

Universidad Autónoma de Madrid
Facultad de Medicina
Departamento de Medicina



***Variación biológica de magnitudes
bioquímicas, hematológicas y gasometría
en atletas***

Tesis doctoral

Jorge Díaz-Garzón Marco
Madrid 2019

Universidad Autónoma de Madrid
Facultad de Medicina
Departamento de Medicina



***Variación biológica de magnitudes
bioquímicas, hematológicas y gasometría
en atletas***

Tesis doctoral

Autor: Jorge Díaz-Garzón Marco

Directores: Dra. Pilar Fernández Calle

Dr. Antonio Buño Soto



Doña Pilar Fernández Calle, Jefe de Sección del Servicio de Análisis Clínicos del Hospital Universitario La Paz y Don Antonio Buño Soto, Jefe de Servicio del Servicio de Análisis Clínicos del Hospital Universitario La Paz

CERTIFICAN

Que **Don Jorge Díaz-Garzón Marco** ha realizado bajo su dirección y tutela el trabajo para optar al grado de Doctor en Medicina titulado **“VARIACIÓN BIOLÓGICA DE MAGNITUDES BIOQUÍMICAS, HEMATOLÓGICAS Y GASOMETRÍA EN ATLETAS”**, cumpliendo todos los requisitos necesarios para su presentación como Tesis Doctoral.

Madrid 2019

Dra. Pilar Fernández Calle

Dr. Antonio Buño Soto

Agradecimientos

Espero que estas breves palabras sirvan como muestra de mi más sentido y sincero agradecimiento hacia todas aquellas personas que han colaborado en la realización de esta tesis doctoral comenzando por los principales promotores y directores de este trabajo, la Dra. Pilar Fernández Calle y el Dr. Antonio Buño Soto los cuales me han brindado todo su apoyo tanto a nivel profesional como personal.

Me gustaría hacer mención al Dr. Javier Sanguino, por su colaboración y ayuda en este proyecto de manera totalmente desinteresada y al resto de mis compañeros del Servicio de Análisis Clínicos del Hospital Universitario La Paz.

También quiero agradecer la participación a todos y cada uno de los atletas voluntarios que han participado en el estudio y en especial al Club Marlins Triatlón por su colaboración en la difusión del proyecto al cual pertenezco y tengo especial aprecio.

Muchísimas gracias al Dr. Juan José Ríos Blanco por la dedicación de su tiempo como tutor, a la Fundación para la Investigación Biomédica del Hospital Universitario La Paz por la concesión del premio “Dr. Luis Álvarez” cuya dotación económica hizo posible la realización de este proyecto de investigación.

Gracias también a toda mi familia, en especial a mi madre Belén, a mi hermana Rocío, a mi padrino el Dr. Jorge González Morales y a mi novia Sonia por el apoyo incondicional y comprensión durante este largo proceso, un trocito de este trabajo es vuestro.

Por último, me gustaría dedicar este trabajo a mi padre por el cual siento una gran admiración y dedicarle unas breves palabras: *“Sin tu apoyo incondicional, tu ejemplo y tus valores nada de lo conseguido en mi vida hubiera sido posible.*

Nos dijiste adiós durante la realización de este trabajo y lamento que no podamos disfrutar juntos de este logro, pero imagino el brillo en tus ojos y tu cara de gratificación y orgullo al presenciar un nuevo paso en la vida de tu hijo”.

Jorge Díaz – Garzón Marco

En Madrid, a 30 de Julio 2019

Índice

1. Resumen.....	13
2. Introducción.....	25
2.1. Concepto de Variación Biológica	25
2.1.1. Definición de Variación Biológica	25
2.1.2. Otras fuentes de variación en el laboratorio clínico	27
2.2. Aplicaciones de la Variación Biológica en el laboratorio clínico	35
2.2.1. Especificaciones de las prestaciones analíticas.....	35
2.2.2. Valor de Referencia del Cambio	38
2.3. Antecedentes históricos de la Variación Biológica	41
2.3.1. Conferencia internacional del consenso de Estocolmo.....	41
2.3.2. Conferencia internacional de Milán	43
2.3.3. Grupos de trabajo internacionales de Variación Biológica	45
2.3.4. Evolución de la metodología para el diseño de un estudio de Variación Biológica	49
2.4. Ejercicio físico.....	53
2.4.1. Tipos de ejercicio físico.....	53
2.4.2. Rendimiento metabólico-respiratorio durante el ejercicio.....	55
2.4.3. Intensidad del ejercicio físico	57
2.5. Relación del ejercicio y el laboratorio clínico.....	60
2.5.1. Variaciones descritas sobre magnitudes medidas en el laboratorio durante el ejercicio físico	60
2.5.2. Variación biológica y ejercicio físico	64
2.6. Aplicaciones de la Variación Biológica en deportistas.....	65
2.6.1. Ámbito sanitario	65
2.6.2. Clínicas de medicina deportiva y laboratorios especializados	66
2.6.3. Dopaje	67

3.	Justificación, Hipótesis y Objetivos	79
3.1.	Justificación.....	79
3.2.	Hipótesis.....	81
3.3.	Objetivos	81
3.3.1.	Objetivo principal.....	81
3.3.2.	Objetivos secundarios.....	81
4.	Sujetos, Material y Métodos	83
4.1.	Diseño del estudio	83
4.2.	Criterios de inclusión, exclusión, retirada y consideraciones éticas	85
4.2.1.	Criterios de inclusión	85
4.2.2.	Criterios de exclusión	86
4.2.3.	Criterios de retirada	86
4.2.4.	Consideraciones éticas.....	87
4.3.	Población de estudio	87
4.4.	Ámbito del estudio	88
4.5.	Variables de estudio	88
4.5.1.	Variables principales.....	88
4.5.2.	Variables secundarias.....	89
4.6.	Consideraciones pre-analíticas, análisis y tratamiento de las muestras....	90
4.6.1.	Preparación de los sujetos	90
4.6.2.	Recogida de las muestras de sangre	90
4.6.3.	Tratamiento y conservación de las muestras.....	91
4.6.4.	Análisis de las muestras y métodos analíticos de medida	92
4.7.	Metodología estadística.....	96
4.7.1.	Cálculo de los estimados de Variación Biológica	96
4.7.2.	Comparación de los estimados de Variación Biológica en atletas con los publicados en la bibliografía para individuos sanos	98
4.7.3.	Análisis de las variables con potencial influencia sobre la variación biológica.....	99
4.7.4.	Intervalos de referencia biológicos	100
4.7.5.	Cálculo de especificaciones de las prestaciones analíticas de Variación Biológica en atletas.....	101
4.7.6.	Cálculo del Valor de Referencia del Cambio y el índice de individualidad	102
4.7.7.	Verificación de los índices ABPS y OFF-hr en la población de atletas estudiada	103

5.	Resultados	105
5.1.	Análisis descriptivo de las variables antropométricas, del rendimiento físico y del laboratorio clínico.....	105
5.1.1.	Resultados de las variables antropométricas	105
5.1.2.	Resultados para las variables relacionadas con el ejercicio.....	106
5.1.3.	Resultados de las variables de laboratorio.....	109
5.2.	Estimados de Variación Biológica intra e interindividuales.....	112
5.3.	Comparación de los estimados de Variación Biológica en atletas con los publicados en la bibliografía en población sana	121
5.4.	Análisis de la influencia de las variables seleccionadas sobre los estimados de Variación Biológica	123
5.5.	Intercambiabilidad de los intervalos de referencia biológicos en atletas.....	129
5.6.	Especificaciones de las prestaciones analíticas derivadas de la Variación Biológica en atletas.....	132
5.7.	Valor de referencia del cambio en atletas e índice de individualidad	135
5.8.	Verificación de los índices para la detección del dopaje OFF-hr y ABPS en la población de atletas estudiada.....	137
6.	Discusión.....	143
6.1.	Población de estudio	143
6.2.	Metodología de estudio	145
6.3.	Estimados de Variación Biológica en atletas	146
6.4.	Influencia del ejercicio físico y otras variables sobre la Variación Biológica	152
6.5.	Intercambiabilidad de los intervalos de referencia biológicos de población sana en atletas.....	155
6.6.	Especificaciones de las prestaciones analíticas en atletas	157
6.7.	Valor de referencia del cambio en atletas y pasaporte biológico.....	158
6.8.	Índices OFF-hr y ABPS para la detección del dopaje	160
7.	Limitaciones	163
8.	Conclusiones.....	165
9.	Referencias	167
10.	Palabras clave.....	175
11.	Lista de abreviaturas	177
12.	Lista de tablas	181
13.	Lista de figuras	185
14.	Anexos	187

1. Resumen

Variación biológica de magnitudes bioquímicas, hematológicas y gasometría en atletas

Introducción

La Variación Biológica (VB), cuya utilidad es fundamental en la medicina de laboratorio para la obtención de resultados representativos del estado de los pacientes, es un concepto que ha sido ampliamente estudiado y sobre el que se han publicado resultados para más de 340 magnitudes. Entre las aplicaciones de la VB cabe destacar el establecimiento de especificaciones para el rendimiento analítico (EPA) de los laboratorios clínicos y la interpretación de resultados consecutivos de los pacientes mediante la estimación del valor de referencia del cambio (VRC).

Pocos autores han considerado el deporte como una situación de estrés fisiológico sostenida en el tiempo con capacidad para influir sobre la VB de determinadas magnitudes y las escasas publicaciones existentes en atletas han sido realizadas en un número limitado de magnitudes y carecen de la suficiente calidad metodológica para poder establecer estimados confiables de VB. Disponer de los mismos podría ser útil para el seguimiento de los atletas tanto en el ámbito sanitario como en el deportivo. Además, la VB es un concepto íntimamente relacionado con el pasaporte biológico del atleta, que es una herramienta utilizada para la detección del dopaje, pudiendo servir de soporte a las agencias encargadas de su persecución en la interpretación de resultados seriados de los atletas.

Por tanto, la obtención de unos estimados robustos de VB en atletas para magnitudes hematológicas, bioquímicas y de gasometría venosa siguiendo las

1. Resumen

recomendaciones de diseño metodológico recientemente publicadas, así como el análisis de la influencia de diferentes variables relacionadas con el ejercicio, podrían constituir una herramienta fundamental para la correcta atención sanitaria de estos individuos y, por otra parte, podría ser de utilidad en el control del dopaje mediante su aplicación en el pasaporte biológico.

Hipótesis y objetivos

a) Hipótesis:

La influencia de la práctica de ejercicio físico de alta intensidad y mantenido durante un largo periodo de tiempo sobre magnitudes de bioquímica, hematología y gasometría, podría condicionar que sus estimados de Variación Biológica sean más amplios que los encontrados en población general.

b) Objetivo principal:

Establecer estimados robustos de VB de magnitudes de la gasometría venosa, bioquímica y hematología en atletas.

c) Objetivos secundarios

1. Comparar los estimados de variación biológica de magnitudes de hematología, bioquímica y la gasometría venosa en atletas con los publicados en población general.
2. Analizar la influencia de variables relacionadas con el ejercicio físico, variables antropométricas y variables relacionadas el estado de salud sobre la VB de las magnitudes de la gasometría venosa, bioquímica y hematología en atletas.
3. Verificar la intercambiabilidad de los intervalos de referencia biológicos derivados de población general de magnitudes de la gasometría venosa, bioquímica y hematología con la población de atletas estudiada.
4. Establecer especificaciones de las prestaciones analíticas para imprecisión, error sistemático y error total de magnitudes de la

gasometría venosa, bioquímica y hematología basadas en VB en atletas.

5. Calcular el valor de referencia del cambio de magnitudes de la gasometría venosa, bioquímica y hematología, para la interpretación de resultados seriados en atletas.
6. Verificar si las magnitudes hematológicas incluidas en el pasaporte biológico tienen un índice de individualidad adecuado para el seguimiento de los atletas.
7. Validar los índices OFF-hr y ABPS utilizados por la AMA para la detección del dopaje, en la población de atletas estudiada.

Sujetos de estudio y métodos

a) Diseño

Se trata de un estudio observacional, prospectivo, longitudinal y unicéntrico en una cohorte de 30 atletas en los que se realizó el seguimiento durante una temporada deportiva (11 meses). Todos ellos fueron sometidos a una prueba de esfuerzo inicial para verificar su estado de salud y rendimiento deportivo, realizando una extracción de sangre y la medición de variables antropométricas con periodicidad mensual. Además, en cada extracción, se recogió información detallada relacionada con la actividad física realizada, el estado de salud y otras variables que pudieran influir sobre la VB.

b) Criterios de inclusión

- Hombres y mujeres mayores de 18 años
- Firmar el consentimiento informado
- No haber sufrido ninguna lesión física en las 4 semanas anteriores a la inclusión
- Entrenar de manera regular más de 13 horas por semana (incluyendo carrera, ciclismo y / o natación)
- No mostrar en el examen médico y la prueba de esfuerzo ninguna alteración significativa y de acuerdo a los criterios del médico de medicina del deporte que los realizó.

1. Resumen

c) Criterios de exclusión

- Diagnóstico previo de diabetes mellitus o glucemia basal > 125 mg/dL)
- Enfermedad cardiovascular conocida
- Antecedentes de enfermedad hepática o renal crónica (GGT > 150 U/L; eGFR (CKD-EPI) < 60 mL/min por 1,73 m²)
- Dislipemia (Colesterol total > 250 mg/dL)
- Antecedentes familiares de talasemia y otras hemoglobinopatías
- Resultados de los análisis de sangre que sugieran, bajo los criterios del equipo investigador, una enfermedad crónica grave (cáncer, enfermedad cardiovascular o neurológica) o una enfermedad aguda
- Estado de portador conocido para VHB, VHC y VIH
- Hospitalización o enfermedad grave en las 4 semanas anteriores
- Haber realizado alguna donación de sangre en los 3 meses anteriores al comienzo del estudio
- Embarazo, lactancia o parto en el último año

d) Criterios de retirada

En cualquier momento los participantes podían decidir de manera voluntaria la retirada del estudio, así como la destrucción de las muestras obtenidas y los datos derivados de estas, atendiendo a las consideraciones éticas indicadas en el protocolo. Además, en los sujetos en los que se evidenciara alguna alteración en las analíticas de seguimiento o enfermedad durante el desarrollo del estudio que a criterio de los investigadores pudiera influir sobre los resultados podrían ser retirados del estudio. También fue considerado motivo de retirada el donar sangre durante la duración del mismo.

e) Criterios éticos

Aprobación por el Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital Universitario La Paz (CEIC). Asimismo, todos los pacientes firmaron una hoja de consentimiento informado. El estudio se ha realizado de acuerdo con las normas de buena práctica clínica

f) Recogida de las muestras

Todo el proceso, desde la preparación de los sujetos, la extracción de sangre y el tratamiento y conservación de las muestras hasta su análisis, se realizó siguiendo las actuales recomendaciones internacionales para obtener estimados robustos derivados de un estudio de VB.

g) Análisis de las muestras de sangre

Se llevó a cabo la determinación de magnitudes de hematología, bioquímicas y gasometría venosa. Todas las determinaciones se realizaron por duplicado asegurando que el análisis de las muestras pertenecientes a cada sujeto se realizara en una misma serie analítica y tras confirmar que los métodos de medida utilizados en el estudio cumplían con las prestaciones analíticas fijadas por el laboratorio para el aseguramiento de la calidad (basadas en VB).

h) Población de estudio

En este estudio se seleccionaron un total de 30 atletas, 15 hombres y 15 mujeres en edad fértil, de forma que se garantizaba un número de sujetos, un número de muestras por sujeto y un número de replicados que asegurase la suficiente potencia estadística en las magnitudes estudiadas.

i) Variables principales

- CV_I (estimados de VB intraindividual)
- CV_G (estimados de VB interindividual)

j) Diseño del estudio

Se trata de un estudio observacional, prospectivo, longitudinal y unicéntrico en una cohorte de 30 atletas en los que se realizó el seguimiento durante una temporada deportiva (11 meses), llevado a cabo el siguiente esquema temporal:

Selección de los sujetos participantes (agosto – diciembre 2016)

Se realizó una presentación oral para exponer el estudio y se difundió la información entre diferentes clubes de triatlón, solicitando voluntarios para la participación.

1. Resumen

Inclusión en el estudio y primera visita para extracción (enero 2017)

Durante la primera visita del estudio se proporcionó a los sujetos un cuestionario de inclusión para evaluar su estado de salud y se les facilitó una tabla de datos de actividad física que fue completada de manera diaria.

Antes de la obtención de las muestras de sangre, se realizó la medición del peso y composición corporal, mediante el análisis de la bio-impedancia por segmentos, utilizando una báscula Tanita BC-601 Segment (8 electrodos).

Posteriormente, se obtuvieron mediante venopunción muestras de sangre siguiendo unas condiciones pre-analíticas estandarizadas y definidas en el apartado 4.6.2

A partir de las muestras de sangre obtenidas en esta primera visita, se realizó la medición de magnitudes de laboratorio con el propósito de verificar los criterios de exclusión. Estas analíticas de control fueron realizadas de manera cuatrimestral durante el estudio para verificar el buen estado de salud de los atletas y que se cumplieran los criterios de inclusión y no se incumplían los de retirada.

Prueba de esfuerzo (enero 2017)

Todos los participantes fueron sometidos a una prueba de esfuerzo que se realizó en un centro especializado (*Salud y Deporte Madrid*) y se llevaron a cabo los siguientes procedimientos bajo la supervisión de un médico especialista en medicina del deporte. Se realizó una historia médica y exploración física, medida de la tensión arterial, electrocardiografía en reposo y durante el desarrollo de la prueba, así como espirometría y dinamometría.

Los criterios de inclusión fueron verificados posteriormente cuando los resultados de la primera analítica y el informe de la prueba de esfuerzo estuvieron disponibles.

Visitas con periodicidad mensual (Febrero – Noviembre 2017)

Se realizó la obtención de muestras de sangre con periodicidad mensual a todos los participantes, siendo la duración total once meses. Esto permitió cubrir el intervalo de una temporada deportiva completa, en la cual podemos encontrar diferentes fases o periodos en las que la intensidad y duración del ejercicio físico realizado puede variar (pre-temporada, fase de carga, entrenamientos de calidad, competiciones, etc). En cada visita se les proporcionó un cuestionario de seguimiento con datos sobre el estado de salud, medicación, suplementación nutricional, actividad física realizada el día anterior y otras consideraciones. Además, se realizó la medición de la composición corporal, al igual que en la visita inicial en cada visita.

k) Ámbito del estudio

Los atletas fueron seleccionados a través de diferentes clubes de triatlón de la Comunidad de Madrid, y participaron de forma voluntaria de acuerdo con los criterios de inclusión y exclusión anteriormente descritos y tras haber sido informados del estudio y dado su consentimiento por escrito.

La extracción de las muestras fue realizada en la Unidad de Extracciones del Servicio de Análisis Clínicos del Hospital Universitario La Paz, así como el análisis inmediato de las muestras de gasometría, que fue realizado en uno de los gasómetros de la Unidad de POCT. El análisis del resto de magnitudes se realizó en el Laboratorio Core del Servicio de Análisis Clínicos

l) Metodología estadística

Para la realización del tratamiento estadístico de los datos se utilizaron las aplicaciones SPSS statistics®, Analyze-it® y RStudio®.

- Se calculó la VB intra e interindividual de los atletas (ANOVA anidado) y se analizó la influencia de las variables recogidas sobre esta VB (modelo lineal mixto) utilizando la metodología estadística descrita en las recomendaciones actuales.

1. Resumen

- Se verificó la intercambiabilidad de los intervalos de referencia biológicos (IRB) de los atletas con los de la población sana y se realizó el cálculo de los IRB específicos de la población de atletas para las magnitudes que no cumplieron los criterios de intercambiabilidad.
- Además, se calculó el VRC, las EPA y los índices para la detección del dopaje OFF-hr y ABPS en la población de atletas estudiada.

Resultados

a) Estimación y comparación de la Variación Biológica intra e interindividual en atletas con los publicados en la bibliografía

Los estimados de VB derivados de atletas fueron iguales o ligeramente superiores a los publicados en población general para la mayoría de las magnitudes como en el caso de la gasometría y el hemograma. Sin embargo, en algunas magnitudes bioquímicas como las enzimas (ALT, AST, GGT, amilasa y CK), la PCR y la troponina I la VB fue mucho mayor en atletas.

b) Análisis de la influencia de las variables seleccionadas sobre los estimados de Variación Biológica

Las variables recogidas mostraron influencia sobre la VB de algunas de las magnitudes estudiadas, tanto para la VB intra como para la interindividual, sin embargo, esta influencia no fue suficiente para explicar las diferencias encontradas entre la VB de los atletas y la población general.

c) Intercambiabilidad de los intervalos de referencia biológicos en atletas

La intercambiabilidad de los IRB de los atletas con los de la población general fue verificada para la mayoría de las magnitudes, y en caso de no serlo se calcularon nuevos IRB para atletas. Destacó el porcentaje encontrado de resultados de troponina I por encima del p99, tanto en hombres (17%) como en mujeres (22%).

d) Especificaciones de las prestaciones analíticas y valor de referencia del cambio derivados de la Variación Biológica en atletas

Se calcularon las EPA en base a los nuevos estimados de VB, siendo la mayoría similares o más permisibles incluso que las de la población general. Los resultados del índice de individualidad sugieren que el VRC podría ser útil en la interpretación de resultados seriados en atletas e indica las magnitudes que podrían ser aplicadas en el pasaporte biológico.

e) Verificación de los índices para la detección del dopaje OFF-hr y ABPS en la población de atletas estudiada

De un total de 292 muestras analizadas para el índice OFF-hr, 21 (7,2%), pertenecientes a 9 atletas (30%), estaban por encima del intervalo definido como normal (85-95), pero ninguno de ellos estuvo por encima del punto de corte que considera un resultado como sospechoso de dopaje. En cambio, para el índice ABPS sí se obtuvieron 17 resultados por encima del límite definido como sospecha de dopaje (5,8%).

Conclusiones

1. Se han establecido estimados robustos de Variación Biológica para magnitudes de bioquímica, hematología y gasometría venosa en atletas con un diseño metodológico acorde con las recientes recomendaciones internacionales.
2. Los estimados de Variación Biológica de las magnitudes de la hematología y la gasometría venosa y parte de las estudiadas de bioquímica en atletas son similares o ligeramente superiores a los publicados en la bibliografía en población general. En cambio, para otras magnitudes bioquímicas se han observado mayores diferencias con respecto a la población general, como es el caso de las enzimas (GGT, ALT, AST, fosfatasa alcalina y CK), la PCR y la troponina I.
3. Las variables ejercicio realizado, estado de salud o periodicidad de las extracciones, no explican las diferencias encontradas entre los atletas y la

1. Resumen

población general. Este hallazgo sugiere que estas diferencias podrían ser explicadas por la condición de estrés fisiológico sostenido en el tiempo al que los atletas están sometidos debido a la práctica continua de ejercicio.

4. Los intervalos de referencia biológicos de la mayoría de las magnitudes estudiadas bioquímicas, hematológicas y de gasometría venosa en atletas son intercambiables con los de la población general. Los resultados de las magnitudes cuyos intervalos de referencia biológicos no son intercambiables como la CK, LDH o troponina I deberían ser interpretados con cautela en el contexto clínico.

5. Los nuevos intervalos de referencia biológicos derivados de este estudio podrían ser utilizados para la interpretación de resultados de atletas, aunque solo de manera orientativa, ya que sería deseable realizar nuevos estudios con un mayor número de sujetos para corroborar estos resultados.

6. Las especificaciones para las prestaciones analíticas derivadas de este estudio son equivalentes o incluso más permisivas que las derivadas de la población general para la mayoría de las magnitudes estudiadas.

7. Las magnitudes con bajo índice de individualidad en atletas como las enzimas hepáticas, las magnitudes del perfil lipídico, o las pertenecientes a la serie eritrocitaria del hemograma, en las que se disponga de datos seriados, deberían ser interpretadas, cuando sea posible, mediante la evolución de resultados en el tiempo utilizando el Valor de Referencia del Cambio como alternativa a los intervalos de referencia biológicos.

8. Las magnitudes hematológicas de la serie eritrocitaria estudiadas son aptas para su aplicación en el módulo hematológico del pasaporte biológico, con la excepción del porcentaje y recuento absoluto de reticulocitos. Además, Las magnitudes incluidas en este estudio con un índice de individualidad bajo ($< 0,6$) podrían ser adecuadas para su inclusión en el pasaporte biológico del atleta,

siempre y cuando estén involucradas en rutas metabólicas alteradas por las sustancias ilícitas que se pretendan detectar.

9. El índice OFF-hr utilizado por la AMA como marcador primario en el despistaje del dopaje parece no ser adecuado para el seguimiento de los atletas, siendo discutible su aplicación en el pasaporte biológico del atleta. De la misma manera, el índice ABPS podría tener un rendimiento insuficiente para discriminar a los atletas sospechosos de dopaje debido a su elevada imprecisión y falta de especificidad.

2. Introducción

2.1. Concepto de Variación Biológica

2.1.1. Definición de Variación Biológica

Para el mantenimiento de la homeostasis o estabilidad del medio interno, el organismo tiene diferentes procesos fisiológicos los cuales regulan las concentraciones de diferentes magnitudes en los compartimentos intra y extra celulares. Este equilibrio define una variación aleatoria en la concentración de estas magnitudes, y el punto intermedio de esta variación es lo que conocemos como punto homeostático.

La variación biológica (VB) se define como la variabilidad de la concentración de una magnitud biológica alrededor de su punto homeostático en un fluido biológico. Cuando esta variación hace referencia a la variabilidad de la concentración en un mismo individuo, se denomina variación biológica intraindividual (VB_I), sin embargo, cuando hablamos de la variabilidad entre los puntos homeostáticos de distintos individuos, recibe la denominación de variación biológica interindividual (VB_G) (1).

La VB_I y la VB_G , son medidas de dispersión y suelen expresarse como coeficiente de variación CV_I y CV_G , intra e interindividual respectivamente, aunque también pueden ser expresadas como varianza.

Durante el proceso de interpretación de resultados seriados de un mismo individuo es importante conocer el punto homeostático a partir del cual se producirán variaciones que podrán ser o no clínicamente significativas. Asimismo, se puede estimar el número de muestras consecutivas necesarias

2. Introducción

para determinar el punto homeostático de un individuo, con un porcentaje de confianza (D) y un coeficiente de variación analítica (CV_A), a partir de la siguiente fórmula:

$$N = (Z \cdot (CV_A^2 + CV_I^2)^{1/2} / D)^2$$

- **Índice de individualidad (II):** El II es una *ratio* que nos permite comparar el CV_I y el CV_G . Se calcula con la siguiente fórmula:

$$II = (CV_I^2 + CV_A^2)^{1/2} / CV_G$$

En las magnitudes que tienen una imprecisión muy inferior al CV_I estimado, la ecuación se puede simplificar de la siguiente manera:

$$II = CV_I / CV_G$$

Un bajo II nos indica que una magnitud tiene una elevada individualidad, es decir, una estrecha regulación homeostática, de forma que la variación dentro del mismo individuo es de alguna manera relativamente superior a la que encontramos en una población o conjunto de individuos. Como por ejemplo ocurre en el caso de los electrolitos en sangre (sodio y cloro). Variaciones en la concentración de estas magnitudes van a tener mayor relevancia a la hora de interpretar resultados seriados en un mismo individuo.

Por el contrario, un elevado II ocurre en magnitudes con un reducido grado de individualidad es decir, magnitudes cuya concentración tiene una variación menor dentro del propio individuo que la que experimenta entre diferentes individuos. En estas magnitudes podemos esperar una gran diferencia entre resultados consecutivos de un mismo individuo, como por ejemplo ocurre con los triglicéridos o el hierro en sangre.

Este concepto adquiere una especial relevancia a la hora de interpretar los resultados de los pacientes frente a una población de referencia tal y como se verá más adelante

Existen otras formas menos utilizadas de valorar la individualidad, como el índice de heterogeneidad o *Reliability coefficient* (R) en la terminología anglosajona calculado mediante la siguiente fórmula (2):

$$R = CV_G^2 / (CV_I^2 + CV_A^2 + CV_G^2)$$

2.1.2. Otras fuentes de variación en el laboratorio clínico

Entre las funciones del laboratorio clínico se encuentra la medición de magnitudes biológicas en diferentes muestras. Los resultados de estas mediciones serán empleados para la toma de decisiones clínicas, incluyendo el diagnóstico, pronóstico, tratamiento y seguimiento de pacientes con diferentes patologías.

Esta medición o análisis solo es una parte del proceso global del laboratorio, que está compuesto por cinco fases que van desde la fase pre-pre-analítica, la cual se inicia en el proceso de indicación o solicitud donde se decide que prueba es la más adecuada para el diagnóstico o seguimiento del paciente, pasando por la fase pre-analítica, analítica y post-analítica, hasta la fase post-post-analítica que incluye la interpretación del resultado para la toma de decisiones clínicas.

Cuando se obtiene un resultado en el laboratorio clínico, se pueden distinguir tres componentes de variación, que constituyen la variación total (V_T):

$$V_T = V_{PRE} + V_A + V_{BI}$$

- La variación pre-analítica (V_{PRE}), que es atribuible al proceso de obtención, transporte y tratamiento de la muestra
- La variación analítica (V_A), que suele ser expresada como coeficiente de variación (CV_A), y es inherente al proceso de medición.

2. Introducción

- La VBi, que es producto de fluctuaciones fisiológicas de las diferentes magnitudes en el individuo.

2.1.2.1. Fuentes de variación en la fase pre-analítica

Se producen durante la fase pre-analítica. Existen diversos factores que pueden influir directamente sobre los resultados y su interpretación y está estrechamente relacionada con la preparación y las condiciones de los sujetos para la recogida de las muestras, incluida la extracción de sangre, la forma de obtención de la muestra y el transporte y tratamiento de la misma.

Determinadas variables modulan la variación que experimentan ciertas magnitudes, siendo algunas de ellas fisiológicas y no controlables como el embarazo, la menopausia, la raza, la pubertad, la senescencia, predisposiciones genéticas, variaciones estacionales o la altitud, además de otras como fiebre, estrés u obesidad. Existen también otras variaciones no controlables debidas a una situación fisiopatológica que es producida por una enfermedad, traumatismo o shock.

Por otra parte, podemos describir variaciones que son consecuencia de un factor externo modificable como la postura, los hábitos de vida, la dieta, medicamentos y plantas medicinales, estado de hidratación, ciclo circadianos, transfusiones o el ejercicio físico (2). Estos factores se pueden y se deben estandarizar para evitar su influencia sobre los resultados.

Otra parte importante de la fase pre-analítica es el proceso de obtención y extracción de la muestra, donde encontramos diferentes variables como pueden ser el tiempo de uso del torniquete, el material utilizado para la venopunción, el lugar de punción (arteria o vena) o la cantidad de vacío utilizado para obtener la sangre, bien generado directamente por los contenedores o por el émbolo de la jeringa. Por otra parte, el personal que realiza la extracción también constituye en sí mismo una fuente de variabilidad en el proceso de obtención de la muestra sanguínea.

El tipo de espécimen y la muestra también es un factor muy importante a tener en cuenta, ya que para diferentes magnitudes obtenemos valores que difieren en función de la matriz analizada. Una misma magnitud puede ser medida en diferentes tipos de espécimen, es decir, en cualquier material biológico líquido, sólido o gaseoso que se envía al laboratorio para su caracterización o análisis (orina, sangre, biopsia de tejidos, líquidos biológicos, etc.).

Asimismo, de cada tipo de espécimen se pueden obtener diferentes tipos de muestras. Por ejemplo, en el caso de la sangre, para evitar que el proceso de coagulación de la sangre se produzca, existen distintos anticoagulantes como el citrato sódico, la heparina de litio o el ácido etilendiaminotetraacético (EDTA). Si una muestra de sangre es centrifugada y separada de las células previamente a su centrifugación, el sobrenadante que se obtiene es el plasma. Si por el contrario no se ha añadido ningún anticoagulante a la muestra y la centrifugación se realiza después de la retracción o consolidación del coágulo hemostático, el sobrenadante que se obtiene es suero. En ocasiones, el análisis se realiza directamente a partir de una muestra de sangre que contiene el plasma y todos los elementos formes, mezclada con diferentes anticoagulantes para evitar su coagulación.

En resumen, en función del proceso de tratamiento de los diferentes tipos de especímenes, obtenemos diferentes muestras en cuyas matrices los resultados para ciertas magnitudes pueden diferir.

Para la realización del tratamiento, análisis y almacenamiento de las muestras, estas deben ser transportadas al laboratorio y durante estos procesos también podemos encontrar fuentes de variación. Entre ellas, el tiempo y la temperatura hasta su análisis o centrifugación es un factor muy relevante a tener en cuenta ya que influye directamente en la estabilidad de las magnitudes en las diferentes matrices; estas dos variables también deben tenerse en cuenta a la hora de almacenar las muestras en caso de que su análisis no se pueda realizar de forma inmediata. Otras posibles variables, son la velocidad de centrifugación, la luz, si

2. Introducción

las muestras están debidamente selladas para evitar pérdidas por evaporación, el material de los contenedores, etc (3).

Todas estas variables pre-analíticas descritas, pueden impactar directamente sobre los resultados que se van a obtener, sin embargo, es muy complicado estimar su valor, por ello el laboratorio debe asegurar que sus procesos pre-analíticos (preparación de los sujetos, recogida, tratamiento y almacenamiento de las muestras, persona que realiza la extracción, etc.) están debidamente estandarizados de manera que minimicemos estas fuentes de variación y así tengan el menor impacto posible sobre los resultados y la toma de decisiones clínicas (4). Si así lo hiciéramos, podríamos considerar esta fuente de variabilidad como despreciable en la fórmula de la variación total:

$$V_T = \cancel{V_{PRE}} + V_A + BV_I$$

2.1.2.2. Fuentes de variación en la fase analítica. El error analítico

La fase que sigue a la pre-analítica, es la fase analítica. En ella concurren diferentes fuentes de variación que van a condicionar también los resultados. Entre ellas podemos encontrar las interferencias debidas a componentes que se encuentran en la propia muestra u otros componentes externos. Ambos pueden interferir con la magnitud que queremos medir, bien con nuestros sistemas de medición o bien directamente, a través de diferentes fenómenos. La medición de algunos de estos interferentes de naturaleza endógena está actualmente automatizada en muchos sistemas de medida debido a que se presentan con elevada frecuencia, como son el índice de hemolisis, ictericia y turbidez (lipemia). Otros ejemplos, son la presencia de anticuerpos heterófilos que producen reacciones inespecíficas, las macroenzimas o, dentro de los interferentes exógenos, podemos encontrar la presencia de contrastes para pruebas diagnósticas de imagen entre otros.

La fuente de variación analítica por antonomasia en el laboratorio clínico, es el error analítico que está implícito en todos los sistemas de medida en mayor o menor grado.

Características de los sistemas de medición

El porcentaje o grado de incumplimiento de las distintas características de los sistemas de medida representa un indicador del error analítico, que facilita a los laboratorios la monitorización de este error (2). Estas características básicas son:

- Precisión definida como la concordancia entre resultados en observaciones repetidas en unas condiciones establecidas. Su indicador es la imprecisión y se expresa en porcentaje (**CV_A**). Como se ha comentado anteriormente, es una de las variaciones incluidas en la V_T y que influyen directamente sobre la medición de las magnitudes

- Veracidad o concordancia entre el valor medio de una serie de medidas y un valor de referencia. Su indicador, expresado en porcentaje es el error sistemático (**ES**)

- Exactitud entendida como la concordancia entre el resultado de una única medida y el valor de referencia. Su indicador será el error total (**ET**), expresado también como porcentaje

Para el cálculo de estas características que van a definir las prestaciones analíticas del laboratorio, el *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) propone diferentes guías: Evaluación de la imprecisión analítica de los métodos cuantitativos - CLSI EP05-A2 (5), Verificación de la veracidad de los métodos analíticos (Error sistemático) - CLSI EP15-A2 (6) y Estimación del error total de los métodos del laboratorio clínico - CLSI EP21-A (7).

2. Introducción

Control de calidad interno

El laboratorio es el responsable de asegurar la calidad de sus resultados mediante la monitorización periódica de estos indicadores para verificar que sus resultados son adecuados para la toma de decisiones clínicas.

Para ello, se utilizan diferentes herramientas como son el control de calidad interno, a través del cual, el laboratorio monitoriza a diario y en tiempo real sus prestaciones, permitiéndole reaccionar de manera inmediata ante determinadas desviaciones. Para ello es muy útil el uso de representaciones gráficas como las gráficas de *Levey-Jennings* (figura 1), en la cual se presentan los resultados del control de calidad interno a lo largo del tiempo y podemos establecer unos límites basados en unas especificaciones de calidad concretas.

