



Determinación de límites de decisión clínica de ciclosporina en sangre en pacientes con trasplante renal

Determination of clinical decision limits of blood cyclosporine in patients with renal transplantation

LINA TRIGO ORSINI MYRIAM ¹
 PARRA POMA CINTHIA MARIBEL *

FECHA DE RECEPCIÓN: 10 JUNIO 2020

FECHA DE ACEPTACIÓN: 8 AGOSTO DE 2020

Resumen

Introducción: Los límites de decisión o valores de corte son "alertas" para el diagnóstico médico. Son obtenidos por estudios cuidadosamente diseñados para poder establecer un valor que permita una decisión médica para seguir un tratamiento.

Objetivo: Determinar los límites de decisión clínica de Ciclosporina A en sangre total de pacientes con trasplante renal.

Método: Para el tratamiento de datos y cálculo de límites de decisión se utilizó una metodología informática y bioestadística con software SPSS de IBM, realizando Pruebas de Normalidad, Pruebas gráficas como Q-Q plots, Test de Kolmogorov -Smirnov, Test de Lilliefors y Prueba de Shapiro-Wilks.

Resultados: El grupo de estudio conformado por pacientes con trasplante renal atendidos durante 2016 a 2019, clasificados por el tiempo de trasplante. Los criterios de aceptación fueron: Uso de control de calidad interno, con resultados satisfactorios utilizando cartas control y la

Abstract

Introduction: Decision limits or cut-off values are "red flags" for medical diagnosis. They are obtained by carefully designed studies to be able to establish a value that allows a medical decision to follow a treatment.

Objective: To determine the clinical decision limits of Cyclosporin A in whole blood of kidney transplant patients.

Methods: For data treatment and calculation of decision limits, a computer and biostatistical methodology was used with IBM SPSS software, performing Normality Tests, graphic tests such as QQ plots, Kolmogorov-Smirnov Test, Lilliefors Test and Shapiro Test -Wilks.

Results: The study group made up of kidney transplant patients treated during 2016 to 2019, classified by transplant time. The acceptance criteria were: Use of internal quality control, with satisfactory results using control charts and the detection of outliers using the Grubbs test. Obtaining basal levels of 0-3 months 181-241 ng / ml; 3-12 months 120-147 ng / ml and over 12

1. Jefe de Laboratorio Control de Calidad de Medicamentos y Biodisponibilidad del Instituto de Servicios de Laboratorio de Diagnóstico e Investigación en Salud - SELADIS, Universidad Mayor de San Andrés, Av. Saavedra 2224. La Paz, Bolivia. ¹ ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0874-4093>
 * Consultor de Línea del Laboratorio Control de Calidad de Medicamentos y Biodisponibilidad del Instituto de Servicios de Laboratorio de Diagnóstico e Investigación en Salud SELADIS, Universidad Mayor de San Andrés, Av. Saavedra 2224. La Paz, Bolivia. * ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6930-0384>



Mecanismo de acción

La ciclosporina posee su capacidad inmunosupresora altamente selectiva en su unión a la proteína citosólica ciclofilina (una inmunofilina) de linfocitos inmunocompetentes, especialmente linfocitos T. Este complejo de ciclosporina y ciclofilina inhibe la calcineurina, la cual bajo circunstancias normales es responsable de activar la transcripción de interleucina-2 (Il-2). También inhibe la transcripción de la producción de linfocinas y la liberación de interleucinas y por lo tanto conduce a una reducción en la función de las células T-efectoras (linfocitos T efectores), sin afectar la actividad citostática.

Tiene también un efecto sobre las mitocondrias. La ciclosporina A inhibe la apertura del poro de transición de permeabilidad mitocondrial, de esta forma, inhibe la liberación del citocromo c, un potente factor de estimulación de apoptosis. Sin embargo, este no es el principal modo de acción para su uso clínico, pero si es una importante herramienta para la investigación acerca del fenómeno de la apoptosis, o muerte celular programada.

