mesura repetida d'una magnitud en un mateix individu durant un cert període de temps són les que constitueixen la variabilitat biològica intraindividual.

Les dades que s'obtenen de l'estudi de la variabilitat biològica tenen aplicacions importants en el laboratori clínic:

- Jutjar la validesa dels procediments analítics. S'ha proposat que, per a fer un bon seguiment dels pacients, la variabilitat analítica desitjable d'un procediment de mesura ha de ser igual o inferior a la meitat de la variabilitat biològica intraindividual (3-6). També s'ha proposat que per a fer un bon diagnòstic i un bon cribatge l'error sistemàtic ha de ser inferior a la quarta part de la suma de la variabilitat biològica intraindividual i de la interindividual (7-10).
- L'avaluació del significat d'un canvi entre dos valors consecutius d'una mateixa magnitud en un mateix individu.

Per tal que les dades obtingudes a partir de la mesura d'una magnitud biològica siguin útils a l'hora de prendre una decisió clínica, és imprescindible que aquestes dades presentin les condicions necessàries per ser tingudes en consideració (11-14).

En el seguiment de l'evolució d'una malaltia o del tractament d'un pacient es planteja un problema en el moment de decidir si les diferències observades entre dos valors consecutius d'una magnitud biològica en un mateix individu són significatives i, per tant, si indiquen un canvi en l'evolució del pacient.

És important establir quina és la menor diferència entre dos resultats consecutius que reflecteixi un canvi clínicament significatiu en l'evolució d'un pacient.

L'opinió dels clínics acostuma a ser discrepant degut a la subjectivitat. Ara bé Fraser i Harris han quantificat la diferència més petita entre dos resultats consecutius amb el que ells anomenen "diferència crítica" (3).

### **1.3 Estimació de la variabilitat biològica**

S'han dedicat molts treballs a estimar els components de la VB (10),(15-20), i la majoria han utilitzat el model proposat per Fraser i Harris (3). Aquest model va ser dissenyat per ser aplicat a individus sans, i està basat en un protocol d'obtenció de mostres estrictes i en unes condicions ben controlades. S'ha comprovat que algunes d'aquestes condicions, així com el temps de duració de l'estudi i el nombre de individus a incloure-hi, no ha d'estar absolutament fixat com es pensava originàriament, ja que variacions en aquests factors no produeixen discrepàncies en l'estimació de la VB (8, 9). No obstant, altres condicions com l'estandardització de l'obtenció de la mostra i el control dels procediments analítics són absolutament necessàries.

Aquest model per estimar variabilitat biològica (3) basat en individus sans utilitza intervals de temps entre extraccions iguals i aplica el mateix protocol d'obtenció de mostres per a tots els pacients de l'estudi. La majoria de treballs publicats utilitzen aquest model. Tot i això, en alguns dels treballs realitzats en individus sans les mostres s'han obtingut en intervals de temps diferents (21-23).

Un altre estudi compara valors de variabilitat biològica intraindividual entre pacients amb insuficiència renal crònica i individus sans utilitzant, però, un protocol diferent en cada cas (24).

Quan s'estudia variabilitat biològica en patologies o bé "en certs estats de salut" és gairebé impossible complir el requisit d'obtenir les mostres en

---

interval·ls iguals de temps. Els pacients estan sotmesos a una exhaustiva observació mèdica, que en molt casos implica una sèrie de proves de laboratori la freqüència de sol·licitud de les quals depèn de l'evolució de la malaltia, del tractament prescrit, etc. En aquests casos, l'investigador no és lliure de dissenyar l'interval d'extracció de les mostres. Per raons ètiques, els pacients no haurien de ser sotmesos a més punxades innecessàries que les que són requerides pel clínic per dur a terme la seva monitorització.

#### **1.4 Variabilitat biològica en “certs estats de salut”**

La gran majoria de treballs en variabilitat biològica han estat fets amb individus sans. No obstant, està reconegut que els estats patològics, o la utilització de fàrmacs en el seu tractament, poden influenciar l'equilibri homeostàtic del pacient i fer que els components de VB siguin diferents que en els individus sans. Per aquest motiu, es suggereix que els components de variabilitat biològica han de ser estudiats específicament per cada estat patològic (24-30).

Ja que la variabilitat biològica depèn de les fluctuacions al voltant d'un punt fix (homeostàtic), quan es mesura els components de variabilitat biològica en “certs estat de salut” o bé de “no salut”, és essencial delimitar el període durant el qual l'evolució de la patologia o del “cert estat de salut” sigui relativament estacionària i els pacients hagin assolit un nou estat homeostàtic relativament estable dins la seva patologia (24).

Un “cert estat de salut” en el qual es posa de manifest la necessitat d'optimitzar el seu seguiment és el dels pacients trasplantats renals, on la detecció precoç de les diferents alteracions funcionals pot ser decisiva per prendre decisions mèdiques adients.

El trasplantament renal ha vingut a ser una forma de tractament acceptable pels pacients que sofreixen insuficiència renal terminal. És molt important la



monitorització d'aquests pacients per a detectar una possible disfunció del ronyó trasplantat .

L'estat fisiològic del pacient posttrasplantat renal és inestable; això fa que sigui monitoritzat amb un protocol ben definit i estrictament seguit pels clínics.

La disfunció de l'empelt en el posttrasplantament immediat/mediat és multifactorial, les causes més importants, que en ocasions fan difícil d'arribar al diagnòstic, són la toxicitat deguda als immunosupressors (sobre tot anticalcineurínics) i el rebuig agut.

La monitorització en el posttrasplantament inclou anàlisis freqüents d'un gran nombre de constituents, generant com a conseqüència una gran quantitat de dades. La utilització d'aquesta informació seria beneficiosa per trobar indicadors primerencs de la tendència cap a possibles complicacions, abans que l'estat del pacient es veiés seriosament afectat i, per tant, quan encara es poguessin prendre mesures preventives (31). La variabilitat biològica podria ser aplicada per trobar aquests indicadors.

La variabilitat biològica intraindividual és deguda a les fluctuacions dels constituents dels fluids d'un ésser viu al voltant d'un punt d'equilibri homeostàtic. En els pacients posttrasplantats renals el punt d'equilibri probablement no sigui igual que en els individus sans, ja que el seu estat fisiològic és molt inestable. Aquesta problemàtica fa que no sigui vàlida l'extrapolació de les dades de variabilitat biològica trobades en individus sans (8,9); per tant es fa necessari l' estudi dels valors de variabilitat biològica en persones trasplantades renals.

## **1.5 Trasplantament renal**

El trasplantament renal representa la millor opció terapèutica pels pacients amb insuficiència renal crònica terminal en programa de diàlisi. Una vegada realitzat el trasplantament, el receptor ha de rebre un tractament

immunosupressor per a contrarestar els mecanismes agressors del receptor contra l'empelt, que portarien al rebuig i fracàs de l'òrgan (32,33).