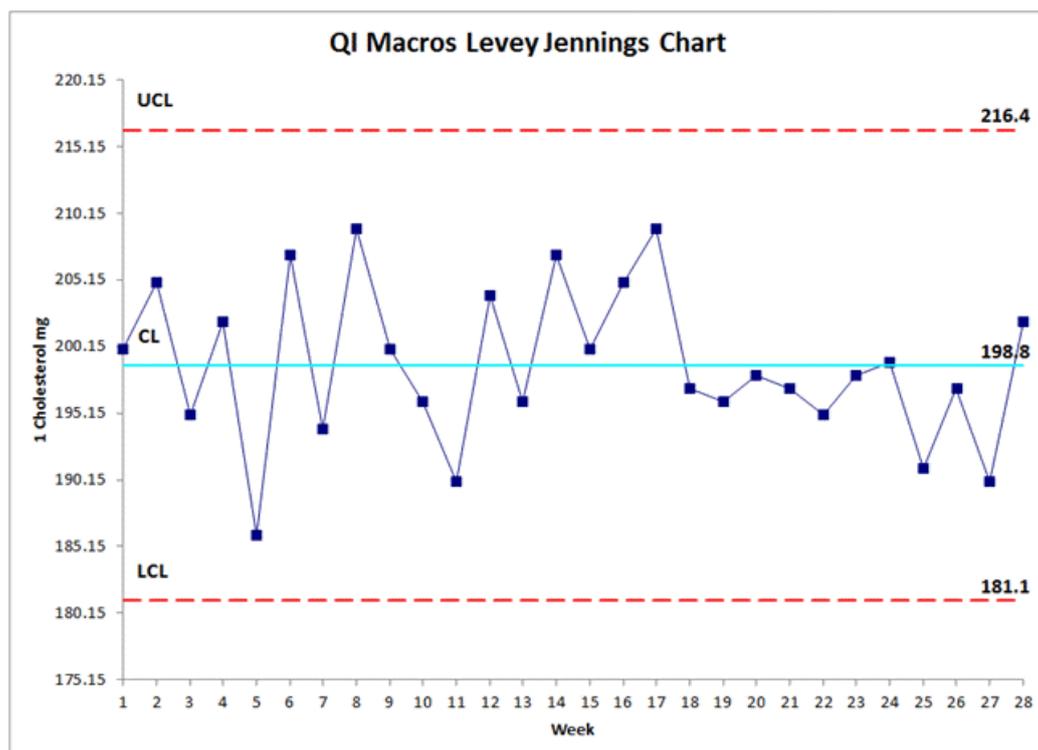


Figura 1. Gráfico de Levey-Jennings en el que se muestran los resultados del control de calidad para el colesterol total (concentración, mg/dL) a lo largo del tiempo (semanas).

En este tipo de gráfica se pueden observar diferentes tendencias y comportamientos que nos facilitarán la detección tanto de errores aleatorios como sistemáticos en nuestros sistemas de medida.

El material utilizado para este proceso suele estar compuesto por una matriz que puede ser no humana y contiene conservantes, ya que por practicidad va a ser conservado durante días y analizado de manera continua. Este hecho debe ser tenido en cuenta ya que la matriz con la que estamos realizando el control interno no sería la misma que la de las muestras de los pacientes que se están analizando, pudiendo ser no conmutable y por tanto no representativa de los resultados obtenidos en las muestras de los pacientes.

Programas de aseguramiento de la calidad externos

Por otro lado, el control de calidad externo, permite a los laboratorios clínicos poder compararse con otros centros y asegurar que su error analítico cumple con los criterios aceptabilidad que se haya fijado previamente, o bien con aquellos derivados de agencias o sociedades externas, asegurando así una mayor calidad de sus resultados. Existen diferentes programas de garantía externa de la calidad, tanto nacionales como internacionales. Además, algunos de ellos suministran material con matriz humana y valores asignados mediante métodos de referencia, aportando una clara ventaja ya que los resultados serán entonces representativos de lo que sucede con las muestras que se analizan.

Para llevar a cabo la monitorización de las prestaciones analíticas de los laboratorios, los organizadores de los programas externos, así como las agencias reguladoras utilizan criterios de diferente naturaleza para definir unos límites, que serán posteriormente desarrolladas en el apartado 2.3.1

Agencias reguladoras

El laboratorio puede demostrar que la gestión de sus procesos sigue unos estándares. La agencia española de normalización es el órgano español

2. Introducción

encargado de participar en los comités internacionales *International Organization for Standardization* (ISO) para la elaboración de normas de la serie 9001 y normas específicas para los laboratorios clínicos (ISO 15189).

En los laboratorios clínicos, un paso más allá de la certificación de que su sistema de gestión de la calidad sigue los estándares internacionales (ISO 9001), es demostrar que cumplen con unos requerimientos de calidad que se ajustan a unas normas específicas y así evidenciar su competencia técnica, siguiendo la norma ISO 15189. La Entidad Nacional de Acreditación (ENAC) es la encargada de la acreditación de los laboratorios en nuestro país. Una vez acreditados, los laboratorios deben demostrar de manera periódica que sus procesos de gestión y de aseguramiento de la calidad continúan siendo adecuados a través de posteriores auditorías. Un ejemplo de la importancia de la acreditación de los laboratorios clínicos es el caso de Francia, donde actualmente es obligatorio que los laboratorios estén acreditados bajo la norma ISO 15189 para poder informar resultados.

Por otra parte, existen agencias reguladoras en algunos países europeos como la *Richtlinien der Bundesärztekammer* (Rilibak) en Alemania y en otros países americanos como la *Clinical Laboratory Improvement Amendments* (CLIA) en Estado Unidos que obligan al cumplimiento de determinadas especificaciones de la calidad.

Por otra parte, en el ámbito de los laboratorios que analizan muestras para la detección del dopaje, es la agencia mundial anti-dopaje (AMA) o *World Anti-doping Agency* (WADA) el órgano que acredita a estos laboratorios, añadiendo criterios específicos a los ya establecidos en la norma ISO 17025 para los laboratorios de ensayo. Este tipo de agencias, necesitan herramientas para demostrar que la calidad de los resultados que los laboratorios auditados informan, cumple con unos requerimientos de calidad adecuados. Para este propósito concreto son necesarias especificaciones de la calidad apropiadas, basadas en criterios específicos.

2.2. Aplicaciones de la Variación Biológica en el laboratorio clínico

2.2.1. Especificaciones de las prestaciones analíticas

Las especificaciones de las prestaciones analíticas (EPA) son una herramienta que el laboratorio clínico utiliza para definir unos límites a las prestaciones analíticas de sus métodos para considerar que el error analítico está bajo control y que por tanto no va a tener una repercusión sobre la toma de decisiones clínicas.

En el caso del error analítico y sus indicadores, las especificaciones nos van a permitir establecer unos límites de cumplimiento, a partir de los cuales, los resultados obtenidos serían considerados no adecuados para ser informados, ya que podrían llevar a interpretaciones erróneas de la situación fisiológica del paciente.

Por tanto, las EPA van a ayudar al laboratorio a asegurar que los resultados informados al clínico tienen suficiente calidad, evitando errores en la actuación clínica que podrían tener una consecuencia directa sobre la seguridad del paciente.

2.2.1.1. Cálculo de las Especificaciones de las Prestaciones Analíticas

Las especificaciones de las prestaciones analíticas fueron establecidas internacionalmente y jerarquizadas por primera vez en 1999 a raíz de la reunión que culminó en el denominado consenso de Estocolmo. Más tarde, en la 1ª Conferencia Estratégica de la *European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine* (EFLM) se generó el llamado consenso de Milán en el que se establecen tres modelos (ver punto 2.3.2); el modelo 1 basado en estudios que evalúan el impacto de las prestaciones analíticas sobre la toma de

2. Introducción

decisiones clínicas en una situación clínica concreta, el modelo 2 se basa en especificaciones derivadas de la VB y el modelo 3 basado en el “estado del arte” de la tecnología. Dado que del modelo 1 existen escasos estudios y son difíciles de realizar, a pesar de representar el modelo ideal, se asume que el modelo 2, que va dirigido a la utilidad clínica de los resultados, es el que permite una mayor utilización y por tanto es el más generalizado, . Este modelo pretende minimizar el “ruido” aportado por el error analítico frente a la señal biológica.

Los estimados de la VB definen la variación esperable de una determinada magnitud en un individuo concreto (CV_I) o entre diferentes individuos (CV_G) sin que existan cambios en su estado de salud. Para asegurar que el error analítico de los diferentes sistemas de medida es inferior a estas variaciones se definen unas EPA basados en estos estimados.

La definición de las EPA para el error aleatorio o imprecisión analítica utiliza el estimado de CV_I de tal manera que, cuando se produzca una variación en los resultados consecutivos de un mismo individuo, se podrá asegurar que no es consecuencia de la variación analítica de los sistemas de medida, sino de la propia variación fisiológica en el individuo.

En el caso del cálculo de las EPA para el sesgo o error sistemático, se tienen en cuenta tanto el CV_I como el CV_G .

A continuación, se describen las ecuaciones para el cálculo de las especificaciones para la imprecisión analítica (CV_A) y el error sistemático (ES) (8):

- $EPA (CV_A) = K \cdot (CV_I)$
- $EPA (ES) = K \cdot (CV_I^2 + CV_G^2)^{0,5}$

El valor de K define tres categorías de más a menos estrictas como óptima (0,25), deseable (0,5) o mínima (0,75). El laboratorio deberá definir en función de su criterio que categoría es la más adecuada para el rendimiento de sus sistemas de medida y el impacto que este tiene sobre los pacientes.

En el cálculo de las EPA para el error total (ET) tradicionalmente se ha utilizado una fórmula que combina el CV_E y el ES_E .

$$- \text{EPA (ET)} = K \cdot (CV_I^2 + CV_G^2)^{1/2} + 1.65 \cdot (0,5CV_I)$$

Esta ecuación, aun siendo práctica para el uso diario, no es del todo correcta ya que solo se cumple cuando uno de los dos componentes, CV_A o ES , es igual a 0. En la actualidad se aboga por el cálculo y seguimiento de forma independiente de ambos indicadores (CV_A y el ES), es decir, no se propone ninguna ecuación que combine la CV_A y el ES , y el planteamiento es realizar el cálculo de la incertidumbre de medida, incluyendo la corrección de un posible ES si el laboratorio lo detecta. Algunos autores sin embargo, consideran esta alternativa un hándicap para el aseguramiento de la calidad diario en un laboratorio clínico ya que el error analítico de los resultados que se reportan a diario lleva implícito ambos tipos de error. (9)

2.2.1.2. Aplicaciones de las Especificaciones de las Prestaciones Analíticas en el laboratorio clínico.

Existen distintas posibles aplicaciones de las especificaciones de calidad en el laboratorio. A continuación, se enumeran las más importantes:

- Desarrollo y validación de métodos por parte de la industria de diagnóstico *in vitro*.
- Evaluación de métodos analíticos e instrumentos para la verificación por parte del laboratorio de que la metodología cumple con los requerimientos para su aplicación en la práctica clínica y así, poner de manifiesto aquellos procedimientos que, por sus prestaciones analíticas, no son adecuados para el diagnóstico clínico y se requiere su mejora.
- Establecimiento de procedimientos para el aseguramiento interno de la calidad en el laboratorio.

2. Introducción

- Definición de la prestación apropiada para las diferentes metodologías en los programas de garantía externa de la calidad, así como para los organismos reguladores y las sociedades científicas.
- Establecimiento de reglas de autovalidación en el laboratorio (*delta-check*).
- Definición de las prestaciones adecuadas en el proceso global del laboratorio, tanto analítico (control interno) como pre-analítico. Por ejemplo; máxima deriva debido a inestabilidad, interferencia o deterioro de las muestras.

2.2.2. Valor de Referencia del Cambio

Habitualmente en el laboratorio la interpretación de los resultados se hace en base a intervalos de referencia biológicos (IRB) también conocidos como intervalos de referencia poblacionales, definidos para una población de referencia constituida por individuos sanos. La aplicación de los IRB tiene ciertas limitaciones, ya que los resultados seriados de un mismo individuo no tienen por qué abarcar el intervalo descrito para la población de referencia, especialmente en magnitudes con una regulación homeostática muy estrecha.

Para evaluar la utilidad de los IRB podemos utilizar el II definido en el apartado 2.1.1. Cuando este es inferior a 0,6, la magnitud presenta una baja individualidad por lo que los IRB serán de poca utilidad y se recomienda la comparación con resultados previos del paciente en caso de estar disponibles.

Más de la mitad de las magnitudes estudiadas para VB tienen un II inferior o próximo a 0,6. Esto pone de manifiesto la necesidad de desarrollar métodos que permitan evaluar el significado de los cambios entre resultados seriados de un mismo individuo (10).

Para la monitorización de los resultados consecutivos de laboratorio en el seguimiento de los pacientes, algunas guías dan indicaciones basadas en ensayos clínicos (11), sin embargo estas variaciones no siempre están descritas y no hay recomendaciones concretas o carecen de la suficiente calidad.

Una herramienta disponible en la actualidad para este propósito es el Valor de Referencia del Cambio (VRC) o *Reference Change Value* en la literatura anglosajona, que define un rango a partir del cual la diferencia entre dos resultados consecutivos para una determinada magnitud podría considerarse como un cambio biológicamente significativo (12).

El VRC tiene un gran potencial para la interpretación de resultados seriados de un individuo, ya que tiene en cuenta el error analítico debido a la imprecisión del sistema de medida y la propia variación intraindividual, es decir, un resultado fuera del VRC indicaría al clínico que la diferencia entre los resultados se debe con una alta probabilidad (95 o 99%) a un cambio en la situación del paciente.

2.2.2.1. Cálculo del Valor de Referencia del Cambio

Cuando el VRC se calcula asumiendo una distribución gaussiana o normal de los datos, está definido por la siguiente fórmula:

$$VCR = 2^{1/2} \cdot Z \cdot (*CV_A^2 + CV_I^2)^{1/2}$$

* CV_A: Cada laboratorio deberá introducir la imprecisión de sus sistemas de medida obtenida a partir de la monitorización del control de calidad interno al nivel de concentración para el que se está realizando el cálculo del VRC.

En la práctica, la VB de muchas magnitudes no se distribuye de manera normal y deberemos hacer el cálculo del VRC utilizando para ello el logaritmo neperiano de los estimados para, de esta manera, obtener unos rangos con extremos asimétricos (13). En la actualidad se recomienda realizar el cálculo del VRC

2. Introducción

mediante el método logarítmico independientemente del tipo de distribución de los datos.

Un error muy común por parte de algunos laboratorios es asumir los VRC informados en determinados estudios como propios asumiendo que el CV_A es un valor invariable. Como hemos comentado anteriormente es necesario incluir el CV_A propio de cada laboratorio y recalculer el VRC, ya que para algunas magnitudes existe una gran variabilidad de la imprecisión analítica inter-laboratorios, especialmente cuando la metodología es diferente. Por tanto, cada laboratorio debe calcular sus propios VRC y no asumir los publicados por otros autores.

2.2.2.2. Aplicaciones del Valor de Referencia del Cambio

La aplicación principal del VRC es la interpretación de resultados seriados en un mismo individuo. Esta circunstancia puede aplicar en el seguimiento de pacientes con patologías crónicas o agudas, como por ejemplo, la interpretación de resultados seriados de troponina cardiaca para el diagnóstico de isquemia miocárdica, monitorización de la respuesta metabólica en pacientes diabéticos, seguimiento de neoplasias o de enfermos con patología renal crónica. Para ello algunos laboratorios en la actualidad ya incluyen en sus informes el VRC para que el clínico pueda interpretar los resultados seriados de un paciente.

Otra aplicación del VRC es su uso como *Delta - Check* (DC). El DC es una herramienta que permite a los laboratorios filtrar los resultados que quieren examinar con mayor detenimiento, cuando la diferencia entre resultados consecutivos supera unos criterios previamente fijados. En este contexto el VRC puede ayudar al laboratorio a fijar unos criterios que detecten cambios en el paciente que exceden los explicables por el error analítico y la VB.

Limitaciones del Valor de Referencia del Cambio

Dos de los mayores hándicaps del VRC son el desconocimiento de su aplicabilidad por la mayoría de los clínicos y que muchos de los sistemas informáticos de laboratorio no están adaptados para su implantación.

Por otra parte, el tiempo de muestreo utilizado en los diferentes estudios para la estimación de la VB no siempre se corresponde con el de la práctica diaria en el seguimiento de los pacientes o los recomendados por las guías de práctica clínica correspondientes. Además el CV_A , incluido en la fórmula para el cálculo del VCR, varía en función del laboratorio en el que se realice la determinación, por lo que no es un concepto fácilmente estandarizable y depende directamente del rendimiento analítico.

Por último, podrían existir diferencias entre la VB de individuos sanos y pacientes en ciertas patologías. Por ello, son necesarios estudios de VB específicos para cada patología concreta y así poder aplicar el VRC en estos pacientes.

2.3. Antecedentes históricos de la Variación Biológica

2.3.1. Conferencia internacional del consenso de Estocolmo

La relevancia de la VB es reconocida a nivel internacional en el campo de la medicina de laboratorio, ya que ayuda al aseguramiento de la calidad y contribuye a obtener resultados que sean representativos del estado del paciente para poder realizar un diagnóstico, seguimiento o tratamiento adecuado.

Tras la conferencia internacional que culminó en el consenso de Estocolmo en el año 1999, promovida por la *International Union of Pure and Applied Chemistry* (IUPAC), la *International Federation of Clinical Chemistry* (IFCC) y la Organización Mundial de la Salud (OMS), se estableció un modelo jerárquico

2. Introducción

para el establecimiento de las especificaciones de las prestaciones analíticas (EPA), entre los cuales se encontraba la VB, reconociendo así su importancia para el establecimiento de estas EPA en el laboratorio clínico (14).

La jerarquía establecida estaba compuesta por cinco niveles:

- En el primero de ellos se agruparían las EPA derivadas de estudios que evalúan el efecto de la prestación analítica en situaciones clínicas concretas.
- El segundo nivel es similar al primero, pero se basa en decisiones clínicas generales, y es aquí donde se incluyen los estudios de VB.
- La tercera y cuarta categorías se refieren a las EPA recomendadas por sociedades científicas y grupos de expertos (categoría 3) y organismos reguladores y programas externos de la calidad (EQA) (categoría 4).
- El quinto y último nivel, incluye las EPA derivadas del estado del arte.

En ese mismo año 1999, la Comisión de Calidad Analítica (CCA) de la Sociedad Española de Medicina de Laboratorio (SEQC^{ML}) inició la elaboración de una base de datos en la que se incluyeron estimados de VB derivados de estudios experimentales y publicados en fuentes indexadas y sus correspondientes EPA para más de 300 magnitudes (15).

La base de datos fue publicada, en ese mismo año por la SECQ^{ML} (16) y en la página web de Westgard (17), teniendo una importante difusión internacional ya que representaba la primera base de datos que compilaba estudios de VB.

Esta base de datos se fue actualizando cada dos años siguiendo unos determinados criterios (18), hasta su última actualización en 2014. Dado el extenso uso de la VB debido a su múltiple aplicabilidad, existe gran interés en la comunidad científica, no solo sobre el concepto de VB en sí mismo, sino también

sobre la transferibilidad de sus datos, al ser considerados estos como datos de referencia. Diferentes investigadores han profundizado en este tema tanto a nivel nacional como internacional y como se verá más adelante, a principio de esta década, surgieron algunos estudios que presentaban algunas debilidades de los datos de VB presentes en la actual base de datos y esto reforzó aún más el interés sobre el tema.

2.3.2. Conferencia internacional de Milán

En 2014, la EFLM organizó en Milán la 1ª conferencia estratégica sobre especificaciones de la calidad para el proceso global del laboratorio, es decir en todas sus fases anteriormente citadas. En esta conferencia se revisó el modelo jerárquico de Estocolmo y se simplificó en una estrategia basada en tres modelos, con una estructura no necesariamente jerárquica. A cada mensurando se le aplicaría un modelo u otro en función de la necesidad, es decir, el laboratorio tiene la libertad de elegir el modelo que más se adecue al uso que se le vaya a dar a una magnitud en un contexto clínico concreto (19).

La implantación de estos tres modelos supuso un gran cambio en la forma de establecer las especificaciones por parte de los laboratorios en su proceso global del laboratorio

Modelo 1

Basado en el efecto de las prestaciones analíticas sobre los resultados clínicos.

- 1a. Estudios directos del impacto – evaluando las repercusiones de las prestaciones analíticas del test sobre los resultados clínicos
- 1b. Estudios indirectos del impacto - evaluando la repercusión de las prestaciones analíticas del test sobre las decisiones o clasificaciones clínicas y, por tanto, sobre las probables consecuencias para el paciente. Esto puede realizarse, por ejemplo, a través de estudios de simulación o de análisis de decisión

2. Introducción

La principal desventaja de este modelo, que a priori es el ideal, es que sólo es útil en aquellas situaciones donde se haya podido establecer una relación directa y fuerte entre la prueba de laboratorio, la toma de decisiones y los resultados en una situación clínica concreta.

Por otra parte, las especificaciones analíticas derivadas de estos estudios, ya sean directos o indirectos, a menudo estarán influenciadas por la calidad de la medida en el momento del estudio y, además, los resultados pueden variar según la metodología analítica utilizada, la población investigada y las características de la atención sanitaria (20).

Modelo 2

Está basado en los componentes de la VB de las magnitudes. Intenta minimizar la relación entre el "ruido analítico" y la señal biológica. Su gran ventaja es que se puede aplicar a la mayoría de las magnitudes para las cuales es posible estimar datos de VB específicos para individuos o la población, es decir, este modelo es de alguna manera, más practicable por parte de los laboratorios que tienen diferentes tipos de población con distintas características. Además, los estimados de CV_I pueden ser utilizados para la monitorización de resultados seriados.

Existen algunas limitaciones a este modelo, incluyendo la necesidad de evaluar cuidadosamente la relevancia y la validez de los datos de VB, como por ejemplo, que éstos hayan sido obtenidos a partir de sujetos en situación estable, que los intervalos de tiempo de muestreo fuesen apropiados, o que se hayan valorado los posibles efectos de enfermedades coincidentes o las diferentes concentraciones de la magnitud.

Modelo 3

Basado en el estado del arte. Este modelo se relaciona con el nivel más alto de prestación analítica que es posible alcanzar con la tecnología actual. Podría definirse como el nivel de prestación analítica alcanzada por un determinado porcentaje de laboratorios. Si los mejores laboratorios sólo pueden obtener un

cierto nivel de calidad analítica, y se necesita alcanzar un mayor grado (según modelos 1 o 2), entonces serán necesarias mejoras en la tecnología. Si, por el contrario, la mayoría de los laboratorios son capaces de conseguir un cierto nivel de calidad, aquellos que no lo alcancen, podrían necesitar un cambio de su metodología de trabajo.

La ventaja de este modelo es que los datos de prestaciones analíticas basadas en el estado del arte son realmente alcanzables. La desventaja es que no hay relación entre lo que es técnicamente alcanzable y lo necesario para minimizar la relación entre el "ruido analítico" y la señal biológica; tampoco se relaciona con lo que se necesita para obtener una mejora en los resultados clínicos.

Con el ánimo de desarrollar en mayor profundidad la aplicabilidad de estos tres modelos, a partir de esta conferencia, nacieron 5 grupos de trabajo o *Task Force Groups* con diferentes finalidades y en un principio por un periodo de duración de dos años (21).

2.3.3. Grupos de trabajo internacionales de Variación Biológica

Desde la EFLM, en el seno de su comité científico y con diferentes objetivos, surgió la iniciativa de crear un grupo de trabajo específico sobre VB. Este grupo se denominó *EFLM Working Group on Biological Variation (WG-BV)*.

Working Group on Biological Variation (EFLM)

Entre los objetivos de este grupo, está asegurar la robustez y validez de los datos existentes de VB debido a que su aplicación tiene una gran importancia en el mundo de la medicina de laboratorio.

Tras demostrar algunas limitaciones metodológicas de muchos estudios de BV incluidos en la base de datos de Ricós y colaboradores (metodología anticuada, inapropiado tiempo de muestreo, reducido número de muestras, incorrecto tratamiento estadístico de los datos, etc.), el WG-BV inició un proyecto

2. Introducción

internacional y multicéntrico en 2014 llamado *European Biological Variation Study* (EuBIVAS). El objetivo de este estudio era obtener datos de VB, basándose en un diseño experimental que aseguraba la obtención de estimados robustos y representativos de la población europea (22).

El EuBIVAS realizó de manera simultánea la recogida de muestras de individuos sanos en siete centros europeos de Italia, Noruega, Turquía, Holanda y España. Tuve la oportunidad de participar en el diseño y la ejecución del protocolo para la recogida de muestras de este estudio debido a que el Hospital Universitario de la Paz fue el centro del estudio que representó a España. Para la recogida de muestras se establecieron indicaciones y se estandarizaron todos los procesos de la fase pre-analítica (criterios de inclusión, preparación de los participantes, proceso y material de extracción y tratamiento de las muestras en las mismas condiciones). Las muestras fueron alicuotadas y congeladas a -80°C en cada centro, para posteriormente ser enviadas a uno de los laboratorios participantes, que sería el encargado de realizar el análisis en las condiciones óptimas (las muestras se analizaron por duplicado en una misma serie analítica, utilizando metodología trazable a método de referencia) y posterior tratamiento de los datos (tratamiento estadístico según las recomendaciones), para así obtener estimados de VB veraces y robustos.

De este estudio, ya se ha realizado diversas publicaciones con los resultados de los estimados para la BV de enzimas (23), creatinina (24), electrolitos, lípidos y otros sustratos (25), así como algunos marcadores tumorales (26,27) y proteínas específicas (28). Para algunas de las magnitudes publicadas los estimados obtenidos en este estudio fueron menores que los publicados hasta el momento en la bibliografía, haciendo que las EPA derivadas fueran más estrictas y suponiendo un cambio importante en la adecuación del rendimiento analítico de la metodología de los laboratorios. En la actualidad el grupo se encuentra elaborando otros trabajos que incluyen los estimados de BV de un gran número de magnitudes.

Task Force Group on Biological Variation Database (EFLM)

Por otra parte, entre los 5 grupos que surgieron en el congreso de Milán, dos de ellos se convirtieron en grupos de ayuda indefinidos, dada la importancia del trabajo que estaban desarrollando. Uno de ellos dirigido al establecimiento y desarrollo de estudios que generen datos destinados al primer modelo, es decir al impacto clínico en situaciones clínicas concretas y el otro grupo, en el que participo como miembro activo desde el año 2014, es el *Task Group on Biological Variation Database* (TG-BVDB), que es el encargado, no solo del desarrollo de una nueva base de datos internacional de VB, sino de su mantenimiento y actualización.

Este TG-BVDB surge para abordar las limitaciones evidenciadas de la base de datos creada por la Comisión de Calidad Analítica de la SEQC^{ML} como la falta de ponderación de los diferentes estudios en función de su calidad metodológica para la obtención de un valor medio (ausencia de metaanálisis), así como una herramienta de lectura crítica adecuada para poder valorar las características metodológicas de estos estudios.

El TG-BVDB ha desarrollado y aplicado un sistema de revisión crítica llamado *The Biological Variation Data Critical Appraisal Checklist* (BIVAC) (29) que asegura que la calidad de las publicaciones seleccionadas para el metaanálisis cumple con unos criterios mínimos que aseguran la robustez de los estimados de VB derivados de esta revisión. Esta revisión, evalúa un total de 14 puntos clave:

1. Escala del mesurando
2. Población incluida en el estudio
3. Muestras incluidas en el estudio
4. Definición del mesurando y el método analítico empleado
5. Procedimientos pre-analíticos
6. Estimación de la CV_A
7. Estado estacionario de los sujetos incluidos

2. Introducción

8. Métodos para la detección de valores aberrantes o *outliers*
9. Métodos para la verificación de la distribución de los datos (normalidad)
10. Métodos para la verificación de la homogeneidad de varianzas (Homocedasticidad)
11. Método estadístico empleado para la estimación del CV_A , CV_I y CV_G
12. Cálculo de los intervalos de confianza
13. Especificación de los resultados incluidos en el estudio
14. Especificación de los valores de concentración obtenidos

A cada ítem se le asignó una calificación A, B, C o D de mayor a menor calidad metodológica respectivamente. La valoración final del estudio se correspondía con la valoración más baja obtenida en cualquiera de los puntos. Los estudios clasificados como D no serían incluidos en la base de datos.

Por otra parte, el TG-BVDB realizó una revisión bibliográfica para asegurar la inclusión de todos los estudios publicados hasta el momento de VB además de los ya incluidos en la anterior base de datos, a través de una estrategia estandarizada para la búsqueda bibliográfica.

En la actualidad, existen ya algunas publicaciones por parte de este grupo para algunas magnitudes relacionadas con la diabetes y el riesgo cardiovascular que son el resultado de la revisión bibliográfica y el metaanálisis de todos los estimados extraídos de la bibliografía (30, 31). En estas publicaciones se presentan resultados que han sido estimados a partir de estudios previamente ponderados mediante el uso de BIVAC y posteriormente seleccionados en función de la calidad, la edad, el estado de salud y la periodicidad en el muestreo, asegurando unos estimados robustos y representativos de la población europea.

Los nuevos estimados de VB obtenidos por este grupo a partir de esta revisión, son publicados en una página web de la EFLM (32) desarrollada por el propio grupo. Esta web, activa desde el 23 de mayo de 2019, alberga los estimados de VB derivados del metaanálisis, así como las especificaciones de las prestaciones analíticas derivadas de estos.

Esta página web también albergará los estimados pertenecientes al resto de estudios no incluidos en el metaanálisis, comprendiendo diferentes grupos de edad, patologías y tiempos de muestreo para diferentes magnitudes que serán de gran utilidad para los laboratorios que trabajen con poblaciones específicas (embarazadas, ancianos, enfermos renales, diabéticos, oncológicos, etc). Además, es la fuente oficial de consulta para estimados y especificaciones de calidad basadas en BV y esta accesible desde la web de la EFLM.

2.3.4. Evolución de la metodología para el diseño de un estudio de Variación Biológica

Como se ha comentado en el apartado anterior, los estudios de VB pueden tener limitaciones en el diseño del estudio que hacen que sus resultados no sean lo suficientemente robustos.

El TG-BVDB (29), en una revisión que abarcaba 847 estudios y subestudios publicados hasta el momento en 28 magnitudes diferentes, analizó los puntos clave del diseño en los que con más frecuencia se encontraron debilidades metodológicas, entre los que se encontraban: el cálculo del CV_A , la falta de verificación de que los sujetos se encontraban en una situación estable, realización de test estadísticos para identificar los valores aberrantes, comprobación de la distribución de los datos y la homogeneidad de las varianzas, así como la utilización de métodos estadísticos inapropiados para el cálculo de los estimados.

Estimación del CV_A

Como se ha comentado en el apartado 2.1.2.1, una vez estandarizada la fase pre-analítica y asumido el descarte de la V_{PRE} , la fórmula que define la variación total se simplifica y despeja para obtener la BV_I , expresada como coeficiente de variación:

$$V_T = CV_A + CV_I \rightarrow CV_I = V_T - CV_A$$

2. Introducción

Es necesario estimar el CV_A de la manera más precisa posible ya que a partir de este valor, vamos a calcular el CV_I y los errores en la estimación van a tener una consecuencia directa sobre el cálculo de este estimado de VB.

Para la estimación del CV_A se han desarrollado diferentes modelos. Uno de los modelos realiza solo una determinación de cada muestra y para estimar el CV_A se basa en los resultados del control de calidad interno, sin embargo, con este modelo utilizamos una matriz y una concentración que puede ser diferente a la de las muestras que se están analizando.

Para evitar este problema, el CV_A debe ser estimado preferiblemente a partir del análisis por duplicado de las propias muestras de los sujetos o pacientes que participan en el estudio y no a partir de los resultados del control de calidad interno. De esta manera, podremos obtener una estimación de la imprecisión representativa de la matriz y de las concentraciones con las que estamos trabajando (33).

Estado estacionario de los participantes

Otro de los puntos clave cuando se realiza un estudio de VB, es asegurar que los individuos se encuentran en un estado estacionario, es decir, que las variaciones observadas son aleatorias en torno a su punto homeostático y no consecuencia de algún proceso fisiológico o patológico, independiente del concepto de VB, que haga que aumenten o disminuyan de manera sistemática.

Para asegurar que los sujetos del estudio se encuentran en un estado estable se recomienda realizar una regresión lineal, de las concentraciones de cada sujeto participante en el estudio a lo largo del tiempo, en busca de tendencias.

A partir de la ecuación de la recta de esta regresión y los intervalos de confianza de los componentes (ordenada en el origen y pendiente), podremos verificar si hubiera alguna tendencia y si la magnitud de la misma es significativa hasta el

punto de afectar a la estimación de la VB. Cuando el intervalo de confianza de la pendiente incluya el cero, podremos descartar que la tendencia sea significativa.

Test para identificar outliers:

En los estudios de VB es muy importante descartar los valores aberrantes o *outliers*, debido a que la presencia de los mismos puede sobreestimar los estimados, al ser estos valores de dispersión. Existen tres niveles en los que se pueden producir *outliers*:

A nivel de los replicados de las muestras, los *outliers* pueden afectar a la estimación del CV_A sobreestimando su valor, lo que posteriormente se traduciría en una infraestimación del CV_I . Por ejemplo, un error aleatorio o de pipeteo en el analizador cuando se está procesando una muestra.

A nivel de las muestras de un mismo sujeto, la presencia de valores aberrantes puede afectar directamente a la estimación del CV_I sobreestimándola. Por ejemplo, un valor aberrante en una de las muestras de un sujeto en particular debido a una condición patológica (infección viral) en una de las visitas de este sujeto.

A nivel de las concentraciones medias de los diferentes sujetos, la presencia de *outliers* puede sobreestimar el CV_G . Si entre la población seleccionada existe un sujeto con concentraciones anormales de la magnitud a analizar debe ser descartado.

Hay diferentes test para identificar valores aberrantes entre los duplicados de las muestras, las muestras de un mismo sujeto y entre diferentes sujetos, tanto para distribuciones paramétricas como no paramétricas. (Tukey, Reed, Dixon Q, Grubbs, Chrocrane) (34).

2. Introducción

Test de normalidad y homogeneidad de las varianzas

Para aplicar ciertos modelos estadísticos como el ANOVA o los modelos mixtos, es necesario verificar la normalidad de la distribución de los datos, realizando diferentes transformaciones para adaptar los datos a las distribuciones requeridas para estos modelos en caso de que sea necesario.

Además, estos modelos asumen la condición de homocedasticidad, es decir, que las distribuciones o varianzas de los diferentes sujetos son homogéneas. Para verificar la homocedasticidad existen diferentes test estadísticos (Chrocrane C, Bartlett, Levene y Brown-Forsythe).

Métodos estadísticos adecuados para el cálculo de los estimados

La recomendación de los expertos para la estimación de la VB siempre ha sido la realización de un análisis de la varianza (ANOVA) anidado.

Las últimas recomendaciones, basadas en simulaciones matemáticas, sin embargo, recomiendan la realización de un ANOVA con los coeficientes de variación de cada sujeto para estimar el CV_I global sin necesidad de transformación de los datos a una distribución normal (CV-ANOVA). Por otra parte, para la estimación del CV_G recomiendan la realización de un ANOVA con los datos transformados mediante logaritmo (Ln-ANOVA).

También se recomienda el uso de los modelos de efectos mixtos, estos modelos pueden ser útiles en situaciones en las que se sospeche que la VB de determinadas magnitudes puede estar influida por diferentes variables. En este modelo estarían presentes por un lado los efectos aleatorios que serían la CV_A , el CV_G y el CV_I y por otro los efectos fijos, que serían las variables que podrían influir potencialmente sobre la VB, como por ejemplo, la edad y el género.

2.4. Ejercicio físico

Se define como actividad física a todo movimiento que hace trabajar los músculos y que requiere mayor energía que el estado de reposo. Por otra parte, el ejercicio físico es un tipo de actividad física que se realiza de manera reglada y estructurada a diferentes intensidades.

Esta energía empleada para producir el movimiento durante la práctica de ejercicio puede provenir en mayor o menor grado, de diferentes rutas metabólicas (aeróbica o anaeróbica) que utilizan diferentes fuentes energéticas en función de la duración e intensidad del ejercicio.

En las zonas limítrofes entre los dos tipos de metabolismo, encontramos diferentes umbrales, que van a definir qué ruta metabólica mayoritaria se está llevando a cabo para la obtención de la energía empleada en la contracción muscular y el mantenimiento de la homeostasis.

Además, es importante durante la práctica deportiva, especialmente en deportes de larga distancia, definir la intensidad del ejercicio que se está llevando a cabo, tanto para establecer rutinas de entrenamiento regladas, como para poder aumentar el rendimiento durante una competición, estimando a que intensidad máxima se podrá sostener un esfuerzo durante un tiempo y distancia definidos.

2.4.1. Tipos de ejercicio físico

En función de la intensidad, el metabolismo utilizado y la musculatura empleada en el desarrollo de una actividad física, podemos decir que existen diferentes tipos de ejercicio (35, 36):

2. Introducción

2.4.1.1. Ejercicio aeróbico

En este tipo de ejercicio, se produce un mayor consumo de oxígeno y trabajan en mayor proporción fibras de tipo I o lentas. Estas fibras tienen un mayor contenido en mitocondrias y mioglobina, requieren mayor aporte de oxígeno que las fibras tipo IIb y son capaces de contraerse con menor fuerza (media-baja intensidad) pero durante mayores periodos de tiempo.

En general, los deportes en los cuales se realiza mayor ejercicio aeróbico son los de resistencia: Carreras de fondo, triatlón, ciclismo, etc.

2.4.1.2. Ejercicio anaeróbico

El suministro de oxígeno está limitado en este tipo de ejercicio, por esta razón, se produce ácido láctico como consecuencia de la glucólisis anaeróbica. Hay una mayor trabajo en proporción de fibras de tipo II o rápidas. Estas fibras tienen una mayor cantidad de recursos energéticos inmediatos (en forma de fosfato de creatina) ya que van a realizar contracciones de mayor fuerza en un menor espacio de tiempo sin requerir apenas oxígeno.

Los deportes en los que se realiza ejercicio anaeróbico son aquellos que requieren alta intensidad en un breve espacio de tiempo: Halterofilia, 100 metros lisos, 100 metros libres en natación, etc.