Biodisponibilidad por vía oral

La ciclosporina es un medicamento que presenta una biodisponibilidad altamente variable al administrarla por vía oral. Esto se debe a que es prácticamente insoluble en agua. Por lo tanto, es necesario que se constituya una emulsión que permita la formación de micelas que puedan viajar por el medio acuoso constituido por los fluidos gastrointestinales para llegar a la pared intestinal y pasar a la sangre. De esta forma, la ciclosporina sólo puede absorberse en presencia de sales biliares que permitan la emulsificación (al igual que para muchos nutrientes de carácter lipídico) o bien gracias a formulaciones farmacéuticas que permitan la formación de micelas en ausencia de bilis. Por otro lado, la ciclosporina sólo puede ser absorbida en duodeno.

Por esta razón, la biodisponibilidad en adultos es mayor que la que se observa en pacientes pediátricos, ya que existen variaciones en la longitud duodenal entre estas dos poblaciones de pacientes.

Límites de decisión clínica

Los límites de decisión o valores de corte son “alertas” para el diagnóstico médico. Son obtenidos por estudios cuidadosamente diseñados para poder establecer un valor que permita una decisión médica para seguir un tratamiento.

En el caso particular de la presencia de ciclosporina (medicamento inmunosupresor) en sangre los límites de decisión clínica fueron calculados en pacientes a quienes se les administra el medicamento, debido a que no es

un parámetro que se encuentra en la sangre.

En todos los casos resulta indispensable establecer un límite entre lo normal y patológico, el cual debe fundamentarse en un enfoque científico y epidemiológico, basado en ciertos criterios:

1. Estadística descriptiva no paramétrica: Se incluye como “sano o normal” a 95% de los resultados que se encuentren alrededor de la mediana, eliminando a 2.5% de los resultados de cada extremo, los cuales se consideraran como “enfermos o anormales”.

2. Estadística paramétrica: Considera como “sano o normal” a todos los resultados que se encuentren dentro del límite de las dos desviaciones estándar alrededor de la media conforme a la curva de Gauss.

3. Niveles de decisión clínica: En este método, descrito por Statland, se toma en consideración el análisis de bases de datos que incluyen el estudio de muestras de individuos sanos y enfermos en forma simultánea para establecer un valor de corte que sea capaz de detectar, descartar o confirmar la presencia de una patología determinada, aplicando sistemáticamente en consecuencia el teorema de Bayes para el cálculo de la probabilidad condicional, en el que se considera la sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo, valor predictivo negativo, índices de falsos positivos e índices de falsos negativos.

4. Curvas de operatividad relativa (COR): Se generan al evaluar las modificaciones en la sensibilidad y en la especificidad que son resultantes de la modificación que se haga en los niveles de corte, en los niveles de decisión clínica para un analito determinado.

MATERIALES Y MÉTODOS

Grupos de estudio

Para la selección del grupo de estudio se consideró a los pacientes que fueron atendidos en el laboratorio de Control de Calidad de Medicamentos y Biodisponibilidad y que solicitaron la prueba de cuantificación de ciclosporina en sangre.

Los pacientes fueron clasificados de acuerdo al nivel en el cual se cuantificó la ciclosporina y al tiempo de trasplante en:



Concentración basal (C0)	Concentración máxima (C2)
0 – 3 meses	1 mes
3 – 12 meses	2 meses
Mayor a 12 meses	3 meses
	4 – 6 meses
	7 – 12 meses
	Más de 12 meses.

Los criterios de aceptación para que sean considerados dentro del grupo de estudio fueron los siguientes:

- Uso de controles de calidad internos (sangre liofilizada con concentraciones definidas de ciclosporina y fortificación de sangre con ciclosporina estándar), con resultados satisfactorios utilizando cartas control.
- Detección de datos atípicos mediante la prueba de Grubbs en un conjunto de datos univariado que se supone proviene de una población con distribución normal.