Els fàrmacs immunosupressors ideals serien aquells que actuen específicament contra els antígens involucrats en el rebuig, respectant la integritat de la resta del sistema immunològic i sense tenir, sobretot, efectes tòxics.

Els fàrmacs immunosupressors utilitzats actualment en el trasplantament renal són:

Ciclosporina A i tacrolimus (FK506) (anticalcineurínics), azatioprina, micofenolat mofetil, corticoides, anticossos monoclonals, anticossos policlonals i rapamicina.

Actualment existeixen diferents esquemes de tractament immunosupressor, que depenen de les preferències de l'equip trasplantador.

No existeix en el moment actual un protocol immunosupressor millor que un altre, i generalment s'utilitzen combinacions de varis fàrmacs.

El postoperatori immediat del trasplantament renal és un període crucial del trasplantament. Poden existir complicacions isquèmiques (necrosi tubular aguda), immunològiques (rebuig agut), quirúrgiques (trombosi vascular, fístules, etc.) e infeccioses, que marcaran l'evolució de l'empelt i, per tant l'èxit o el fracàs del trasplantament.

El tractament immunosupressor és absolutament necessari i de per vida. Pot presentar múltiples complicacions: infeccioses, cardiovasculars, hepàtiques, neoplàssiques i metabòliques, i també hipertensió.

### **1.5.1 Rebuig**

El rebuig és el conjunt de manifestacions generals i locals que poden aparèixer en el receptor d'un empelt renal, com a conseqüència d'una resposta immunitària lesiva dirigida contra aquest empelt. Pot aparèixer en

qualsevol moment, ja sigui de forma immediata al trasplantament, o al cap de setmanes, mesos o fins i tot anys.

Els dos tipus principals de rebuig són l' agut i el crònic. El rebuig crònic és la causa més freqüent de fracàs del trasplantament renal a partir del primer any.

Independentment de la seva possible pèrdua aguda, el rebuig produeix un dany que pot condicionar el progressiu deteriorament de l'empelt. És per això que un diagnòstic correcte i precoç del rebuig revesteix una gran importància per poder establir un tractament ràpid i eficaç.

Rebuig agut : Els protocols immunosupressors actuals han aconseguit disminuir les tasses de rebuig per sota del 20%. El rebuig agut pot aparèixer en qualsevol moment del trasplantament renal, però la seva major presència es troba entre la primera i la sisena setmana del mateix.

Cal destacar que el rebuig agut està considerat com un dels principals factors predictius del desenvolupament del rebuig crònic.

Rebuig crònic : El rebuig crònic és un procés gradual i indolent de disfunció de l'òrgan. Factors immunològics i no immunològics són els responsables d'aquesta progressió. Per aquest motiu en els últims anys el rebuig crònic ha estat substituït per el de "nefropatia crònica del trasplantament". És la causa tardana més freqüent de pèrdua de l'empelt.

### **1.5.2 Tractaments immunosupressors**

Quan hi ha diferències en la histocompatibilitat entre el donant i el receptor, és necessari modificar o suprimir la resposta immunològica amb la finalitat que el receptor accepti l'empelt, evitant o controlant el rebuig.

No existeix la immunosupressió ideal perquè, tot i que en general suprimeix totes les respostes immunològiques i per tant protegeix l'empelt del rebuig agut, està associat a freqüents complicacions com ara augment del risc d'infeccions i de neoplàssies. L'èxit del trasplantament es basa moltes vegades en el tractament immunosupressor adoptat.

Els agents immunosupressors actuen de forma diferent segons l'etapa de la resposta immune que interfereixen.

Entre els inhibidors de l'activació dels limfòcits T hem de destacar la *Ciclosporina A* (CsA) i el *Tacrolimus* (FK 506®), els més utilitzats en la teràpia immunosupressora convencional; la capacitat immunosupressora de FK506 és superior a la de CsA. A la vegada els efectes adversos són molt similars. Destaquen la nefrotoxicitat en ambdós, com una de les més importants, fet que fa imprescindible la monitorització dels nivells en sang en els dos casos.

### 1.5.3 Complicacions del trasplantament renal

L'objectiu del trasplantament renal és obtenir el restabliment de la funció renal amb els mínims riscos derivats del tractament quirúrgic i immunosupressor.

L'eficàcia dels actuals protocols terapèutics, una tècnica quirúrgica depurada i una atenció integral al pacient trasplantat han permès aconseguir unes excel·lents supervivències de l'empelt i del pacient. Malgrat això el trasplantament renal pot anar seguit de diverses complicacions que poden comprometre la viabilitat de l'empelt i la vida del pacient (33).

A manera de resum podem parlar de :

- *Complicacions a nivell de l'empelt renal:*  
*La necrosi tubular aguda, el rebuig de l'empelt, la nefrotoxicitat per fàrmacs, la recidiva de la nefropatia originària i la glomerulonefritis de novo, així com complicacions vasculares.*

- Complicacions de la via urinària:  
Estenosis de la via urinària, fístula urinària, litiasis urinària.
  
- Complicacions en el pacient:
  - *Complicacions infeccioses* (víriques, bacterianes, per fongs).
  - *Complicacions cardiovasculars:* en contrast amb els avenços en la prevenció del rebuig així com en la profilaxi i tractament de les complicacions infeccioses, les complicacions cardiovasculars segueixen sent la principal causa de mortalitat del pacient trasplantat renal. *Hipertensió arterial, Hiperlipidèmia.*
  - *Complicacions digestives.*
  - *Complicacions hepàtiques.*
  - *Neoplàsies .*
  - *Alteracions del metabolisme calci-fosfats.*
  - *Alteracions hematològiques.*

## **1.6 Variabilitat biològica en el pacient posttrasplantat renal**

El grau de benestar i rehabilitació que sovint acompanya a un trasplantament funcional pot enfosquir-se amb complicacions a llarg termini que, encara que molts pacients gaudeixin durant anys de la seva vida de posttrasplantament sense complicacions, un moment o altre impactaran significativament en la qualitat de les seves vides.

Des del punt de vista subjectiu, el pacient considera que la seva qualitat de vida és millor després del trasplantament; malgrat això els temes de preocupació no desapareixen sinó que canvien: la possibilitat de perdre el ronyó i els efectes no desitjats de la immunosupressió estan en primer terme.

La immunosupressió és per a tota la vida. La discontinuïtat en la teràpia immunosupresiva pot donar lloc a un rebuig agut o crònic (32).

---

Cal destacar també la gran quantitat de possibles complicacions que poden sorgir al llarg dels anys del posttrasplantament.

Per altra banda després del segon any de bon funcionament el pacient pot arribar a actuar com si no sabés que la medicació immunosupressora li és imprescindible de per vida.