2.4.1.3. Ejercicio combinado

Hay deportes que requieren a su vez aplicar de manera intermitente o combinada altas intensidades durante un largo periodo de tiempo. Por ejemplo, fútbol, baloncesto, rugby, etc.

Es importante para la planificación de la práctica deportiva y la mejora del rendimiento conocer los umbrales aeróbico-anaeróbico. Estos umbrales son los límites que definen el tipo de metabolismo que se está llevando a cabo en nuestro cuerpo y ayudan a objetivar y planificar el tipo de ejercicio que se va a

realizar en función de las necesidades de mejora. Por ejemplo, en determinados deportes se trabajan en zonas que sobrepasan el umbral anaeróbico para mejorar la tolerancia al lactato.

2.4.2. Rendimiento metabólico-respiratorio durante el ejercicio

2.4.2.1. Umbral aeróbico

Es la intensidad de esfuerzo a partir de la cual el metabolismo aeróbico se hace insuficiente para mantener los requerimientos energéticos del músculo. En este punto el organismo tiene que recurrir a rutas alternativas de producción energética (metabolismo anaeróbico) que van a llevar a la producción de lactato, aunque el organismo tiene la capacidad de tamponar este ácido, evitando así la acidosis metabólica (37).

Por debajo del umbral aeróbico, en individuos entrenados el ejercicio que se realiza no servirá para mejorar la condición física del individuo. A partir de este umbral y hasta que se alcance el umbral anaeróbico, el organismo será capaz de mantener esfuerzos leve-moderados de manera prolongada y, a partir del umbral anaeróbico, se producirá un desequilibrio en el organismo que desplazará el metabolismo hacia una producción energética con acumulación láctica.

2.4.2.2. Umbral anaeróbico

Es la intensidad de esfuerzo a partir de la cual el oxígeno que llega a la musculatura activa no es suficiente para producir la energía requerida. En este punto la producción energética se desplaza totalmente hacia la glucólisis anaeróbica, produciendo grandes cantidades de ácido láctico que no pueden ser amortiguadas, con la consiguiente aparición de acidosis láctica.

Existen diferentes métodos para la medición de manera objetiva de ambos umbrales (aeróbico y anaeróbico) de un individuo. Uno de ellos es la espirometría

2. Introducción

durante una prueba de esfuerzo, que permite estimar los umbrales ventilatorios a partir de la medición mediante un analizador de gases del CO₂ y el O₂ intercambiados. Este tipo de método es no invasivo (38).

Existen otros métodos invasivos para valorar estos umbrales que son aquellos basados en la medición de lactato en sangre capilar durante una prueba de esfuerzo, definiéndose en este caso los umbrales lácticos (39).

2.4.2.3. Estimación de los umbrales ventilatorios

A partir del ratio entre el volumen de oxígeno consumido (VO₂) y el dióxido de carbono producido (VCO₂) se puede concluir que tipo de metabolismo se está llevando a cabo en nuestro cuerpo, observando un mayor consumo de O₂ en los ejercicios aeróbicos.

Los diferentes cambios en el metabolismo van a producir variaciones en esta *ratio* que nos van a facilitar definir dos umbrales ventilatorios. En cada uno de ellos se van a utilizar diferentes recursos energéticos y generar diferentes metabolitos.

Primer umbral ventilatorio (VT1)

A partir de este umbral aumentan la ventilación pulmonar y el VCO₂ para eliminar el dióxido de carbono producto de la amortiguación que utiliza el bicarbonato como mediador para compensar la acidosis. En este momento el cuerpo es capaz de amortiguar en la sangre la concentración de ácido láctico producido. Existe un equilibrio entre la producción de lactato y la capacidad del organismo de metabolizar y tamponar. Esta intensidad es ideal para ejercicios de mucho volumen (larga distancia y tiempo) y baja intensidad.

Segundo umbral ventilatorio (VT2)

A partir de este punto, el bicarbonato no es capaz de amortiguar el lactato producido, generando una acidosis metabólica con el desequilibrio homeostático que eso conlleva. El centro respiratorio es estimulado produciendo una hiperventilación, que a su vez causa una disminución de la presión parcial de CO₂.

Este umbral fija el límite para las actividades de alta intensidad. A partir de las gráficas generadas durante una prueba de esfuerzo en función de los datos de la espirometría se pueden extrapolar ambos umbrales.

Además, con esta prueba también podemos calcular el consumo máximo de oxígeno (VO₂max), que es la máxima cantidad de oxígeno que el organismo es capaz de asimilar, es decir, absorber, transportar y consumir por unidad de tiempo. Esta es la variable que mejor predice el rendimiento cardiorrespiratorio y aeróbico de un atleta. Suele expresarse como volumen de O₂ por unidad de tiempo y en relación a la masa corporal (mL·Kg⁻¹·min⁻¹).

2.4.3. Intensidad del ejercicio físico

2.4.3.1. Zonas de Frecuencia Cardiaca

Como se ha indicado anteriormente existen diferentes tipos de ejercicios en función de la intensidad (suave-moderado-intenso) y el metabolismo utilizado (aeróbico-anaeróbico-combinado). Ambas variables se relacionan de manera directa con la frecuencia cardiaca (FC).

Se pueden diferenciar 5 zonas (T1-T5) en función de la intensidad (tabla 1). Cada una de estas zonas se corresponde con un rango que definen unos porcentajes de la máxima FC o VO₂max registrada por el atleta (37).

2. Introducción

Zona o Ritmo	Abrev.	Objetivo	Intensidad		
			%VO ₂ max	%FCmax	Lactato (mmol/L)
Recuperación activa o regenerativo	T1	<ul style="list-style-type: none"> Preparar al deportista para la actividad principal de la sesión Recuperar al organismo entre estímulos (p.e., eliminar sustancias de desecho metabólico, descenso de la temperatura central, relleno de los depósitos energéticos, etc.) 	<65	<65	-
Umbral aeróbico	T2	<ul style="list-style-type: none"> Aumentar la eficiencia aeróbica Mejorar la capacidad de soportar esfuerzos aeróbicos prolongados mediante la mejora de la oxidación de grasas y el aumento de sus depósitos. 	65-75	70-80	1 - 2
Umbral anaeróbico	T3	<ul style="list-style-type: none"> Aumentar la capacidad de soportar esfuerzos aeróbicos prolongados en condiciones de umbral anaeróbico Mejora de la oxidación del glucógeno y sus depósitos Adaptaciones centrales: ↑Afinidad por la hemoglobina, ↑Difusión pulmonar, ↑Volumen sistólico, ↑Gasto cardiaco, ↑Volemia 	75-85	80-90	2 - 4
Consumo máximo de oxígeno	T4	<ul style="list-style-type: none"> Aumentar la capacidad de soportar esfuerzos en condiciones próximas e iguales al VO₂ max 	90-95	95-98	4 - 6
	T5	<ul style="list-style-type: none"> ↑reservas de glucógeno. Adaptaciones periféricas: ↑densidad capilar 	100	100	6 - 8

Tabla 1. Zonas de intensidad del ejercicio físico. Tabla adaptada de Pallarés y colaboradores (37).

Escala de Borg	Esfuerzo percibido
0 - 4	Dormido, inactivo
5 - 7	Absoluta ausencia de esfuerzo
8 - 9	Muy, muy ligero
10	Muy ligero
11 - 12	Ligero
13 - 14	Moderado
15 - 16	Duro
17 - 19	Muy duro
20	Esfuerzo máximo

Tabla 2. Escala de esfuerzo percibido. Tabla adaptada de Borg G y colaboradores (41).

Estas zonas ayudan a pautar los entrenamientos de los atletas. En función de los intervalos a los que el atleta realice el ejercicio, aumentará la FC en la que se sitúan los diferentes umbrales y mejorará las capacidades del deportista a soportar diferentes tipos de esfuerzo (potencia aeróbica y anaeróbica) (40). Además, existe una gran variabilidad interindividual de la frecuencia cardiaca entre los atletas y estos intervalos ayudan a estandarizar los entrenamientos en grupo.

2.4.3.1. Escala de percepción subjetiva del esfuerzo

Otra manera de estimar la intensidad del ejercicio realizado es la percepción subjetiva de esfuerzo, para la cual existen diferentes escalas. La escala más utilizada es la de Borg (41, 42). Los atletas tienen que puntuar en una escala la percepción del esfuerzo realizado (tabla 2).

2.5. Relación del ejercicio y el laboratorio clínico

Durante la práctica deportiva intensa y reglada se van a producir cambios en la concentración de ciertas magnitudes que están relacionadas con el catabolismo muscular y con los productos del metabolismo aeróbico y anaeróbico.

Existen multitud de estudios que han evidenciado las variaciones que se producen durante el ejercicio e inmediatamente después, sin embargo no existen evidencias de las variaciones a largo plazo en atletas que siguen una rutina de entrenamiento durante largos periodos.

Estas variaciones podrían condicionar que la VB de estas magnitudes en personas adaptadas al ejercicio y que realiza largas sesiones de entrenamiento intenso a diario, fuera más amplia que en el resto de individuos sanos.

2.5.1. Variaciones descritas sobre magnitudes medidas en el laboratorio durante el ejercicio físico

La influencia del ejercicio sobre la VB depende del tipo de ejercicio (43) y del tiempo que haya pasado desde la realización del mismo antes de la obtención de la muestra. Los cambios ocurridos durante la realización y las primeras horas post-ejercicio suele estar relacionados con variaciones en el volumen plasmático, es decir, movimientos de líquido entre compartimento intravascular y el intersticial, así como con variaciones hormonales estimuladas por la actividad física, pérdidas de volumen debido a la sudoración y el daño producido sobre el tejido muscular. El cambio en el volumen plasmático produce una variación significativa en diferentes magnitudes (44, 45).

Además, durante la realización de ejercicio intenso podemos observar, como consecuencia del metabolismo anaeróbico, un aumento de las concentraciones de piruvato y lactato, así como una disminución del pH con aumento de la concentración de calcio ionizado. También se observa disminución de la presión

de CO₂ (debido a un aumento de la frecuencia respiratoria), una disminución de la saturación de oxígeno y de la concentración de bicarbonato.

La reducción del flujo sanguíneo renal produce un aumento de los niveles de urea, creatinina y de urato, el cual compite con el lactato en su eliminación. Asimismo, aumenta la actividad sérica de enzimas musculares como creatina fosfoquinasa (CK), aldolasa, aspartato aminotransferasa (AST) y lactato deshidrogenasa (LDH) (46).

El aumento de la concentración de proteínas plasmáticas junto con un aumento en la permeabilidad en el glomérulo puede tener como resultado la presencia de proteinuria (47).

El ejercicio intenso también produce una elevación de la concentración de renina, aldosterona, cortisol, catecolaminas y prolactina. En relación con los parámetros hematológicos, se observa un aumento del hematocrito y del recuento leucocitario (48, 49).

El trabajo cardíaco durante el ejercicio físico se ve reflejado en que biomarcadores cardíacos como la troponina y el propéptido natriurético cerebral N-terminal (NT-proBNP) también aumentan después de realizar ejercicio físico intenso (50) observándose una cinética ligeramente diferente a la causada por un síndrome coronario agudo, volviendo su concentración a la normalidad pasadas 24 horas (51, 52).

La mayoría de los cambios agudos observados en la concentración durante e inmediatamente después del ejercicio son producidos por el fenómeno de la hemoconcentración. Después de haber aumentado su concentración debido a este hecho, algunas magnitudes vuelven prácticamente a su estado basal pasados 30 minutos en reposo (53). En un estudio realizado en atletas después de un elevado volumen de entrenamiento de resistencia se observó un aumento de la osmolalidad en suero que volvió a la normalidad una hora post-ejercicio (54).

2. Introducción

Existen otros fenómenos que pueden explicar estas variaciones agudas, como puede ser el estrés y la destrucción muscular. Se han observado aumentos de AST a las 24 horas de la realización de ejercicio intenso, así como de CK hasta pasados tres días (46, 55). Estas variaciones guardan relación con la intensidad y duración del ejercicio realizado, así como con la semivida de algunas enzimas, aunque esta afirmación no se ha establecido de forma clara, ya que diferentes estudios se contradicen en sus resultados (56).

Otro ejemplo de estos fenómenos que producen estas variaciones, son los valores elevados de bilirrubina en corredores de larga distancia, debido a la hemólisis que causa el impacto de la pisada contra el suelo, la contracción muscular continuada y otros fenómenos oxidativos (57).

En el caso de las hormonas tiroideas, en un estudio realizado en atletas, no se observaron cambios en ninguna de ellas post-ejercicio, a excepción de la TSH en la que se observó una discreta elevación a las 24 horas (58).

Además de los cambios agudos, también existen fenómenos a corto - medio plazo, como los dilucionales, que responden a una adaptación fisiológica tras el inicio de ejercicio físico, produciéndose un aumento del volumen plasmático (59) (tabla 3).

Estas variaciones pueden producir cambios en las concentraciones de diferentes magnitudes, como por ejemplo la hemoglobina (60). Las variaciones del volumen plasmático llegan a estabilizarse a los 20-30 días después de haber iniciado una práctica deportiva rutinaria (figura 2). En un estudio en el que participaban ciclistas de alto rendimiento se observó una disminución de la concentración de la hemoglobina de hasta el 6% y de la albúmina del 7% debido a la hemodilución (61).

Magnitud	Efecto post-ejercicio
Piruvato	Aumento
Lactato	Aumento
pH	Disminución
Calcio ionizado	Aumento
pCO ₂	Disminución
Osmolalidad	Aumento/Disminución*
Urea	Aumento
Creatinina	Aumento**
Urea	Aumento
Urato	Aumento
CK	Aumento**
Aldolasa	Aumento
AST	Aumento**
ALT	Aumento
LDH	Aumento
Proteínas en Orina	Presencia
Renina	Aumento
Cortisol	Aumento
Aldosterona	Aumento
Catecolaminas	Aumento
Prolactina	Aumento
Troponina I y T	Aumento
NT-proBNP	Aumento
Bilirrubina Total	Aumento
TSH	Aumento
Albúmina	Aumento
Hemoglobina y hematocrito	Aumento/Disminución*

Tabla 3. Magnitudes de laboratorio y el efecto producido en la concentración plasmática post-ejercicio. * Depende del tiempo transcurrido desde el ejercicio realizado y de adaptaciones del volumen plasmático a largo plazo, ** Depende en gran medida del tipo de ejercicio y del % de masa muscular de los atletas

2. Introducción

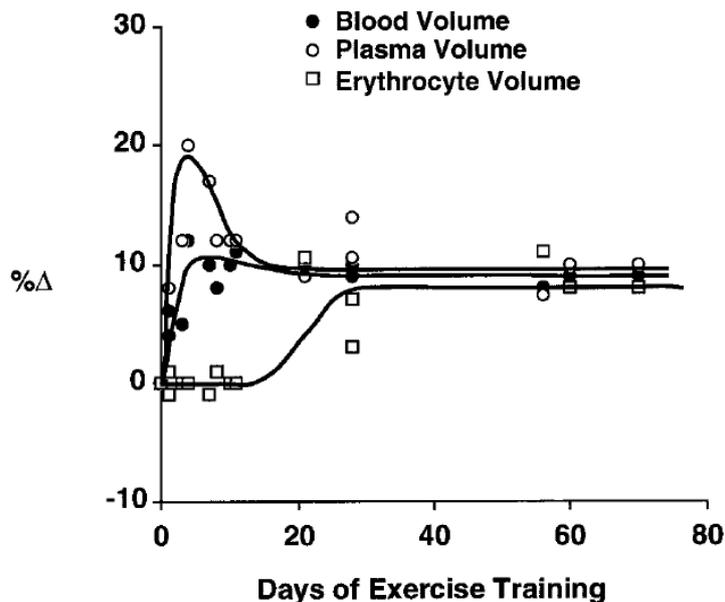


Figura 2. Variaciones (%) del volumen de sangre total, el volumen plasmático y el volumen eritrocitario a lo largo del tiempo (días) después de haber iniciado una rutina de entrenamientos (59).

2.5.2. Variación biológica y ejercicio físico

La VB ha sido ampliamente estudiada en sujetos sanos en numerosas magnitudes y para alguna de ellas se ha estudiado la influencia de diferentes patologías como en la enfermedad renal crónica (62), cáncer de mama (63) y testículo (64) o diabetes mellitus (65) entre otras. Sin embargo, apenas existen estudios que evalúen el ejercicio físico regular en atletas, como una variable que pueda influir sobre la VB.

Algunos de estos estudios han tratado de analizar esta influencia (66, 67), pero cuentan con ciertas limitaciones metodológicas al no ceñirse a las recomendaciones para el diseño que deben emplear este tipo de estudios para el cálculo de estimados robustos de VB como son, un número inadecuado de muestras por sujeto, falta de verificación de la homocedasticidad, estimación de la imprecisión analítica mediante el análisis del control de calidad interno o la ausencia de intervalos de confianza (29, 68).

Otros estudios más recientes, cuentan con un diseño y metodología estadística más cercana a los modelos propuestos como los más apropiados, sin embargo, tienen algunas limitaciones como puede ser el escaso número de muestras por sujeto, la ausencia de procesamiento por duplicado y en la misma serie analítica de las muestras o el método de cálculo de las varianzas, entre otras (69). Además, estos estudios solo se han llevado a cabo para un limitado número de mensurandos.

Una de las magnitudes más estudiadas y que más interés han despertado en atletas durante los últimos años, en lo que a VB se refiere, es la troponina cardiaca (50). Debido al aumento observado durante la práctica de ejercicio intenso, la mayoría de estos estudios se han realizado post-ejercicio hasta pasadas 24-72 horas para evaluar la cinética de esta elevación, sin embargo, no existen estudios que evalúen la VB a largo plazo de la troponina cardiaca con tiempos de muestreo que aseguren la estabilidad de los atletas (fuera de competición o esfuerzos intensos).

2.6. Aplicaciones de la Variación Biológica en deportistas

A efectos prácticos podemos considerar tres ámbitos en los que la VB podría tener una aplicación concreta y definida

2.6.1. Ámbito sanitario

La indicación de realizar actividad física como elemento coadyuvante de los tratamientos convencionales, y como estrategia de prevención primaria y secundaria en múltiples patologías, hace del deporte una herramienta muy utilizada en el entorno sanitario.

Además, el hecho de que en los últimos años el deporte esté en alza, no solo debido a su promoción como hábito saludable, sino también al interés por parte de diferentes sectores de la población en el deporte como actividad de ocio, hace

2. Introducción

que cada vez lleguen más muestras a los laboratorios clínicos de los sistemas de salud, procedentes de deportistas.

Estos deportistas realizan actividad física en mayor o menor grado, llegando a entrenar en ocasiones, tantas horas como pueden llegar a hacerlo los atletas profesionales. Son cada vez más los individuos y pacientes que acuden a realizarse una extracción de sangre para un control rutinario o seguimiento, tanto en la atención primaria como especializada y que a diario practican actividades deportivas a diferentes niveles, intensidades y duraciones. Los resultados obtenidos en estos sujetos, podrían verse influenciados por la actividad física que realizan, causando confusión a la hora de interpretar los resultados.

En este contexto el VRC calculado a partir de estimados de VB en atletas, puede ayudar en la interpretación de los resultados seriados, pudiendo discernir si las variaciones observadas en diferentes magnitudes son explicables por variaciones fisiológicas causadas por el ejercicio físico.

Además, el II podría ayudar a los clínicos a saber qué magnitudes son las que tienen una mayor regulación homeostática y una elevada variación entre individuos que realizan deporte, obviando la interpretación de resultados basándose en los IRB cuando proceda, y evitando así interpretaciones sesgadas, así como la posible realización de pruebas complementarias innecesarias.

2.6.2. Clínicas de medicina deportiva y laboratorios especializados

En la actualidad existen clínicas especializadas en la atención a población deportista que dan un servicio médico y ofrecen servicios de fisioterapia, dietética y nutrición, pruebas de esfuerzo, atención médica especializada como traumatología, rehabilitación, endocrinología, neurofisiología, cardiología y medicina del deporte, así como el análisis de laboratorio para el seguimiento de los atletas.

La VB en atletas puede tener una gran utilidad en laboratorios específicos con población deportista, ayudándoles en la definición de las EPA para su población diana y así poder realizar un aseguramiento de la calidad adecuado de sus laboratorios. Además, las agencias acreditadoras que los auditan podrán hacer uso de estas EPA como herramienta para evaluar la competencia técnica de estos laboratorios.

Otra potencial utilidad para los especialistas en medicina deportiva y otros especialistas implicados, es que podrían utilizar el VRC para la interpretación de muestras seriadas en el seguimiento de los atletas y así poder detectar más precozmente condiciones de fatiga, inmunosupresión, malnutrición y otras patologías asociadas al exceso de entrenamiento.

2.6.3. Dopaje

De acuerdo al Comité Olímpico Internacional (COI), el dopaje es la administración o uso por parte de un atleta de cualquier sustancia exógena o fisiológica consumida en cantidades supra fisiológicas, con la sola intención de aumentar de modo artificial y deshonesto su rendimiento en la competición.

El inicio de la lucha contra el dopaje se remonta al año 1928, cuando la Federación Internacional de Atletas condenó este tipo de prácticas.

No fue hasta los años 60 cuando las primeras pruebas de laboratorio (urianálisis de drogas) fueron introducidas para la detección de sustancias prohibidas por la Unión Ciclista Internacional (UCI) y la Federación internacional de fútbol (FIFA). En esta década también fue creada la primera lista de sustancias prohibidas, sin embargo los esteroides anabolizantes no entraron en esta lista hasta los años 70.

A partir de 1980 se inició la persecución de los métodos ligados a la hematología como las transfusiones y la administración de eritropoyetina y además se iniciaron los análisis fuera de competición. No se realizó ninguna prueba de laboratorio en sangre hasta los años 90, es decir, la detección de sustancias en

2. Introducción

sangre es relativamente nueva y es a finales de esta década cuando se estableció oficialmente la AMA.

El consumo de sustancias dopantes representa la mayor amenaza contra la integridad del deporte y para evitarlo, en 2004 se publicó un código mundial contra el dopaje (70) con el objetivo de preservar los valores del rendimiento deportivo limpio, la protección de la salud y del espíritu deportivo. Se considera ilícito el uso de una sustancia o método cuando incumple dos de estos principios. Además, en este código se recogen directrices que debe seguir una organización contra el dopaje para que los procedimientos de todas las organizaciones internacionales estén armonizados.

Además del problema ético, el dopaje ha supuesto durante la historia del deporte, un problema de salud pública, ya que muchas de las sustancias a menudo no sólo son consumidas por deportistas de elite (en muchos casos asesorados por médicos) sino también por deportistas amateur, pudiendo tener un perjuicio directo o indirecto sobre su salud.

2.6.3.1. Estado del dopaje a nivel internacional, un problema para la salud pública

Actualmente la AMA considera dopaje cualquiera de las siguientes actividades:

- Presencia de una sustancia prohibida, o de sus metabolitos o marcadores, en la muestra biológica de un deportista
- Uso, o tentativa de uso, de una sustancia o método prohibido
- Negarse a pasar un control antidopaje, eludirlo de cualquier manera, sin una justificación válida, o incumplimiento de la localización o paradero del deportista
- Manipulación, o tentativa de manipulación, de cualquier fase del control de dopaje
- Posesión de una sustancia o método prohibido sin la autorización de uso terapéutico correspondiente.

- Tráfico de una sustancia o método prohibido.
- Administración, o intento de administración, de una sustancia o método prohibido a un deportista, así como cualquier tipo de ayuda, complicidad, encubrimiento o incitación a otros deportistas a que se dopen.

Las sustancias dopantes son utilizadas para mejorar las condiciones físicas y psicológicas del individuo como, por ejemplo: incrementar la masa muscular, mejorar la resistencia aeróbica, disminuir el porcentaje de grasa corporal, incrementar la tolerancia al dolor, mejorar la precisión o disminuir el tiempo de reacción entre otras. También se utilizan sustancias con la finalidad de enmascarar el uso de otras (71).

El ejemplo más claro de que estas sustancias pueden afectar a la salud del individuo, son los esteroides anabolizantes, los cuales representan el 44% respecto del total de sustancias dopantes consumidas (72), seguidos por los diuréticos y agentes enmascarantes (15%), los estimulantes (14%), las hormonas y moduladores metabólicos (8%) y los glucocorticoides (5%).

Los esteroides anabolizantes aumentan el riesgo cardiovascular, influyen sobre el metabolismo hidrocarbonado y lipídico, y pueden además producir daño hepático, disfunción eréctil, comportamientos agresivos y otras alteraciones psiquiátricas.

Otro ejemplo son los glucocorticoides, utilizados para incrementar la eritropoyesis, que pueden causar una desregulación del eje hipotalámico-suprarrenal y provocar poliglobulias, al igual que lo hace la eritropoyetina (EPO), de forma que ambas sustancias ponen en riesgo la salud del individuo.

Tradicionalmente la lucha contra el dopaje ha ido encaminada a la detección de la propia sustancia dopante y para ello utiliza sistemas de medida de alta sofisticación (espectrometría de masas) que pueden detectar la sustancia con una elevada especificidad y sensibilidad. Esto sin embargo obliga a los laboratorios a tener unas sustancias diana con la consiguiente pérdida de detección de otras posibles sustancias. Este hecho le da cierta ventaja a la

2. Introducción

práctica del dopaje ya que los atletas pueden utilizar sustancias fraudulentas que todavía no es posible detectar por desconocimiento de las mismas.

En los últimos años (2015-2018) la AMA ha creado un programa para reforzar el análisis en los laboratorios acreditados por la agencia de tres grupos de sustancias que son los siguientes: agentes estimulantes de la eritropoyetina, hormona del crecimiento y gonadotropina coriónica humana y factores estimulantes de la hormona del crecimiento. El número de análisis para estas sustancias se han incrementado en el último año en un 2,5, 17 y 17% respectivamente.

Más allá de estos métodos de detección, en 2008 la UCI implantó un nuevo método de detección de dopaje basado en el análisis y búsqueda de variaciones anormales en magnitudes fisiológicas, el pasaporte biológico del atleta (PB).

2.6.3.2. Pasaporte biológico del atleta

Las alteraciones producidas por las sustancias dopantes sobre diferentes rutas metabólicas producen variaciones en la concentración de las magnitudes que forman parte de estas rutas. Muchas de estas, son utilizadas de manera habitual en el seguimiento clínico de cualquier individuo y han sido recientemente incorporadas a través del PB como método de detección de sustancias prohibidas en atletas. Es decir, en lugar de intentar detectar a priori la sustancia prohibida en el individuo, se utilizan magnitudes de laboratorio como marcadores indirectos de su consumo.

A través de la AMA se analizaron un total de 351.180 muestras durante el año 2017 para la detección del dopaje, un 7,1% más que en el año anterior, aumentando en un 3% el número de muestras destinadas al PB. Desde su implantación en 2009, el número de muestras obtenidas para el PB ha ido en aumento desde las 5.000 hasta alcanzar en 2017 las 30.000. Esto nos indica que el nuevo método de detección está siendo cada vez más utilizado y aceptado por las diferentes agencias contra el dopaje a nivel internacional (65).

Fundamentos del Pasaporte Biológico del atleta

Para poder determinar que una variación entre resultados seriados es anormal, se deben establecer unos límites a partir de los cuales podamos asegurar con una determinada probabilidad que ese resultado no es esperable. Para ello, el PB establece un patrón de variación de una determinada magnitud en un individuo concreto gracias al análisis en muestras seriadas. A partir de esos resultados se define, mediante un método bayesiano, un rango de concentración esperable (73). Cuanto mayor sea el número de muestras recogidas de un mismo sujeto, más se podrá estrechar el rango y mayor será la potencia predictiva estadística del resultado (figura 3).

En el caso del módulo hematológico, descrito más adelante, se recomienda una periodicidad mínima de 5 días entre diferentes extracciones para optimizar la significación estadística de los resultados (74).

EL PB puede utilizarse como método de apoyo a la investigación y de despistaje junto con los métodos analíticos que detectan la sustancia *per se*. Por ejemplo las variaciones de los parámetros hematológicos como la hemoglobina o los reticulocitos pueden ayudar a los laboratorios a orientar el análisis confirmatorio hacia la determinación de agentes estimulantes de la eritropoyetina.

Sin embargo, el PB también se considera un método válido en sí mismo, es decir, si se detectan en un atleta variaciones fuera de los límites esperados en determinadas magnitudes fisiológicas que sugieren el consumo de sustancias ilícitas, sería considerado como dopaje.

2. Introducción

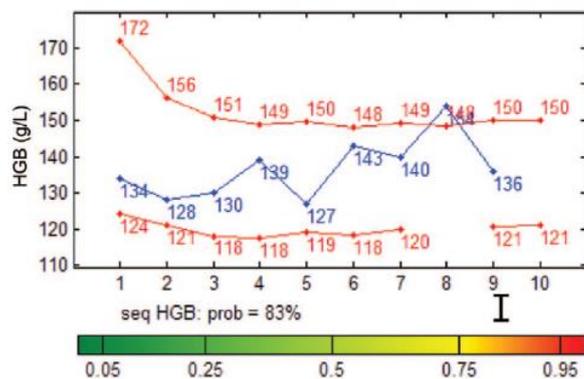


Figura 3. En azul, se representan los resultados de hemoglobina (g/L) a lo largo del tiempo de un atleta que fue penalizado por dopaje. En rojo se representan los límites que define el modelo bayesiano que utiliza la AMA. La barra inferior representa la potencia estadística de predicción del modelo, que aumenta a medida que lo hacen el número de muestras recogidas al atleta (73).

Cuando el resultado de un individuo está fuera de los límites definidos se considera un resultado adverso (RA_d). En caso de que el evento no esté claro y sean necesarias mayores investigaciones, el evento se considera un resultado atípico (RA_t) y no será considerado un RA_d hasta que se concluya que hay suficientes argumentos como para considerar el evento un hecho ilícito, es decir dopaje.

Para la entrada y almacenamiento de todos los datos, así como para el manejo, intercambio de información e informe de los resultados, la AMA cuenta con un sistema online, de alta seguridad, llamado *WADA's Anti-Doping Administration and Management System (ADAMS)*. Esta herramienta tiene integrado el modelo adaptativo (Bayesiano) que utiliza el PB como fundamento. Dentro de la estructura del PB existe una unidad llamada *Athlete Passport Management Unit (APMU)*, encargada del manejo de este sistema y de mediar entre los laboratorios y el comité de expertos cuando hay sospechas, necesidad de alguna aclaración y dar recomendaciones al laboratorio para realizar estudios complementarios en base a la opinión del comité de expertos, entre otras funciones.

Secuencia de procesos del Pasaporte biológico del atleta

El PB está estrictamente estandarizado siguiendo un protocolo que aumenta la eficiencia de sus procesos, desde que se identifica al atleta susceptible de ser investigado, hasta que el personal encargado recoge la muestra y la custodia hasta remitirla al laboratorio.

Cuando los resultados están disponibles, el modelo adaptativo realiza automáticamente el tratamiento estadístico y actualiza los datos del PB del atleta en ADAMS. APMU se encarga de revisar los resultados y crear o actualizar el informe de seguimiento del atleta, y a continuación dará recomendaciones sobre la estrategia a seguir.

Cuando se produce un RAAt, APMU contacta con los expertos para verificar y discutir el evento. De la evaluación del experto se esperan 4 posibles respuestas:

- Considera el evento como consecuencia de una condición fisiológica, en este caso se considera que no tiene importancia y no se realizan más investigaciones
- Considera que es sospechoso, recomienda realizar un nuevo control al atleta y da recomendaciones de cuándo y que tipo de muestra sería la idónea para detectar el dopaje
- Considera que hay suficientes pruebas como para vincular el evento al consumo de sustancias dopantes. El caso se manda a otros tres expertos que analizaran los resultados y confirmarán los argumentos del primero y finalmente decidirán si es un PAd
- Considera que los resultados sugieren una condición patológica del atleta, en este caso el atleta es informado de esta condición

2. Introducción

Cuando se produce un Rad, se notifica al atleta que ha sido propuesto para sanción y se le informa de los motivos. Además, se invita al atleta a dar explicaciones y a justificar los resultados obtenidos. La respuesta del atleta se revisa por los expertos que decidirán si el resultado se ha producido por alguna otra causa y si no, se abre un procedimiento disciplinario.

Módulos del Pasaporte biológico del atleta

Hasta el momento el PB se ha desarrollado en dos módulos en los que se utilizan diferentes magnitudes para la detección de determinados tipos de sustancias dopantes:

Módulo Hematológico: se aplica desde el 2009 y ha sido diseñado para la detección de autotransfusiones, administración de eritropoyetina y otras sustancias que aumenten la eritropoyesis y para ello utiliza la determinación de diferentes magnitudes hematológicas en sangre (75).

Las magnitudes que forman parte de este módulo son las siguientes: Recuento de hematíes, hemoglobina, hematocrito, volumen corpuscular medio (VCM), hemoglobina corpuscular media (HCM), concentración corpuscular media de hemoglobina (CHCM), ancho de distribución de la serie roja (RDW), porcentaje de reticulocitos (RET%), recuento leucocitario y plaquetario y fracción inmadura de reticulocitos.

Además, se utilizan dos índices que combinan estas magnitudes para optimizar la sensibilidad y la especificidad en la detección del dopaje. Por un lado el *OFF-hr Score*, que es un cálculo a partir de la hemoglobina y RET% cuyos valores de normalidad se sitúan entre 85 y 95 y por otro lado, el *Abnormal Blood Profile Score* (ABPS) que utiliza siete magnitudes hematológicas (Recuento de hematíes, hematocrito, hemoglobina, VCM, HCM, CHCM y RET%). La población de deportistas control (presuntamente sanos) obtiene valores de ABPS por debajo de uno.

En el caso del módulo hematológico, una vez que la muestra de sangre llega al laboratorio, siempre refrigerada y monitorizada por una sonda de temperatura, es homogeneizada durante al menos 15 minutos, siendo después analizada por duplicado. Para que los resultados sean aceptados deben cumplir los siguientes criterios de validación:

1. La diferencia absoluta de la concentración de hemoglobina entre los replicados debe ser inferior a 0,1 g/dL, e inferior a 0,15% en el caso de los reticulocitos.
2. El resultado que se introducirá en ADAMS en caso de cumplir estos criterios, será el primero. Además, debe proporcionar información asociada a la muestra, como el analizador y pruebas de que se ha realizado un aseguramiento de la calidad adecuado.

El Módulo de esteroides se implantó en el PB recientemente (año 2014) y se utiliza para la detección de esteroides anabolizantes (76). En este módulo se lleva a cabo la determinación de la concentración de diferentes esteroides endógenos y sus metabolitos en orina, además de distintas ratios entre ellos.

Se determina la concentración de testosterona, epitestosterona, androsterona, eticolanolona, 5 α -androstano-3 α -17 β -diol, y el 5 β -androstano-3 α -17 β -diol en orina, así como las ratios entre ellos.

A diferencia del módulo hematológico, el módulo de esteroides especifica los requisitos técnicos mínimos que debe cumplir el sistema de medida utilizado (cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas).

Por último, un módulo de endocrinología (77), con potencial utilidad en el despistaje del consumo de diferentes factores del crecimiento (como la hormona del crecimiento o el factor de crecimiento insulínico) requiere ser validado y todavía no se ha implantado en la práctica para el PB. Existen algunos estudios

2. Introducción

de VB relacionados con este módulo que aseguran que estos marcadores tienen una adecuada individualidad para ser utilizados en la detección del dopaje (78).

Procedimiento para el análisis de las muestras del pasaporte biológico del atleta

Existen determinados factores confusionales que deben ser tenidos en cuenta a la hora de la interpretación del PB, como pueden ser el sexo, la edad, entrenamientos en altura, variables pre-analíticas, variaciones en el volumen plasmático, intensidad del ejercicio realizado, etc. Todos estos factores son revisados por APMU junto con la opinión de los expertos.

Para que los laboratorios puedan informar resultados deben seguir unos determinados procedimientos de calidad que aseguren que estos resultados son lo suficientemente robustos y representativos de la situación fisiológica del individuo. En el laboratorio clínico los laboratorios pueden acreditar la competencia técnica de sus resultados mediante la norma ISO 15189, mientras que en el caso de los laboratorios acreditados para el dopaje la norma que deben aplicar es la ISO 17025. *ISO/IEC 17025, sección Análisis de Muestras de Sangre para Control del Dopaje*, que contempla el aseguramiento de la calidad de todo el proceso de laboratorio, así como el control analítico que garantice la calidad de los resultados. Esta norma también contempla el tipo de informe de resultados (78). Además, es necesario procesar controles externos, participando en programas de garantía externa de la calidad (EQAs) organizados por la AMA.

Por otra parte, las guías de la AMA, además de especificar los requerimientos para la cadena de custodia, recomiendan el uso del control de calidad suministrado por los proveedores, estableciendo límites de control o EPA adecuados en función del método analítico empleado entendiendo que la población de estudio es atleta (79).

Laboratorios implicados en la detección del dopaje

Como se ha comentado anteriormente, el dopaje es considerado un método ilícito que impacta directamente sobre la salud del atleta. Los anabolizantes son usados para mejorar el aspecto y la forma física en personas que practican *fitness* y culturismo, así como también son empleados por atletas amateur para mejorar su rendimiento y poder acabar en cabeza de competiciones no necesariamente profesionales, es decir, el uso de estos métodos no se restringe solo al deporte profesional, sino también al amateur. En este contexto, el dopaje representa un problema de salud pública que debe ser seguido estrechamente y prevenido. Por ello, para la detección del dopaje, existen más de 30 laboratorios acreditados por la AMA, distribuidos por los cinco continentes.

Estos laboratorios, podrían utilizar las EPA basadas en VB para el aseguramiento de la calidad, al igual que sería posible utilizarlas como una herramienta útil para las agencias que los auditan.