Tratamiento de datos y cálculo de límites

Se utilizaron las pruebas no paramétricas, las cuales son métodos de distribución libre. No requieren conocer la distribución de la muestra y se utilizan estadísticos cuya distribución se determina con independencia de cuál sea la distribución de la población.

Las pruebas no paramétricas son utilizadas como una alternativa a las pruebas paramétricas cuando los datos no cumplen los requisitos de las pruebas paramétricas. Y nos permiten conocer cómo es la forma de la distribución de la población de la que se ha extraído la muestra. Las pruebas de bondad de ajuste se utilizan para contrastar si los datos de la muestra pueden considerarse que proceden de una determinada distribución. Su objetivo es señalar si los datos provienen de una población que tiene la distribución teórica especificada.

Pruebas de bondad de ajuste

Las pruebas de bondad de ajuste tienen por objetivo determinar si los datos se ajustan a una determinada distribución.

Pruebas de Normalidad:

- Pruebas gráficas basadas en gráficos de normalidad como Q-Q plots.

- Test de Kolmogorov –Smirnov de bondad de ajuste. Es válido sólo para variables aleatorias continuas.
- Test de Lillefors. Es el Test de Kolmogorov –Smirnov con la corrección de Lillefors. Sus valores son menores que los de Kolmogorov.
- Prueba de Shapiro-Wilks.

Cuando se ejecutan las pruebas con el SPSS se obtiene el valor del estadístico y el valor p de probabilidad del contraste. Se rechaza H_0 si el valor p de probabilidad es menor que el nivel de significación elegido para ejecutar la prueba de contraste estadístico.

Caracterización de la distribución por su forma

Distribución normal de los resultados de ensayo

Nos sirven para evaluar mediante inspección visual la normalidad de los resultados de las mediciones realizadas.

Los gráficos ayudan al investigador a juzgar si sus datos proceden de una distribución normal. En tal caso cabe esperar que la distribución no tendrá una fuerte asimetría.

Sin embargo, con pocos datos no es fácil obtener conclusiones consistentes y de ahí que se hayan ideado gráficos concretos para observar la normalidad de las puntuaciones de una variable.

Gráficos para observar la normalidad de las puntuaciones de una variable

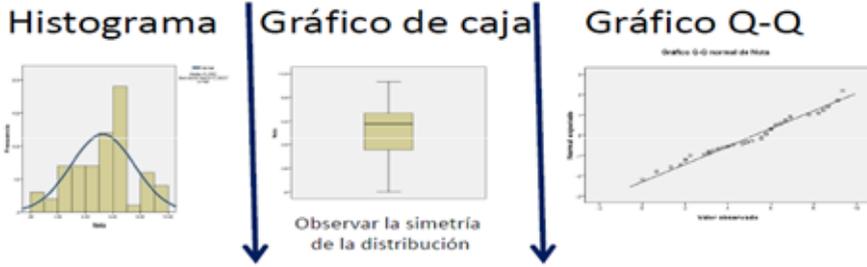
- Gráficos de probabilidad normal P-P plots
- Gráficos de cuantiles normales Q-Q plots

Estos gráficos trabajan con los datos estandarizados y ordenados. Cuando los datos se representan frente a los datos esperados de una distribución $N(0, 1)$ se deben obtener puntos alineados en la diagonal de un cuadro.