Tot això fa que considerem aquest grup de pacients com a “no sans”, o amb “un cert estat particular de salut”; és a dir, ens veiem en la necessitat de considerar un grup amb unes característiques determinades: pacients als quals s’ha realitzat un trasplantament renal amb la finalitat de restaurar la seva homeostasi, i en els quals hem de suposar uns components de variabilitat biològica propis i diferents dels de les persones sanes.

Tal com hem dit abans, la variabilitat biològica intraindividual correspon a variacions en el nivell d’una magnitud en un mateix individu al llarg del temps, degut a l’activitat metabòlica, la dieta, la son, la postura, l’exercici, les diferències estacionals, etc. A curt o llarg termini es produeixen oscil·lacions al voltant d’ un punt homeostàtic.

La variabilitat biològica interindividual es refereix a les diferències existents en la concentració d’una magnitud entre els diferents individus. Es produeix a conseqüència de diferències en l’edat, en el sexe, en la raça, etc.

D’altra banda, els components de la variabilitat biològica només poden obtenir-se en una situació estable. És important esbrinar si en els pacients posttrasplantats renals es pot demostrar un període estable més o menys llarg.

Les dades de la variabilitat biològica s’ han utilitzat entre altres aplicacions per avaluar el significat d’un canvi entre resultats seriatos (3). Per tant permeten deduir-ne informació sobre el futur estat del pacient: un canvi entre dues determinacions consecutives superior a la variabilitat establerta al voltant del punt homeostàtic (valor de referència d’un canvi), podria indicar el principi d’ una complicació (30),(34-37).

## 1.7 Utilitat del "Valor de Referència d'un Canvi"(VRC)

La monitorització contínua del pacient posttrasplantat renal és imprescindible per poder detectar canvis significatius en la seva evolució que poguessin donar lloc a un possible rebuig agut o a una disfunció renal greu. La finalitat d'establir el valor de referència d'un canvi (VRC) és la utilitat clínica que d'aquest valor se'n derivi. Per tot això, i perquè la seva interpretació sigui òptima, és molt important incloure en aquest valor l'opinió o el criteri del clínic especialista responsable de la seva utilització (38).

Establir objectius clínics en un "cert estat de salut", com és el posttrasplantament renal, hauria de derivar-se objectivament de l'anàlisi de les necessitats mèdiques i de les estratègies mèdiques directament relacionades amb el resultat . És important per tot això conèixer com els resultats de les proves són utilitzades pels clínics (39,40) i quins són els requisits en aquesta situació clínica específica.

El coneixement de la malaltia o el procés que segueix influencia en gran manera el valor del VRC teòric obtingut, basat solament en les especificacions de qualitat. Així hauríem d'interrelacionar les especificacions de qualitat amb la pregunta: *Quina qualitat analítica necessiten els clínics en aquesta patologia o "cert estat de salut" ?*

Una forma de determinar les necessitats clíniques és mitjançant un sistema d'enquestes basat en adquirir informació sobre quins canvis en les concentracions d'un constituent durant determinacions seriades del mateix portarien al clínic a iniciar un determinat tipus d'accions o actuacions. D'aquesta manera, podríem objectivitzar les opinions dels clínics respecte a la monitorització dels pacients posttrasplantats renals, i determinar els factors que ells consideren crucials quan segueixen l'evolució d'aquests pacients.

El protocol de seguiment posttrasplantament inclou anàlisis freqüents d' un gran nombre de constituents, generant gran quantitat de dades en els arxius del Laboratori. Utilitzant aquesta informació seria molt beneficiós trobar indicadors prematurs que fossin capaços de preveure tendències cap a possibles complicacions abans que l' estat del pacient es veiés seriosament afectat; així es podrien prendre decisions preventives.

El concepte de valor de referència d'un canvi va ser desenvolupat per Harris i Yasaka (15,41) per identificar canvis significatius en l'estat dels pacients quan es monitoritza la seva patologia.

Aquest concepte pot ser aplicat a les dades del Laboratori rutinàriament adquirides pels pacients posttrasplantats renals per detectar potencials crisis abans que es manifestin clínicament. El valor significatiu d'un canvi té en compte la variabilitat biològica intraindividual així com la variabilitat analítica.

Per tal d'incrementar la diferenciació entre un canvi patològic i el "soroll", la qual cosa milloraria la informació sobre l'estat de salut del pacient, el valor de referència d'un canvi s'ha de calcular tenint en compte les següents condicions (3),(42-47):

- La situació clínica és ben definida i gestionada segons un protocol estricte.
- El grup de referència estudiat és homogeni en la malaltia i en el tractament i en un període d'estabilitat demostrat.
- L'esdeveniment de preveure crisis és el mateix per tots els pacients.
- El procediment analític utilitzat és ben controlat.

Una vegada identificats quins són els constituents d'utilitat per al seguiment o la monitorització dels pacients, es constata que el poder predictiu d'aquests constituents podria veure's incrementat si més d'un simultàniament evidenciés canvis significatius abans que es trobin manifestacions clíniques d'una funció renal reduïda.



---

No obstant seria útil la combinació de constituents solament en el cas que les fluctuacions de les seves concentracions fossin independents i no es veiessin influenciades unes per les altres (48,49).

### **1.8 Influència de les proves del laboratori en la presa de decisions clíniques**

Oferir assistència mèdica satisfactòria amb un cost /efectivitat que resulti eficient és un dels objectius per totes les societats. Les dades del Laboratori són una part integral del procés clínic de decisió. El procés de presa de decisió clínica és flexible, i afecta a canvis en les circumstàncies clíniques i a canvis en la interpretació de les dades del laboratori. Si la finalitat de les proves del laboratori és millorar l'atenció dels pacients, les qüestions relacionades amb la magnitud de l'error permès del laboratori també han de situar-se en el context de l'atenció al pacient (50). L'error acceptable del laboratori no hauria d'estar basat tant en les prestacions metrològiques com en la variabilitat biològica, que és de gran interès en les ciències del laboratori clínic pel que fa a la interpretació dels canvis significatius entre resultats seriatos (51-53).

Per altra banda podem constatar que una productivitat tècnica bona pot anar associada a una productivitat clínica pobre; és a dir, obtenir resultats fiables contribueix poc a l'optimització en la presa de decisions clíniques pel que fa als resultats analítics dels pacients, si les proves sol·licitades són clínicament inapropiades o poc útils.

La utilitat i el valor clínic de les proves del laboratori poden determinar-se d'acord amb la quantitat d'informació útil que es pot deduir del resultat d'aquella prova, aplicada en una determinada situació clínica (54).

En el context de valor afegit que pot donar o proporcionar el laboratori en la interpretació dels resultats, podem passar de donar una informació rudimentària *-resultats numèrics* basant la seva interpretació en l'interval de referència- a una informació desitjable *-combinació i integració dels resultats-* per obtenir una informació de qualitat.