La VB es un concepto que podría ser aplicado por entidades internacionales como la AMA para el control del dopaje. Esta agencia y otras agencias gubernamentales contra el dopaje utilizan el PB del Atleta, que como ya se ha comentado es un concepto estrechamente relacionado con la VB, como instrumento para la detección del dopaje en atletas.

3. Justificación, Hipótesis y Objetivos

3.1. Justificación

La VB ha sido ampliamente estudiada a lo largo del siglo XX y se han publicado numerosos estudios en individuos sanos y algunas patologías concretas para más de 340 magnitudes. Sin embargo, pocos autores han considerado el deporte como una situación de estrés fisiológico sostenida en el tiempo que pudiera influir sobre la VB de determinadas magnitudes y apenas existen publicaciones que estudien esta VB en atletas. La mayoría de las publicaciones que han estudiado magnitudes de laboratorio en atletas, se limitan a medir las variaciones que se producen durante o a las pocas horas de realizar ejercicio.

La VB ha sido internacionalmente reconocida por tener una gran importancia en la medicina de laboratorio ya que ayuda al aseguramiento de la calidad en la obtención de resultados representativos del estado fisiopatológico de los pacientes, permitiendo el correcto diagnóstico, tratamiento y seguimiento de diferentes patologías. En 2014 la EFLM reafirmó la importancia de la VB como modelo para el establecimiento de las especificaciones de las prestaciones analíticas en los laboratorios clínicos que ya había sido reconocida en 1999 en la conferencia de Estocolmo. También es una herramienta útil en la interpretación de resultados seriados y monitorización de los pacientes mediante el cálculo del valor de referencia del cambio, y además proporciona información a los clínicos sobre la naturaleza de la regulación homeostática a la que están sometidas determinadas magnitudes. Debido a que las aplicaciones de la VB impactan directamente sobre los resultados que el laboratorio informa y estos a su vez sobre la interpretación y la toma de decisiones clínica, son necesarios estimados robustos y representativos para cada potencial población diana.

3. Justificación, Hipótesis y Objetivos

Los estudios que han publicado datos a medio-largo plazo y en una situación estable de atletas (fuera de competición y evitando la extracción inmediatamente post-ejercicio) han sido realizados en un número limitado de magnitudes y carecen de la suficiente calidad metodológica para reportar estimados confiables de VB. Por otra parte, estos estudios no han analizado los factores relacionados con el ejercicio que pudieran influir sobre la VB.

Existen diferentes ámbitos en los que el conocimiento de la VB en atletas podría ser de utilidad. Ejemplos de ello son la interpretación de resultados de atletas en clínicas especializadas en medicina deportiva o en un entorno sanitario en el que hubiera que interpretar resultados seriados de pacientes que realizan deporte de manera regular, así como el aseguramiento de la calidad en los laboratorios específicos para población deportista mediante el uso de las especificaciones del rendimiento analítico derivadas de la VB en atletas. Además, los organismos encargados de acreditar estos laboratorios también podrían utilizar estas especificaciones. Otra de las potenciales utilidades de la VB está relacionada con el pasaporte biológico, uno de los métodos pioneros para la detección del dopaje a nivel mundial y utilizado por la AMA. Los laboratorios acreditados para la detección del dopaje podrían hacer uso de la BV como herramienta de apoyo a la interpretación de resultados seriados del pasaporte biológico de los atletas.

Teniendo en cuenta lo anteriormente expuesto y ante la falta de estimados robustos de VB específicos para este grupo de sujetos y realizados mediante estudios que sigan las más recientes recomendaciones metodológicas, hemos planteado este estudio observacional y prospectivo en una cohorte de atletas, en el que se ha realizado el seguimiento analítico, antropométrico y de variables relacionadas con el ejercicio físico durante una temporada deportiva completa (11 meses) para magnitudes de, bioquímica hematología y gasometría venosa. Del mismo modo se ha comparado estos estimados con los de la población sana y se ha analizado la influencia de las variables recogidas durante el seguimiento sobre estos estimados.

3. Justificación, Hipótesis y Objetivos

La obtención de unos estimados robustos de VB en atletas para magnitudes, de la gasometría venosa, bioquímicas, hematológicas y siguiendo recomendaciones de diseño metodológico recientemente publicadas, así como el análisis de la influencia de diferentes variables relacionadas con el ejercicio podrían constituir una herramienta fundamental para la correcta atención sanitaria de estos individuos y por otra parte, podría ser de utilidad en el control del dopaje mediante aplicación en el pasaporte biológico.

3.2. Hipótesis

La influencia de la práctica de ejercicio físico de alta intensidad y mantenido durante un largo periodo de tiempo sobre magnitudes de bioquímica, hematología y gasometría, podría condicionar que sus estimados de Variación Biológica sean más amplios que los encontrados en población general.

3.3. Objetivos

3.3.1. Objetivo principal

Establecer estimados robustos de VB de magnitudes de la gasometría venosa, bioquímica y hematología en una muestra de atletas.

3.3.2. Objetivos secundarios

1. Comparar los estimados de variación biológica de magnitudes de la gasometría venosa, bioquímica y hematología en atletas con los publicados en población general.

3. Justificación, Hipótesis y Objetivos

2. Analizar la influencia de variables relacionadas con el ejercicio físico, variables antropométricas y variables relacionadas el estado de salud sobre la VB de las magnitudes de la gasometría venosa, bioquímica y hematología en atletas.
3. Verificar la intercambiabilidad de los intervalos de referencia biológicos derivados de población general de magnitudes de la gasometría venosa, bioquímica y hematología con la población de atletas estudiada.
4. Establecer especificaciones de las prestaciones analíticas para imprecisión, error sistemático y error total de magnitudes de la gasometría venosa, bioquímica y hematología basadas en VB en atletas.
5. Calcular el valor de referencia del cambio de magnitudes de la gasometría venosa, bioquímica y hematología, para la interpretación de resultados seriados en atletas.
6. Verificar si las magnitudes hematológicas incluidas en el pasaporte biológico tienen un índice de individualidad adecuado para el seguimiento de los atletas.
7. Validar los índices OFF-hr y ABPS utilizados por la AMA para la detección del dopaje, en la población de atletas estudiada.

4. Sujetos, Material y Métodos

4.1. Diseño del estudio

Se trata de un estudio observacional, prospectivo, longitudinal y unicéntrico en una cohorte de 30 atletas en los que se realizó el seguimiento durante una temporada deportiva (11 meses), llevado a cabo el siguiente esquema temporal:

Selección de los sujetos participantes (agosto – diciembre 2016)

En primer lugar, se realizó una presentación oral para exponer el estudio y se difundió la información entre diferentes clubes de triatlón, solicitando voluntarios para la participación. A los voluntarios interesados, que contactaron vía correo electrónico, se les facilitó una hoja con información detallada (Anexo 1) de las condiciones del estudio y el consentimiento informado (Anexo 2) que fue debidamente firmado para poder ser incluidos en el estudio.

Inclusión en el estudio y primera visita para extracción (enero 2017)

Durante la primera visita del estudio, se proporcionó a los sujetos un cuestionario de inclusión para evaluar su estado de salud (Anexo 3) y se les facilitó una tabla de datos de actividad física que fue completada de manera diaria con información sobre tipo ejercicio realizado, distancia recorrida, duración de la actividad e intensidad medida en dos escalas: una basada en rangos del porcentaje de $FC_{máx}$ y otra en el esfuerzo percibido o escala de Borg (Anexo 4). Además, se verificaron los criterios de inclusión de cada voluntario (apartado 4.2.1).

Antes de la obtención de las muestras de sangre, se realizó la medición del peso y composición corporal, mediante el análisis de la bio-impedancia por segmentos, utilizando una báscula Tanita BC-601 Segment (8 electrodos).

4. Sujetos, Material y Métodos

Posteriormente, se obtuvieron mediante venopunción muestras de sangre siguiendo unas condiciones pre-analíticas estandarizadas y definidas en el apartado 4.6.2.

A partir de las muestras de sangre obtenidas en esta primera visita, se realizó la medición de magnitudes de laboratorio (glucosa, creatinina, urea, bilirrubina, proteína C reactiva (PCR), colesterol, triglicéridos, AST, ALT, GGT, fosfatasa alcalina y hemograma) con el propósito de verificar los criterios de exclusión. Estas analíticas de control fueron realizadas de manera cuatrimestral durante el estudio para verificar el buen estado de salud de los atletas y que se cumplieran los criterios de inclusión y no se incumplían los de retirada.

Prueba de esfuerzo (enero 2017)

Todos los participantes fueron sometidos a una prueba de esfuerzo que se realizó en un centro especializado (*Salud y Deporte Madrid*) y se llevaron a cabo los siguientes procedimientos bajo la supervisión de un médico especialista en medicina del deporte. Se realizó una historia médica y exploración física, medida de la tensión arterial, electrocardiografía en reposo y durante el desarrollo de la prueba, así como espirometría y dinamometría.

El protocolo de la prueba de esfuerzo fue incremental en rampa hasta el agotamiento con puesta en marcha y verificación de los instrumentos durante dos minutos a 50 w, considerando esta como carga inicial y con aumentos de carga de 5 w cada 12 segundos.

La clínica emitió un informe firmado por el médico especialista en medicina del deporte y un doctor en ciencias del deporte como responsables (Anexo 5). El informe incluía un informe médico sobre el estado cardiorrespiratorio de los individuos, verificando la ausencia de arritmias patológicas o alteraciones electrocardiográficas, así como presencia de isquemias al nivel de carga alcanzado, teniendo en cuenta criterios electrocardiográficos y clínicos. Además, también se recogieron todos los datos obtenidos del análisis espirométrico y

dinamométrico durante la actividad física desarrollada en el cicloergómetro.

Los criterios de inclusión fueron verificados posteriormente cuando los resultados de la primera analítica y el informe de la prueba de esfuerzo estuvieron disponibles.

Visitas con periodicidad mensual (Febrero – Noviembre 2017)

Se realizó la obtención de muestras de sangre con periodicidad mensual a todos los participantes, siendo la duración total once meses. Esto permitió cubrir el intervalo de una temporada deportiva completa, en la cual podemos encontrar diferentes fases o periodos en las que la intensidad y duración del ejercicio físico realizado puede variar (pre-temporada, fase de carga, entrenamientos de calidad, competiciones, etc). En cada visita se les proporcionó un cuestionario de seguimiento con datos sobre el estado de salud, medicación, suplementación nutricional, actividad física realizada el día anterior y otras consideraciones (Anexo 6). Además, se realizó la medición de la composición corporal, al igual que en la visita inicial en cada visita.

4.2. Criterios de inclusión, exclusión, retirada y consideraciones éticas

4.2.1. Criterios de inclusión

- Hombres o mujeres mayores de 18 años
- Firmar el consentimiento informado
- No haber sufrido ninguna lesión física en las 4 semanas anteriores a la inclusión
- Entrenar de manera regular más de 13 horas por semana (incluyendo carrera, ciclismo y / o natación)
- No mostrar en el examen médico y la prueba de esfuerzo ninguna alteración

4. Sujetos, Material y Métodos

significativa y de acuerdo a los criterios del médico de medicina del deporte que los realizó

4.2.2. Criterios de exclusión

- Diagnóstico previo de diabetes mellitus o glucemia basal > 125 mg/dL)
- Enfermedad cardiovascular conocida
- Antecedentes de enfermedad hepática o renal crónica (GGT > 150 U/L; eGFR (CKD-EPI) < 60 mL/min por 1,73 m²)
- Dislipemia (Colesterol total > 250 mg/dL)
- Antecedentes familiares de talasemia y otras hemoglobinopatías
- Resultados de los análisis de sangre que sugieran, bajo los criterios del equipo investigador, una enfermedad crónica grave (cáncer, enfermedad cardiovascular o neurológica) o una enfermedad aguda
- Estado de portador conocido para VHB, VHC y VIH
- Hospitalización o enfermedad grave en las 4 semanas anteriores.
- Haber realizado alguna donación de sangre en los 3 meses anteriores al comienzo del estudio
- Embarazo, lactancia o parto en el último año

4.2.3. Criterios de retirada

En cualquier momento los participantes podían decidir de manera voluntaria la retirada del estudio, así como la destrucción de las muestras obtenidas y los datos derivados de estas, atendiendo a las consideraciones éticas indicadas en el protocolo.

Además, los sujetos que sufrieran alguna alteración en las analíticas de seguimiento o enfermedad durante el desarrollo del estudio que a criterio de los investigadores pudiera influir sobre los resultados podrían ser retirados del estudio. También fue considerado motivo de retirada el donar sangre durante la duración del mismo.

4.2.4. Consideraciones éticas

El protocolo para la recogida de muestras fue aprobado la Comisión de Investigación del Instituto de Investigación Sanitaria del Hospital Universitario La Paz – IdiPAZ, asegurando que cumplía los requisitos metodológicos necesarios y era viable en todos sus términos (Anexo 7).

También fue aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital Universitario La Paz (Anexo 8) asegurando que:

- Se cumplían los requisitos necesarios de idoneidad del protocolo en relación con los objetivos del estudio y estando justificados los riesgos y molestias previsibles para el sujeto.
- La capacidad del investigador y los medios de disponibles eran apropiados para llevar a cabo el estudio.
- El procedimiento para obtener el consentimiento informado era adecuado y no interfería con el respeto a los postulados éticos.

4.3. Población de estudio

En este estudio se seleccionaron un total de 30 atletas, 15 hombres y 15 mujeres en edad fértil, de forma que se aseguraba un número de sujetos, un número de muestras por sujeto y un número de replicados que garantizase la suficiente potencia estadística en las magnitudes estudiadas. Para el diseño de un estudio de VB y la estimación de la VB_I es necesario tener en cuenta la *ratio* entre la imprecisión analítica de los métodos de medida que se van a emplear y la previsión de los estimados de VB que se van a obtener. Esta *ratio* junto con el número de individuos incluidos, el número de muestras recogidas por individuo y el número de replicados de cada muestra está íntimamente relacionada con la

4. Sujetos, Material y Métodos

magnitud de los intervalos de confianza obtenidos (80). Teniendo en cuenta los recursos obtenidos para la realización del estudio, se priorizó el número de muestras por sujeto sobre el número de sujetos para así dar mayor peso estadístico (intervalos de confianza más estrechos) a la VB_I , a costa de disminuir ligeramente la potencia estadística de los estimados de VB_G .

4.4. Ámbito del estudio

Los atletas fueron seleccionados a través de diferentes clubes de triatlón de la Comunidad de Madrid, y participaron de forma voluntaria de acuerdo con los criterios de inclusión y exclusión anteriormente descritos y tras haber sido informados del estudio y dado su consentimiento por escrito.

La extracción de las muestras fue realizada en la Unidad de Extracciones del Servicio de Análisis Clínicos del Hospital Universitario La Paz, así como el análisis inmediato de las muestras de gasometría, que fue realizado en uno de los gasómetros de la Unidad de POCT acreditado por la norma ISO 22870. El análisis del resto de magnitudes se realizó en el Laboratorio Core del Servicio de Análisis Clínicos que se encuentra acreditado de acuerdo a la norma ISO 15189.

4.5. Variables de estudio

4.5.1. Variables principales

- CV_I (estimados de VB intraindividual)
- CV_G (estimados de VB interindividual)

4.5.2. Variables secundarias

4.5.2.1. Variables derivadas de los estimados de Variación Biológica

- VRC (valor de referencia del cambio)
- II (índice de individualidad)
- EPA (especificaciones del rendimiento analítico)

4.5.2.2. Variables antropométricas

- Talla (m)
- Masa (Kg)
- Índice de masa corporal (IMC) (Kg/m²)
- Porcentaje de grasa corporal (%G) (%)
- Masa magra (Kg)
- Masa ósea (Kg)

4.5.2.3. Variables relacionadas con el ejercicio

Prueba de esfuerzo

- Frecuencia cardiaca máxima y mínima (latidos·min⁻¹)
- Frecuencia cardiaca en umbral aeróbico (latidos·min⁻¹)
- Frecuencia cardiaca en umbral anaeróbico (latidos·min⁻¹)
- Potencia máxima (Kw)
- Potencia en umbral aeróbico (Kw)
- VO₂ máximo (L·min⁻¹·Kg⁻¹)
- Volumen espiratorio en VO₂ máximo (L·min⁻¹)

Datos de la actividad física diaria

- Fecha (día/mes/año)
- Tipo de deporte (Carrera, natación, ciclismo y otros)
- Distancia (metros para carrera y natación, kilómetros para ciclismo)
- Duración (horas:minutos)

4. Sujetos, Material y Métodos

- Intensidad por intervalos de frecuencia cardiaca (T1-T5)
- Intensidad según la escala de Borg (1-20)

VARIABLES RELACIONADAS CON EL PASAPORTE BIOLÓGICO DEL ATLETA

- Índice ABPS
- Índice OFF-hr

4.6. Consideraciones pre-analíticas, análisis y tratamiento de las muestras

Con objeto de disminuir la variabilidad debida a factores pre-analíticos, todas las condiciones de este proceso fueron estandarizadas.

4.6.1. Preparación de los sujetos

La extracción se realizó después de diez horas de ayuno, entre las 8-10 a.m. para evitar la influencia de los ritmos circadianos (sábado por la mañana), evitando la cena copiosa el día previo a la toma de muestras, sin haber realizado ninguna competición durante al menos una semana y sin realizar ejercicio intenso durante las 24 horas previas. Los sujetos permanecieron 10 minutos sentados antes de llevarse a cabo la extracción.

4.6.2. Recogida de las muestras de sangre

Para disminuir la posible variabilidad inter-flebotomista, la extracción se realizó siempre por la misma persona, utilizando palomilla y contenedores con vacío. Se realizó mediante venopunción de la vena cefálica o cubital, después de haber desinfectado la zona con alcohol de 70° y habiendo esperado a que este se evapore.

También se estandarizó la posición del torniquete, aproximadamente 8 centímetros por encima del punto de venopunción, así como la duración del mismo, siendo siempre este inferior a 60 segundos. El procedimiento para la inversión de los tubos consistió en una primera inversión inmediatamente después del llenado del tubo y 3 inversiones cuando la extracción hubo finalizado.

Las muestras obtenidas de los atletas y su orden de extracción fueron los siguientes:

- Tres muestras de suero en contenedor con gel separador de 8.5 mL
- Una muestra con heparina de litio en jeringa para estudio de la gasometría
- Una muestras de plasma (EDTA) de 10 mL (conservada entre 0-8 °C hasta su congelación)
- Una muestra de sangre (EDTA) de 3.5 mL

Para mantener la trazabilidad del proceso de extracción, todas las extracciones estuvieron asociadas a un número de petición y número de sujeto en el programa de gestión pre-analítica ConnectLab®. Además, todas las muestras fueron identificadas con ese número de extracción de manera inequívoca hasta su análisis (gasometría y hemograma) o alicuotado (suero y plasma).

4.6.3. Tratamiento y conservación de las muestras

Las muestras de suero fueron centrifugadas durante 10 minutos a 2000 g. Posteriormente fueron alicuotadas en crio-viales y almacenadas a -80°C en las dos horas siguientes a la extracción hasta su análisis. Para mantener la trazabilidad de los crio-viales fueron identificados con número de sujeto, número de extracción y tipo de muestra.

4. Sujetos, Material y Métodos

4.6.4. Análisis de las muestras y métodos analíticos de medida

El análisis de las muestras se realizó por duplicado y tras asegurar que los analizadores utilizados en el estudio cumplieran con las especificaciones de calidad (basadas en VB) para el control de calidad interno fijadas por el laboratorio. Las magnitudes analizadas se describen a continuación clasificadas en función de la muestra obtenida para su determinación, así como el proceso realizado para el análisis. Además, la metodología empleada para la medición se describe en la tabla 4.

4.6.4.1. Sangre

Gasometría

pH, lactato, presión parcial de oxígeno (pO₂), presión parcial de dióxido de carbono (pCO₂), calcio ionizado, bicarbonato, exceso de bases, anión gap.

Las muestras para gasometría (Sangre completa– heparina de litio balanceada con calcio) fueron analizadas en los 2 minutos posteriores al momento de la extracción para evitar la degradación de la muestra y siempre en el mismo analizador de gases ABL 90 (Radiometer) para disminuir el sesgo entre analizadores.

Además, el analizador de gases cuenta con sistema automatizado de control interno a tres niveles de concentración y procesos de calibración que se realizan de manera periódica, así como protocolos de verificación y aseguramiento de la calidad periódicos para asegurar la calidad de los resultados.

Hemograma

Recuento de hematíes, hemoglobina, hematocrito, volumen corpuscular medio (VCM), hemoglobina corpuscular media (HCM), concentración corpuscular media de hemoglobina (CHCM), distribución de la serie roja (RDW), recuento

leucocitario y de plaquetas, recuento y porcentaje de reticulocitos.

Las muestras para la determinación de los parámetros hematológicos (sangre completa - EDTA) fueron analizadas utilizando siempre el mismo analizador (Advia 2120. Siemens Healthineers) en las dos horas siguientes a la extracción para asegurar su estabilidad en el momento del análisis y así evitar la degradación de los elementos formes de la sangre (hematíes, reticulocitos, leucocitos y plaquetas).

El análisis se realizó tras verificar mediante el procesamiento del control interno a tres niveles de concentración que el analizador cumplía con las especificaciones fijadas por el laboratorio (basadas en VB).

4.6.4.2. Suero

Enzimas

AST, ALT, GGT, amilasa, fosfatasa alcalina, LDH y CK.

Sustratos y proteínas

Glucosa, creatinina, bilirrubina total y la bilirrubina directa, colesterol total, colesterol HDL (HDL) y colesterol LDL, (LDL), triglicéridos, urea, urato, proteínas totales, albúmina, PCR, ferritina, transferrina y troponina I.

Electrolitos

Calcio total, sodio, potasio, cloruro, fósforo, hierro y magnesio.

Las muestras de suero fueron descongeladas después de un año almacenadas a -80°C para la determinación de las pruebas bioquímicas, centrifugadas durante 10 minutos a 2000 g a temperatura ambiente y analizadas en las tres horas posteriores a su descongelación.

4. Sujetos, Material y Métodos

Para minimizar el sesgo analítico, las muestras de un mismo sujeto fueron analizadas siempre dentro de la misma serie analítica en el mismo analizador. El análisis se realizó tras verificar mediante control interno a dos niveles de concentración (*Liquid Assayed Multiquel*, *Cardiac Biomarkers* e *Immunoassay* de BioRad) que el analizador cumplía con las especificaciones de calidad establecidas por el laboratorio (criterios basados en VB) y siempre utilizando el mismo lote de reactivo.

Además, se realizó la medida del índice de hemólisis, lipemia (turbidez) e ictericia para cada una de las muestras analizadas en suero. El criterio empleado para descartar la influencia de cualquiera de estos interferentes en la medición fue el establecido por el laboratorio de Análisis Clínicos del Hospital Universitario la Paz. Estos límites están basados en resultados de interferogramas para cada una de las magnitudes estudiadas y aplicando criterios basados en VB.

El análisis de las magnitudes bioquímicas en suero se realizó en el analizador Advia 2400 (Siemens Healthineers) y todas las muestras fueron analizadas en cuatro días consecutivos.

Como excepción, la medición de troponina I se realizó en el analizador Atellica Solution IM (Siemens Healthineers) utilizando un método de alta sensibilidad, en las mismas condiciones que el resto de magnitudes bioquímicas, es decir, análisis por duplicado y asegurando que las muestras pertenecientes a un atleta fueran analizadas en la misma serie analítica. Todas estas muestras fueron analizadas en tres días consecutivos. El percentil 99 declarado por el fabricante es de 53,5 ng/L para hombres y 38,6 ng/L para mujeres, siendo el límite de cuantificación 2,5 ng/L. Además, la imprecisión al nivel de concentración del percentil 99 declarada es inferior al 10%, por lo que cumple los criterios definidos por el grupo de trabajo *Task Force on Clinical Applications of Cardiac Biomarkers* de la *International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, para ser considerado como un método de alta sensibilidad.

4. Sujetos, Material y Métodos

Magnitud	Método
Gasometría, instrumento Radiometer ABL 90	
pH	Potenciometría
pCO ₂	Potenciometría
pO ₂	Sistema óptico
Ca ²⁺	Electrodo de ión selectivo
Lactato	Amperometría (lactato oxidasa)
Exceso de Bases	Calculado
Bicarbonato	Calculado
Anión gap	Calculado
Bioquímica, Instrumento Siemens Healthineers ADVIA 2400	
Sodio	ISE Indirecto
Potasio	ISE Indirecto
Cloruro	ISE Indirecto
Glucosa	Hexoquinasa
Creatinina	Picrato alcalino cinético
Urea	Ureasa, UV
Urato	Uricasa, colorimétrico
Albúmina	Verde de Bromocresol
Proteínas Totales	Biuret, sin blanco de suero, punto final
Colesterol Total	Colesterol oxidasa, esterasa, peroxidasa
HDL	Medida directa, polímero-polianión
LDL	Medida Directa
Triglicéridos	Enzimático, punto final
Calcio	Arsenazo III
Fósforo	Fosfomolibdonato
Magnesio	Azul de Xilidil
Bilirrubina Total	Oxidación vanadato
Bilirrubina Directa	Oxidación vanadato
AST	UV con P5P - IFCC
ALT	UV con P5P - IFCC
GGT	G-glutamyl-carboxy-nitroanilida - IFCC
Fosfatasa Alcalina	PNPP, AMP Tampón - IFCC
LDH	Enzimático. Lactato a Piruvato
Amilasa	G7-PNP
CK	NAC Activado - IFCC
Hierro	Ferrozina-desproteinización
Transferrina	Inmunoturbidimetría
Ferritina	Inmunoturbidimetría
PCR	Inmunoturbidimetría

4. Sujetos, Material y Métodos

Magnitud	Método
Inmunoensayo, instrumento Siemens Healthineers Atellica IM	
Troponina I de alta sensibilidad	Quimioluminiscencia
Hematimetría, instrumento Siemens Healthineers Advia 2120	
Recuento de Hematíes	Citometría de flujo
Hemoglobina	Espectrofotometría
Hematocrito	Calculado
MCV	Dispersión de luz
MCH	Calculado, $(HCT \cdot 10) / RBC$
CHCM	Calculado, $(HB \cdot 100) / HCT$
mCHCM	Láser
RDW	Calculado, Distribución Eritrocitaria
Recuento de Leucocitos	Citometría de Flujo
Reticulocitos (Recuento)	Fluorimetría
Reticulocitos (Porcentaje)	Calculado

Tabla 4. *Métodos analíticos e instrumentos empleados para la medición de las magnitudes determinadas.*

4.7. Metodología estadística

Para la realización del tratamiento estadístico de los datos se utilizaron las aplicaciones de IBM SPSS statistics®, Analyze-it® y RStudio®.

4.7.1. Cálculo de los estimados de Variación Biológica

4.7.1.1. Detección de Outliers y verificación de la homocedasticidad

Se realizó el análisis de valores aberrantes o *outliers*, a tres niveles diferentes:

- Verificación de *outliers* entre los resultados de los replicados de cada muestra

- Verificación de *outliers* entre los resultados de las diferentes muestras de cada sujeto
- Verificación de *outliers* entre las concentraciones medias de los diferentes sujetos

Además, se verificó la homocedasticidad (homogeneidad de las varianzas) entre los diferentes sujetos y para todo ello se utilizaron los test de Reeds y C Chrocrane.

4.7.1.2. Verificación del estado estacionario de los individuos y ausencia de error sistemático.

Se realizó un análisis de tendencia de cada magnitud en cada sujeto para descartar la influencia de posibles patologías y otros procesos que hagan que los sujetos no se encuentren en estado estacionario, pudiendo sobrestimar la VB.

Además, se realizó un análisis para descartar la existencia de tendencias a lo largo del estudio de las diferentes magnitudes y así poder descartar un posible ES debido a errores en la medición a lo largo del tiempo (ES inherente al método en el caso de la hematología y la gasometría) u otros sesgos asociados al proceso de laboratorio (pre-analíticos).

Este análisis consistió en el cálculo de la recta de regresión con intervalos de confianza al 95% de los componentes de la ecuación y para considerar la existencia de tendencia se debían cumplir dos criterios:

- El intervalo de confianza de la pendiente debía no incluir el 0
- Coeficiente de determinación (r^2) $>0,975$

4. Sujetos, Material y Métodos

4.7.1.3. Cálculo de los estimados de Variación Biológica y de los intervalos de confianza.

Para el cálculo de los estimados de CV_A , CV_I y CV_G y sus intervalos de confianza, se utilizó un modelo lineal mixto correspondiente al paquete *lmer* de Rstudio y se realizó un análisis de la varianza (3-way ANOVA), previa transformación logarítmica de los resultados para asegurar una distribución normal de los datos.

- Fórmula = $\log(\text{magnitud}) \sim (1|\text{Sujeto}) + (1|\text{Sujeto:Muestra})$

4.7.2. Comparación de los estimados de Variación Biológica en atletas con los publicados en la bibliografía para individuos sanos

Como fuente para los estimados de VB en individuos sanos, se escogieron los estudios de mayor calidad metodológica disponibles en la bibliografía según la clasificación propuesta por la herramienta de lectura crítica BIVAC (29). El criterio para considerar la existencia de diferencias significativas fue la ausencia de solapamiento entre los intervalos de confianza de ambos estimados.

Para la comparación de las magnitudes de gasometría, se compararon los estimados derivados de los resultados de este estudio en atletas con los publicados en la bibliografía derivados de individuos sanos. Las referencias escogidas fueron la base de datos de Ricós y colaboradores, actualizada por última vez en 2014 (16) y la actual base de datos de la EFLM (32).

En el caso de las magnitudes de bioquímica y hematología, las fuentes bibliográficas escogidas para la comparación con individuos sanos fueron la base de datos de la EFLM, el estudio EuBIVAS (20,21 y 22), el estudio publicado por el BV-WG en magnitudes hematológicas (76) y la base de datos de Ricós y colaboradores (14). Además, también se compararon los estimados de dos estudios de VB realizados en atletas de Nunes (62) y Malcovati (60) para las

magnitudes de PCR, Urato, Creatinina, Urea, CK, triglicéridos, colesterol total y ferritina.

4.7.3. Análisis de las variables con potencial influencia sobre la variación biológica

Para realizar el análisis de las variables antropométricas y del ejercicio sobre la VB, se diseñó con la aplicación RStudio un modelo lineal de efectos mixtos en el cual se incluyeron las variables seleccionadas que potencialmente pudieran tener un efecto sobre la VB. Considerando el CV_A, CV_I y CV_G como efectos aleatorios y las variables a estudiar, de manera individual, como efectos fijos.

- Fórmula sin efecto = $\log(\text{magnitud}) \sim (1|\text{Sujeto}) + (1|\text{Sujeto:Muestra})$
- Fórmula con efecto = $\log(\text{magnitud}) \sim \text{Intensidad} + (1|\text{Sujeto}) + (1|\text{Sujeto:Muestra})$

Después, se verificó la mejoría de la verosimilitud del modelo para cada una de las variables mediante la comparación de los *likelihood ratios* pre y post inclusión de la variable y se aceptó como significativa una $p < 0,05$.

Para cuantificar la magnitud del efecto encontrado, los estimados de VB obtenidos tras la inclusión de cada una de las variables fueron comparados con los estimados de VB previo a la incorporación de estas variables y se calculó la diferencia porcentual entre ambos estimados.

Se seleccionaron variables con potencial influencia sobre la VB, representativas de la intensidad y la duración del ejercicio realizado a partir de las tablas de actividad física (Anexo 4) que los atletas recogieron a diario durante el desarrollo del estudio, de los cuestionarios rellenados en cada visita por los atletas (Anexo 6) y de los resultados de la prueba de esfuerzo realizada.

4. Sujetos, Material y Métodos

- Como variable de duración se escogió el número de horas de actividad física realizadas durante la semana en la que se realizó la recogida de las muestras.
- Como variables de intensidad se escogió la media de la frecuencia cardiaca (Rangos T1-T5) y la media de percepción subjetiva del esfuerzo (escala de Borg 1-20) registradas por cada atleta en las actividades realizadas durante la semana en la que se recogió la muestra.
- Para analizar la influencia del ejercicio realizado las 24 horas previas a la obtención de la muestra, se incluyó la respuesta incluida en el formulario completado por los atletas el día de la visita. “*¿Ha entrenado en las últimas 24 horas?*”.
- La variable escogida para analizar el efecto de la potencia aeróbica de los atletas sobre la VB fue el VO₂max resultado de la prueba de esfuerzo.
- También se seleccionaron como variables con potencial influencia sobre los estimados de VB, el IMC y el porcentaje de grasa corporal medidos a los atletas.
- Como variable para estudiar la influencia del estado de salud, se escogió la respuesta a la pregunta realizada en el formulario de seguimiento: *¿Ha estado enfermo durante la última semana?*
- Por último, se analizó la influencia del tiempo de muestreo y para ello se incluyó en el modelo el tiempo transcurrido entre las visitas de los atletas.

4.7.4. Intervalos de referencia biológicos

Se realizó la verificación de la intercambiabilidad de los IRB derivados de población sana, de las magnitudes de bioquímica, gasometría y hemograma analizadas con la población de atletas. Los IRB que no fueron intercambiables

entre ambas poblaciones fueron calculados a partir de las muestras de la población de atletas.

4.7.4.1. Intercambiabilidad de los intervalos de referencia biológicos

La verificación de la intercambiabilidad se llevó a cabo siguiendo las indicaciones del CLSI EP-28-A3C (81), con los resultados de la primera visita de los 30 atletas. Los IRB se consideraron verificados si el 95% de los resultados estaban incluidos dentro del rango que definen estos IRB.

4.7.4.2. Cálculo de los nuevos intervalos de referencia biológicos

La definición de nuevos IRB se realizó según el protocolo del CLSI EP-28-A3C. Cuando la n es inferior a 120 sujetos, se deben utilizar métodos alternativos robustos para asegurar validez de los IRB derivados de la población. Para ello, se escogió el método no paramétrico de Harrel-Davis basado en *bootstrap*, y además, se incluyeron los resultados de todas las muestras recogidas de los 30 sujetos.

Para asegurar la robustez de los nuevos IRB solo se admitieron como válidos los que cumplieron el siguiente criterio: El intervalo de confianza (90%) definido para cada extremo del IRB, debía ser inferior a 1/3 del extremo.

4.7.5. Cálculo de especificaciones de las prestaciones analíticas de Variación Biológica en atletas

Se realizó el cálculo de las EPAs deseables, para cada magnitud, en base a los estimados derivados de VB y se utilizaron las siguientes ecuaciones:

4. Sujetos, Material y Métodos

- **Imprecisión:** $CV_{EPA} = 0,5 \cdot (CV_i)$
- **Error sistemático:** $ES_{EPA} = K \cdot (CV_i^2 + CV_G^2)^{0,5}$
- **Error Total:** $ET_{EPA} = K \cdot (CV_i^2 + CV_G^2)^{1/2} + 1.65 \cdot (0,5CV_i)$

En caso de diferencias significativas debido al género, las especificaciones seleccionadas serán las más restrictivas, es decir, las correspondientes al grupo con la VB más estrecha.

4.7.6. Cálculo del Valor de Referencia del Cambio y el índice de individualidad

Para el cálculo del VCR, se utilizó el método logarítmico para extremos asimétricos. Según las recomendaciones actuales, independientemente de la distribución de los datos, se debe utilizar este método ya que el VCR siempre presenta cierta asimetría (82):

- $VRC_{pos} = (\exp(1,96 \cdot 2^{1/2} \cdot \alpha^*) - 1) \cdot 100$
- $VRC_{neg} = - (\exp(1,96 \cdot 2^{1/2} \cdot \alpha^*) - 1) \cdot 100$
- $\alpha^* = (\ln(CV_T + 1))^{1/2}$

El VRC fue calculado a partir de los estimados globales excepto si se hallaron diferencias significativas entre ambos sexos, en cuyo caso se calcularon e informaron los VCR por separado para cada sexo.

El II se calculó de acuerdo a la siguiente fórmula y se consideró como individualidad adecuada un II menor de 0,6.

- $II = CV_i / CV_G$

4.7.7. Verificación de los índices ABPS y OFF-hr en la población de atletas estudiada

Se realizó la estimación del ABPS en la población de atletas estudiada, a través del paquete ABPS de R (83), el cual utiliza dos técnicas de clasificación avanzada basadas en un modelo bayesiano multiparamétrico y tecnología SVM (Support Vector Machine). Ambos sistemas están entrenados utilizando una base de datos con 591 perfiles hematológicos, incluyendo 402 controles sanos y 199 muestras de atletas que abusaron de sustancias dopantes. Fueron incluidos los resultados de siete magnitudes hematológicas (recuento de hematíes, hematocrito, hemoglobina, VCM, HCM, CHCM y RET%) de todas las muestras extraídas a los atletas. Se identificaron las muestras cuyo resultado para el índice ABPS estaba por encima del intervalo de referencia descrito que va desde -2,35 a 1.

Para el cálculo del índice OFF-hr se utilizó la ecuación $OFF-hr = Hb (g/L) - (60 \cdot RET\%)^{1/2}$. El intervalo de referencia descrito para el OFF-hr es 85-95, considerándose un resultado sospechoso de dopaje los resultados por encima de 133.

5. Resultados

Fueron incluidos 30 atletas de los 32 candidatos iniciales para la participación en el estudio, 15 hombres y 15 mujeres con edades entre 19 y 53 años, reclutados de diferentes clubes de triatlón de la Comunidad de Madrid y que cumplieron con los criterios definidos para poder ser incluidos en el estudio (inclusión y exclusión).