Gráfico N° 1: Distribución normal de las puntuaciones

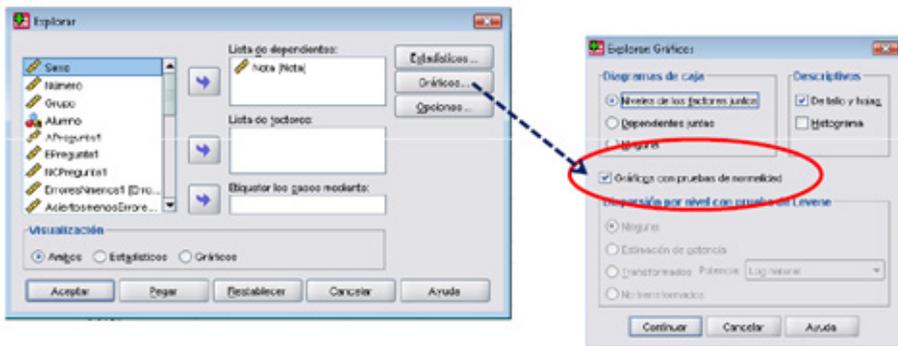


DISTRIBUCIÓN NORMAL DE LAS PUNTUACIONES



Fuente: Estadística Aplicada a ciencias de la Salud. España

Gráfico N° 2: SPSS-Gráficos con pruebas de normalidad



Fuente: Estadística Aplicada a ciencias de la Salud. España

Gráfico N° 4: Resumen de procesamiento de datos

	Casos					
	Válidos		Perdidos		Total	
	N	Porcentaje	N	Porcentaje	N	Porcentaje
Nota	68	100,0%	0	,0%	68	100,0%

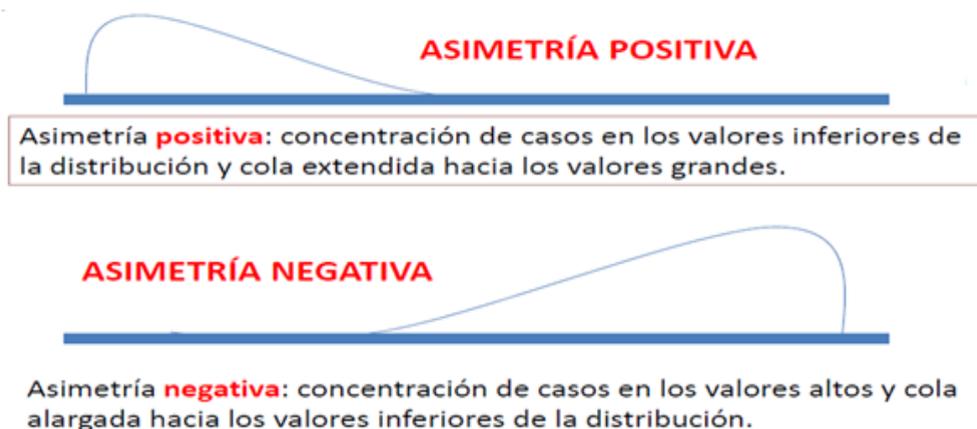
Descriptivos			Estadístico	Error tip.
Nota	Media		5,2682	,27775
	Intervalo de confianza para la media al 95%	Límite inferior	4,7038	
		Límite superior	5,8126	
	Media recortada al 5%		5,3021	
	Mediana		5,7778	
	Varianza		5,246	
	Dev. tip.		2,29037	
	Mínimo		,00	
	Máximo		9,33	
	Rango		9,33	
	Amplitud intercuartil		3,11	
	Asimetría		-,290	,291
	Curtosis		-,484	,574

	Kolmogorov-Smirnov ^a				Shapiro-Wilk			
	Estadístico	gl	Sig.	Sig.	Estadístico	gl	Sig.	Sig.
Nota	,155	68	,000	,000	,963	68	,041	,041

a. Corrección de la significación de Lilliefors

Fuente: Supuestos paramétrica

Gráfico N°5: Asimetría de la distribución



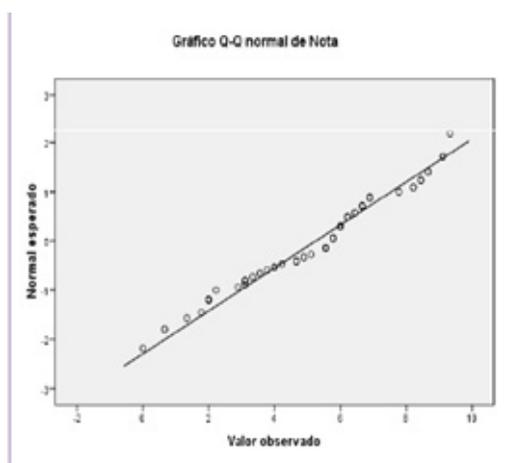
Fuente: Estadística Aplicada a ciencias de la Salud. España