Així doncs, tenint en compte que diàriament es sol·licita informació al laboratori i que, a més, per al nefròleg (=clínic) suposa una preocupació important l'obtenció de resultats vàlids i reproductibles en el seguiment del pacient, el motiu d'aquesta tesi ha estat aconseguir una informació rellevant de la gran quantitat de dades amb què el laboratori treballa. En aquest sentit, el laboratori ha de contribuir a identificar els indicadors analítics que poden suposar una ajuda per al clínic en el seguiment del pacient posttrasplantat renal, i així poder preveure possibles canvis en la seva evolució abans que siguin evidents clínicament. La determinació d'aquests indicadors permetrà, sense incrementar el cost econòmic, la presa de decisions clíniques adients i, sobretot, una sol·licitud d'analítiques cada vegada més ajustada i equilibrada d'acord amb la utilitat i validesa de les proves corresponents.

**OBJECTIUS**

1. Establir l'equilibri homeostàtic en el posttrasplantament renal
  - Definir quin és el període de màxima estabilitat en el posttrasplantament renal.
  
2. Estimar la variabilitat biològica en el posttrasplantament renal.
  - Establir si el protocol assistencial de seguiment als pacients posttrasplantats renals és un model adequat per estudiar variabilitat biològica
  - Deduir si és o no imprescindible l'obtenció de les mostres en intervals de temps idèntics. Aquest és un dels factors crucials en el càlcul dels components de la variabilitat biològica.
  - Trobar quins són els constituents més apropiats per al seguiment del posttrasplantament renal.
  
3. Calcular els valors de referència d'un canvi (VRC) dels constituents que tenen utilitat en el seguiment del pacient posttrasplantat renal.
  - Comprovar si hi ha independència entre les concentracions d'aquests constituents ( si les concentracions no estan influenciades les unes per les altres).
  - Combinar els VRC dels constituents d'utilitat en el seguiment del posttrasplantament renal per veure si el poder predictiu d'aquests constituents s'incrementa respecte a la seva utilització individualitzada.

4. Trobar indicadors analítics per detectar potencials crisis subclíniques en pacients posttrasplantats renals, indicadors basats en el concepte de valor de referència d'un canvi.

5. Desenvolupar un model d'enquesta selectiva dirigida als clínics especialistes en el seguiment del posttrasplantament renal, amb la finalitat d'optimitzar el valor calculat de VRC tenint en compte no solament la variabilitat analítica i biològica sinó també l'actuació clínica.

6. Proporcionar un valor afegit a les proves del laboratori utilitzades en el seguiment del posttrasplantament renal, combinant els resultats numèrics amb informació significativa per tal d'identificar clarament l'evolució del pacient.

**MATERIAL I MÈTODES**

La distribució d'aquest apartat s'estructura en funció de la informació que ha donat lloc a tres treballs bibliogràfics publicats:

- Establiment de l'equilibri homeostàtic en el posttrasplantament renal.
- Components de la variabilitat biològica en el posttrasplantament renal.
- Valors de referència d'un canvi (VRC) en el seguiment del posttrasplantament renal.

**ESTABLIMENT DE L'EQUILIBRI HOMEOSTÀTIC  
EN EL POSTTRASPLANTAMENT RENAL**



## 1.1 MATERIAL

### 1.1.1 Pacients

S'han estudiat 19 pacients ( 12 homes i 7 dones), d'edats compreses entre els 19 i els 64 anys, amb insuficiència renal crònica, a qui s'ha efectuat un trasplantament renal.

Les mostres es van recollir d' acord amb el protocol de seguiment del pacient trasplantat renal propi de l'Hospital i elaborat pels nefròlegs .

Resumint, el protocol és el següent:

- Durant la primera setmana del posttrasplantament s'efectuen determinacions en sèrum diàries.
- Durant la 2<sup>a</sup>, 3<sup>a</sup> i 4<sup>a</sup> setmanes es fan determinacions en sèrum dues vegades a la setmana.
- A partir del primer mes i fins al tercer, una vegada per setmana.
- Del tercer al sisè mes, cada dues setmanes.
- Del sisè al 12<sup>e</sup> mes, una vegada al mes.
- A partir del primer any, una vegada cada 2-3 mesos indefinidament.

Aquest protocol es respecta sempre que l'estat del pacient no aconselli una periodicitat més curta en les determinacions.

L'estabilitat dels pacients posttrasplantats es verifica rutinàriament amb la combinació de paràmetres clínics, analítics i radiològics. La normalitat clínica s'indica per la simptomatologia, les constants fisiològiques, diuresi, pes, examen físic, etc. El perfil analític idoni són dues determinacions consecutives de creatinina que no han de diferir més del 25% una de l'altra. I, per últim, el paràmetre radiològic adequat és l'ecografia doppler.

Les dades corresponents als 19 pacients es van estudiar durant un període de 2 anys posttrasplantament, i durant aquest temps no va haver-hi cap

evidència de crisi o rebuig en cap d'ells, d'acord amb el protocol de seguiment dels nefròlegs.

### **1.1.2 Mostres**

Les condicions de recollida de les mostres es van estandarditzar per a minimitzar les variacions d'aquesta operació. Els espècimens es van recollir en tubs al buit sense anticoagulant, es van deixar a temperatura ambient per a que es produís la retracció del coall i es van centrifugar a 1000 x g (3000 r.p.m.) durant 15 minuts. Després de separar el sèrum del coall els constituents es van analitzar en la mostra de sèrum. L'estudi es va realitzar en temps real durant tot el període, és a dir, es van prendre com a material de l'estudi els resultats de les determinacions sol·licitades segons el protocol assistencial descrit.

Aquest apartat és comú a totes les diferents parts descrites en l'estudi.

### **1.1.3 Determinacions analítiques**

Es van determinar sis constituents bioquímics en sèrum: *creatinina, urea, urats, ió sodi, ió potassi i clorur*. Es van analitzar mitjançant mètodes colorimètrics i potenciomètrics en l'analitzador de química capsular Bayer-CHEM-1 ( Technicon Instruments Corp. Tarrytown, New York, USA). Els procediments analítics utilitzats van ser: creatinina - picrat alcalí cinètica; urea - ureasa reacció cinètica; urats - uricasa/peroxidasa/cromògen, directa; ions sodi i potassi - electrodes selectius; i clorur - nitrat fèrric colorimètric.

## 1.2 MÈTODES

Per obtenir dades de variabilitat biològica, s'ha d'establir en primer lloc el període d'estabilitat en l'evolució de la patologia; com més precís es delimiti el període d'estabilitat, més robusts seran els indicadors que es produeixin.

L'equilibri homeostàtic per a cada constituent es deriva del *període de màxima estabilitat*.