Se recogieron un total de 292 muestras, con una media de 9,7 muestras por cada atleta. No todas las extracciones se realizaron con una periodicidad exacta de un mes debido a la falta de disponibilidad de los voluntarios del estudio, la periodicidad media de las extracciones fue de 32 ± 11 días.

De los dos atletas que no cumplieron los criterios de inclusión, uno de ellos sufría enfermedad tiroidea y el otro era heterocigoto para esferocitosis hereditaria. A continuación, se detallan las variables que describen a la población de atletas incluida.

5.1. Análisis descriptivo de las variables antropométricas, del rendimiento físico y del laboratorio clínico

5.1.1. Resultados de las variables antropométricas

En la Tabla 5, se muestran los resultados de las variables antropométricas, después de haber verificado la estabilidad de los sujetos durante el desarrollo del estudio en estas variables, no observando tendencias con variaciones superiores al 10 % en la representación gráfica de las distintas variables estudiadas para ninguno de los sujetos incluidos.

5. Resultados

Magnitud	Hombres		Mujeres	
	Mediana	Rango intercuartílico	Mediana	Rango intercuartílico
Altura (m)	1,8	1,7 - 1,8	1,7	1,6 - 1,7
Peso (Kg)	72,8	68,0 - 77,6	57,0	54,9 - 60,7
Grasa corporal (%)	11,2	9,0 - 13,0	18,3	16,4 - 21,1
Masa muscular (Kg)	62,3	57,6 - 64,7	45,5	41,7 - 47,1
Masa ósea (%)	3,3	3,0 - 3,4	2,4	2,2 - 2,5
IMC (Kg m ⁻²)	23,0	22,1 - 24,8	21,1	20,2 - 22,1
Agua corporal (%)	64,9	63,5 - 66,5	60,9	59,5 - 62,3

Tabla 5. Mediana y rango intercuartílico de las variables antropométricas registradas durante cada una de las visitas de los atletas divididos en función del género.

5.1.2. Resultados para las variables relacionadas con el ejercicio

A continuación, se detallan los resultados de las variables obtenidos a partir de la prueba de esfuerzo realizada a los atletas y los datos de actividad física diaria registrados.

Variables que definen el rendimiento cardiorrespiratorio de los atletas

Todos los atletas pasaron la prueba de esfuerzo con éxito y se verificó la ausencia de arritmias patológicas, así como presencia de isquemias al nivel de la carga máxima alcanzada durante la prueba, teniendo en cuenta criterios electrocardiográficos y clínicos.

En la tabla 6 se muestran las variables que describen el rendimiento aeróbico de los atletas incluidos en el estudio como resultados de la prueba de esfuerzo realizada en la fase inicial del estudio.

5. Resultados

La mediana del VO₂max fue considerada en la escala de Cooper K que está graduada de peor a mejor rendimiento aeróbico (muy pobre, mala, suficiente, buena, excelente y superior) como superior, teniendo en cuenta la mediana de edad, tanto para hombres (VO₂max > 48,1) como para mujeres (VO₂max > 40,1) (84).

	Hombres		Mujeres	
	Mediana	Rango intercuartílico	Mediana	Rango intercuartílico
Edad (años)	41	32 - 42	34	30 - 39
VO ₂ max (L Kg ⁻¹)	50	46,7 - 55,3	43,8	40,7 - 48,2
Potencia máxima en VO ₂ max (W)	383	338 - 389	268	250 - 283
Potencia en umbral anaeróbico (W)	212	195 - 244	135	123 - 156
Potencia máxima relativa (W Kg ⁻¹)	5,1	4,9 - 5,6	4,7	4,1 - 4,9
Mín FC (lpm)	62	55 - 70	72	61 - 85
Máx FC (lpm)	174	166 - 181	175	169 - 180
Ventilación en VO ₂ max (L min ⁻¹)	146	141 - 163	110	87 - 124
Umbral aeróbico (lpm)	137	131 - 143	133	129 - 135
Umbral anaeróbico (lpm)	157	150 - 161	160	152 - 163

Tabla 6. Mediana y el rango intercuartílico de los resultados obtenidos en la prueba de esfuerzo incremental realizada por los atletas en función del género.

5. Resultados

VARIABLES QUE DEFINEN EL TIPO DE DEPORTE, LA FRECUENCIA Y DURACIÓN DE LAS SESIONES DE ENTRENAMIENTO DE LOS ATLETAS

Cuatro de los 32 atletas no entregaron los datos de actividad física diaria por lo que sus datos no están incluidos en estos resultados.

A continuación, se muestra un resumen de los datos de actividad física registrados por los atletas durante el desarrollo del estudio. En la tabla 7 podemos observar el periodo de tiempo durante el cual los atletas registraron su actividad física diaria, así como el número de entrenamientos registrados, su duración y frecuencia.

Datos de actividad física registrados		
Variable	Media	SD
Nº de días registrados	285	86
Nº total de sesiones registradas	289	119
Frecuencia de sesiones a la semana	8,0	2,3
Duración de las sesiones (Horas/sesión)	1,2	0,4
Horas entrenamiento a la semana	9,2	2,3

Tabla 7. Media y desviación estándar (SD) del número de días y sesiones registradas, así como la frecuencia, y duración de la actividad física diaria realizada por los atletas.

El 27 % de las sesiones registradas fueron dedicadas a entrenar el ciclismo, el 33% la carrera, el 23% la natación y el 17% restante a otros deportes, entre ellos el *fitness*, *kayak*, pádel, esquí, *surf*, *skating*, el senderismo y la escalada.

Los sujetos participantes realizaron mayoritariamente ejercicio físico aeróbico en las disciplinas de natación, atletismo y ciclismo, considerándose en función del mismo una población homogénea.

Como se puede observar en la tabla 8, el tiempo medio por sesión dedicado al ciclismo es el doble que el dedicado a la carrera y la natación. La intensidad media de los entrenamientos de carrera es superior a la registrada durante los entrenamientos de ciclismo y natación, observándose una buena correlación con el esfuerzo medio percibido por los atletas, siendo este mayor en carrera, seguido del ciclismo y finalmente la natación.

	Ciclismo		Carrera		Natación	
	Media	SD	Media	SD	Media	SD
Tiempo (horas)	1,8	0,5	0,7	0,1	0,8	0,2
Distancia (Km)	47	12	7,4	2,5	1,9	0,5
Intensidad (T1-T5)	2,9	0,6	3,1	0,5	2,7	0,6
Frecuencia cardiaca media	133,7	15,1	151,2	13,0	133,7	12,3
Percepción subjetiva del esfuerzo (1-20)	14,0	1,5	14,3	1,5	13,6	1,6

Tabla 8. Duración, distancia e intensidad en función del tipo de deporte practicado en los entrenamientos registrados por los atletas.

5.1.3. Resultados de las variables de laboratorio

Se analizaron por duplicado 292 muestras, obteniendo un total de 584 resultados para cada magnitud analizada. No se obtuvieron resultados para el índice de hemólisis, ictericia o lipemia que pudiera interferir en la medición de las magnitudes analizadas según los criterios del laboratorio, descritos en el apartado 4.6.4.2.

Debido a que la distribución de los resultados de todas las magnitudes no fue paramétrica y para mantener la homogeneidad se decidió expresar los resultados como mediana y rango intercuartílico (tablas 9, 10 y 11).

5. Resultados

Gasometría			
Magnitud	Unidades	Mediana	Rango intercuartílico
pH	-	7,36	7,34 - 7,38
pCO ₂	mmHg	50,80	46,20 - 54,60
pO ₂	mmHg	24,60	20,30 - 31,80
Ca ²⁺	mmol/L	1,22	1,19 - 1,24
Bicarbonato	mg/dL	28,40	26,70 - 29,80
Lactato	mg/dL	0,80	0,60 - 1,10
Anión Gap	-	11,90	11,00 - 12,60

Tabla 9. Mediana y rango intercuartílico de la concentración de las magnitudes de la gasometría analizadas en la población de atletas estudiada para las cuales no se encontraron diferencias entre ambos sexos.

Bioquímica				
Magnitud	Sexo	Unidades	Mediana	Rango intercuartílico
Albúmina	♂ / ♀	g/dL	4,4	4,3 - 4,6
ALT	♂ / ♀	UI/L	15,0	11,0 - 20,0
Amilasa	♂ / ♀	UI/L	66,0	56,0 - 77,0
AST	♂ / ♀	UI/L	26,0	21,0 - 31,0
Bilirrubina directa	♂ / ♀	mg/dL	0,2	0,2 - 0,3
Bilirrubina total	♂ / ♀	mg/dL	0,7	0,5 - 0,8
Calcio	♂ / ♀	mg/dL	9,5	9,2 - 9,6
CK	♂ / ♀	UI/L	160,0	88,8 - 261,0
Cloro	♂ / ♀	mEq/L	104,5	103,5 - 105,8
Colesterol HDL	♂ / ♀	mg/dL	59,6	50,8 - 67,8
Colesterol LDL	♂ / ♀	mg/dL	99,9	85,9 - 113,9
Colesterol Total	♂ / ♀	mg/dL	160,0	148,0 - 182,5
Creatinina	♂	mg/dL	1,0	0,9 - 1,2
	♀		0,8	0,8 - 0,9
Ferritina	♂	ng/mL	60,3	38,4 - 111,1
	♀		20,9	12,4 - 36,6
Fosfatasa Alcalina	♂ / ♀	UI/L	59,0	50,0 - 71,0
Fosfato	♂ / ♀	mg/dL	3,6	3,3 - 3,9
GGT	♂	UI/L	20,0	15,0 - 28,0
	♀		19,0	14,0 - 23,0
Glucosa	♂ / ♀	mg/dL	75,5	72,0 - 79,3
Hierro	♂	µg/dL	81,4	67,2 - 108,9
	♀		63,4	42,9 - 93,7
LDH	♂ / ♀	UI/L	171,0	154,0 - 189,3
Magnesio	♂ / ♀	mg/dL	2,1	2,0 - 2,2
Potasio	♂ / ♀	mEq/L	4,3	4,2 - 4,6
PCR	♂ / ♀	mg/L	0,2	0,1 - 0,8

5. Resultados

Bioquímica				
Magnitud	Sexo	Unidades	Mediana	Rango intercuartílico
Proteínas totales	♂ / ♀	g/dL	7,1	6,8 - 7,5
Sodio	♂ / ♀	mEq/L	141,4	140,7 - 142,1
Transferrina	♂	mg/dL	259,5	241,0 - 274,0
	♀		287,0	247,5 - 313,0
Triglicéridos	♂ / ♀	mg/dL	62,0	49,0 - 76,0
Urato	♂	mg/dL	5,6	5,1 - 6,1
	♀		4,2	3,6 - 4,6
Urea	♂ / ♀	mg/dL	39,0	33,0 - 45,0
Troponina I	♂	ng/L	13,3	7,5 - 46,2
	♀		6,1	3,8 - 30,6

Tabla 10. Mediana y rango intercuartílico de la concentración de las magnitudes bioquímicas analizadas en la población de atletas estudiada. Las magnitudes en las que existen diferencias en función del sexo, se presentan por separado.

Hemograma				
Magnitud	Unidades	Sexo	Mediana	Rango
Hematíes	10 ⁶ /μL	♂	4,9	4,7 - 5,1
		♀	4,5	4,3 - 4,7
Hemoglobina	g/dL	♂	14,9	14,3 - 15,5
		♀	13,9	13,3 - 14,4
Hematocrito	%	♂	45,7	44,0 - 47,1
		♀	42,8	41,0 - 44,3
VCM	fL	♂ / ♀	94,1	90,6 - 96,9
HCM	pg	♂ / ♀	30,9	29,4 - 31,8
CHCM	g/dL	♂ / ♀	32,7	32,1 - 33,2
mCHCM	g/dL	♂ / ♀	32,6	32,0 - 33,1
RDW	%	♂ / ♀	13,2	12,8 - 13,6
Reticulocitos	%	♂ / ♀	1,3	1,1 - 1,7
	10 ³ /μL	♂ / ♀	62,4	50,8 - 77,0
Leucocitos	10 ³ /μL	♂ / ♀	5,1	4,4 - 5,9
Plaquetas	10 ³ /μL	♂ / ♀	216,0	187 - 253

Tabla 11. Mediana y rango intercuartílico de la medida de las magnitudes hematológicas analizadas en la población de atletas estudiada. Las magnitudes en las que existen diferencias en función del sexo, se presentan por separado.

5. Resultados

5.2. Estimados de Variación Biológica intra e interindividuales

Los resultados de los estimados de Variación Biológica intra e interindividuales para las magnitudes de gasometría, bioquímica y hematología se muestran en las tablas 12, 13 y 14.

Después de realizar el análisis para la detección de los *outliers*, una media de 3,7 (0,1 – 13,9) % de los resultados fueron eliminados. Las magnitudes con mayor porcentaje de *outliers* eliminados fueron el recuento de leucocitos (13,9%), el RDW (12,5%), la AST (10,1%) el recuento de reticulocitos (9,4%). En estas magnitudes fueron eliminados hasta tres sujetos por falta de homocedasticidad o por no cumplir los criterios de Reed's.

En el caso de la troponina I, también fueron eliminados tres sujetos debido a valores muy por encima de la normalidad y del resto de atletas (no cumplieron criterios de Reed's). Los valores medios de troponina I para estos tres sujetos fueron de 484,7 , 728,6 y 923,2 ng/L. Además, para el cálculo de los estimados de la troponina I se descartaron 57 resultados por debajo del LoQ declarado por el fabricante 2,5 ng/L.

La mayoría de las magnitudes como la hemoglobina (figura 4), cumplieron los criterios de homocedasticidad (C Cochrane), sin embargo, hubo un grupo de magnitudes que fueron consideradas como no homocedásticas porque la dispersión de los resultados los atletas no cumplió los criterios de C Cochrane. Entre este grupo se encontraron la amilasa, la bilirrubina total y directa, la CK, la ferritina, transferrina y hierro, la GGT, la PCR, el lactato y la troponina I (figura 5).



Figura 4. Diagrama de cajas con los resultados de hemoglobina (g/dL) para cada uno de los sujetos incluidos en el estudio, que fue considerada una magnitud homocedástica.

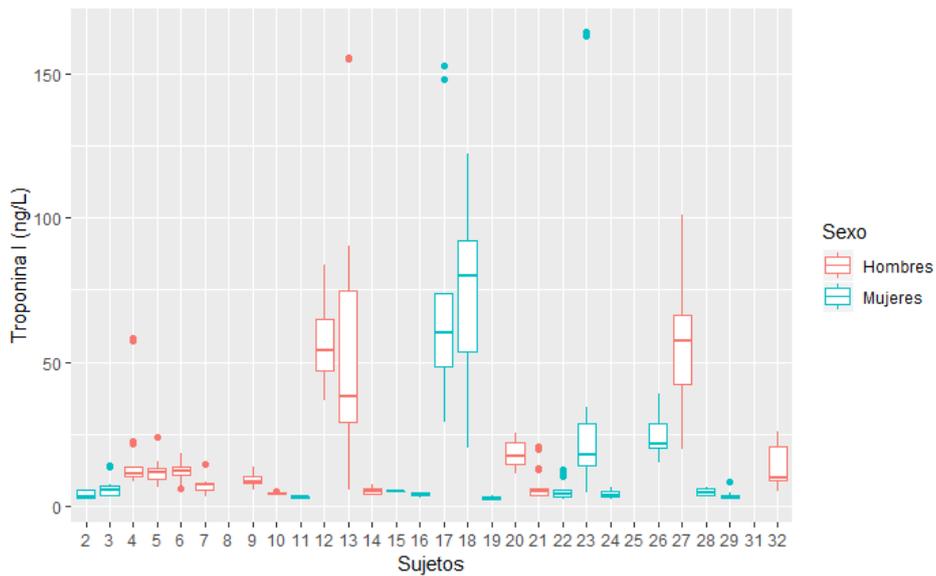


Figura 5. Diagrama de cajas con los resultados de troponina I (ng/L) para cada uno de los sujetos incluidos en el estudio, que fue considerada una magnitud no homocedástica.

5. Resultados

Para el cálculo de los estimados de VB, primero se realizó el cálculo separando en dos grupos según el sexo; en caso de solapamiento de los IC, se consideró que no existían diferencias significativas y por tanto, se muestran los estimados de forma conjunta. Se encontraron diferencias significativas entre los dos géneros para las siguientes magnitudes: recuento de plaquetas, ferritina, fosfatasa alcalina, hierro y urea. Para estas magnitudes se expresan los estimados por separado en función del sexo.

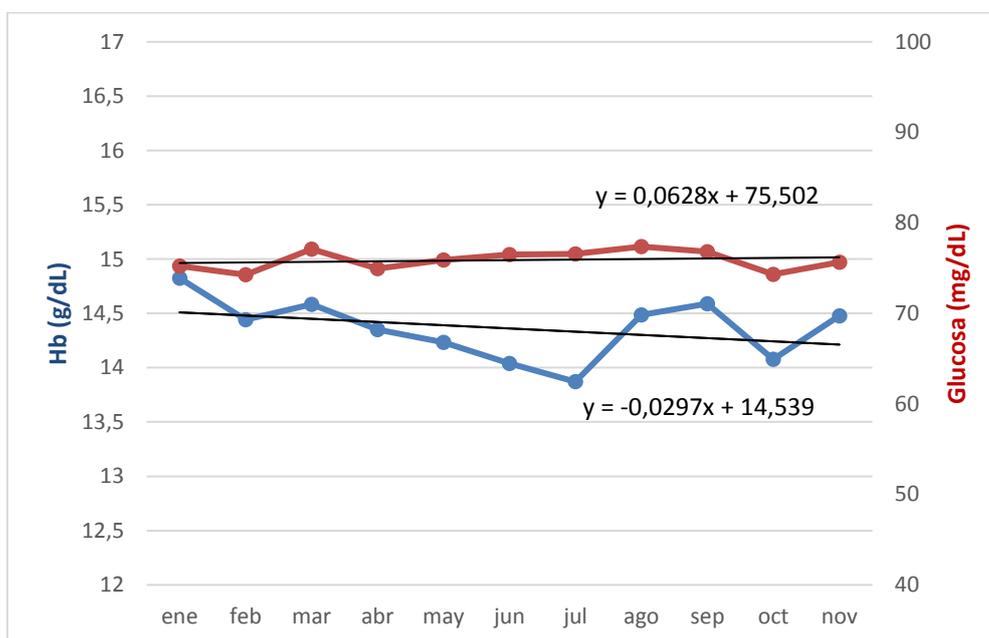


Figura 6. Representación gráfica de la media de los resultados de todos los sujetos para el análisis de tendencia de la hemoglobina (g/dL) en azul y la glucosa (mg/dL) en rojo, en función del tiempo.

Respecto al análisis de tendencia, aplicando los criterios especificados, no se evidenció tendencia significativa para ninguna de las magnitudes, ni entre los resultados de un mismo sujeto, ni para el conjunto de todos los resultados como se puede observar en las figuras 6 y 7.

Estos resultados verificaron que las magnitudes estudiadas se mantuvieron estables durante el desarrollo del estudio para los atletas, además de la ausencia

5. Resultados

de un sesgo significativo entre las mediciones de las magnitudes de hemograma y gasometría (análisis en distintas series analíticas).

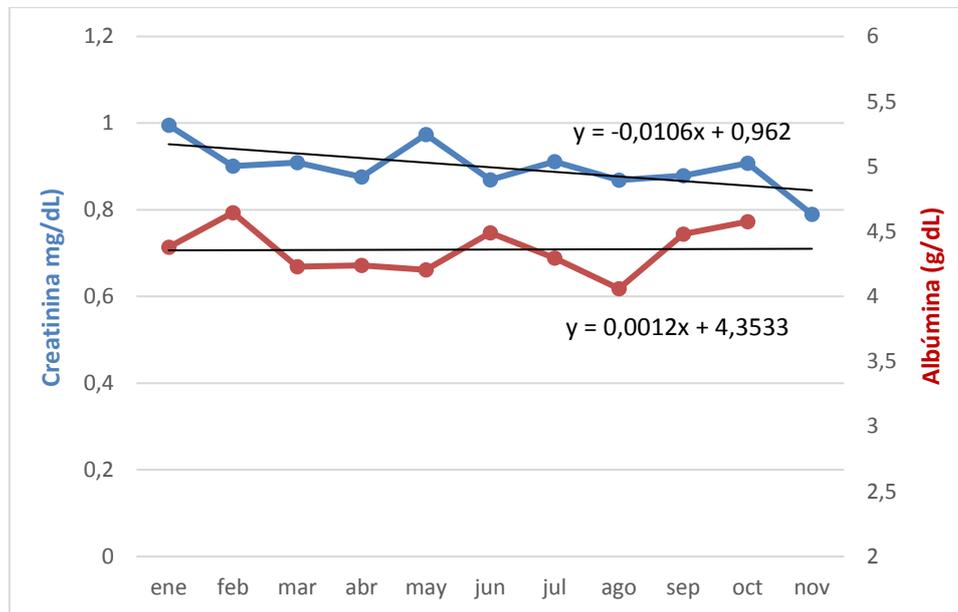


Figura 7. Representación gráfica de los resultados de un individuo para el análisis de tendencia de la creatinina (mg/dL) en azul y la albúmina (g/dL) en rojo en función del tiempo.

5. Resultados

Estimados de Variación Biológica de magnitudes de la gasometría												
Mensurando	Unidades	Nº de sujetos	Nº de resultados incluidos	% de Outliers	Media	SD	Sexo	CV _A	CV _I	IC (95%)	CV _G	IC (95%)
Bicarbonato	mg/dL	30	574	1,7	28,2	1,9	♂ / ♀	0,6	4,6	4,2 - 5,0	6,7	67,9 - 8,9
Ca ²⁺	mmol/L	30	573	1,9	1,2	0,0	♂ / ♀	0,5	1,8	1,6 - 2,0	2,0	1,5 - 2,7
Exceso de Bases	-	30	565	3,3	2,0	1,3	♂ / ♀	12,3	146,0	134,6 - 159,5	216,8	135,4 - 465,9
pCO ₂	mmHg	30	578	1,0	50,0	5,2	♂ / ♀	0,8	7,8	7,2 - 8,6	10,4	8,0 - 13,9
pH	-	30	575	1,5	7,362	0,024	♂ / ♀	0,049	0,295	0,271 - 0,323	0,312	0,240 - 0,419
[H ⁺]	nmol/L	30	571	2,2	42,7	3,0	♂ / ♀	0,9	4,8	4,4 - 5,3	5,1	3,9 - 6,8
pO ₂ *	mmHg	30	576	1,4	27,9	8,7	♂ / ♀	3,2	24,4	22,4 - 25,9	26,6	20,3 - 36,2
Lactato*	mg/dL	30	569	2,6	0,9	0,3	♂ / ♀	9,6	34,0	31,1 - 37,5	27,9	20,7 - 38,7
Anión Gap	-	30	564	3,4	11,3	1,0	♂ / ♀	7,5	12,4	11,0 - 13,9	5,5	3,2 - 8,3

Tabla 12. Número de sujetos y resultados incluidos para el cálculo de los estimados de VB, porcentaje de outliers excluidos, media y desviación estándar (SD) de los resultados, imprecisión analítica (CV_A), estimados de VB intraindividual (CV_I) e interindividual (CV_G) y sus intervalos de confianza al 95% para las magnitudes de la gasometría en atletas separados en el caso de que hubiera diferencias significativas. * Magnitudes no homocedásticas.

5. Resultados

Estimados de Variación Biológica de magnitudes bioquímicas												
Mensurando	Unidades	Nº de sujetos	Nº de resultados incluidos	% de Outliers	Media	SD	Sexo	CV _A	CV _i	IC (95%)	CV _G	IC (95%)
Albúmina	g/dL	30	575	1,5	4,4	0,2	♂ / ♀	1,1	3,2	2,9 - 3,5	3,8	2,9 - 5,1
ALT	UI/L	30	535	8,4	15,2	4,5	♂ / ♀	23,0	27,6	24,2 - 31,4	30,7	23,1 - 42,6
Amilasa*	UI/L	29	556	4,8	66,6	15,6	♂ / ♀	1,4	8,8	8,1 - 9,6	22,7	17,9 - 30,8
AST	UI/L	28	525	10,1	25,3	6,0	♂ / ♀	9,2	17,2	15,5 - 19,1	24,7	18,9 - 33,8
Bilirrubina directa*	mg/dL	29	550	5,8	0,22	0,09	♂ / ♀	4,0	25,2	23,0 - 27,7	28,3	21,5 - 38,9
Bilirrubina total*	mg/dL	29	556	4,8	0,72	0,25	♂ / ♀	1,7	23,7	21,8 - 25,9	27,8	21,6 - 38,2
Calcio	mg/dL	30	575	1,5	9,4	0,2	♂ / ♀	1,3	1,9	1,7 - 2,1	2,3	1,8 - 3,1
CK*	UI/L	30	548	4,5	189,2	103,5	♂ / ♀	5,4	48,7	44,3 - 50,1	57,8	43,1 - 83,1
Cloro	mEq/L	30	570	2,4	104,9	1,3	♂ / ♀	0,4	1,2	1,1 - 1,3	1,2	0,9 - 1,6
Colesterol HDL	mg/dL	29	554	5,1	59,1	10,5	♂ / ♀	1,2	8,7	8,0 - 9,5	18,8	14,8 - 25,6
Colesterol LDL	mg/dL	30	552	5,5	100,7	24,3	♂ / ♀	1,4	10,6	9,7 - 11,6	28,0	22,2 - 38,1
Colesterol Total	mg/dL	28	547	6,3	165,3	25,0	♂ / ♀	1,3	7,0	6,4 - 7,7	13,8	10,7 - 18,6
Creatinina	mg/dL	29	555	5,0	0,9	0,1	♂ / ♀	3,0	4,5	4,0 - 5,0	13,3	10,5 - 17,8

5. Resultados

Estimados de Variación Biológica de magnitudes bioquímicas												
Mensurando	Unidades	Nº de sujetos	Nº de resultados incluidos	% de Outliers	Media	SD	Sexo	CV _A	CV _I	IC (95%)	CV _G	IC (95%)
Ferritina*	ng/mL	30	574	1,7	58,9	50,6	♂	2,7	22,3	19,8 - 25,4	81,4	59,5 - 147,1
							♀	5,3	39,2	34,2 - 45,7	71,9	48,1 - 127,9
Fosfatasa Alcalina	UI/L	29	561	3,9	60,2	13,7	♂	1,5	7,0	6,2 - 8,0	15,0	10,7 - 22,8
							♀	1,3	9,5	8,5 - 10,9	28,3	20,7 - 44,9
Fosfato	mg/dL	30	576	1,4	3,6	0,3	♂ / ♀	2,1	9,3	8,6 - 10,2	7,8	5,8 - 10,6
GGT*	UI/L	30	582	0,3	21,6	9,3	♂ / ♀	8,5	20,1	18,3 - 22,1	41,7	32,2 - 57,1
Glucosa	mg/dL	30	569	2,6	76,0	4,4	♂ / ♀	1,2	5,9	5,4 - 6,5	5,2	5,4 - 6,5
Hierro*	µg/dL	30	572	2,1	83,1	28,2	♂	1,1	29,1	26,0 - 33,0	24,4	16,7 - 40,1
							♀	1,3	44,0	39,3 - 50,0	36,4	24,8 - 59,8
LDH	UI/L	28	542	7,2	170,9	20,9	♂ / ♀	1,0	8,3	7,6 - 9,1	11,5	8,8 - 15,6
Magnesio	mg/dL	30	578	1,0	2,1	0,1	♂ / ♀	1,6	3,3	3,0 - 3,7	3,7	2,9 - 5,0
PCR*	mg/L	30	566	3,1	0,63	0,59	♂ / ♀	8,6	141,5	130,5 - 154,5	155,6	120,9 - 213,0
Potasio	mEq/L	29	546	6,5	4,4	0,2	♂ / ♀	0,6	4,6	4,2 - 5,1	4,3	3,3 - 5,9
Proteínas totales	g/dL	30	571	2,2	7,1	0,3	♂ / ♀	0,9	3,4	3,2 - 3,8	4,6	3,6 - 6,2

Estimados de Variación Biológica de magnitudes bioquímicas												
Mensurando	Unidades	Nº de sujetos	Nº de resultados incluidos	% de Outliers	Media	SD	Sexo	CV _A	CV _I	IC (95%)	CV _G	IC (95%)
Sodio	mEq/L	30	569	2,6	141,4	0,7	♂ / ♀	0,4	0,5	0,4 - 0,6	0,4	0,3 - 0,6
Transferrina	mg/dL	30	578	1,0	269,2	35,4	♂ / ♀	1,4	4,8	4,4 - 5,3	12,5	9,8 - 16,5
Triglicéridos	mg/dL	29	540	7,5	62,1	12,0	♂ / ♀	2,3	19,3	17,7 - 21,1	22,2	16,9 - 30,3
Urato	mg/dL	30	573	1,9	4,9	1,0	♂ / ♀	1,0	8,9	8,2 - 9,7	20,6	26,3 - 27,8
Urea	mg/dL	30	570	2,4	38,7	7,5	♂	1,3	12,6	11,2 - 14,4	10,3	6,9 - 16,1
	♀						1,4	16,0	14,7 - 18,2	20,9	14,7 - 34,2	
Troponina I*	ng/L	27	467	11,4	7,3**	4,6-21,5	♂ / ♀	4,7	49,4	45,4 - 54,3	123,5	96,8 - 169,9

Tabla 13. Número de sujetos y resultados incluidos para el cálculo de los estimados de VB, porcentaje de outliers excluidos, media y desviación estándar (SD) de los resultados, imprecisión analítica (CV_A), estimados de VB intraindividual (CV_I) e interindividual (CV_G) y sus intervalos de confianza al 95% para las magnitudes bioquímicas en atletas separados en el caso de que hubiera diferencias significativas. Los estimados en los que se encontraron diferencias entre ambos sexos se reportan por separado. * Magnitudes no homocedásticas. ** La concentración de la troponina I está expresada como mediana y rango intercuartílico debido a la distribución no gaussiana de los datos.

5. Resultados

Estimados de Variación Biológica de magnitudes hematológicas												
Mensurando	Unidades	Nº de sujetos	Nº de resultados incluidos	% de Outliers	Media	SD	Sexo	CV _A	CV _I	IC (95%)	CV _G	IC (95%)
Hemoglobina	10 ⁶ /μL	30	574	1,7	14,4	0,8	♂ / ♀	0,9	3,4	3,1 - 3,7	5,6	4,4 - 7,4
Hematíes	g/dL	30	578	1,0	4,7	0,3	♂ / ♀	0,8	3,4	3,2 - 3,8	7,2	5,7 - 9,6
Hematocrito	%	30	578	1,0	44,0	2,2	♂ / ♀	0,9	3,5	3,2 - 3,8	4,8	3,7 - 6,4
VCM	fL	30	568	2,7	94,3	4,6	♂ / ♀	0,2	1,3	1,2 - 1,4	4,7	3,0 - 6,4
HCM	pg	30	580	0,7	30,8	1,6	♂ / ♀	1,1	1,5	1,3 - 1,7	5,1	4,0 - 6,7
CHCM	g/dL	30	582	0,3	32,7	0,6	♂ / ♀	1,1	1,6	1,4 - 1,8	1,7	1,3 - 2,3
mCHCM	g/dL	30	572	2,1	32,6	0,8	♂ / ♀	0,1	1,7	1,6 - 1,9	2,4	1,9 - 3,3
RDW	%	27	511	12,5	11,9	4,1	♂ / ♀	0,8	2,2	2,0 - 2,4	3,6	2,8 - 4,9
Reticulocitos (%)	%	30	558	4,5	1,4	0,3	♂ / ♀	9,9	23,8	21,6 - 26,3	16,9	12,4 - 23,5
Reticulocitos	10 ³ /μL	27	529	9,4	61,7	9,6	♂ / ♀	10,0	23,9	21,6 - 26,5	12,4	8,1 - 18,1
OFF-hr Score	-	30	559	3,0	71,8	11,9	♂	6,0	11,4	9,9 - 13,2	10,0	6,6 - 15,8
							♀	5,8	19,5	17,2 - 22,3	12,3	7,8 - 19,9
Leucocitos	10 ³ /μL	27	503	13,9	4,8	1,5	♂ / ♀	2,1	12,2	11,1 - 13,4	13,0	9,8 - 17,9
Plaquetas	10 ³ /μL	30	572	2,1	219,8	41,3	♂ / ♀	2,9	7,9	7,2 - 8,6	19,4	15,2 - 25,8

Tabla 14. Número de sujetos y resultados incluidos para el cálculo de los estimados de VB, porcentaje de outliers excluidos, media y desviación estándar (SD) de los resultados, imprecisión analítica (CV_A), estimados de VB intraindividual (CV_I) e interindividual (CV_G) y sus intervalos de confianza al 95% para las magnitudes bioquímicas en atletas separados en el caso de que hubiera diferencias significativas. Los estimados en los que se encontraron diferencias entre ambos sexos se reportan por separado.

5.3. Comparación de los estimados de Variación Biológica en atletas con los publicados en la bibliografía en población sana

Para facilitar la comparación y la visualización, los resultados de las fuentes bibliográficas utilizadas para comparar los estimados de BV en individuos sanos han sido incluidos en las tablas junto con los resultados de este estudio (tabla 15).

Comparación de los estimados de Variación Biológica de las magnitudes de la gasometría derivados de este estudio con los disponibles en la bibliografía						
Mensurando	Estimados en atletas		Base de Datos EFLM (32)		Base de Datos Ricós 2014 (16)	
	CV _I (IC 95%)	CV _G (IC 95%)	CV _I	CV _G	CV _I	CV _G
Bicarbonato	4,6 (4,2 - 5,0)	6,7 (5,2 - 8,9)	-	-	4,0	4,8
Calcio ionizado	1,8 (1,6 - 2,0)	2,0 (1,5 - 2,7)	-	-	1,7	1,9
Exceso de Bases	146,0 (134,6 - 159,5)	216,8 (135,4 - 465,9)	-	-	76,4	43,2
pCO ₂	7,8 (7,2 - 8,6)	10,4 (8,0 - 13,9)	-	-	4,8	5,3
pH	0,295 (0,271 - 0,323)	0,312 (0,240 - 0,419)	-	-	0,200	-
[H ⁺]	4,8 (4,4 - 5,3)	5,1 (3,9 - 6,8)	-	-	3,5	2,0
pO ₂	24,4 (22,4 - 25,9)	26,6 (20,3 - 36,2)	-	-	-	-
Lactato	34,0 (31,1 - 37,5)	27,9 (20,7 - 38,7)	31,0	29,0	27,2	16,7

Tabla 15. Comparación de los estimados de VB intraindividual (CV_I) e interindividual (CV_G) de magnitudes de la gasometría derivados de los resultados de este estudio en atletas, con los publicados en la bibliografía en individuos sanos.

Los estimados de VB para las magnitudes de la gasometría en nuestra población de atletas fueron ligeramente superiores en el caso del calcio ionizado y claramente superiores en el resto, donde el límite inferior del IC (95%) de todos

5. Resultados

los estimados fue superior al valor reportado en la base de datos de Ricós y colaboradores y la base datos de la EFLM, tanto para el CV_I como para el CV_G , exceptuando el estimado de CV_G para el lactato. En el caso de la VB de la pO_2 no existen estudios en la literatura para poder realizar la comparación.

Los estimados de VB de las magnitudes bioquímicas relacionadas con el metabolismo férrico (hierro, ferritina y transferrina) fueron claramente mayores a los publicados en individuos sanos. En el caso de los estimados de las magnitudes relacionadas con el metabolismo lipídico (Colesterol Total, HDL, LDL y triglicéridos) a pesar de ser más altos excepto para los triglicéridos, no se observan grandes diferencias, produciéndose un solapamiento entre los IC 95% de los estimados derivados de este estudio con las fuentes escogidas como referencia en individuos sanos (Base de datos de la EFLM, Ricós y EuBIVAS), excepto en el caso del estimado de CV_I para el LDL y HDL (tabla 16).

Los estimados de VB de las enzimas estudiadas fueron mayores para GGT, ALT, AST, fosfatasa alcalina y CK que los publicados en individuos sanos. En el caso de la amilasa y la LDH los estimados para CV_I son significativamente superiores a los reportados por el estudio EuBIVAS pero no por los de la base de datos de Ricós y colaboradores. Por otra parte, los estimados para CK fueron muy similares a los ya publicados en atletas (tabla 16).

El CV_I de los electrolitos estudiados es significativamente superior a los publicados en el estudio EuBIVAS en el caso del fosfato, potasio y cloruro. Sin embargo, no se observaron diferencias significativas, entre los estimados de VB para el sodio, calcio y magnesio entre individuos sanos y atletas (tabla 16).

Entre el resto de sustratos estudiados en atletas, cabría destacar las diferencias significativas encontradas para el CV_I en el caso de las proteínas totales, la PCR la bilirrubina total y la directa. No se observaron diferencias significativas entre los estimados de VB en atletas e individuos sanos para las magnitudes de creatinina, albúmina, glucosa, urato y urea (tabla 16).

Todos los estimados de CV_I en atletas derivados de este estudio para las magnitudes hematológicas fueron significativamente mayores a los publicados en individuos sanos en el estudio EuBIVAS, exceptuando el recuento leucocitario y plaquetario. En el caso del VCM, la HCM y el RDW no se encontraron diferencias significativas al comparar los estimados en atletas con los reportados por Ricós y colaboradores. Los estudios publicados en atletas observaron CV_I inferiores a los observados en este estudio (tabla 17).