Evaluación: Evaluar utilizando la prueba de significación de la normalidad

PRUEBA DE NORMALIDAD DE LAS MEDICIONES DE KOLMOGOROV

- Gráficos con prueba de normalidad

Gráfico N°6: QQ valor observado: valor esperado

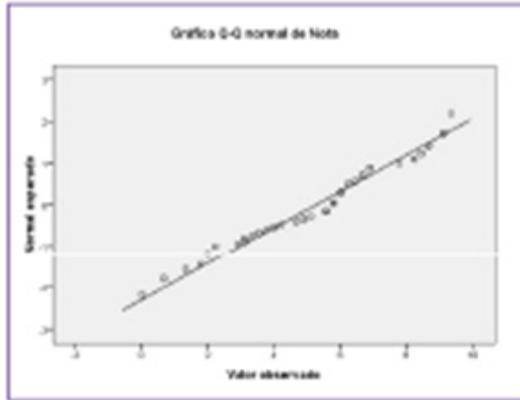


Fuente: Supuestos paramétrica

La aplicación de la prueba de normalidad muestra dos gráficos: (1) Normal Probability Plot: (gráfico Q-Q) donde a cada valor observado se le empareja con su valor esperado, procedente éste último de una distribución normal. Si la muestra es extraída de una población normal ambos valores se encon-

trarán en la misma línea recta.

Gráfico N°7: QQ de probabilidad normal



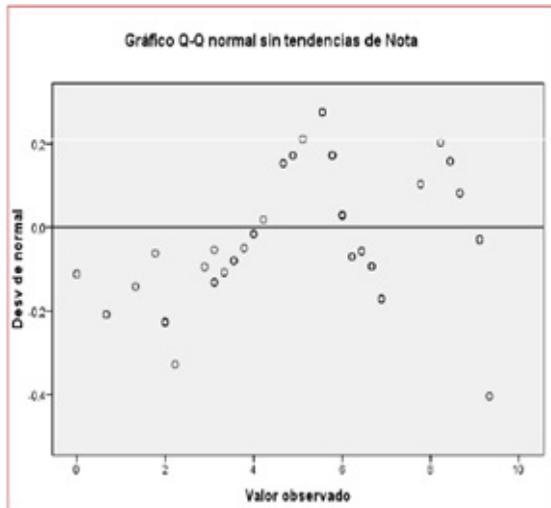
Fuente: Supuestos paramétrica

Normal Probability Plot. Gráfico Q-Q. Se presentan los cuantiles empíricos obtenidos en la muestra frente al cuartil correspondiente en la distribución normal.

Donde se representan los cuantiles empíricos obtenidos en la muestra frente al cuartil correspondiente en la distribución Normal.

Si el gráfico muestra una relación cercana a una línea recta entonces “sugiere” que los datos proceden de una distribución Normal.