La representació gràfica de l'evolució de la concentració de cada determinació analítica al llarg del temps, per a cada constituent, és un bon sistema d'informació del que succeeix en cadascun dels pacients i per això s'utilitza en aquesta tesi per il·lustrar l'equilibri homeostàtic.

La inspecció visual de les gràfiques ens permet tenir una orientació ràpida de l'evolució dels pacients en una situació clínica determinada (55).

### 1.2.1 Determinació de l'inici del període d'estabilitat

En cada pacient, els resultats analítics de cada constituent es representen gràficament des del principi del període del posttrasplantament. A la gràfica s'indiquen concentracions del constituent estudiat (eix vertical) versus número de determinacions efectuades (eix horitzontal).

La inspecció visual de les gràfiques evidencia, en diversos constituents, resultats elevats en les primeres determinacions, que van disminuint fins el moment en què romanen constants. El punt d'inflexió entre el pendent negatiu i la línia horitzontal és considerat l'inici del període estable i s'anomena "punt zero".

El punt zero i la línia horitzontal posterior es veuen clarament en la gràfica corresponent a les determinacions de creatinina i són confirmats en la gràfica corresponent a les d'urea; a la resta de constituents el punt d'inflexió clar no es fa tan evident. Per tant, el punt zero de cada pacient es deriva dels resultats de les determinacions de creatinina i urea.

Les gràfiques de cada pacient per a cada constituent estudiat es sobreposen en el punt zero i la gràfica conjunta, que es presenta en aquest treball, es construeix amb les quatre determinacions prèvies al punt zero i les onze determinacions posteriors (punts 0 al 10).

### **1.2.2 Determinació del final del període d'estabilitat.**

D'acord amb Kancir i col.(56,57) i Hyltoft Petersen (2), la interpretació de dades procedents de molts pacients es clarifica normalitzant aquestes dades; és a dir, reduint o minimitzant al màxim l'efecte dispersor d'un número elevat d'informació poc coincident. Per aconseguir-ho es busca un factor o quelcom que faci homogènies dades disperses; o bé un denominador comú per veure les dades que concentren informació (no les que dispersen).

Per trobar el punt en el qual el període de màxima estabilitat després del trasplantament renal finalitza s'ha calculat el quocient entre cada resultat de cada pacient respecte el seu propi valor en el punt zero; d'aquesta manera es normalitzen els resultats de tots els pacients d'acord amb el valor inicial propi (58).

La mitjana aritmètica ( $\bar{x}$ ) i la dispersió ( $\pm 2 s$ ) dels quocients dels 19 pacients es presenten en una gràfica per a cada constituent.

Es calcula el coeficient de variació (CV) d'aquests quocients (CV normalitzat). Es representa gràficament la diferència entre el CV normalitzat de cada dia de mostreig i el CV del punt 1 (el CV del punt zero és zero) versus el coeficient de variació analític interserial ( $CV_a$ ) del mètode per a cada constituent. Quan aquesta diferència és més gran que la variabilitat analítica, es considera que ha finalitzat el període de màxima estabilitat posttrasplantament.

**COMPONENTS DE LA VARIABILITAT BIOLÒGICA  
EN EL POSTTRASPLANTAMENT RENAL**

## 2.1 INFLUÈNCIA DE L'INTERVAL D'OBTENCIÓ DE MOSTRES EN L'ESTIMACIÓ DELS COMPONENTS DE LA VARIABILITAT BIOLÒGICA

### 2.1.1 Pacients

L'estudi inclou 41 pacients amb insuficiència renal crònica ( 25 homes i 16 dones, d'edats compreses entre els 19 i els 66 anys) als quals s'ha realitzat un trasplantament renal.

Els pacients es van estudiar durant un període de 2 anys posttrasplantament, i durant aquest temps no va haver-hi cap evidència de crisi o rebuig en cap d'ells, d'acord amb el protocol de seguiment dels nefròlegs

Així mateix, es va obtenir el consentiment informat per part de tots els participants en l'estudi, requisit del protocol Helsinki II. Una vegada determinat el període de màxima estabilitat en aquest "cert estat de salut", tal com s'ha explicat en la primera part, l'estimació dels components de variabilitat biològica comprèn un interval de vuit determinacions que comença entre els 10-15 dies i el segon mes després de la intervenció, depenent del pacient, i es manté en una mitjana de 3 mesos.

Amb l'objectiu d'establir dos grups , un amb intervals *iguals* d'obtenció de mostres i un altre amb intervals de temps *desiguals*, s'han estudiat els 41 pacients individualment i s'han trobat 19 pacients que presentaven 4 intervals de temps iguals d'obtenció de les mostres (grup A).

Per a facilitar la comparació dels grups, dels vint-i-dos pacients restants se'n van seleccionar uns altres 19. Els pacients d'aquest segon grup (B) tenien quatre determinacions cadascun amb intervals d'obtenció de mostres desiguals.

### 2.1.2 Determinacions analítiques

Es van determinar els mateixos sis constituents bioquímics en sèrum descrits en el primer apartat : *creatinina, urea, urats, ió sodi, ió potassi i clorur*. Es van analitzar mitjançant mètodes colorimètrics i potenciomètrics a l'analitzador de química capsular Bayer-CHEM-1 ( Technicon Instruments Corp. Tarrytown, New York, USA), i també a l'analitzador Bayer- DAX-48 (desenvolupat per Technicon instruments Corp., Tarrytown, NY).

Els procediments analítics utilitzats varen ser: creatinina - picrat alcalí cinètica; urea ureasa, reacció cinètica; urats - uricasa/peroxidasa/cromogen, directa; ions sodi i potassi - electrodes selectius; i clorur - nitrat fèrric colorimètric.

### 2.1.3 Anàlisi estadística

La distribució normal dels resultats corresponents als constituents estudiats es va confirmar en els grups A i B per mitjà del test de Kolmogorov – Smirnov (59).

Així mateix es va comprovar la homogeneïtat de les variàncies intraindividual més analítica entre els dos grups de pacients per mitjà del test de Snedecor (59).

Es va avaluar la relació existent entre els coeficients de variació intraindividual més analític i la mitjana de temps entre determinacions seriadades en el grup total de pacients, per mitjà del coeficient de correlació de Pearson (59).

## 2.2 CÀLCUL DELS COMPONENTS DE LA VARIABILITAT BIOLÒGICA

Les determinacions analítiques es van fer a temps real; els espècimens s'obtenien quan el clínic sol·licitava les proves analítiques d'acord amb el protocol descrit anteriorment .

Per a calcular la variabilitat biològica s'han d'estimar tots els components de variació que tenen lloc durant l' experiència; aquests components són analítics i biològics.

### 2.2.1 Càlcul de la variabilitat analítica

La variabilitat analítica es va calcular mitjançant els resultats obtinguts del processament de sèrums control comercials, utilitzats en el protocol de control de qualitat intern del laboratori. S'utilitza el sèrum control de concentració més pròxima a la concentració mitjana dels resultats obtinguts en els 41 pacients estudiats.