5.1. Análisis de la influencia de las variables seleccionadas sobre los estimados de Variación Biológica

Después de realizar el análisis de cada una de las variables con potencial influencia sobre la VB para cada una de las magnitudes de laboratorio estudiadas, se realizó el recuento de las magnitudes con una variación relativa (antes y después de incluir la variable a estudio en el modelo lineal mixto) de los estimados de VB de más del 2%. Además, en las figuras 8 y 9 se pueden observar las máximas disminuciones y aumentos del CV_I y CV_G encontradas tras la inclusión de las variables seleccionadas en el modelo.

El tiempo de muestreo, no afectó a la mayoría de las magnitudes estudiadas, observándose la mayor reducción en el CV_I del CHCM (5.4%) y siendo el efecto sobre el CV_I del resto de magnitudes inferior al 4%.

En el caso de la enfermedad, la mayoría de las magnitudes no se vieron afectadas. La variable con mayor corrección del CV_I fue la PCR, con una disminución del 5,8%, pasando de un 134%, antes de tener en cuenta la presencia o no de enfermedad la semana previa a la extracción, a un 126,4% después de incluir la variable en el modelo.

5. Resultados

Comparación de los estimados de Variación Biológica de las magnitudes bioquímicas derivados de este estudio con los disponibles en la bibliografía										
Mensurando	Estimados en atletas		Base de Datos EFLM (32)		Estudio EuBIVAS (23, 25, 28)		Base de Datos Ricós 2014 (16)		Estudios en atletas (67, 69)	
	CV _i (IC 95%)	CV _G (IC 95%)	CV _i (IC 95%)	CV _G (IC 95%)	CV _i (IC 95%)	CV _G (IC 95%)	CV _i	CV _G	CV _i	CV _G
Hierro	37,1 (34,0 - 40,3)	33,3 (25,7 - 46,2)	-	-	-	-	26,5	23,2	-	-
Transferrina	4,8 (4,4 - 5,3)	12,5 (9,8 - 16,5)	-	-	3,4 (3,1-3,6)	13,9 (12,2-16,4)	3,0	4,3	-	-
Ferritina	30,8 (28,2 - 34,1)	94,8 (69,8 - 144,2)	-	-	-	-	14,2	15,0	23,5**	-
Colesterol Total	7,0 (6,4 - 7,7)	13,8 (10,7 - 18,6)	5,8 (5,2 - 7,8)	17,3 (14,8 - 17,8)	5,2 (4,9 - 5,5)	17,4 (15,1 - 20,4)	6,0	15,3	5,4*	15,8*
Colesterol LDL	10,6 (9,7 - 11,6)	28,0 (22,2 - 38,1)	7,0 (5,1 - 10,7)	20,9 (17,4 - 38,0)	8,5 (8,1 - 8,9)	28,2 (24,4 - 33,0)	7,8	20,4	-	-
Colesterol HDL	8,7 (8,0 - 9,5)	18,8 (14,8 - 25,6)	5,7 (5,7 - 7,7)	24,8 (20,5 - 26,1)	5,7 (5,4 - 6,0)	25,1 (21,5 - 29,3)	7,3	21,2	-	-
Triglicéridos	19,3 (17,7 - 21,1)	22,2 (16,9 - 30,3)	20,3 (19,2 - 24,8)	38,9 (32,8 - 47,3)	19,8 (18,9 - 20,9)	40,3 (34,6 - 48,1)	19,9	32,7	24,0*	36,6*
Glucosa	5,9 (5,4 - 6,5)	5,2 (5,4 - 6,5)	4,8 (4,7 - 6,8)	7,9 (5,5 - 8,1)	4,7 (4,4 - 4,9)	8,1 (7,1 - 9,7)	5,6	7,5	-	-
AST	17,2 (15,5 - 19,1)	24,7 (18,9 - 33,8)	-	-	9,5 (9,0-10,2)	20,3 (17,7-24,2)	12,3	23,1	-	-
ALT	27,6 (24,2 - 31,4)	30,7 (23,1 - 42,6)	-	-	9,3 (8,7-10,0)	28,0 (24,7-33,9)	19,4	41,6	-	-
GGT	20,1 (18,3 - 22,1)	41,7 (32,2 - 57,1)	-	-	8,9 (8,1-9,7)	45,1 (38,9-54,2)	13,4	42,15	-	-
Fosfatasa Alcalina	8,3 (7,7 - 9,1)	22,5 (17,7 - 30,5)	-	-	5,3 (5,0-5,7)	24,9 (21,4-29,3)	6,5	26,1	-	-
Amilasa	8,8 (8,1 - 9,6)	22,7 (17,9 - 30,8)	-	-	6,3 (6,0-6,7)	24,9 (21,9-30,1)	8,7	28,3	-	-
LDH	8,3 (7,6 - 9,1)	11,5 (8,8 - 15,6)	-	-	5,2 (5,0-5,5)	12,6 (10,8-14,7)	8,6	14,7	-	-
CK	48,7 (44,3 - 50,1)	57,8 (43,1 - 83,1)	-	-	14,5 (13,8-15,4)	37,9 (32,8-45,8)	22,8	40	43,3*	67,9*
Urea	14,3 (13,2 - 15,7)	20,4 (16 - 27,9)	-	-	14,1 (13,4-14,8)	22,5 (19,8-27,0)	22,1	18,7	14,4*	20,0*
Creatinina	4,5 (4,0 - 5,0)	13,3 (10,5 - 17,8)	-	-	4,7 (4,4-5,1)	17,8 (15,3-21,3)	6,0	14,7	8,51*	11,9*
Fosfato	9,32 (8,55 - 10,21)	7,77 (5,84 - 10,60)	-	-	7,67 (7,24-8,09)	10,50 (9,2-12,6)	8,15	10,80	-	-
Magnesio	3,31 (3,01 - 3,65)	3,74 (2,88 - 5,04)	-	-	2,88 (2,68-3,09)	5,79 (5,06-6,86)	3,60	6,40	-	-
Calcio	1,90 (1,70 - 2,12)	2,34 (1,79 - 3,15)	-	-	1,81 (1,72-1,92)	2,73 (2,36-3,22)	2,10	2,50	-	-
Potasio	4,63 (4,24 - 5,07)	4,35 (3,28 - 5,93)	-	-	3,92 (3,73-4,13)	4,08 (3,61-4,98)	4,60	5,60	-	-

Comparación de los estimados de Variación Biológica de las magnitudes bioquímicas derivados de este estudio con los disponibles en la bibliografía										
	Estimados en atletas		Base de Datos EFLM (32)		Estudio EuBIVAS (23, 25, 28)		Base de Datos Ricós 2014 (16)		Estudios en atletas (67, 69)	
Cloruro	1,21 (1,10 - 1,32)	1,16 (0,88 - 1,57)	-	-	0,98 (0,93-1,04)	1,34 (1,17-1,60)	1,20	1,50	-	-
Sodio	0,50 (0,44 - 0,56)	0,43 (0,32 - 0,59)	-	-	0,53 (0,50-0,57)	1,21 (1,06-1,43)	0,60	0,70	-	-
Bilirrubina Total	23,7 (21,8 - 25,9)	27,8 (21,6 - 38,2)	-	-	20,9 (19,9-22,0)	26,6 (22,5-31,6)	21,8	28,4	-	-
Bilirrubina Directa	25,2 (23,0 - 27,7)	28,3 (21,5 - 38,9)	-	-	20,9 (19,8-22,0)	31,1 (26,4-36,9)	36,8	43,2	-	-
Albumina	3,2 (2,9 - 3,5)	3,8 (2,9 - 5,1)	-	-	2,5 (2,4-2,7)	5,1 (4,4-5,9)	3,2	4,8	-	-
Proteínas totales	3,4 (3,2 - 3,8)	4,6 (3,6 - 6,2)	-	-	2,6 (2,5-2,7)	4,6 (4,0-5,4)	2,8	4,7	-	-
Urato	8,9 (8,2 - 9,7)	20,6 (26,3 - 27,8)	-	-	8,3 (7,9-8,8)	23,6 (20,4-27,5)	8,6	17,5	12,1*	20*
PCR	141,5 (130,5 - 154,5)	155,6 (120,9 - 213)	-	-	29,9 (27,6-31,1)	87,0 (72,6-109,6)	42,2	76,3	74,4*	71,3*
Troponina I	49,4 (45,4 -54,3)	123,5 (96,8 - 169,9)	-	-	-	-	14,1	63,8	-	-

Tabla 16. Comparación de los estimados de VB intraindividual (CV_I) e interindividual (CV_G) de magnitudes bioquímicas derivados de los resultados de este estudio en atletas con los publicados en la bibliografía en individuos sanos y atletas; *Nunes y colaboradores (69); ** Malcovati y colaboradores (67).

5. Resultados

Comparación de los estimados de Variación Biológica de las magnitudes hematológicas derivados de este estudio con los disponibles en la bibliografía										
Mensurando	Estimados en atletas		Base de Datos EFLM (32)		Estudio EuBIVAS (98)		Base de Datos Ricós 2014 (16)		Estudios en atletas (67, 69)	
	CV _I	CV _G	CV _I	CV _G	CV _I	CV _G	CV _I	CV _G	CV _I	CV _G
Hematocrito	3,48 (3,19 - 3,82)	4,81 (3,74 - 6,42)	-	-	2,82 (2,59 - 3,09)	5,46 (3,87 - 9,07)	2,70	6,41	2,80*/3,11**	5,20*
Hemoglobina	3,40 (3,11 - 3,72)	5,58 (4,37 - 7,43)	-	-	2,74 (2,52 - 3,00)	5,81 (4,08 - 9,57)	2,85	6,80	2,70*/2,89**	5,60*
Hematíes	3,45 (3,16 - 3,78)	7,21 (5,66 - 9,56)	-	-	2,77 (2,55 - 3,04)	5,58 (4,01 - 9,40)	3,20	6,30	2,90*	6,30*
VCM	1,31 (1,2 - 1,4)	4,74 (3,8 - 6,4)	-	-	0,72 (0,66 - 0,79)	3,96 (3,15 - 5,33)	1,40	4,85	0,80*	3,40*
HCM	1,48 (1,32 - 1,65)	5,1 (4,02 - 6,74)	-	-	0,75 (0,65 - 0,86)	2,9 (2,22 - 5,15)	1,40	5,20	1,30*	4,30*
CHCM	1,58 (1,41 - 1,76)	1,72 (1,32 - 2,32)	-	-	0,97 (0,87 - 1,09)	1,59 (1,13 - 2,69)	1,06	1,20	1,10*	2,30*
CHCMm	1,71 (1,6 - 1,9)	2,43 (1,9 - 3,3)	-	-	-	-	-	-		
RDW	2,16 (1,96 - 2,38)	3,61 (2,79 - 4,89)	-	-	1,65 (1,51 - 1,81)	2,20 (1,52 - 3,68)	3,50	5,70	2,00*	4,60*
Reticulocitos (%)	23,81 (21,62 - 26,34)	16,92 (12,37 - 23,54)	-	-	-	-	-	-	17,47**	
Reticulocitos (valor absoluto)	23,88 (21,62 - 26,5)	12,37 (8,15 - 18,13)	-	-	10,83 (9,90 - 11,92)	18,89 (13,35 - 31,57)	11,00	29,00		
Leucocitos	12,16 (11,1 - 13,41)	12,98 (9,8 - 17,86)	-	-	12,82 (11,51 - 14,46)	16,53 (12,83 - 22,08)	11,40	21,30	15,90*	25,10*
Plaquetas	7,85 (7,17 - 8,64)	19,35 (15,19 - 25,79)	-	-	7,22 (6,63 - 7,91)	17,42 (12,90 - 26,71)	9,10	21,90	7,80*	22,50*

Tabla 17. Comparación de los estimados de *VB intraindividual (CV_I) e interindividual (CV_G)* derivados de los resultados de este estudio en atletas con los publicados en la bibliografía en individuos sanos y atletas; *Nunes y colaboradores (69); ** Malcovati y colaboradores (67).

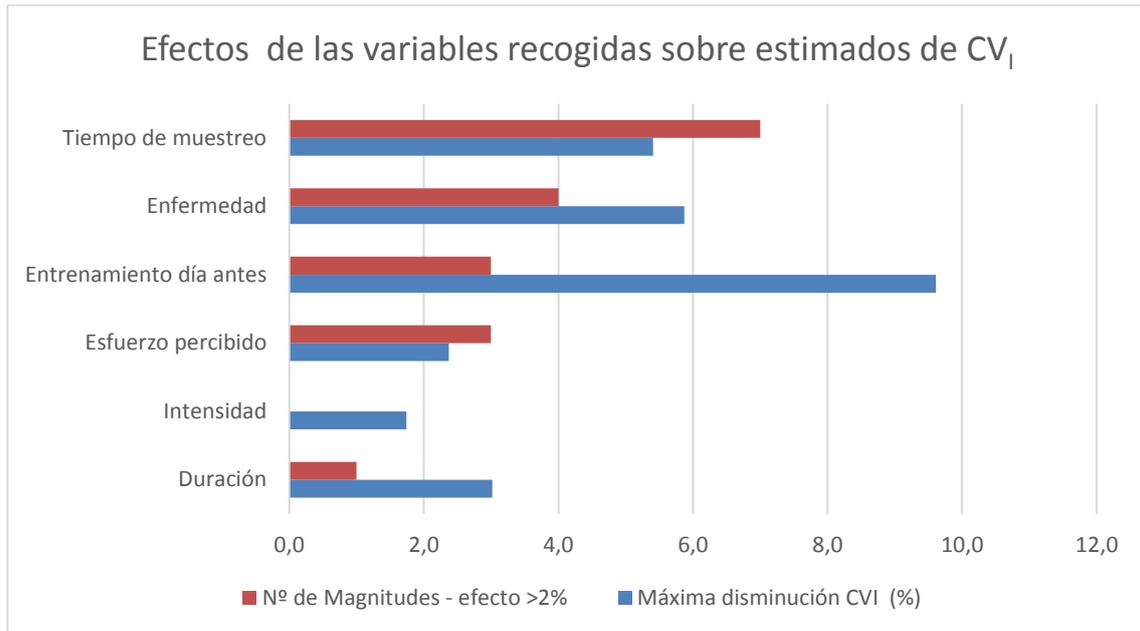


Figura 8. *Máxima disminución del estimado de VB intraindividual (CVI) después de incorporar las variables con potencial influencia sobre la VB en el modelo lineal mixto y número de magnitudes afectadas en más de un 2% por cada una de estas variables.*

El hecho de haber realizado actividad física moderada durante las 24h previas a la extracción no tuvo influencia para los estimados de CVI de la mayoría de magnitudes (figura 8). Sin embargo, cabe destacar una mayor influencia sobre la troponina I (-9,6%) y la CK (-7,0%) con una reducción del CVI de 49,3 a 44,7 % y de 48,6 a 45,2 % respectivamente después de incluir la variable del entrenamiento durante las 24 horas previas a la extracción en el modelo.

Respecto al esfuerzo percibido, la intensidad medida por zonas de FC y la duración media del ejercicio realizado durante la semana previa a la extracción no tuvieron un efecto apreciable sobre el CVI de la mayoría de las magnitudes. En el caso de la intensidad medida por zonas de FC no se observó ningún efecto superior al 2% sobre ninguna de las magnitudes (figura 8).

5. Resultados

En cuanto a las variables antropométricas estudiadas, las variables de IMC, porcentaje de grasa y VO₂max no tuvieron ningún efecto sobre el CV_I ya que ninguna de las tres varían entre las diferentes visitas de un mismo individuo y afectan a todas por igual.

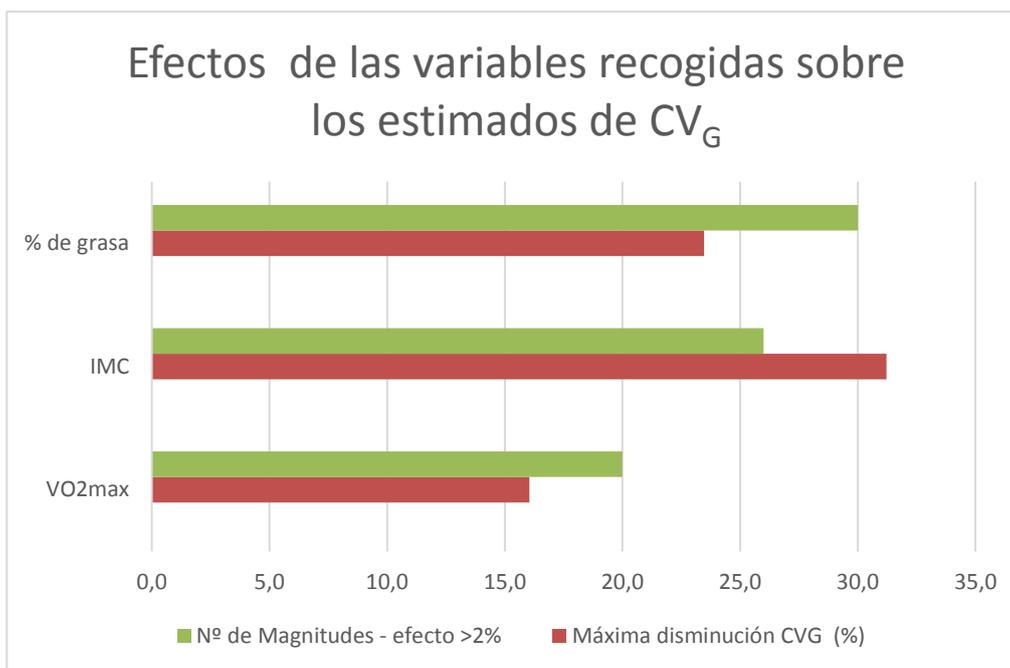


Figura 9. *Máxima disminución del estimado de VB interindividual (CV_G) después de incorporar las variables con potencial influencia sobre la VB en el modelo lineal mixto, y número de magnitudes afectadas en más de un 2% por cada una de estas variables.*

Las variables estudiadas tuvieron efectos de mayor magnitud y sobre mayor cantidad de magnitudes sobre los estimados de CV_G, excepto en el caso del estado de salud el cual apenas produjo ningún efecto sobre el CV_G (figura 9).

El % de grasa corporal tuvo un efecto superior al 2% sobre el CV_G de 30 magnitudes, destacando la CK, la PCR, el porcentaje de reticulocitos, el pH, la pCO₂ y el bicarbonato con reducciones superiores al 15% tras incluir esta variable en el modelo. El IMC tuvo efecto sobre el CV_G de magnitudes como la ferritina

(31,2%), la glucosa (26,8%), el recuento de reticulocitos (15,1%) y el urato (14,8), sobre el resto de magnitudes el IMC produjo una reducción inferior al 10%.

El VO₂max, es decir la capacidad aeróbica de los atletas, tuvo un efecto de mayor magnitud sobre el CV_G de la PCR (-16,0%), la amilasa (-10,1%), los reticulocitos (-9,8%) la troponina I (-8,4%) y sobre el lactato (-8,1%), para el resto de magnitudes el CV_G experimento reducciones inferiores al 6%.

5.2. Intercambiabilidad de los intervalos de referencia biológicos en atletas

Los IRB de la mayoría de las magnitudes estudiadas fueron verificados, siendo estos transferibles a los de la población sana, sin embargo, no fueron verificados para algunas de las magnitudes de gasometría y bioquímicas.

Entre las magnitudes de la gasometría, se observaron resultados claramente desplazados hacia el extremo superior de los IRB descritos en población sana para la pCO₂, el calcio ionizado, el bicarbonato, el lactato, el exceso de bases y el anión gap. La amplitud de los nuevos IRB estimados para atletas, fue claramente mayor para la pO₂ y el lactato y menor para el anión gap y el exceso de bases (tabla 18).

Los IRB de las magnitudes bioquímicas como el hierro, la CK, la LDH, la bilirrubina directa y la troponina I no fueron verificados, así como los de la transferrina y ferritina para el sexo femenino. Los nuevos IRB fueron más amplios para el hierro y transferrina y ferritina en mujeres, y superiores en magnitudes como la LDH, CK, troponina I y bilirrubina directa (tabla 19).

En el caso de la troponina I, de un total de 146 resultados correspondientes a las atletas incluidas en el estudio, 25 (17%) estuvieron por encima del p99 descrito en población sana, observándose hasta en 4 de las 15 atletas (27%) al menos un

5. Resultados

valor por encima del p99. En el caso de los hombres estudiados, de un total de 146 resultados, 37 (22%) fueron superiores al p99, observando al menos un valor por encima del p99 en 6 de los 15 atletas (40%) (tabla 19).

Todos los IRB de las magnitudes hematológicas fueron verificados, considerándose estos transferibles (tabla 20).

Gasometría						
Mensurando	Unidades	Sexo	IRB	p	Verificado	IRB atletas
pH	-	♂ / ♀	7,33-7,43	0,66	Sí	-
pO ₂	mmHg	♂ / ♀	30-50	<0,05	No	15-65
pCO ₂	mmHg	♂ / ♀	38-50	<0,05	No	37-61
Ca ²⁺	mmol/L	♂ / ♀	1,00-1,20	<0,05	No	1,15-1,28
Bicarbonato	mg/dL	♂ / ♀	23-27	<0,05	No	23-32
Lactato	mg/dL	♂ / ♀	0,5-1,6	<0,05	No	0,4-2,0
Exceso de Bases	-	♀	-3,4-1,4	<0,05	No	-0,2-5,2
		♂	-2,7-2,5			-1,6-4,6
Anión Gap	-	♂ / ♀	0,8-16	<0,05	No	7,8-14,1

Tabla 18. IRB declarados por el proveedor para población sana de las diferentes magnitudes de la gasometría, si han sido verificados en la población de atletas estudiada y la correspondiente significación estadística (p). Para los IRB no verificados, se muestra los nuevos IRB calculados a partir de la población de atletas.

Bioquímica						
Mensurando	Unidades	Sexo	IRB	p	Verificado	IRB atletas
Albúmina	g/dL	♂ / ♀	2,9-5,2	0,43	Sí	-
Hierro	μg/dL	♀	50-170	<0,05	No	38-195
		♂	65-175			22-200
Transferrina	mg/dL	♀	250-380	<0,05	No	207-365
		♂	215-365	0,93	Sí	
Ferritina	ng/mL	♀	10-120	<0,05	No	6-136
		♂	20-250	1	Sí	
CK	UI/L	♂ / ♀	32-294	<0,05	No	46-639
Amilasa	UI/L	♂ / ♀	30-118	1	Sí	
LDH	UI/L	♂ / ♀	100-190	<0,05	No	131-228
Calcio	mg/dL	♂ / ♀	8,6-10,2	1	Sí	-

Bioquímica						
Mensurando	Unidades	Sexo	IRB	p	Verificado	IRB atletas
Magnesio	mg/dL	♂ / ♀	1,3-2,7	0,43	Sí	-
Fosfato	mg/dL	♂ / ♀	2,5-4,5	1	Sí	-
Glucosa	mg/dL	♂ / ♀	74-106	0,86	Sí	-
Creatinina	mg/dL	♀	0,5-1,1	1	Sí	-
		♂	0,7-1,3	0,93		-
Urato	mg/dL	♀	2,3-6,6	0,93	Sí	-
		♂	4,4-7,6	0,34		-
Proteína C reactiva	mg/L	♂ / ♀	<5	1	Sí	-
GGT	UI/L	♀	<38	1	Sí	-
	UI/L	♂	<73	0,93		-
Fosfatasa Alcalina	UI/L	♂ / ♀	46-116	0,38	Sí	-
AST	UI/L	♂ / ♀	<40	0,89	Sí	-
ALT	UI/L	♂ / ♀	<35	1	Sí	-
Bilirrubina directa	mg/dL	♂ / ♀	<0,3	<0,05	No	<0,42
Bilirrubina total	mg/dL	♂ / ♀	0,3-1,2	0,89	Sí	-
Colesterol HDL	mg/dL	♂ / ♀	>40	1	Sí	-
Colesterol LDL	mg/dL	♂ / ♀	0,0-130	0,89	Sí	-
Colesterol Total	mg/dL	♂ / ♀	0,0-200	0,38	Sí	-
Triglicéridos	mg/dL	♂ / ♀	0,0-150	0,43	Sí	-
Urea	mg/dL	♂ / ♀	11,0-49,0	0,12	Sí	-
Sodio	mEq/L	♂ / ♀	136-146	0,11	Sí	-
Potasio	mEq/L	♂ / ♀	3,5-5,0	0,91	Sí	-
Cloro	mEq/L	♂ / ♀	98-106	0,89	Sí	-
Proteínas totales	g/dL	♂ / ♀	6,4-8,3	0,43	Sí	-
Troponina I	ng/L	♀	<38,6	<0,05	No	<121,8*
	ng/L	♂	<53,5	<0,05	No	<149,6*

Tabla 19. IRB declarados por el proveedor para población sana de las diferentes magnitudes bioquímicas, si han sido verificados en la población de atletas estudiada y la correspondiente significación estadística (p). Para los IRB no verificados, se muestra los nuevos IRB calculados a partir de la población de atletas. *Han sido excluidos los individuos con valores extremos de troponina I según los criterios de Reed's. En el caso de la troponina I no se ha utilizado el método recomendado por la IFCC para el cálculo de percentil 99.

5. Resultados

Hematología					
Mensurando	Unidades	Sexo	IRB	p	Verificado
Hematocrito	%	♀	35,5-45,5	0,34	Sí
		♂	39,5-50,5	0,93	
Hemoglobina	g/dL	♀	12-15,6	0,93	Sí
		♂	13,5-17,2	0,93	
Hematíes	10 ⁶ /μL	♀	3,9-5,2	0,93	Sí
		♂	4,3-5,75	0,93	
VPM	fL	♂ / ♀	5,5-9,9	0,12	Sí
RDW	%	♂ / ♀	11,5-14,7	1	Sí
CHCM	g/dL	♂ / ♀	31,5-36	0,43	Sí
HCM	pg	♂ / ♀	27-33,5	0,38	Sí
VCM	fL	♂ / ♀	80-99	0,86	Sí
Reticulocitos	%	♂ / ♀	0,5-2,0	1	Sí
Plaquetas	10 ³ /μL	♂ / ♀	150-370	0,89	Sí
Leucocitos	10 ³ /μL	♂ / ♀	3,9-10,2	0,38	Sí

Tabla 20. IRB declarados por el proveedor para población sana de las diferentes magnitudes hematológicas, si han sido verificados en la población de atletas estudiada y la correspondiente significación estadística (p).

5.3. Especificaciones de las prestaciones analíticas derivadas de la Variación Biológica en atletas

A continuación, se muestran las EPA derivadas de este estudio en atletas y se comparan con las derivadas de la base de datos de Ricós y colaboradores en población general para las magnitudes de la gasometría (tabla 21), bioquímicas (tabla 22) y hematológicas (tabla 23).

Para la selección de las EPA se han escogido los estimados de CV_I y CV_G más restrictivos en caso de haber encontrado diferencias significativas entre sexos. Además, para facilitar la comparación con las EPA utilizadas actualmente en los laboratorios se muestran las especificaciones derivadas de la base de datos de Ricós y colaboradores (16).

Gasometría						
Magnitud	EPAs Atletas			EPAs Base de datos Ricós 2014 (16)		
	CV _A (%)	ES (%)	ET (%)	CV _A (%)	ES (%)	ET (%)
Bicarbonato	2,3	2,0	5,8	2,0	1,6	4,9
Ca ²⁺	0,9	0,7	2,2	0,9	0,6	2,0
Exceso de Bases	73	65,3	185,4	38,2	21,9	85
pCO ₂	3,9	3,3	9,7	2,4	1,8	5,8
pH	0,2	0,1	0,4	-	-	-
[H ⁺]	2,4	1,7	5,7	1,8	1,0	3,9
Anión Gap	6,2	3,4	13,6	4,8	3,5	11,3
Lactato	17,0	11,0	39,0	13,6	8,0	30,4

Tabla 21. EPA deseables para la imprecisión (CV_A), el error sistemático (ES) y el error total (ET) de las magnitudes de la gasometría derivadas de la BV en atletas comparadas con las derivadas de la base de datos de Ricós y colaboradores.

Bioquímica						
Magnitud	EPAs Atletas			EPAs Base de datos Ricós 2014 (16)		
	CV _A (%)	ES (%)	ET (%)	CV _A (%)	ES (%)	ET (%)
AST	8,6	7,5	21,7	6,2	6,5	16,7
Albumina	1,6	1,2	3,9	1,6	1,4	4,1
ALT	13,8	10,3	33	9,7	11,5	27,5
Amilasa	4,4	6,1	13,3	4,4	7,4	14,6
Bilirrubina Directa	12,6	9,5	30,2	18,4	14,2	44,6
Bilirrubina Total	11,9	9,1	28,6	10,9	9	26,9
Calcio	1,0	0,7	2,3	1,1	0,8	2,6
CK	24,4	18,9	58,9	11,4	11,5	30,3
Cloruro	0,6	0,4	1,4	0,7	0,5	1,5
Colesterol HDL	4,4	5,2	12,3	3,7	5,6	11,6
Colesterol LDL	5,3	7,5	16,2	3,9	5,5	11,9
Colesterol Total	3,5	3,9	9,6	3,0	4,1	9,0
Creatinina	2,3	3,5	7,2	3,0	4	8,9
Ferritina	11,2	21,1	39,4	7,1	5,2	16,9
Fosfatasa Alcalina	3,5	4,1	9,9	3,2	6,7	12
Fosfato	4,7	3	10,7	4,1	3,4	10,1
GGT	10,1	11,6	28,1	6,7	11,1	22,1
Glucosa	3,0	2,0	6,8	2,8	2,3	7,0
Hierro	14,5	9,5	33,4	13,3	8,8	30,7

5. Resultados

Bioquímica						
Magnitud	EPAs Atletas			EPAs Base de datos Ricós 2014 (16)		
	CV _A (%)	ES (%)	ET (%)	CV _A (%)	ES (%)	ET (%)
LDH	4,2	3,5	10,4	4,3	4,3	11,4
Magnesio	1,7	1,2	4	1,8	1,8	4,8
PCR	70,7	52,6	168,9	21,1	21,8	56,6
Potasio	2,3	1,6	5,4	2,3	1,8	5,6
Proteínas totales	1,7	1,4	4,2	1,4	1,4	3,6
Sodio	0,3	0,2	0,6	0,3	0,2	0,7
Transferrina	2,4	3,3	7,2	1,5	1,3	3,8
Triglicéridos	9,7	7,4	23,2	10	9,6	26
Troponina I	24,7	33,3	73,9	7,0	16,3	27,9
Urato	4,5	5,6	12,9	8,4	5,5	19,4
Urea	6,3	4,1	14,4	6,1	5,6	15,6

Tabla 22. EPA deseables para la imprecisión (CV_A), el error sistemático (ES) y el error total (ET) derivadas de la BV de las magnitudes bioquímicas en atletas comparadas con las derivadas de la base de datos de Ricós y colaboradores.

Hemograma						
Magnitud	EPAs Atletas			EPAs Base de datos Ricós 2014 (16)		
	CV _A (%)	ES (%)	ET (%)	CV _A (%)	ES (%)	ET (%)
Hematocrito	1,8	1,5	4,4	1,4	1,7	4
Hemoglobina	1,7	1,6	4,4	1,4	1,8	4,2
Hematíes	1,7	2,0	4,8	1,6	1,8	4,5
VCM	0,7	1,2	2,3	0,7	1,3	2,4
HCM	0,8	1,3	2,6	0,7	1,4	2,5
CHCM	0,8	0,6	1,9	0,5	0,4	1,3
mCHCM	0,9	0,7	2,1	-	-	-
RDW	1,1	1,1	2,9	1,8	1,7	4,6
Reticulocitos (%)	11,9	7,3	26,9	-	-	-
Reticulocitos	12	6,7	26,4	5,5	7,8	16,8
Leucocitos	6,1	4,5	14,5	5,7	6,1	15,5
Plaquetas	3,3	5,2	10,7	4,6	5,9	13,4

Tabla 23. EPA deseables para la imprecisión (CV_A), el error sistemático (ES) y el error total (ET) derivadas de la BV de las magnitudes hematológicas en atletas comparadas con las derivadas de la base de datos de Ricós y colaboradores.

5.4. Valor de referencia del cambio en atletas e índice de individualidad

A continuación, se pueden observar los II (CV_G/CV_I) para evaluar la pertinencia de la aplicación de los VCR estimados para las magnitudes de la gasometría (tabla 24), bioquímicas (tabla 25) y hematológicas (tabla 26). En el caso de que se observaran diferencias significativas entre ambos sexos se informaron ambos VCR por separado.

Valor de referencia del cambio para las magnitudes de la gasometría			
Mensurando	II (CV_I / CV_G)	VCR _{neg} (%)	VCR _{pos} (%)
pH	0,95	-0,7	0,7
PCO ₂	0,76	-16,6	20,0
Lactato	1,22	-54,6	120,1
[H ⁺]	0,95	-10,8	12,1
Calcio ionizado	0,89	-4,3	4,4
Bicarbonato	0,69	-10,2	11,4
Anión Gap	2,26	-30,5	43,9

Tabla 24. Índice de individualidad y valor de referencia del cambio para la interpretación de aumentos (VCR_{pos}) y disminuciones (VCR_{neg}) de resultados en determinaciones seriadas de atletas en magnitudes de la gasometría. El VRC ha sido calculado con el CV_A obtenido en nuestro laboratorio.

Valor de referencia del cambio para las magnitudes bioquímicas				
Mensurando	Sexo	II (CV_I / CV_G)	VCR _{neg} (%)	VCR _{pos} (%)
Albumina	♂ / ♀	0,85	-7,6	8,2
ALT	♂ / ♀	0,90	-56,1	127,6
Amilasa	♂ / ♀	0,39	17,4	21,0
AST	♂ / ♀	0,70	-36,9	58,6
Bilirrubina Directa	♂ / ♀	0,89	-44,3	79,4
Bilirrubina Total	♂ / ♀	0,85	-42,0	72,5
Calcio	♂ / ♀	0,81	5,2	5,5

5. Resultados

Valor de referencia del cambio para las magnitudes bioquímicas				
Mensurando	Sexo	II (CV _i / CV _G)	VCR _{neg} (%)	VCR _{pos} (%)
CK	♂ / ♀	0,84	-66,1	194,6
Cloruro	♂ / ♀	1,04	-2,9	3,0
Colesterol HDL	♂ / ♀	0,46	-18,4	22,6
Colesterol LDL	♂ / ♀	0,38	-22,0	28,2
Colesterol Total	♂ / ♀	0,51	-15,2	18,0
Creatinina	♂ / ♀	0,34	-11,8	13,4
Ferritina	♂	0,27	-40,3	67,6
	♀	0,55	-58,9	143,1
Fosfatasa Alcalina	♂	0,47	-15,4	18,8
	♀	0,34	-20,0	25,1
Fosfato	♂ / ♀	1,20	-20,9	26,5
GGT	♂ / ♀	0,48	-39,5	65,4
Glucosa	♂ / ♀	1,14	-13,1	15,0
Hierro	♂	1,19	-48,5	94,0
	♀	1,21	62,4	166,3
LDH	♂ / ♀	0,72	-17,6	21,4
Magnesio	♂ / ♀	0,88	-8,2	8,9
PCR	♂ / ♀	0,91	-91,3	1055,4
Potasio	♂ / ♀	1,06	-10,2	11,4
Proteínas totales	♂ / ♀	0,75	-7,9	8,5
Sodio	♂ / ♀	1,15	-1,5	1,5
Transferrina	♂ / ♀	0,39	-11,0	12,3
Triglicéridos	♂ / ♀	0,87	-36,1	56,5
Troponina I	♂ / ♀	0,40	-66,5	198,3
Urato	♂ / ♀	0,43	-18,8	23,1
Urea	♂	1,22	-25,4	34,1
	♀	0,76	-30,9	44,8

Tabla 25. Índice de individualidad y valor de referencia del cambio para la interpretación de aumentos (VCR_{pos}) y disminuciones (VCR_{neg}) de resultados en determinaciones seriadas de atletas en magnitudes bioquímicas. El VRC ha sido calculado con el CV_A obtenido en nuestro laboratorio.

Valor de referencia del cambio para las magnitudes hematológicas				
Mensurando	Sexo	II (CV _I / CV _G)	VCR _{neg} (%)	VCR _{pos} (%)
Hematocrito	♂ / ♀	0,72	-8,1	8,8
Hemoglobina	♂ / ♀	0,61	-7,9	8,5
Hematíes	♂ / ♀	0,48	-7,8	8,5
VCM	♂ / ♀	0,28	-3,0	3,1
HCM	♂ / ♀	0,29	-4,2	4,4
CHCM	♂ / ♀	0,92	-4,4	4,6
CHCMm	♂ / ♀	0,70	-3,9	4,0
RDW	♂ / ♀	0,60	-5,3	5,6
Reticulocitos (%)	♂ / ♀	1,41	-44,7	80,8
Reticulocitos	♂ / ♀	1,93	-44,9	81,4
Leucocitos	♂ / ♀	0,94	-24,9	33,2
Plaquetas	♂	0,34	-15,8	18,7
	♀	0,60	-19,3	24,0
OFF-score	♂	1,14	-25,5	34,2
	♀	1,58	-37,4	59,8

Tabla 26. Índice de individualidad y valor de referencia del cambio para la interpretación de aumentos (VCR_{pos}) y disminuciones (VCR_{neg}) de resultados en determinaciones seriadas de atletas en magnitudes hematológicas. *El VRC ha sido calculado con el CV_A obtenido en nuestro laboratorio.*

5.5. Verificación de los índices para la detección del dopaje OFF-hr y ABPS en la población de atletas estudiada

De un total de 292 muestras analizadas para el índice OFF-hr, 21 (7,2%), pertenecientes a 9 atletas, estaban por encima del intervalo definido como normal (85-95), pero ninguno de ellos estuvo por encima del punto de corte que considera un resultado como sospechoso de dopaje (133). Se calculó el IRB (p_{2,5} - p_{97,5}) del índice OFF-hr para la población de deportistas estudiada, siendo mucho más amplio que los considerados en la bibliografía, (42-103) *versus* (85-95). Como se

5. Resultados

puede observar en la figura 10 la distribución de los resultados para el OFF-hr es más amplia en la población estudiada de atletas.