Gráfico N°8: QQ normal sin tendencias de Nota



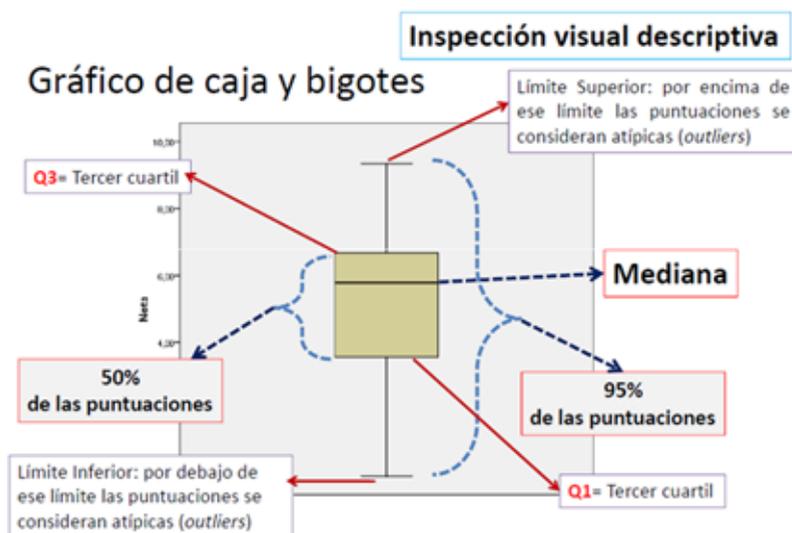
Donde se muestran las desviaciones de los puntos con relación a una línea recta

(2) Dentredd Normal Plot donde se muestran las desviaciones de los puntos con relación a una línea recta. Si la muestra ha sido extraída de una población normal los puntos deben situarse alrededor de una línea horizontal con el origen en el punto .00.

Cuando la distribución observada en las puntuaciones se ajusta a la teórica entonces los puntos se representan en línea recta en la diagonal.

Caracterización de la distribución por su forma

Gráfico N°9: Caja y bigotes



Fuente: Supuestos paramétrica

Las principales ventajas son la sencillez de interpretación, la extensión a cualquier tipo de distribución y, en el caso de la distribución normal, la facilidad de obtener el diagrama ya que está implementado en muchos paquetes estadísticos.

Además, no requieren muestras tan numerosas como algunas pruebas de normalidad. El principal inconveniente es la subjetividad de la interpretación visual, ya que al contrario de las pruebas de normalidad numéricas no se concluye con una “p” de probabilidad objetiva.

Pruebas de significación

Las pruebas de significación se utilizan para contrastar la hipótesis de la nor-



malidad de las puntuaciones de la población (variables aleatorias continuas). Estas pruebas son:

- Kolmogorov-Smirnov,
- Corrección de Lilliefors
- Shapiro Wilks

Los gráficos orientan sobre la procedencia o no de la muestra de una población normal. Sin embargo, es posible trabajar con una prueba estadística que certifique la normalidad o no de las variables.

Prueba de normalidad de Lilliefors (Kolmogorov-Smirnov corregida)

Lilliefors tabuló el estadístico de Kolmogorov-Smirnov para el caso más habitual en el que desconocemos la media y la varianza poblacional y se estiman a través de los datos muestrales.

El SPSS utiliza esta prueba modificada.

Los valores críticos se obtienen aplicando la corrección de significación propuesta por Lilliefors. No utilizaremos el de Kolmogorov-Smirnov sin la corrección de Lilliefors por resultar muy conservador (en casi todas las ocasiones se mantiene H0).

Pruebas de normalidad

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
ta	,155	68	,000	,963	68	,041

a. Corrección de la significación de Lilliefors

El estadístico de prueba Kolmogorov-Smirnov ($KS_{68} = 0.155, p < 0.001$) con la corrección de Lilliefors presenta un nivel de significación igual a < 0.001 . En consecuencia se rechaza la hipótesis de normalidad.

Para muestras mayores se recomienda Kolmogorov con la corrección de Lilliefors.

Software para el análisis

Se utilizó el software SPSS de IBM para el análisis de los datos de la determinación de ciclosporina en sangre.

Criterios de aceptación

1. Comparar los intervalos de confianza obtenidos del estudio con los límites clínicos de la bibliografía.



2. Prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov con corrección de Lilliefors donde el valor obtenido de significancia debe ser mayor que 0,05.
3. Utilizar el valor de los percentiles 5 y 95, para cada nivel y tiempo de trasplante.