Es calcula la mitjana aritmètica de les dades mensuals obtingudes durant 12 mesos, la desviació estàndard analítica ( $s_a$ ), la **variància analítica ( $s_a$ )** i el coeficient de variació analític ( $CV_a$ ), amb les fórmules següents:

$$s_a = \sqrt{\frac{\sum (x_c - \bar{x}_c)^2}{n_c - 1}}$$

$$CV_a = \frac{s_a \cdot 100}{\bar{x}_c}$$



on :  $x_c$  és cada una de les determinacions de sèrum control

$\bar{x}_c$  és la mitjana aritmètica de les determinacions de sèrum control

$n_c$  és el nombre de determinacions de sèrum control

## 2.2.2 Càlcul de la variabilitat biològica intra i interindividual

Abans de passar a fer càlculs amb els resultats dels pacients, es va aplicar la prova estadística de Cochran (60) per excloure els valors extrems dels pacients individualment, i la prova estadística de Reed (61) per eliminar valors extrems corresponents a les mitjanes dels pacients.

Per estimar els components de variació que es detallen seguidament, es va utilitzar el paquet estadístic SPSS /PC+(SPSS -X per a IBM PC) (Statistical Package for social Sciences) (62).

Per a cada constituent es va calcular la mitjana intraindividual ( $\bar{x}_i$ ) de les determinacions obtingudes en cada pacient, i la seva variància intraindividual més analítica ( $s_{i+a \text{ pacient}}$ ).

La **variància intraindividual més analítica de cadascun dels pacients ( $s_{i+a \text{ pacient}}$ )** es va calcular segons la fórmula:

$$s_{i+a \text{ pacient}} = \frac{(\sum x_i - \bar{x}_i)^2}{n_i - 1}$$

i les mitjanes intraindividuals segons la fórmula:

$$\bar{x}_i = \frac{\sum x_i}{n_i}$$

on:  $x_i$  és cada una de les determinacions de cada pacient  
 $\bar{x}_i$  és la mitjana de les determinacions de cada pacient  
 $n_i$  és el nombre de determinacions de cada pacient

A partir d'aquí podem calcular la **variància intraindividual més analítica** ( $s_{j+a}$ ); expressada com la mitjana de les variàncies de cadascun dels 41 pacients.

$$s_{j+a} = \frac{s_{j+a} \text{ pacient}}{n}$$

on:  $n$  és el nombre de pacients

La **variància biològica intraindividual ( $s_j$ )** es va calcular restant les dues variables prèvies ( $s_{j+a} - s_a$ ).

$$s_j = s_{j+a} - s_a$$

La **variància biològica interindividual ( $s_g$ )** es va calcular restant la variància intraindividual més analítica ( $s_{j+a}$ ) de la **variància total ( $s_t$ )**, trobada utilitzant totes les dades de tots els pacients:

$$s_t = s_a + s_j + s_g$$

$$(s_g) = (s_t) - (s_{j+a})$$

És millor expressar la variabilitat biològica en coeficient de variació (CV) i no en desviació estàndard, per tal de normalitzar les diferents concentracions dels constituents estudiats.

$$CV = (s / x) 100$$

on: s és la desviació estàndard

x és la mitjana aritmètica

### 2.2.3 Càlcul de l'índex d'individualitat

La relació entre el coeficient de variació biològic intraindividual més analític ( $CV_{i+a}$ ) i el coeficient de variació biològic interindividual ( $CV_g$ ) representa el concepte **índex d'individualitat** (I.I.) (3),(63,64). Aquesta relació permet estudiar l'aptitud dels valors de referència individuals respecte als poblacionals.

$$I.I. = CV_{i+a} / CV_g$$

Quan l'índex d'individualitat és inferior a 0.6, la variabilitat biològica interindividual és molt superior a la intraindividual; és a dir, la variabilitat del grup emmascara la variabilitat de l'individu. En aquest cas, en un pacient determinat un resultat pot estar clarament fora de l'interval de referència del pacient, mentre que pot estar dintre de l'interval de referència poblacional i, en principi, no ser catalogat com a resultat anormal. Per tant, quan l'índex d'individualitat és inferior a 0.6, està recomanat l'ús dels valors de referència intraindividuals.

De la mateixa manera, si l'índex d'individualitat és superior a 1.4, la variabilitat biològica intraindividual és molt superior a la variabilitat biològica interindividual. En aquest cas estarà indicat l'ús dels valors de referència poblacionals.

**VALORS DE REFERÈNCIA D'UN CANVI (VRC) EN EL  
SEGUIMENT DEL POSTTRASPLANTAMENT RENAL**

Per poder crear una teoria, quan es treballa en la medicina basada en l'evidència es parteix d' un estudi retrospectiu basat en una població representativa.

Posteriorment, els resultats han de ser confirmats o validats en un estudi prospectiu amb una població real.

Un cop establertes quines són les magnituds biològiques idònies per detectar canvis significatius durant el posttrasplantament renal, si es calcula el valor de referència d'un canvi combinant els resultats d'aquestes magnituds pot augmentar així el seu valor per predir possibles crisis.

S'han analitzat tres constituents bioquímics en sèrum útils pel seguiment o monitorització dels pacients posttrasplantats renals: creatinina, urea, i urats. S'han determinat en l'analitzador Bayer- DAX-48 analitzador químic (desenvolupat per Technicon instruments Corp., Tarrytown, NY). Els procediments analítics són els següents.

- 1.- Creatinina – Picrat alcalí, reacció cinètica
- 2.- Urea – Ureasa, reacció cinètica
- 3.- Urat – Uricasa/Peroxidasa/Cromògen, directa

### **3.1 VALORS DE REFERÈNCIA D'UN CANVI (VRC) DELS CONSTITUENTS QUE TENEN UTILITAT EN EL SEGUIMENT DEL POSTTRASPLANTAMENT RENAL.**

#### **3.1.1 Comprovació d' independència entre constituents**

Per comprovar la hipòtesi que el valor predictiu incrementi, haurem de comprovar que els constituents actuïn independentment.

La comprovació d'independència entre constituents es va fer associant parelles de dades dels tres constituents útils pel seguiment en el posttrasplantament renal (creatinina, urea i urats) dos a dos, en els mateixos individus (n=41) i en les mateixes mostres durant el període d'estabilitat obtingut en l'estudi previ (descripció en la primera part).

El coeficient de correlació lineal de Pearson (59) es va utilitzar per validar la possible independència entre els resultats seriatos dels tres constituents (creatinina, urea i urats) combinats en parelles (dos a dos).

La prova de Kolmogorov-Smirnov (59) es va utilitzar per a demostrar la distribució normal de la variància intraindividual més analítica dels dos constituents (creatinina i urats ) que varen resultar independents.