Figura 10. Diagrama de cajas que muestra los resultados para el índice OFF-hr de los 32 atletas participantes.

Por otra parte, de un total de 292 estimaciones del ABPS, 17 (5,8%) representadas en la figura 11, pertenecientes a 11 sujetos, se encontraban por encima del límite definido para el índice ABPS que considera un resultado como sospechoso (>1).

Además, se pueden observar los resultados para ambos índices en dos atletas, el primero de ellos con resultados dentro de la normalidad para los dos índices (figura 12) y el segundo con resultados fuera de los intervalos de referencia definidos para el OFF-hr y por encima del límite del ABPS (figura 13).

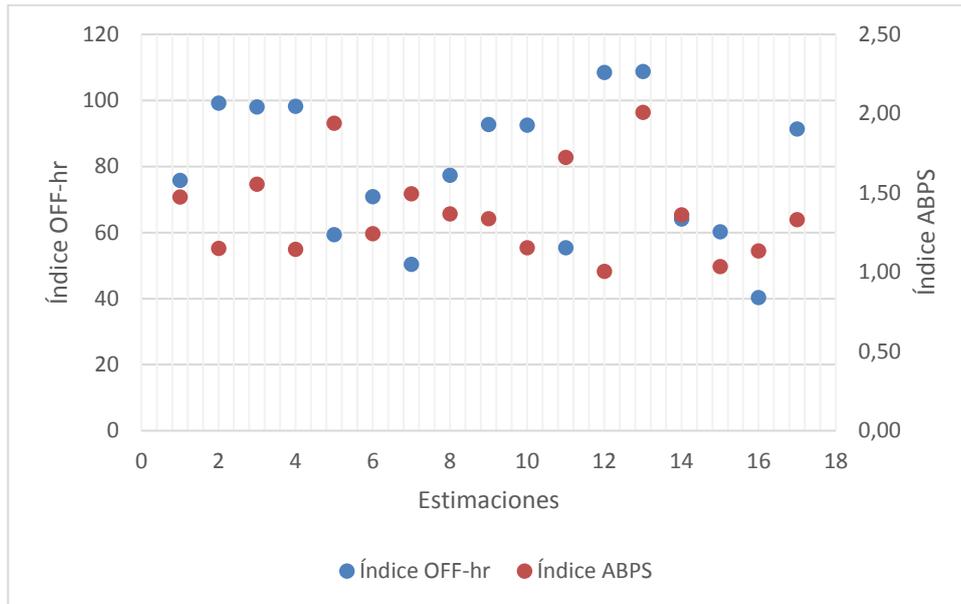


Figura 11. Estimaciones de los índices OFF-hr y ABPS para las muestras (n=17) cuyos resultados para el índice ABPS podrían ser considerados como sospechosos.

Los datos de estado de salud, entrenamiento, medicación, y competición de los 12 sujetos con resultados para el índice ABPS por encima del límite considerado como sospechoso, fueron analizados e investigados en buscar de algún hallazgo que pudiera explicar esta circunstancia. Estos hallazgos parecen tener cierta relación con incrementos en magnitudes hematológicas como el hematocrito. Después de investigar la relación con variables recogidas (medicación, entrenamiento y competición) no se observó ninguna relación. En el caso de otras magnitudes de laboratorio, se observó cierta relación con las magnitudes que dependen del volumen plasmático al igual que el hematocrito como la albúmina y las proteínas totales. Un ejemplo de esta relación se puede observar para uno de los atletas a lo largo de las 11 visitas en la figura 14.

Además, se realizó el cálculo de la imprecisión de la estimación ambos índices a partir de los replicados de los resultados de las variables hematológicas, siendo esta del 67% para el ABPS y de 4,28% para el OFF-hr.

5. Resultados

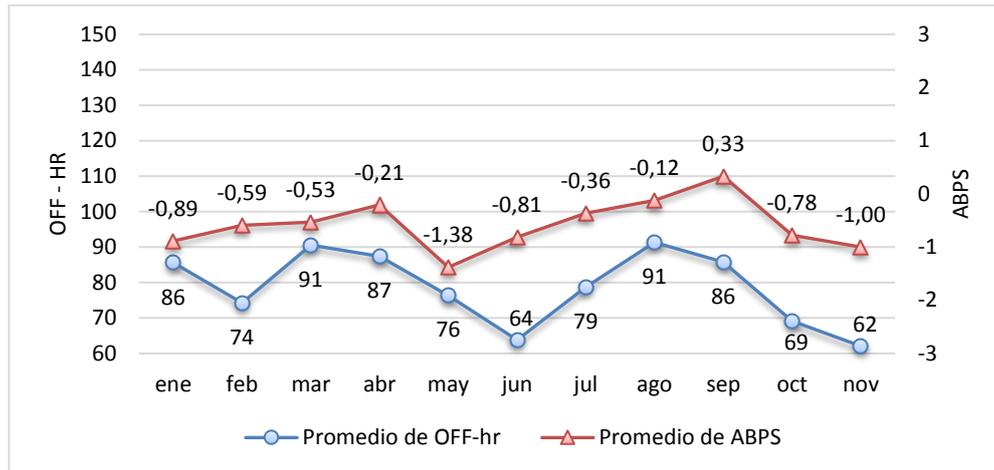


Figura 12. Estimaciones de los índices ABPS y OFF-hr a lo largo del estudio para un atleta cuyos resultados para ambos índices están dentro de los intervalos definidos y no podría ser considerado sospechoso de dopaje.

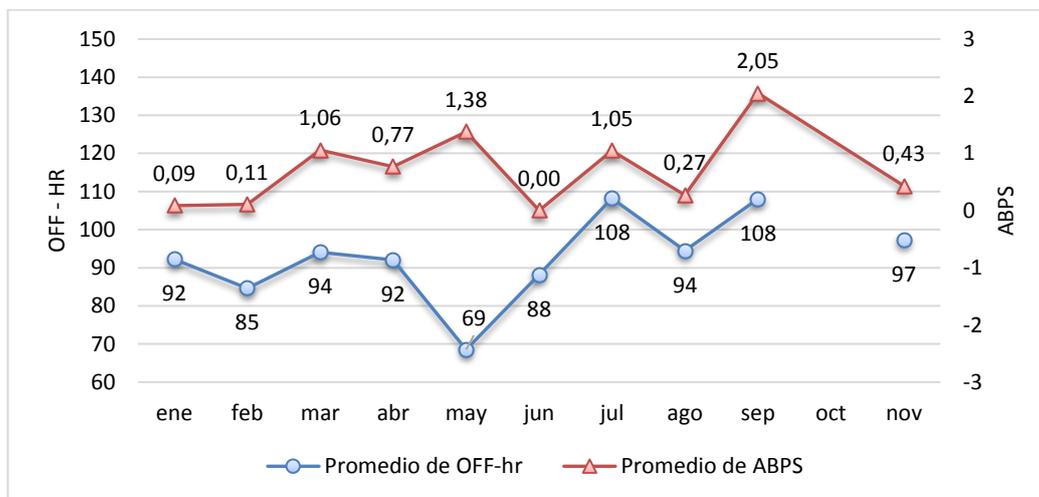


Figura 13. Estimaciones de los índices ABPS y OFF-hr a lo largo del estudio para un atleta cuyos resultados para el índice ABPS están por encima de los intervalos definidos y podría ser considerado sospechoso de dopaje.

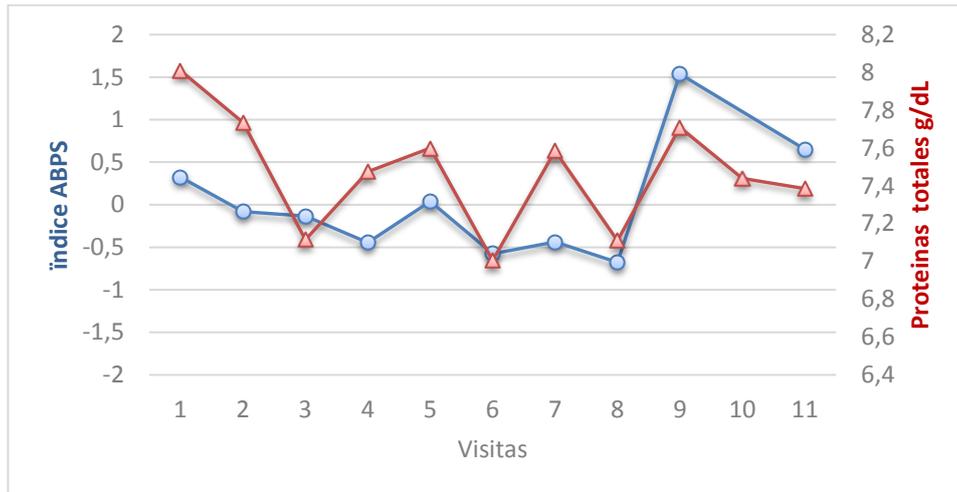


Figura 14. Índice ABPS y proteínas totales (g/dL) en uno de los atletas a lo largo de las 11 visitas.

6. Discusión

La VB ha sido ampliamente estudiada y se han publicado numerosos estudios en individuos sanos y algunas patologías concretas. Sin embargo, pocos autores han considerado el deporte como una situación de estrés fisiológico sostenida en el tiempo que pudiera influir sobre la VB de determinadas magnitudes y apenas existen publicaciones que estudien esta VB en atletas. Los estudios que han publicado datos a medio-largo plazo y en una situación estable de los atletas han sido realizados en un número limitado de magnitudes y carecen de la suficiente calidad metodológica para reportar estimados confiables de VB.

Debido a que las aplicaciones de la VB impactan directamente sobre los resultados que el laboratorio informa y estos a su vez sobre la interpretación y la toma de decisiones clínica, son necesarios estimados robustos como los derivados del presente trabajo.

6.1. Población de estudio

El seguimiento del grupo de atletas seleccionado se realizó durante 11 meses de forma que representara una temporada deportiva completa, abarcando diferentes fases (pre-temporada, entrenamientos de calidad, competiciones, etc) y estaciones (verano e invierno). Si el seguimiento se hubiera realizado durante periodos inferiores y coincidentes con una de estas etapas, junto con las variaciones estacionales, esto podría haber sesgado los resultados. Para ello, se recogieron muestras de sangre con periodicidad mensual, así como información relacionada con el rendimiento físico, la actividad física realizada a diario, el estado de salud, la dieta, variables antropométricas y otros datos de interés.

6. Discusión

La mayoría de los estudios realizados en atletas analizan las magnitudes de laboratorio post-ejercicio durante un corto periodo de tiempo, sin embargo en este trabajo hemos considerado el ejercicio como una situación de estrés fisiológico sostenido en el tiempo y hemos recogido variables que verifiquen la estabilidad de los individuos participantes y que puedan explicar las diferencias encontradas con la población sana.

Las variables antropométricas permitieron describir con mayor detalle a los atletas incluidos y verificar la homogeneidad de la población de atletas estudiada. De entre todas ellas, la mediana del porcentaje de grasa corporal para ambos sexos estuvo por debajo o muy cercana al límite inferior de la población sana (tabla 5), circunstancia común en atletas.

Por otra parte, los resultados para las variables evaluadas durante la prueba de esfuerzo mostraron un rendimiento cardiorrespiratorio superior de los atletas con respecto al resto de la población en ambos sexos. Por otra parte, también se descartó la presencia de patología cardíaca significativa asociada al esfuerzo (tabla 6).

En cuanto a las variables de actividad física recogidas por los atletas podemos observar que el número medio de sesiones registradas por semana fue de 8 (tabla 7). Uno de los criterios de inclusión descritos fue realizar actividad física durante un mínimo 13 horas a la semana; el número medio de horas registradas por los atletas dedicadas al entrenamiento fue de 9,2. Este hecho se explica por la existencia de registros incompletos de la actividad por parte de algunos participantes. Por ello, el dato de 9,2 horas en semana ha sido considerado como suficiente.

En cuanto al tipo de actividad física realizada, el porcentaje de sesiones dedicado por los atletas al ciclismo, carrera y natación fue similar, es decir, los tres deportes estuvieron equilibrados en cuanto al número de sesiones realizadas. Sin embargo, el tiempo dedicado a las sesiones de ciclismo fue superior (tabla 8). La media de la intensidad de los entrenamientos fue aproximadamente 3, con

una desviación estándar de 0,5, lo que nos muestra que las zonas de frecuencia cardíaca durante los entrenamientos estuvieron entre 2 y 4. En estas zonas es donde se desarrolla mayoritariamente el metabolismo aeróbico, permitiendo a los atletas aumentar la eficiencia aeróbica y mejorar la capacidad de soportar esfuerzos aeróbicos prolongados. Esto se consigue gracias a la oxidación de grasas y el aumento de sus depósitos así como a un mayor aprovechamiento de la oxidación de la glucosa y sus depósitos de glucógeno (40).

Los datos de actividad física registrados aseguran una situación de entrenamiento continuo y constante y suponen pues una situación de stress fisiológico, por lo que la población incluida se considera representativa para poder contrastar la hipótesis del estudio. Por esta misma razón, los estimados de VB derivados de este estudio podrían ser transferibles con la población de atletas de disciplinas en las que se realice ejercicio en similares condiciones de intensidad (ejercicio aeróbico) y duración (media-larga duración).

6.2. Metodología de estudio

Debido a que el diseño del estudio fue prospectivo se pudo realizar la recogida de múltiples variables con posible influencia sobre la VB de las magnitudes de laboratorio estudiadas.

El número de atletas finalmente incluido fue de 30 sujetos y el número de muestras recogidas por cada sujeto fue de 9,7 muestras. Ello supuso un porcentaje de pérdidas inferior al 10%, lo que refleja una buena adherencia al estudio por parte de los participantes. Esta circunstancia, junto con el hecho de que las muestras fueron analizadas por duplicado es considerada suficiente en base a los criterios estadísticos publicados por Roraas y colaboradores (80) para asegurar la potencia estadística de los estimados de CV_I analizados. Aunque un número mayor de sujetos estudiados hubiera permitido obtener unos estimados de CV_G aún más robustos, la fase experimental y de reclutamiento de muestras hubiera sido aún más compleja. Por ello creemos que el balance entre sujetos y

6. Discusión

muestras por sujeto es suficiente para poder responder a los objetivos de este estudio.

Tanto para el análisis de las muestras como para el tratamiento de los datos se siguieron las recomendaciones vigentes para este tipo de estudios (29) para poder asegurar la obtención de resultados robustos.

En el caso de las magnitudes hematológicas y de la gasometría, el análisis se realizó tras la extracción de sangre por motivos de estabilidad de la muestra, asegurando en todo momento que estas condiciones fueran las adecuadas. Del mismo modo, se garantizó el adecuado rendimiento analítico de los analizadores mediante la supervisión del control de calidad interno y externo que cumplía con las especificaciones establecidas por el laboratorio basadas en. Por el contrario, las magnitudes bioquímicas fueron analizadas en una misma serie analítica tras haber sido mantenidas las muestras de suero congeladas a -80°C debido a su estabilidad y asegurando que en cualquier caso, un mismo sujeto fuera siempre analizado en el mismo día. Ello minimiza el sesgo añadido que pudiera existir si hubieran sido analizadas en distintas series y/o días.

En relación al tratamiento estadístico de los resultados, éstos se analizaron y se tuvieron en cuenta las premisas necesarias para aplicar los métodos estadísticos recomendados en la actualidad tales como homogeneidad de varianzas, distribución normal de los datos, estudio de tendencia y análisis de *outliers*. Esta rigurosa metodología creemos que permite obtener resultados mucho más robustos en comparación con otros trabajos publicados sobre VB realizados en atletas (29).

6.3. Estimados de Variación Biológica en atletas

Como se ha comentado en el apartado anterior, la metodología estadística recomendada en la actualidad para el cálculo de los estimados de VB de este tipo de estudios es el ANOVA (método clásico), siendo la condición de

homogeneidad de varianzas imprescindible para la aplicación de este modelo. Sin embargo, para una serie de magnitudes no fue posible verificar la homocedasticidad, por lo que el tratamiento estadístico previo no pudo asegurar la homogeneidad de las varianzas entre los diferentes sujetos. Los estimados de estas magnitudes no podrían ser calificados con la máxima categoría (A) según la herramienta de lectura crítica elaborada por el TFG (BIVAC) (29). Quizá los estimados de VB para estas magnitudes en las circunstancias definidas en este estudio podrían ganar robustez si se aplicaran otros modelos estadísticos alternativos que tomaran como valor de VB valores centrales como la mediana de los estimados. Actualmente el WG-BV de la EFLM está trabajando en el desarrollo de estos métodos para poder estimar la VB en determinadas circunstancias en las que no se pueda alcanzar la homocedasticidad.

En cuanto al estudio de *outliers*, otro de los requisitos imprescindibles para estimar la VB mediante el abordaje clásico, el porcentaje de *outliers* eliminados en este estudio (0,3-13,9%) es comparable al de otros estudios similares en población sana (EuBIVAS) para enzimas (1,2% a 14,2%) y sustratos (0,0% a 5,6%) (23,25). En este estudio la mayoría de los valores atípicos encontrados estuvieron probablemente relacionados con el ejercicio como ya se ha descrito en la bibliografía (50, 55, 57, 60) para algunas magnitudes como AST, ALT, potasio, LDH, recuento leucocitario, reticulocitos, ferritina y troponina I.

En relación con la influencia de variables fijas, inherentes al sujeto, se encontraron diferencias respecto al sexo en los estimados de CV_i en magnitudes como el hierro y la ferritina, siendo los CV_i superiores en el caso de las mujeres, probablemente ligado a la mayor pérdida y por tanto demanda de hierro durante la edad fértil. La urea y la fosfatasa alcalina también mostraron un mayor CV_i en el caso de las atletas, ya habiéndose observado este hallazgo en el caso de la urea en estudios previos en población general (25). En el caso de la fosfatasa alcalina, como la mayoría de las enzimas, no mostró diferencias significativas debidas al sexo en el CV_i de población general (23), a diferencia de los resultados de este estudio en atletas (Tabla 13). Se ha observado que la fosfatasa alcalina

6. *Discusión*

es la única magnitud relacionada con el metabolismo óseo que disminuye después de un periodo de 32 semanas de competiciones de triatlón (85), sin embargo, no existen estudios en la bibliografía hechos en atletas que comparen la VB de hombres y mujeres por lo que los resultados obtenidos no son contrastables con otros trabajos.

Las estimados de VB de las magnitudes de la gasometría obtenidos en este estudio fueron comparadas con el único estudio de BV existente en la bibliografía en población sana (86) (tabla 15), evidenciándose resultados similares para la mayoría de ellas, siendo ligeramente superiores los estimados para el CV_I de magnitudes como la pCO₂, el pH, la [H⁺], el lactato y el exceso de bases, sugiriendo una mayor variación de las magnitudes relacionadas con las rutas metabólicas (metabolismo aeróbico-anaeróbico) involucradas durante la práctica del ejercicio. Por tanto, este hallazgo deberá ser tenido en cuenta en la interpretación de los resultados durante el seguimiento de la población de atletas.

Cabe destacar entre los estimados de VB para magnitudes bioquímicas las magnitudes relacionadas con el metabolismo férrico, cuyos estimados de CV_I fueron superiores en atletas para la ferritina, la transferrina y el hierro que los publicados en población sana (tabla 16). Este hallazgo puede estar relacionado con el mayor recambio eritrocitario (87) que existe en los atletas debido a diferentes fenómenos como el estrés oxidativo, la rotura mecánica de los hematíes y otros fenómenos asociados al ejercicio (88).

En relación a las magnitudes del metabolismo lipídico estudiadas, los estimados de CV_I para las lipoproteínas HDL y LDL y el colesterol total (tabla 16) fueron ligeramente superiores a los publicados en la bibliografía para población sana (31). Esta mayor variación podría explicarse por una mayor demanda y movilización lipídica involucrada en el metabolismo como recurso energético durante el ejercicio y la regeneración muscular (membrana celular). Sin embargo, el estudio publicado en atletas por Nunes y colaboradores (69) no observó un mayor CV_I para el colesterol total. En el caso de los triglicéridos no se observaron diferencias en el CV_I en comparación con sujetos sanos, a

diferencia del CV_G , el cual fue de prácticamente el doble en los sujetos sanos dependiendo mucho de la homogeneidad del grupo. Por tanto, los atletas podrían ser considerados como comparables con la población general para estas magnitudes.

Las enzimas estudiadas en atletas mostraron valores de CV_I muy por encima de los publicados para población general en el estudio EuBIVAS (23), siendo de hasta el triple en el caso de la actividad CK y la ALT, cerca del doble para la actividad AST, GGT, LDH y fosfatasa alcalina y ligeramente superior en el caso de la actividad amilasa. Este hallazgo podría estar explicado por la mayor actividad de las enzimas óseas (fosfatasa alcalina ósea) y hepáticas (AST, ALT, GGT y fosfatasa alcalina) (89) en deportistas y por el ya conocido fenómeno de liberación a nivel muscular (CK y AST) y hemólisis (LDH y AST) (46). Si comparamos nuestros resultados con los existentes en deportistas en la bibliografía podemos observar valores muy similares de CK (69).

En cuanto a los sustratos estudiados, la creatinina y la urea mostraron estimados de CV_I muy similares a los observados en población sana (25). Podría ser esperable encontrar valores superiores debido al mayor recambio de proteína muscular (urea) y a las variaciones en el estado de hidratación y posible menor perfusión renal sufrida durante los ejercicios prolongados y de alta intensidad (creatinina y urea). Sin embargo esta circunstancia no fue observada, posiblemente porque estos cambios son producidos post-ejercicio inmediato ya que las concentraciones de estas magnitudes vuelven a su estado basal en las horas posteriores a la práctica deportiva (44).

El estimado de CV_I para el fosfato fue ligeramente superior en atletas en comparación con la población sana (25). En los iones cloruro y potasio se observaron valores de VB ligeramente superiores a los publicados en el estudio EuBIVAS (25) demostrando una mayor variación en el equilibrio hidroelectrolítico en atletas para ambos iones, no pudiendo ser explicado por interferencias *in vitro* como la hemólisis ya que el índice hemolítico fue tenido en cuenta para la inclusión de los resultados. En el caso del sodio, los estimados de VB fueron muy

6. Discusión

similares a los publicados en la bibliografía en población sana. Se observaron estimados similares de CV_I para la bilirrubina total y ligeramente superiores para la bilirrubina directa en comparación con EuBIVAS (25), siendo muy inferior al estimado de la base de datos de Ricós y colaboradores (16). Los estimados de CV_I para albúmina y proteínas totales fueron ligeramente superiores a los observados en población sana, esta observación podría explicarse estas magnitudes se alteran con las variaciones del volumen plasmático inducido por el ejercicio (90).

El CV_I de la glucosa en atletas fue superior a los valores observados en la bibliografía (tabla 16). A pesar de que el deporte ayuda a mantener un mejor control glucémico en el individuo, (91) el hecho de que la glucosa sea un recurso energético demandado durante el ejercicio, podría hacer que la variación sea mayor en atletas.

Los estimados de VB para la PCR fueron calculados después de considerar como *outliers* los resultados correspondientes a las visitas en las que los sujetos indicaron haber estado enfermos o haber tenido algún evento que pudiera elevar los reactantes de fase aguda como traumatismos durante los 7 días anteriores a la extracción de sangre. Los estimados de CV_I y CV_G fueron 10 veces superiores a los observados en el estudio EuBIVAS de proteínas específicas recientemente publicado (28) y el doble que en otros estudios publicados en atletas (69). Esta circunstancia puede ser debida a una mayor variación debida a procesos inflamatorios ligados al daño muscular durante la actividad física y otras causas como el trauma repetido durante la pisada y el estrés oxidativo, todas ellas ligadas al estrés fisiológico sostenido en el tiempo por la práctica de ejercicio físico crónica (92, 93, 94, 95).

Como ya se ha comentado anteriormente hay varios estudios en la bibliografía que estudian la cinética de las elevaciones de la troponina I post ejercicio o post competición (96,97), sin embargo no existen estudios a largo plazo de VB para la troponina I, en los que se monitorice durante un año a atletas en estado basal y menos utilizando un método de medida de alta sensibilidad. Después de haber

descartado los tres sujetos que no cumplieron los criterios de Reed's con valores elevados de troponina I, se observaron grandes diferencias con respecto a los datos publicados en individuos sanos en la base de datos de Ricós y colaboradores, obteniendo un CV_I tres veces mayor y un CV_G del doble en atletas respecto a individuos sanos (tabla 16).

Al margen de las magnitudes anteriormente descritas, los estimados de CV_I fueron similares a los descritos en otros estudios para población sana (24,25) para un buen número de magnitudes bioquímicas analizadas. Esta circunstancia hace que tanto para el cálculo de las EPA como para el seguimiento (VRC) de estas magnitudes en atletas se podría hacer uso de los actuales estimados en población sana publicados en la base de datos de la EFLM (32).

En las magnitudes hematológicas relacionadas con la serie roja, como el hematocrito, hemoglobina, recuento de hematíes, VCM, HCM y CHCM se observaron (tabla 17) estimados de CV_I significativamente mayores a los observados en población sana y en otros estudios publicados en atletas (67,69). El RDW también fue superior al observado en el estudio del EFLM WG-BV (98). En cuanto al RET%, se obtuvieron estimados de VB similares a los observados en otros estudios en atletas (69), y además, el estimado de CV_I del recuento de reticulocitos observado en atletas fue el doble al publicado en la base de datos de Ricós y colaboradores en individuos sanos (16). Todos estos hallazgos, podrían ser explicados por el mayor recambio eritrocitario en los atletas debido a la demanda de oxígeno tisular sostenida en el tiempo durante la práctica de deportes de larga duración (87).

Los estimados de VB que estudian otros elementos formes de la sangre, como el recuento de leucocitos y plaquetas, fueron similares a los publicados en la bibliografía para individuos sanos. Sin embargo, en el estudio publicado en atletas de Malcovati se observaron estimados mayores de CV_I y CV_G (67). Esta circunstancia podría explicarse por la no realización de un tratamiento de *outliers* adecuado, ya que en este estudio fueron eliminados hasta tres sujetos en ambas magnitudes por el criterio de Reed's y la falta de homocedasticidad. Esto

6. Discusión

evidencia también que es muy importante un correcto diseño del estudio así como un adecuado tratamiento de los datos obtenidos utilizando metodología estadística contrastada.

Es necesario destacar que las diferencias de CV_G observadas en los diferentes estudios de VB dependen de las concentraciones medias obtenidas en los individuos participantes, es decir, de la homogeneidad de la población estudiada. Esta homogeneidad podría estar influida por el tamaño muestral, la distribución de la edad, el sexo y otras variables. Por ejemplo, se debería interpretar con cautela la comparación del CV_G observado en un estudio con cerca de 100 sujetos (EuBIVAS) con edades entre 18 y 70 años incluyendo población postmenopáusica y el presente estudio con 30 sujetos y una población, quizá, mucho más homogénea en lo que a edad se refiere y cuya distribución de resultados podría ser más estrecha. Es decir, para poder valorar y comparar de una manera adecuada estas diferencias, sería recomendable realizar la comparación con estudios similares en cuanto a tamaño muestral y homogeneidad poblacional se refiere. En la actualidad, no existen estudios con tamaños muestrales similares de categoría A para la mayoría de las magnitudes estudiadas, excepto en el caso del estudio llevado a cabo por el WG-BV de la EFLM en magnitudes hematológicas (98) en el que se realizó el seguimiento de 30 individuos sanos.

6.4. Influencia del ejercicio físico y otras variables sobre la Variación Biológica

Hasta el momento no existen publicaciones que hayan estudiado la influencia de diferentes variables relacionadas con el ejercicio sobre la VB más allá del sexo, la edad y el tiempo de muestreo. En este estudio hemos analizado la influencia que el ejercicio físico y otras variables recogidas (estado de salud, ejercicio realizado el día anterior a la extracción, intensidad y duración del ejercicio

registrado durante la semana anterior, IMC y otras variables) tienen sobre la variación biológica en atletas (figuras 8 y 9).

Después del análisis de las diferentes variables sobre los estimados de CV_1 , hemos observado, como era de esperar, influencia del estado de salud sobre la PCR, aunque la reducción del estimado fue muy pequeña (de 134 a 126%), es decir, no podría explicar la diferencia observada con respecto a los estimados obtenidos en población sana (134 *versus* 29%). Ello podría explicarse como hemos indicado en el apartado anterior en relación con mecanismos inflamatorios durante la práctica deportiva independientes al estado de salud del individuo.

Por otra parte, la variable que representa haber realizado o no actividad física moderada el día anterior a la extracción influye significativamente sobre la VB de la Troponina I y la CK, ambos biomarcadores relacionados con el tejido muscular (esquelético y cardíaco). Sin embargo, las reducciones observadas tras la inclusión de esta variable en el modelo (de 49 a 44% y de 49 a 45%, respectivamente) solo explicarían parte de la gran diferencia observada entre los resultados de este estudio en atletas y los publicados en la población sana (49 *versus* 14% y 49 *versus* 14%). Estas observaciones pueden ser explicadas para la CK, en la que se han encontrado cinéticas con un aumento máximo de la concentración hasta las 72 horas post-ejercicio y por ello la BV en atletas podría no ser explicada solo con el ejercicio realizado durante las 24 horas previas a la extracción, ya que no se obtendrían necesariamente valores basales de CK. Sin embargo, llama la atención que las diferencias entre la BV de la población sana y la BV en atletas para la troponina I no puedan ser explicadas por el ejercicio realizado durante las 24 horas previas a la extracción, debido a que la mayoría de los estudios observan una cinética en la que la troponina I vuelve a su estado basal en las primeras 24 horas post-ejercicio (50).

La variable que analizó el efecto de la periodicidad, es decir, del tiempo entre las extracciones de sangre no demostró influencia relevante sobre el CV_1 de las magnitudes estudiadas.

6. *Discusión*

El resto de variables asociadas con el ejercicio como fueron el esfuerzo (subjetivo) percibido, la intensidad media (rangos de FC) y la duración media del ejercicio realizado durante los entrenamientos de la semana previa a la extracción no tuvieron una influencia relevante sobre el CV_I de las magnitudes estudiadas.

Las variables fijas estudiadas como el % de grasa, el IMC y el VO_{2max} influyeron (efecto superior al 2%) en un gran número de magnitudes. Tras incorporar estas variables en el modelo se observó una reducción del CV_G debido a la corrección de las diferencias entre los atletas estudiados.

El IMC afectó de manera más relevante al CV_G de magnitudes como la ferritina, la glucosa, el recuento de reticulocitos y el urato, sin embargo, las diferencias observadas en el caso de la ferritina, donde el CV_G fue seis veces superior en atletas al observado en población sana, no pueden explicarse tras la incorporación del IMC en el modelo (-30%).

En las magnitudes como el urato, la glucosa y los reticulocitos, el CV_G observado en atletas fue inferior al observado en población sana por lo que tras la corrección aumentó la diferencia entre los CV_G de atletas y población sana. El % de grasa corporal tuvo un efecto de reducción del CV_G entre el 15 y el 23% en la CK, la PCR, el RET%, el pH, la pCO_2 y el bicarbonato. También se observaron efectos de reducción entre el 8 y el 16 % del CV_G en magnitudes como la PCR, la amilasa, la troponina I y el lactato cuando se incluyó la variable VO_{2max} en el modelo.

Todos estos hallazgos nos indican la existencia de una notable heterogeneidad de los resultados medios de un gran número de magnitudes en la población de atletas estudiada, que se podría explicar por diferencias en su composición antropométrica y rendimiento aeróbico.

6.5. Intercambiabilidad de los intervalos de referencia biológicos de población sana en atletas

Los IRB derivados de la población sana fueron transferibles a la población de atletas estudiada, excepto en el caso de las magnitudes de la gasometría y algunas de bioquímica, como se puede observar en la tabla 19. Estos hallazgos han sido descritos en la bibliografía en el caso de las magnitudes bioquímicas, sin embargo, no existen estudios que analicen las magnitudes de gasometría en atletas.

Después de haber descartado variaciones por posibles factores preanalíticos y analíticos, la existencia de resultados de $p\text{CO}_2$ ligeramente por encima de los IRB para la población sana, así como, de calcio ionizado, bicarbonato, lactato, exceso de bases y anión gap podría explicarse por la existencia de un estado metabólico anaeróbico y de mayor consumo de oxígeno en los atletas con la consiguiente acumulación de lactato y otros ácidos orgánicos derivados del metabolismo intermediario. Esta teoría explicaría la ligera acidosis, con aumento del calcio ionizado, el bicarbonato y el anión gap. Sin embargo, debido a la carencia de estudios de las magnitudes de la gasometría disponibles en la bibliografía en atletas, estos resultados no son contrastables.

Otras de las magnitudes cuyos IRB no pudieron ser verificados frente a población sana fueron las asociadas al metabolismo férrico, como es el caso de la ferritina y la transferrina en las mujeres (88), así como el hierro en ambos sexos. Este hecho puede ser explicado por la mayor necesidad para la oxigenación tisular durante la práctica de ejercicio físico por parte de los atletas, que provoca un mayor recambio eritrocitario y con ello una mayor demanda y movilización de las reservas de hierro (87, 88). Además, en el caso de las atletas estudiadas, se observaron valores de ferritina por debajo de los IRB establecidos en población general, sugiriendo ferropenia en dos de ellas que fueron por tanto eliminadas para el cálculo posterior de la VB. En estas atletas no se observó sintomatología ni alteraciones analíticas relacionadas con la anemia (hemoglobina, VCM, HCM,

6. Discusión

recuento y porcentaje de reticulocitos), descartando así el diagnóstico de una posible anemia ferropénica. Todas las atletas participantes eran mujeres en edad fértil y esta circunstancia facilita la depleción de las reservas de hierro. Además, este hallazgo ya ha sido observado en algunos estudios donde hasta el 52% de las atletas en edad fértil sufrieron deficiencia de hierro y más frecuentemente las que practicaban deportes de resistencia (88).

Por otro lado, los resultados de magnitudes relacionadas con el metabolismo muscular como la LDH y la CK (músculo esquelético) y la troponina I (músculo cardíaco) estuvieron muy por encima de los IRB y el percentil 99 descrito en población sana. En el caso de la CK, han sido publicados IRB derivados de tamaños muestrales mayores, con 483 hombres (82 - 1083 U/L) y 245 mujeres (47 - 513 U/L) similares a los derivados de este estudio (46 - 639 U/L) (93).

Apoyando los resultados observados en este estudio, algunos autores han evidenciado resultados basales y post-ejercicio para la LDH claramente superiores en atletas respecto a individuos sedentarios (94). Esta circunstancia debe ser tomada en cuenta cuando se interpretan resultados para estas magnitudes en atletas con IRB derivados de la población general.

Además, entre las magnitudes relacionadas con la hemólisis de los hematíes, ya descrita en la bibliografía, asociada a la práctica de ejercicio intenso y de larga distancia (57), encontramos resultados superiores a los IRB descritos en población sana no solo en la LDH sino también en la bilirrubina directa.

Aunque la elevación de CK y LDH ha sido ampliamente descrita en la bibliografía (46), no se han realizado estudios para el cálculo del p99 en atletas para la troponina I ni de seguimiento a largo plazo y fuera de competición o en ausencia de actividad física intensa previa. El p99 estimado en este estudio, no cumple con los criterios de tamaño muestral recomendados (125 individuos de cada sexo). Por tanto, serían necesarios estudios con otro diseño específico para la determinación del p99 en atletas.

Muchos estudios han observado valores de troponina I por encima del p99 post-competición o después de ejercicio físico intenso, sin embargo, el número de resultados de troponina I observados en este estudio por encima del p99 llama la atención (18% en el caso de las mujeres y 22% en el caso de los hombres), debido a que los atletas incluidos no realizaron ejercicio físico intenso el día previo a la extracción. Además, tres de los atletas parecen tener un patrón de troponina I elevado durante todo el estudio, no pudiendo ser explicado por el ejercicio realizado el día anterior a las extracciones.

6.6. Especificaciones de las prestaciones analíticas en atletas

Las diferencias significativas encontradas para la VB entre atletas y población sana pueden tener repercusión directa sobre los laboratorios que atienden población que realiza ejercicio físico, debido a que las EPA que actualmente estarían siendo utilizadas podrían variar siendo más o menos permisivas, afectando a la rutina diaria (QC interno) y a otros procesos relacionados con el aseguramiento de la calidad. Las EPA en atletas se han comparado con las disponibles en la base de datos de Ricós y colaboradores (tablas 21, 22 y 23) debido a que actualmente estas especificaciones son utilizadas por los laboratorios a nivel internacional.

Para la mayoría de las magnitudes de la gasometría serían más permisivas en una población de atletas, destacando el exceso de bases, la $p\text{CO}_2$, el pH, el anión gap y el lactato. Por otra parte, las EPA para las magnitudes de bioquímica, también son en general más permisivas, destacando las enzimas (AST, ALT, GGT y CK), PCR, troponina I y ferritina. Sin embargo, algunas son más estrictas como es el caso del urato, la creatinina y la bilirrubina total y directa. En cuanto al hemograma la mayoría de las EPA derivadas de VB en atletas fueron ligeramente más permisivas, no representando un gran cambio para los laboratorios, excepto en el caso del recuento de reticulocitos en el que se duplicarían para los objetivos de CV_A y ET obteniendo como consecuencia especificaciones más laxas.