RESULTADOS

Tabla N° 1: Límites de decisión clínica para concentración basal de ciclosporina con relación al tiempo de trasplante

CONCENTRACIÓN BASAL C0	
Tiempo (meses)	Concentración (ng/mL)
0 – 3	181 – 241
3 – 12	120 – 147
Mayor a 12	81 - 119

Fuente: Elaboración propia

Tabla N° 2: Límites de decisión clínica para concentración máxima de ciclosporina con relación al tiempo de trasplante

CONCENTRACIÓN MÁXIMA C2	
Tiempo (meses)	Concentración (ng/mL)
1	1193 – 2025
2	1379 – 1765
3	1060 – 1556
4 - 6	880 – 1293
7 - 12	735 – 1039
Mayor a 12	643 – 960

Fuente: Elaboración propia



CONCLUSIONES

Los límites de decisión clínica obtenidos se ajustan perfectamente a los de la bibliografía con la ventaja de que ahora se tienen límites definidos para nuestra población, constituyéndose en “alertas” para el diagnóstico médico.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agilent. (2009-2010). www.agilent.com. Recuperado el 03 de Febrero de 2016, de <http://www.agilent.com>
- Bagnarelli, D. A. E. (2008). Incertidumbre en los resultados del laboratorio clínico. *Bioquímica y Patología Clínica*, 72(1), 11.
- Borel, J.F. (2002). History of the discovery of cyclosporin and of its early pharmacological development.
- Dolores, F. N. (s.f.). Las pruebas paramétricas. Recuperado el 01 de 04 de 2019, de <https://www.uv.es/~friasnav/SupuestosParametrica.pdf>.
- Joaquín, M. V. (2015). *Estadística aplicada a las ciencias de la salud*. Barcelona: ELSEVIER.
- Kahan B.D, R. M. (2012). Pharmacokinetics of ciclosporine in human renal transplantation.
- Martindale. (2009). *The Complete Drug Reference*. Londres: Pharmaceutical Press. Pág. 1829.
- Medeiros M, Castañeda G. Muñoz R. (2001). Uso de ciclosporina en pacientes pediátricos. *Bol Med Hosp Inf*, Mexico, pag.; 58:60-77.
- Oltra, B. P., Ruixo, J. P., Torres, N. J., & Mateu, L. P. (2002). Modelado farmacocinético de ciclosporina en pacientes con trasplante renal. Universitat de València, Facultat de Farmàcia.
- Oppenheimer Salinas, F., Pascual Santos, J., & Pallardó Mateu, L. (2012). Inmunosupresión en el trasplante renal. *Nefrología*, 6(1), 0.
- Porta Oltra, B., Pérez Ruixo, J. J., Sancho Calabuig, A., & Pallardó Mateu, L. M. (1998). Individualización posológica de ciclosporina en pacientes con trasplante renal: propuesta de un modelo farmacocinético de predicción. *Farm Hosp*, 22(4), 181-187.
- Rafael, Á. C. (2007). *Estadística Aplicada a ciencias de la Salud*. España.
- Ruixo, J., Porta, B., Torres, N. J., & Crespo, J. (2004). Estrategias para la individualización posológica de ciclosporina en pacientes con trasplante renal. *Nefrología*, 24(5), 395-409.
- Saldaña, M. R. (2016). Pruebas de bondad de ajuste a una distribución normal. *Revistenfermería del trabajo*, 6(3), 114.
- Terrés-Speziale, A. M. (2006). Estimación de la incertidumbre y de la variabilidad total en el laboratorio clínico. *Revista Mexicana de Patología Clínica y Medicina de Laboratorio*, 53(4), 185-196.
- The United States Pharmacopeial Conventio. Vol I. (2014).