#### **3.1.2 Càlcul del valor de referència d'un canvi (VRC)**

El concepte de valor de referència d'un canvi (VRC) es defineix com la diferència entre dues determinacions consecutives superior a la variabilitat establerta al voltant del punt homeostàtic.

Els valors de referència d'un canvi per a la creatinina i urats, a diferents nivells de probabilitat i aplicats a un sol constituent o bé a dos constituents combinats, es van calcular d'acord amb la fórmula (2),(65,66):

$$VRC = z_p \cdot (2)^{-1/2} \cdot (CV_{i+a})$$

On  $z_p$  és un factor que depèn de la probabilitat seleccionada i de si el canvi esperat és unilateral o bilateral, i  $CV_{i+a}$  és el coeficient de variació biològic intraindividual més analític. Per exemple, amb una  $p = 0.05$ , correspon una  $z_p = 1.65$  i  $z_p = 1.96$  per canvis unilaterals i bilaterals respectivament (65).

El VRC entre resultats consecutius d'un mateix pacient es calcula després de confirmar amb el test de Kolmogorov-Smirnov (59) que les dades de les variàncies intraindividual més analítica es distribueixen normalment.

També s'ha de confirmar la no heterogeneïtat de les dades intraindividuals. L' *índex d' heterogeneïtat* (I.H.) es va calcular aplicant la següent fórmula:

$$I.H. = CV_{i+a} / [(2/n_i - 1)^{-1/2} \cdot 100]$$

on  $n_i$  és el nombre de determinacions per pacient.

En el nostre estudi, amb 8 dades per pacient, els índex han de ser inferiors a 1.5,  $\{1 + 2 \cdot [1/(2n_i - 1)^{-1/2}]\}$  (67).

En tots els constituents estudiats, s'han trobat que les dades intraindividuals són homogènies.

### 3.1.3 Combinació dels VRC per incrementar el valor predictiu

Si no hi ha correlació (associació) entre dos constituents en un pacient succeeix que, en condicions d'estabilitat, cadascun dels constituents té menys d'una certa probabilitat d'error quan detecta canvis, en funció de la  $z_p$  seleccionada.

Exemple: si la probabilitat d'error per un únic constituent quan sobrepassa el VRC assignat és del 5% (1/20), aquesta mateixa probabilitat per a dos constituents combinats és de  $1/20 \times 1/20 = 1/400$  ( 0.25%), és a dir, disminueix molt la probabilitat d'error respecte a la d'un sol constituent.

Aquesta hipòtesi ve donada per les idees expressades per Hyltoft Petersen P. i altres col·laboradors en un recull de bibliografies (48,49),(64), basades en la disminució de la probabilitat d'error de sobrepassar un determinat límit quan es realitzen dues, tres o més mesures repetides d'un constituent determinat.

Per tant, si ens trobem en un període d'estabilitat clínica en un pacient posttrasplantat renal i, en un moment donat, es supera els VRCs pels dos constituents alhora (creatinina i urats ), la probabilitat d'error serà molt més baixa que si només es superés per un sol constituent i, per tant, la detecció del canvi significatiu serà més fiable.

Els resultats dels VRCs de creatinina i urats per a diferents intervals de probabilitat (95%, 85% i 80%) es van representar gràficament utilitzant el programa Corel Quattro Pro 7 per al programa Windows 95.

Així mateix es representen les diferències expressades en percentatges entre resultats consecutius per a creatinina a l'eix horitzontal versus diferències expressades en percentatges entre resultats consecutius per a urats a l'eix vertical.



### 3.2 VALIDESA DIAGNÒSTICA DELS VRC

El criteri utilitzat normalment per jutjar la validesa diagnòstica d'una prova bioquímica és el càlcul de la sensibilitat diagnòstica, de l'especificitat diagnòstica i del valor predictiu d'un resultat positiu i negatiu (68-70).

La *sensibilitat* és la fracció de tots els valors positius certs (PC) dels pacients posttrasplantats renals que precedeixen un rebuig agut. L'*especificitat* és la fracció de tots els valors negatius certs (NC) de totes les determinacions de tots els pacients posttrasplantats renals estables (és a dir, sense cap diferència entre resultats consecutius per sobre del VRC assignat). El valor predictiu d'un resultat negatiu (VP neg) és la relació entre els NC i tots els pacients amb un resultat negatiu. El valor predictiu d'un resultat positiu (VP pos) és la relació entre els (PC) i tots els pacients amb un resultat positiu (71). La prevalença del rebuig agut després d'un curt període d'estabilitat clínica (n=18) respecte el total de pacients considerats apropiats per l'estudi en el nostre Hospital (n=75) és de 0.24.

Ja que els valors predictius positius o negatius depenen de la prevalença de la situació actual i no serien aplicables a altres situacions, és més adient calcular els quocients de probabilitat positiu (QP+) i negatiu (QP-) (72), que no canvien amb la prevalença o probabilitat preprova.

$$QP(+)= \text{Sensibilitat} / (1-\text{Especificitat})$$

$$QP(-)= (1-\text{Sensibilitat}) / \text{Especificitat}$$

El quocient de probabilitat positiu indica fins a quin punt és més probable un resultat positiu en els pacients amb "rebuig agut" que en els pacients amb "no rebuig".

És desitjable que aquest quocient sigui més gran que 1.

El quocient de probabilitat negatiu indica fins a quin punt és més probable un resultat negatiu en els pacients amb “rebuig agut” que en els pacients amb “no rebuig”.

És desitjable que aquest quocient sigui més baix que 1.

Per tal de mesurar la utilitat clínica d'una prova s'haurà de comparar la probabilitat postprova de sofrir la malaltia en una situació clínica determinada amb la probabilitat preprova. Com més alta és la relació entre les dues més útil serà la prova. Si la relació és 1, el resultat d'aquella prova no ha aportat informació en la probabilitat de patir la malaltia i per tant no és útil clínicament (54).

La sensibilitat, l' especificitat, els valors predictius d'un resultat positiu i negatiu, els quocients de probabilitat positiu i negatiu i la simulació de la probabilitat postprova en funció de la probabilitat preprova i del resultat, s'han calculat utilitzant el programa estadístic *Minisnap screening mòdul estadístic* (71), i el programa PRESTA (72).

La validesa diagnòstica dels VRCs per a creatinina i urats combinats es va calcular en un grup de 75 pacients posttrasplantats renals procedents de la Unitat de Trasplantament Renal del nostre Hospital.

### **3.2.1 Pacients**

D'un total de 75 pacients trasplantats renals s'han establert dos subgrups:

1.- Cinquanta-set pacients que van ser clínicament estables i no van evidenciar crisis durant tres anys després del trasplantament (“grup de no rebuig”).

2.- Divuit pacients que van sofrir un rebuig agut després d'un curt període d'estabilitat clínica que podia oscil·lar entre 2 i 5 setmanes (“grup de rebuig”).

El rebuig es va confirmar per mitjà de l'observació clínica, del perfil analític, i de l'ecografia doppler en 7 pacients, i per estudi histològic en 11 pacients.

Les mostres dels pacients es van recollir d'acord amb el protocol estandarditzat de seguiment de l'evolució dels pacients posttrasplantats renals a l'hospital.

Segons aquest protocol les mostres són recollides en diferents intervals de temps, que oscil·len entre una mostra a la setmana a una mostra al mes al "grup de no-rebuig" (explicat en la 1<sup>a</sup> part de Material i Mètodes)

Al "grup de rebuig" les mostres es van recollir sota el mateix criteri de protocol abans esmentat, sempre i quan l'evolució del malalt ho permetia; en el moment en què per al seu control necessitava determinacions més seguides variaven els intervals de temps entre determinacions, fins el moment en què apareixia el rebuig.

### **3.3 ELABORACIÓ D'UNA ENQUESTA DIRIGIDA ALS CLÍNICS PER CONÈIXER LES NECESSITATS MÈDIQUES QUE DEFINEIXEN EL VALOR DE REFERÈNCIA D'UN CANVI (VRC)**

S'ha desenvolupat una enquesta per d'una banda, determinar el criteri que segueixen els nefròlegs per a fer el seguiment dels pacients trasplantats renals; i, de l'altra, conèixer la seva opinió per determinar quins són els objectius prioritaris respecte als resultats que reben del laboratori. Així, podem extreure informació de l'actuació del clínic en el tractament i en l'orientació al pacient posttrasplantat renal (73).

Aquest treball es basa en la metodologia utilitzada per Sandberg i Thue (39),(74-76), en la qual es presenta als metges diferents casos clínics en què s'utilitzen resultats analítics derivats de materials de control. Se'ls fa preguntes relacionades amb l'orientació al pacient i amb la interpretació de proves analítiques; així es poden delimitar especificacions de qualitat analítica basades en les necessitats mèdiques.

Es fa una adaptació personalitzada d'aquest model. S'utilitzen casos reals en els quals es defineix una situació clínica concreta que ha requerit determinacions analítiques en el pacient, i que s'han realitzat a temps real al laboratori.

L'enquesta basada en aquests casos reals va dirigida a clínics especialistes en el seguiment del posttrasplantament renal. Aquests clínics són especialment seleccionats, de manera que es dóna més importància a la fiabilitat de les respostes que a la quantitat de resultats obtinguts (total d'enquestes).

Es valora, d'aquesta manera, el significat de qualsevol opinió del clínic especialista respecte al seguiment del pacient posttrasplantat renal i es pot detectar així com avalua ell l'evolució del pacient.

### **3.3.1 Tipus de qüestions**

S'han plantejat dos tipus de qüestions. Unes, sobre conceptes generals dels criteris que segueix l'especialista encarregat de la vigilància mèdica de l'evolució clínica del pacient posttrasplantat renal. Unes altres, basades en casos clínics de pacients que han sofert un rebuig agut després d'un curt període d'estabilitat clínica.

#### **3.3.1.1 Qüestions generals**

S'han preparat set qüestions generals amb l'objectiu de conèixer quin és l'estat actual del trasplantament renal. S'inclouen dos exemples :

*1.- Quins són els mitjans al seu abast per a poder diagnosticar a temps un rebuig agut?. Pensi en aquells pacients que han tingut un curt període d'estabilitat .*

*2.- Quins són els percentatges crítics entre determinacions seriades que utilitza per a detectar canvis significatius en l'evolució clínica del pacient posttrasplantat renal?. Especifiqui constituents i percentatges.*

#### **3.3.1.2 Qüestions basades en casos clínics**

També s'han plantejat divuit qüestions basades en els resultats analítics del grup de pacients posttrasplantats renals inclosos a l'estudi. Es van presentar als nefròlegs resultats de casos clínics amb la finalitat de determinar la naturalesa de les seves decisions basades en els resultats del laboratori. El punt de partida fou un cas original, a partir del qual es van modificar algunes preguntes per a derivar-ne altres exemples i poder, així, considerar més variables.

Les diferents qüestions es resumeixen en dos grups :

- **Per poder preveure possibles complicacions o rebuig, com considera el nefròleg la variació de la creatinina i /o urats en el seguiment del pacient posttrasplantat renal.**
  - Es pretén veure si el nefròleg aplica el mateix percentatge de VRC en el seguiment del pacient posttrasplantat renal, independentment de la concentració de creatinina en sang de què es tracti.
  - Es pretén també veure com considera la variació de la concentració dels urats en el seguiment del pacient posttrasplantat renal i a partir de quin percentatge la considera significativa.
  - Finalment, es pretén veure si considera els dos constituents - creatinina i urats- d'alguna manera en el seguiment del posttrasplantament renal i si el fet de tenir-los en compte depèn de la seva concentració.
  
- **Des d'un altre punt de vista es vol valorar com actua el clínic en funció de la variació de la concentració dels constituents creatinina i urats (únics o bé en conjunt), i valorar també quines són les seves decisions mèdiques prioritàries.**

Ambdues seccions també inclouen preguntes destinades a esbrinar quins són els factors que els clínics consideren importants pel que fa a la predicció de resultats positius falsos i negatius falsos en els casos de rebuig agut, amb la finalitat d'ajustar l' especificitat i la sensibilitat del model VRC proposat.

Les enquestes es van fer de manera individualitzada; per tant, no va haver-hi possibilitat de consulta o discussió entre els participants.

El qüestionari complert s'inclou com un annex al final de la tesi.

### **3.4 APLICACIÓ DEL MODEL VRC COMBINAT**

Amb la finalitat de comprovar si el model definit és útil i si es poden reproduir els resultats, es comproven els VRC<sub>s</sub> obtinguts en un grup de pacients posttrasplantats renals procedents de la Unitat de Trasplantament Renal del nostre Hospital en el període d'un any (juny 2000/juny 2001).

S'han estudiat 31 pacients ( 20 homes i 11 dones ) d'edats compreses entre els 19 i els 65 anys, amb insuficiència renal crònica a qui s'ha efectuat un trasplantament renal.

S'han registrat les dades corresponents a les concentracions de creatinina i urats posteriors al trasplantament. S'han descartat 3 pacients, ja que van estar amb hemodiàlisi des del trasplantament i no presentaven cap període d'estabilitat clínica.

En els 26 pacients que han evolucionat favorablement -sense haver fet complicacions evidents o signes compatibles amb rebuig agut- s'han obtingut les diferències entre resultats seriats ( un total de 8 determinacions i 7 diferències).

Pel que fa als 2 pacients que han manifestat complicacions posttrasplantament o bé rebuig agut, s'han obtingut les diferències entre les determinacions seriades prèvies al rebuig o bé a les complicacions.