6.7. Valor de referencia del cambio en atletas y pasaporte biológico

El VRC es una herramienta de gran utilidad para la interpretación de resultados consecutivos de laboratorio en un individuo. Los resultados seriados de las magnitudes con bajo índice de individualidad, es decir $II < 0,6$, deberían ser interpretadas mediante el VCR, en lugar de utilizar los IRB específicos de la población (34).

En el caso de las magnitudes de la gasometría venosa (tabla 24), aquellas en las que el VCR debería ser aplicado en el seguimiento de los atletas son la pCO_2 y el bicarbonato. El resto de ellas deberían ser interpretadas tomando como referencia IRB específicos de atletas.

Entre las magnitudes de la bioquímica, las enzimas AST, GGT, amilasa, fosfatasa alcalina y LDH poseen un II bajo, haciendo posible la aplicación del VCR en el seguimiento de enfermedades en atletas.

El VRC aplicado en magnitudes del metabolismo del férrico como la ferritina y la transferrina podría ser adecuado para el seguimiento de las reservas de hierro en los atletas, debido a que están directamente relacionadas con el rendimiento deportivo en determinadas circunstancias como el entrenamiento en altura (99). También podría tener cierta utilidad junto con otras magnitudes hematológicas en el diagnóstico y seguimiento de patologías ligadas a la ferropenia, siendo el hierro un mal biomarcador para el seguimiento debido a su baja individualidad como puede observarse en la tabla 25 ($II = 1,20$).

También se observó una elevada individualidad en las magnitudes relacionadas con el metabolismo lipídico (colesterol total, HDL, LDL), por lo que estaría recomendado el uso del VCR para el seguimiento en atletas. Aunque se ha observado una mayor individualidad en atletas que en individuos sanos para los triglicéridos ($II=0,9$), probablemente ligada a un mejor control lipídico debido a la

práctica de ejercicio físico regular, no estaría recomendada la interpretación de resultados seriados mediante el VRC para esta magnitud (tabla 25).

En el caso de la PCR para el seguimiento del estado inflamatorio de los atletas, debido a la extrema VB (CV_I y CV_G) observada, la interpretación de los resultados debería realizarse en base a los IRB, en lugar del VRC.

La troponina I presentó un elevado CV_G , esto le otorga una elevada individualidad pese a la gran variación observada entre los resultados seriados de cada individuo (CV_I), haciendo esta magnitud una buena candidata para la aplicación del VCR en la interpretación de resultados seriados.

Otra de las magnitudes destacables para el seguimiento de los atletas es la creatinina, en la que se observó una elevada individualidad y cuyos resultados para el seguimiento de la función renal en atletas deberían ser interpretados aplicando el VCR.

Por otra parte, la mayoría de las magnitudes hematológicas estudiadas presentan una elevada individualidad (tabla 26). Algunas como el hematocrito, la hemoglobina, el recuento de hematíes, la VCM y la HCM son adecuadas para para la aplicación del VCR en el seguimiento de la anemia y otras patologías en atletas tanto en el contexto deportivo como en el sanitario. Además, tener un bajo II , hace de la mayoría de las magnitudes hematológicas de la serie roja buenas candidatas para su aplicación en el PB en la detección del dopaje. Sin embargo, tanto el recuento absoluto de reticulocitos como su porcentaje carecen de la suficiente individualidad.

Para evaluar la individualidad del índice OFF-hr utilizado por la AMA como marcador primario en el despistaje del dopaje, se realizó la estimación de la VB y el cálculo del II y del VCR, observándose también una individualidad insuficiente para el seguimiento de los atletas y siendo discutible su aplicación en el PB.

6. Discusión

En el caso del recuento leucocitario, utilizado en el seguimiento de los atletas para detectar la inmunosupresión consecuencia del sobreentrenamiento se observó una elevada individualidad, al igual que en el caso del recuento de plaquetas, haciendo los resultados seriados de ambas magnitudes buenos candidatos para su interpretación mediante el VCR.

En resumen, todas las magnitudes con una adecuada individualidad ($II < 0,6$), tendrían una potencial aplicación en el PB para la detección del dopaje siempre y cuando estuvieran incluidas en rutas metabólicas alteradas por las sustancias dopantes investigadas. Este podría ser el caso de las magnitudes hematológicas de la serie roja, magnitudes del perfil lipídico, GGT y glucosa entre otras, alteradas por el consumo de esteroides anabolizantes (71).

6.8. Índices OFF-hr y ABPS para la detección del dopaje

Ambos índices son parámetros actualmente incluidos en el módulo hematológico para la detección del dopaje por la AMA. El hecho de que 9 sujetos de los 30 participantes estuvieran fuera de los intervalos definidos para el OFF-hr hace pensar que el intervalo definido para este índice debería revisarse debido al elevado porcentaje de falsos positivos obtenidos. Sin embargo, el punto de corte de 130 parece adecuado para el despistaje en la sospecha de dopaje ya que ninguno de los atletas estudiados lo superó. Por otra parte, 11 sujetos estuvieron por encima del límite establecido para el ABPS, lo que de nuevo nos plantea la duda de si este índice es suficientemente específico.

No se pudo explicar la elevación de ambos índices en estos sujetos mediante las variables de medicación, estado de salud y entrenamiento. Una de las explicaciones posibles pudieran ser los cambios en las concentraciones observados en las magnitudes afectadas por las variaciones en el volumen plasmático en estos sujetos, como se observa con la albúmina y las proteínas totales (figura 14). Las magnitudes hematológicas utilizadas para cálculo de estos índices, como el hematocrito y el VCM podrían ser corregidas utilizando

otras magnitudes afectadas por el cambio del volumen plasmático lo que permitiría aumentar la especificidad de estos índices (90).

La imprecisión del índice OFF-hr (4,3%) es incluso inferior a la del RET% (9,9%), que es una magnitud incluida en su estimación junto con la hemoglobina (0,9%). Esto podría deberse a la minimización del peso de los RET% en la estimación por a su inclusión como raíz cuadrada ($\text{OFF-hr} = \text{Hb (g/L)} - (60 \cdot \text{RET}\%)^{1/2}$).

Por otra parte, la imprecisión calculada a partir de los replicados en la estimación del índice ABPS (67%) no parece que sea adecuada para un índice utilizado en el seguimiento de los atletas para la detección del dopaje, ya que muchos individuos serían considerados sospechosos en función del replicado incluido en el modelo bayesiano utilizado para el cálculo del ABPS. Esta circunstancia podría ser explicada por la estimación multiparamétrica que acumularía demasiado error analítico.

7. Limitaciones

En este estudio se decidió priorizar un mayor número de muestras por sujeto y realizar el análisis por duplicado en lugar de aumentar el número de sujetos, y así asegurar la robustez de los estimados de VB para el CV_I. Por este motivo junto con otras causas como la dificultad de la adherencia a este tipo de estudios de larga duración y el encarecimiento del presupuesto, el número de atletas incluidos no fue mayor.

El diseño del estudio estaba planificado para realizar 330 extracciones, sin embargo a pesar de la cuidadosa organización de la toma de muestra, el 10% de las extracciones no fueron llevadas a cabo debido a la falta de adherencia de algunos atletas al estudio.

El cuestionario de actividad física fue completado por 25 de los 30 atletas participantes, por ello, el estudio sobre la influencia de las variables de intensidad, esfuerzo percibido y duración de los entrenamientos realizados la semana antes de la extracción sobre el CV_I, podría tener una potencia estadística ligeramente menor al estudio del resto de variables analizadas.

Algunas de las magnitudes estudiadas no cumplieron criterios de homocedasticidad para la aplicación del modelo estadístico clásico (ANOVA) y por ello los resultados derivados de estas son menos robustos y serían clasificadas como categoría C si aplicáramos la herramienta de lectura crítica BIVAC (29). Como solución futura, los estimados de estas magnitudes podrían ser analizados con métodos matemáticos alternativos, aún por desarrollar, que no asumieran la distribución homogénea de las varianzas de los sujetos incluidos en el estudio.

7. Limitaciones

El análisis de las muestras para las magnitudes de hematología y gasometría venosa no se realizó en la misma serie analítica, sino en el momento de la extracción, debido a la labilidad de la muestra, que requiere su procesamiento en minutos (gasometría) u horas (hematimetría).

Debido a la existencia de multitud de deportes en los que se desarrollan diferentes tipos de actividad física (metabolismo aeróbico-anaeróbico) es difícil asegurar la intercambiabilidad de estos estimados de VB en los atletas de otras disciplinas (halterofilia, fútbol, etc); por ello, son necesarios estudios que comparen la VB entre diferentes deportes.

La exclusión del consumo de sustancias prohibidas o el uso de métodos ilícitos se hizo mediante cuestionario y entrevista a los sujetos participantes, sin embargo no se realizó ninguna prueba directa para la detección de sustancias dopantes. Por tanto, se asume que todos los atletas incluidos no consumieron ni hicieron uso de métodos ilícitos y prohibidos por la AMA.

8. Conclusiones

1. Se han establecido estimados robustos de Variación Biológica para magnitudes de bioquímica, hematología y gasometría venosa en atletas con un diseño metodológico acorde con las recientes recomendaciones internacionales.

2. Los estimados de Variación Biológica de las magnitudes de la hematología y la gasometría venosa y parte de las estudiadas de bioquímica en atletas son similares o ligeramente superiores a los publicados en la bibliografía en población general. En cambio, para otras magnitudes bioquímicas se han observado mayores diferencias con respecto a la población general, como es el caso de las enzimas (GGT, ALT, AST, fosfatasa alcalina y CK), la PCR y la troponina I.

3. Las variables ejercicio realizado, estado de salud o periodicidad de las extracciones, no explican las diferencias encontradas entre los atletas y la población general. Este hallazgo sugiere que estas diferencias podrían ser explicadas por la condición de estrés fisiológico sostenido en el tiempo al que los atletas están sometidos debido a la práctica continua de ejercicio.

4. Los intervalos de referencia biológicos de la mayoría de las magnitudes estudiadas bioquímicas, hematológicas y de gasometría venosa en atletas son intercambiables con los de la población general. Los resultados de las magnitudes cuyos intervalos de referencia biológicos no son intercambiables como la CK, LDH o troponina I deberían ser interpretados con cautela en el contexto clínico.

5. Los nuevos intervalos de referencia biológicos derivados de este estudio podrían ser utilizados para la interpretación de resultados de atletas, aunque

8. Conclusiones

solo de manera orientativa, ya que sería deseable realizar nuevos estudios con un mayor número de sujetos para corroborar estos resultados.

6. Las especificaciones para las prestaciones analíticas derivadas de este estudio son equivalentes o incluso más permisivas que las derivadas de la población general para la mayoría de las magnitudes estudiadas.

7. Las magnitudes con bajo índice de individualidad en atletas como las enzimas hepáticas, las magnitudes del perfil lipídico, o las pertenecientes a la serie eritrocitaria del hemograma, en las que se disponga de datos seriados, deberían ser interpretadas, cuando sea posible, mediante la evolución de resultados en el tiempo utilizando el Valor de Referencia del Cambio como alternativa a los intervalos de referencia biológicos.

8. Las magnitudes hematológicas de la serie eritrocitaria estudiadas son aptas para su aplicación en el módulo hematológico del pasaporte biológico, con la excepción del porcentaje y recuento absoluto de reticulocitos. Además, Las magnitudes incluidas en este estudio con un índice de individualidad bajo ($< 0,6$) podrían ser adecuadas para su inclusión en el pasaporte biológico del atleta, siempre y cuando estén involucradas en rutas metabólicas alteradas por las sustancias ilícitas que se pretendan detectar.

9. El índice OFF-hr utilizado por la AMA como marcador primario en el despistaje del dopaje parece no ser adecuado para el seguimiento de los atletas, siendo discutible su aplicación en el pasaporte biológico del atleta. De la misma manera, el índice ABPS podría tener un rendimiento insuficiente para discriminar a los atletas sospechosos de dopaje debido a su elevada imprecisión y falta de especificidad.

9. Referencias

1. Fraser CG. Biological variation in clinical chemistry. Arch Pathol Lab Med 1992;116:916-23
2. Burtis C, Ashwood E, Bruns D. Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics. Quinta Edición, Elsevier; 2011
3. Gómez Rioja R, Martínez Espartosa D, Segovia M, Ibarz M, Llopis MA, Bauça JM et al. Laboratory sample stability. Is it possible to define a consensus stability function? An example of five blood magnitudes. Clin Chem Lab Med. 2018;56(11):1806-18
4. Lippi G, Guidi GC, Mattiuzzi C, Plebani M. Preanalytical variability: the dark side of the moon in laboratory testing. Clin Chem Lab Med. 2006;44:358-65
5. Clinical and Laboratory Standards Institute. Evaluation of precision performance of quantitative measurement methods; EP05-A2; 2ª edición. West Valley Road, Wayne, Pennsylvania US. CLSI; 2004
6. Clinical and Laboratory Standards Institute User verification of performance for precision and trueness; EP15-A2, Segunda edición. West Valley Road, Wayne, Pennsylvania US. CLSI;2006
7. Clinical and Laboratory Standards Institute. Estimation of total analytical error for clinical laboratory methods; EP21-A. West Valley Road, Wayne, Pennsylvania US. CLSI; 2003
8. Fraser CG, Peterson PH. Desirable standards for laboratory tests if they are to fulfill medical needs. Clin Chem. 1993;39:1447-5
9. Oosterhuis WP, Bayat H, Armbruster D, Coskun A, Freeman KP, Kallner A. The use of error and uncertainty methods in the medical laboratory. Clin Chem Lab Med. 2018;56(2):209-219
10. Ricós C, Álvarez V, Perich C, Bauzá FR, Salas A. Laboratorio Clínico y Calidad. Nuevas expectativas; Barcelona; Fundació pel Control de la Qualitat dels Laboratoris Clínics. 2017
11. Piepoli MF, Hoes AW, Agewall S, Albus C, Brotons C, Catapano AL, et al. 2016 European Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice. Eur Heart J. 2019;37(29):2315-81
12. Lund F, Hyltoft Petersen P, Fraser CG. Calculation of limits for significant bidirectional changes in two or more serial results of a biomarker based on a computer simulation model. Ann Clin Biochem 2015;52:434-40.

9. Referencias

13. Klersy C, d'Eril GV, Barassi A, Palladini G, Comelli M, Moratti R, et al. Advantages of the lognormal approach to determining reference change values for N-terminal propeptide B-type natriuretic peptide. *Clin Chim Acta*. 2012;413:544-7
14. Fraser C. The 1999 Stockholm Consensus Conference on quality specifications in laboratory medicine. *Clin Chem Lab Med*. 2015;53(6):837-40.
15. Ricós C, Alvarez V, Cava F, García-Lario JV, Hernández A, Kimenez C et al. *Scand J Clin Lab Invest*. Current databases on biological variation: pros, cons and progress. 1999; 59(7):491-500
16. Base de datos de Variación Biológica [Internet]. http://www.seqc.es/es/comisiones/comision-de-calidad-analitica/_id:4/. [Consulta: 2 de julio de 2019]
17. Desirable Biological Variation Database specifications. [Internet]. Disponible en: <https://www.westgard.com/biodatabase1.htm> [Consulta: 2 de julio de 2019]
18. Perich C, Minchinela J, Ricós C, Fernández-Calle P, Alvarez V, Doménech MV, et al. Biological variation database: structure and criteria used for generation and update. *Clin Chem Lab Med*. 2015;53(2):299-305
19. Sandberg S, Fraser CG, Horvath AR, Jansen R, Jones G, Oosterhuis W, et al. Defining analytical performance specifications: Consensus Statement from the 1st Strategic Conference of the European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine. *Clin Chem Lab Med*. 2015;53(6):833-5
20. Lord SJ, St John A, Bossuyt PM, Sandberg S, Monaghan PJ and O'Kane M. Setting clinical performance specifications to develop and evaluate biomarkers for clinical use. *Ann Clin Biochem* 2019;56(5):527-35
21. Panteghini M, Sandberg S. Defining analytical performance specifications 15 years after the Stockholm conference. *Clin Chem Lab Med*. 2015;53(6):829-32
22. Carobene A, Strollo M, Jonker N, Barla G, Bartlett WA, Sandberg S, et al. Sample collections from healthy volunteers for biological variation estimates' update: a new project undertaken by the Working Group on Biological Variation established by the European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine. *Clin Chem Lab Med*. 2016;54(10):1599-608
23. Carobene A, Røraas T, Sølviik UØ, Sylte MS, Sandberg S, Guerra E, al. Biological Variation Estimates Obtained from 91 Healthy Study Participants for 9 Enzymes in Serum. *Clin Chem*. 2017;63(6):1141-50
24. Carobene A, Marino I, Coşkun A, Serteser M, Unsal I, Guerra E, et al. The EuBIVAS Project: Within- and Between-Subject Biological Variation Data for Serum Creatinine Using Enzymatic and Alkaline Picrate Methods and Implications for Monitoring. Using Enzymatic

- and Alkaline Picrate Methods and Implications for Monitoring. *Clin Chem.* 2017;63(9):1527-36
- 25.**Aarsand AK, Díaz-Garzón J, Fernandez-Calle P, Guerra E, Locatelli M, Bartlett WA. The EuBIVAS: Within- and Between-Subject Biological Variation Data for Electrolytes, Lipids, Urea, Uric Acid, Total Protein, Total Bilirubin, Direct Bilirubin, and Glucose. *Clin Chem.* 2018;64(9):1380-93
- 26.**Carobene A, Guerra E, Locatelli M, Cucchiara V, Briganti A, Aarsand AK, et al. Biological variation estimates for prostate specific antigen from the European Biological Variation Study; consequences for diagnosis and monitoring of prostate cancer. *Clin Chim Acta.* 2018;486:185-91.
- 27.**Carobene A, Guerra E, Locatelli M, Ceriotti F, Sandberg S, Fernandez-Calle P, et al. Providing Correct Estimates of Biological Variation-Not an Easy Task. The Example of S100- β Protein and Neuron-Specific Enolase. *Clin Chem.* 2018;64(10):1537-39
- 28.**Carobene A, Aarsand AK, Guerra E, Bartlett WA, Coškun A, Díaz-Garzón J, et al. European Biological Variation Study (EuBIVAS): Within- and Between-Subject Biological Variation Data for 15 Frequently Measured Proteins. *Clin Chem.* 2019;65(8):1031-41
- 29.**Aarsand AK, Røraas T, Fernandez-Calle P, Ricos C, Díaz-Garzón J, Jonker N, et al. The Biological Variation Data Critical Appraisal Checklist: A Standard for Evaluating Studies on Biological Variation. *Clin Chem.* 2018;64(3):501-14
- 30.**González-Lao E, Corte Z, Simón M, Ricós C, Coskun A, Braga F, et al. Systematic review of the biological variation data for diabetes related analytes. European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine Working Group on Biological Variation and Task Group for the Biological Variation Database. *Clin Chim Acta.* 2019;488:61-7
- 31.**Díaz – Garzón J, Fernández-Calle P, Minchinela J, Aarsand AK, Bartlett WA, Aslan B. Biological variation data for lipid cardiovascular risk assessment biomarkers. A systematic review applying the biological variation data critical appraisal checklist (BIVAC). *Clin Chim Acta.* 2019; 495:467-75
- 32.**EFLM Biological Variation Database. [Internet]. Último acceso en Julio 2019. Disponible en: <https://biologicalvariation.eu/> [Consulta: 2 de julio de 2019]
- 33.**Braga F, Panteghini M. Generation of data on within-subject biological variation in laboratory medicine: An update. *Crit Rev Clin Lab Sci.* 2016;53(5):313-25
- 34.**Harris K, Boyd C. *Statistical Bases of Reference Values in Laboratory Medicine.* 146. Marcel Dekker, Inc. Virginia; 1995.
- 35.**Wilmore J, Costill D. *Fisiología del esfuerzo y del deporte.* 5ª Edición, S.L. Editorial Paidotribo; 2004.

9. Referencias

36. Wilson J, Loenneke J, Jo E, Wilson G, Zourdos MC, Kim J. The effects of endurance, strength, and power training on muscle fiber type shifting. *J Strength Cond Res.* 2012;26(6):1724-9
37. Pallarés, J. G., Moran-Navarro, R., Fernando Ortega, J., Emilio Fernandez-Elias, V, Mora-Rodriguez, R. Validity and reliability of ventilatory and blood lactate thresholds in well-trained cyclists. *PLoS One.* 2016;22;11(9):e0163389
38. Wolpern, A, Burgos, D., Janot, J., and Dalleck, L. Is a threshold based model a superior method to the relative percent concept for establishing individual exercise intensity? A randomized controlled trial. *BMC Sports Sci Med Rehabil.* 2015;7:16
39. Cerezuela-Espejo V, Courel-Ibáñez J, Morán-Navarro R, Martínez-Cava A, Pallarés J. The Relationship Between Lactate and Ventilatory Thresholds in Runners: Validity and Reliability of Exercise Test Performance Parameters. *Front Physiol.* 2018;9:1320
40. Weatherwax R, Harris N, Kilding A, Dalleck L. Time Course Changes in Confirmed 'True' VO₂ max After Individualized and Standardized Training. *Sports Med Int Open.* 2019; 3(2):32-9
41. Borg G, Lindblad I. The determination of subjective intensities in verbal descriptions of symptoms. Reports from the Institute of Applied Psychology. Stockholm: Univ Stockholm; 1976; p75
42. Dawes H, Barker K, Cockburn J, Roach N, Scott O, Wade D. Borg's rating of perceived exertion scales: do the verbal anchors mean the same for different clinical groups?. *Arch Phys Med Rehabil.* 2005;86(5):912-6
43. Slentz C, Houmard J, Johnson J, Bateman L, Tanner C, McCartney J, et al. Inactivity, exercise training and detraining, and plasma lipoproteins. STRRIDE: a randomized, controlled study of exercise intensity and amount. *J Appl Physiol* 2007;103:432-42
44. Kargotich S, Goodman C, Keast D, Morton AR. The influence of exercise-induced plasma volume changes on the interpretation of biochemical parameters used for monitoring exercise, training and sport. *Sports Med.* 1998;26(2):101-17.
45. Hammouda O, Chtourou H, Chahed H, Ferchichi S, Chaouachi A, Kallel C, et al . High intensity exercise affects diurnal variation of some biological markers in trained subjects. *Int J Sports Med.* 2012;33(11):886-91
46. Lippi G, Schena F, Montagnana M, Salvagno GL, Guidi GC. Influence of acute physical exercise on emerging muscular biomarkers. *Clin Chem Lab Med* 2008;46:1313-8
47. Geraldini S, Cruz IF, Romero A, Fonseca FLA, Campos MP. Isotonic sports drink promotes rehydration and decreases proteinuria following karate training. *J Bras Nefrol.* 2017;39(4):362-9

48. Kılıc Y, Cetin HN, Sumlu E, Pektaş MB, Koca HB, Akar F. Effects of Boxing Matches on Metabolic, Hormonal, and Inflammatory Parameters in Male Elite Boxers. 2019 Jun; 55(6): 288
49. Guder WG, Narayanan S, Wisser H, Zawta B. Diagnostic samples: from the patient to the laboratory, 4^a edición. Weinheim, Germany. Wiley-Blackwell; 2009.
50. Gresslien T, Agewall S. Troponin and exercise. *Int J Cardiol.* 2016;15 (221):609-21
51. Legaz-Arrese A, López-Laval I, George K, Puente-Lanzarote J, Moliner-Urdiales D, Ayala-Tajuelo VJ, et al. Individual variability in cardiac biomarker release after 30 min of high-intensity rowing in elite and amateur athletes. *Appl Physiol Nutr Metab.* 2015;40(9):951-8
52. Sedaghat-Hamedani F, Kayvanpour E, Frankenstein L, Mereles D, Amr A, Buss S, et al. Biomarker changes after strenuous exercise can mimic pulmonary embolism and cardiac injury--a metaanalysis of 45 studies. Biomarker changes after strenuous exercise can mimic pulmonary embolism and cardiac injury--a metaanalysis of 45 studies. *Clin Chem.* 2015;61(10):1246-55
53. R. Alis, F. Sanchis-Gomar, C. Primo-Carrau, S. Lozano-Calve, M. Dipalo, R. Aloe, J. R. Blesa M, et al. Hemoconcentration induced by exercise: Revisiting the Dill and Costill equation. *Scand J Med Sci Sports* 2015;25:630-7
54. Boone C, Hoffman J, Gonzalez A, Jajtner A, Townsend J, Baker K, et al. Changes in Plasma Aldosterone and Electrolytes Following High-Volume and High-Intensity Resistance Exercise Protocols in Trained Men. *J Strength Cond Res.* 2016;30(7):1917-23
55. Symanski JD, McMurray RG, Silverman LM, Smith BW, Siegel AJ. Serum creatine kinase and CK-MB isoenzyme responses to acute and prolonged swimming in trained athletes. *Clin Chim Acta.* 1983;129(2):181-7
56. Sanchis-Gomar F, Lippi G. Physical activity - an important preanalytical variable. *Biochem Med.* 2014;24(1):68-79
57. Telford R, Sly G, Hahn A, Cunningham R, Bryant C, Smith J. Footstrike is the major cause of hemolysis during running, *J. Appl. Physiol.* 2003; 94:38-42
58. Huang WS, Yu MD, Lee MS, Cheng CY, Yang SP, Chin H, et al. Effect of treadmill exercise on circulating thyroid hormone measurements. *Med Princ Pract.* 2004;13(1):15-9.
59. Sawka M, Convertino V, Eichner E, Schnieder S, Young A. Blood volume: importance and adaptations to exercise training, environmental stresses, and trauma/sickness. *Med Sci Sports Exerc.* 2000;32(2):332-48
60. Boyadjiev N, Taralov Z. Red blood cell variables in highly trained pubescent athletes: a comparative analysis. *Br J Sports Med.* 2000;34:200-4

9. Referencias

61. Bejder J, Andersen AB, Goetze JP, Aachmann-Andersen NJ, Nordborg NB. Plasma volume reduction and hematological fluctuations in high-level athletes after an increased training load. *Scand J Med Sci Sports*. 2017;27(12):1605-15
62. Fraser CG and Williams P. Short-term biological variation of plasma analytes in renal disease. *Clin Chem*. 1983;29:508-10
63. Gion M, Cappelli G, Mione R, Vignati G, Fortunato A, Saracchini S, et al. Variability of tumor markers in the follow-up of patients radically resected for breast cancer. *Tumor Biol*. 1993;14:325-33
64. Trapé J, Franquesa J, Sala M, Domenech M, Montesinos J, Catot S, et al. Determination of biological variation of alfa-fetoprotein and choriogonadotropin (alfa-chain) in disease-free patients with testicular cancer. *Clin Chem Lab Med*. 2010;48(12):1799-801
65. Carlsen S, Petersen PH, Skeie S, Skadberg O and Sandberg S. Within subject biological variation of glucose and HbA1c in healthy persons and in type 1 diabetes patients. *Clin Chem Lab Med*. 2011;49(9):1501-7
66. Bagger M, Petersen H, Pedersen K. Biological variation in variables associated with exercise training. *Int J Sports Med*. 2003;24(6):433-40
67. Malcovati L, Pascutto C, Cazzola M. Hematologic passport for athletes competing in endurance sports: a feasibility study. *Haematologica*. 2003;88(5):570-81
68. Røraas T, Støve B, Petersen PH, Sandberg S. Biological variation: Evaluation of methods for constructing confidence intervals for estimates of within-person biological variation for different distributions of the within-person effect. *Clin Chim Acta*. 2017;468:166-73
69. Nunes L, Brenzikofer R. Reference change values of blood analytes from physically active subjects. *Eur J Appl Physiol*. 2010;110:191–98
70. World anti-doping code; 2009. [Internet]. www.wada-ama.org/rtecontent/document/code_v2009_En.pdf [Consulta: 15 de julio de 2019]
71. Bird S, Goebel C, Burke L, Greaves R. Doping in sport and exercise: anabolic, ergogenic, health and clinical issues. *Annals of Clinical Biochemistry*. 2016, 53(2) 196–221
72. 2017 WADA Antidoping Testing Figures. [Internet]. https://www.wada-ama.org/sites/default/files/resources/files/2017_anti-doping_testing_figures_en_0.pdf [Consulta: 15 de julio de 2019]
73. Sottas PE, Robinson N, Rabin O, Saugy M. The Athlete Biological Passport. *Clin Chem*. 2011;57(7):969-76
74. World Anti-Doping Agency. Athlete biological passport operating guidelines, versión 6.0; 2017. [Internet]. <https://www.wada->

- ama.org/sites/default/files/resources/files/guidelines_abp_v6_2017_jan_en_final.pdf
[Consulta: 2 de julio de 2019]
- 75.**Sottas PE, Robinson N, Saugy M. The athlete's biological passport and indirect markers of blood doping. *Handb Exp Pharmacol.* 2010;195:305–26
- 76.**Sottas PE, Saugy M, Saudan C. Endogenous steroid profiling in the Athlete Biological Passport. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2010;39:59-73
- 77.**Holt RI, Sönksen PH. Growth hormone, IGF-I and insulin and their abuse in sport. *Br J Pharmacol.* 2008;154:542–56
- 78.**Nguyen T, Nelson A, Howe C, Seibel M, Baxter R, Handelsman D, et al. Within-subject variability and analytic imprecision of insulinlike growth factor axis and collagen markers: implications for clinical diagnosis and doping tests. *Clin Chem.* 2008;54(8):1268-76
- 79.**World Anti-Doping Agency. Código Mundial Antidopaje. Estándar internacional. Laboratorios; 2016. [Internet]. https://www.wada-ama.org/sites/default/files/resources/files/laboratorios_final.pdf [Consulta: 5 de julio de 2019]
- 80.**Røraas T, Petersen PH, Sandberg S. Confidence intervals and power calculations for within-person biological variation: effect of analytical imprecision, number of replicates, number of samples, and number of individuals. *Clin Chem.* 2012;58 (9):1306-13
- 81.**Clinical and Laboratory Standards Institute. Defining, Establishing and Verifying Reference Intervals in the Clinical Laboratory; EP28-A3c. 2ª edición. West Valley Road, Wayne, Pennsylvania US. CLSI; 2010
- 82.**Røraas T, Støve B, Petersen PH, Sandberg S. Biological Variation: The effect of different distributions on estimated within-person variation and reference change values. *Clin Chem.* 2016;62:725-26
- 83.**Schütz F, Zollinger A. ABPS: An R Package for Calculating the Abnormal Blood Profile Score. *Front Physiol.* 2018;21(9):1638
- 84.**Cooper K. The aerobic way. New Cork: bantmen Books Inc 1982.
- 85.**Maïmoun L, Galy O, Manetta J, Coste O, Peruchon E, Micallef JP, et al. Competitive season of triathlon does not alter bone metabolism and bone mineral status in male triathletes. *Int J Sports Med.* 2004;25(3):230-4.
- 86.**Harding P, Fraser C. Biological variation of blood acid-base status: consequences for analytical goal-setting and interpretation of results. *Clin Chem.* 1987;33 (8):1416-8
- 87.**Schmidt W, Maassen N, Trost F, Böning D. Training induced effects on blood volume, erythrocyte turnover and haemoglobin oxygen binding properties. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol.* 1988;57(4):490-8

9. Referencias

88. Clénin G, Cordes M, Huber A, Schumacher YO, Noack P, Scales J, et al. Iron deficiency in sports - definition, influence on performance and therapy. *Swiss Med Wkly.* 2015;145:w14196
89. Banfi G, Lombardi G, Colombini A, Lippi G. Bone metabolism markers in sports medicine. *Sports Med.* 2010;40(8):697-714
90. Lobigs L, Sottas PE, Bourdon P, Nikolovski Z, El-Gingo M, Varamenti E, et al. A step towards removing plasma volume variance from the Athlete's Biological Passport: The use of biomarkers to describe vascular volumes from a simple blood test. *Drug Test Anal.* 2018;10(2):294-300
91. Combined aerobic and resistance exercise improves glycemic control and fitness in type 2 diabetes. Maiorana A, O'Driscoll G, Goodman C, Taylor R, Green D. *Diabetes Res Clin Pract.* 2002;56(2):115-23
92. El Abed K, Ammar A, Boukhris O, Trabelsi K, Masmoudi L, Bailey SJ. Independent and Combined Effects of All-Out Sprint and Low-Intensity Continuous Exercise on Plasma Oxidative Stress Biomarkers in Trained Judokas. *Front Physiol.* 2019;9(10):842
93. Mougios V. Reference intervals for serum creatine kinase in athletes. *Br J Sports Med.* 2007;41(10):674-8
94. Romagnoli M, Alis R, Aloe R, Salvagno GL, Basterra J, Pareja-Galeano H, et al. Influence of training and a maximal exercise test in analytical variability of muscular, hepatic, and cardiovascular biochemical variables. *Scand J Clin Lab Invest.* 2014 Apr;74(3):192-8
95. Nedelec M, McCall A, Carling C, Legall F, Berthoin S, Dupont G. Recovery in soccer: part I-postmatch fatigue and time course of recovery. *Sports Med.* 2012;42(12):997-1015
96. Giannitsis E, Roth J, Leithauser M, Scherhag J, Beneke R, Katus A. New highly sensitivity assay used to measure cardiac troponin T concentration changes during a continuous 216-km marathon. *Clin. Chem.* 2009;55(3): 590-2
97. G. Lippi, F. Schena, G.L. Salvagno, M. Montagnana, M. Gelati, C. Tarperi, et al., Influence of a half-marathon run on NT-proBNP and troponin T, *Clin. Lab.* 2008;54 (7-8): 251-4
98. Coşkun A, Carobene A, Kilercik M, Serteser M, Sandberg S, Aarsand AK, et al. Within-subject and between-subject biological variation estimates of 21 hematological parameters in 30 healthy subjects. *Clin Chem Lab Med.* 2018;26.56(8):1309-18
99. Michalczyk M, Czuba M, Zydek G, Zając A, Langfort J. Dietary Recommendations for Cyclists during Altitude Training. *Nutrients.* 2016;18;8(6)

10. Palabras clave

Variación Biológica

Atletas

Especificaciones de las prestaciones analíticas

Ejercicio físico

Pasaporte biológico

Dopaje

Medicina de laboratorio

11. Lista de abreviaturas

ADAMS: *WADA's Anti-Doping Administration and Management System*

ALT: Alanina-aminotrasferasa

AMA: Agencia mundial anti-dopaje

APMU: *Athlete Passport Management Unit*

AST: Aspartato aminotransferasa

BIVAC: *The Biological Variation Data Critical Appraisal Checklist*

CCA: Comisión de Calidad Analítica

CHCM: Concentración corpuscular media de hemoglobina

CK: Creatina fosfoquinasa

CLIA: *Clinical Laboratory Improvement Amendments*

COI: Comité Olímpico Internacional

CV_A: Coeficiente de variación analítica o imprecisión

CV_{EPA}: Especificaciones para la imprecisión analítica

CV_G: Coeficiente de variación interindividual

CV_I: Coeficiente de variación intraindividual

DC: *Delta - Check*

EB: Exceso de bases

EDTA: Ácido etilendiaminotetraacético

EFLM: *European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*

eGFR: Tasa de filtración glomerular estimada

ENAC: Entidad Nacional de Acreditación

EPA: Especificaciones de las prestaciones analíticas

EPO: Eritropoyetina

EQAs: Programas de garantía externa de la calidad

ES: Error sistemático

EPA(ES): Especificaciones para el error sistemático

ET: Error total

EPA(ET): Especificaciones para el error total

EuBIVAS: *European Biological Variation Study*

FC: Frecuencia cardiaca
GGT: Gamma-glutaril-transpeptidasa
Hb: Hemoglobina
HCM: Hemoglobina corpuscular media
HDL: Colesterol HDL
HHb: Desoxi-hemoglobina
IFCC: *International Federation of Clinical Chemistry*
II: Índice de individualidad
IRB: Intervalo de referencia biológico
ISO: *International Organization for Standardization*
IUPAC: *International Union of Pure and Applied Chemistry*
Lpm: Latidos por minuto
LDH: Lactato deshidrogenasa
LDL: Colesterol LDL
NT-proBNP: Propéptido natriurético cerebral N-terminal
OMS: Organización Mundial de la Salud
OXIHb: Oxi-hemoglobina
PB: Pasaporte biológico del atleta
pCO₂: Presión parcial de dióxido de carbono
PCR: Proteína C reactiva
pO₂: Presión parcial de oxígeno
Rad: Resultado adverso
Rat: Resultado atípico
VCR: Valor de Referencia del Cambio
RDW: Ancho de distribución eritrocitaria
RET%: Porcentaje de reticulocitos
SEQC^{ML}: Sociedad Española de Medicina de Laboratorio
TGF: Task Force Group on Biological Variation Database
TSH: Hormona estimulante del tiroides
UCI: Unión Ciclista Internacional
V_A: Variación analítica
V_B: Variación Biológica
V_{BG}: Variación Biológica interindividual

11. Lista de abreviaturas

- VB_i: Variación Biológica intraindividual
- VCM: Volumen corpuscular medio
- VCO₂: Volumen de dióxido de carbono producido
- VHB: Virus de la hepatitis B
- VHC: Virus de la hepatitis C
- VIH: Virus de la inmunodeficiencia humana
- VO₂: Volumen de oxígeno consumido
- VO₂max: Volumen máximo de oxígeno consumido
- VPM: Volumen plaquetar medio
- V_{PRE}: Variación pre-analítica
- V_T: Variación total en una medición de laboratorio
- VT1: Primer umbral ventilatorio
- VT2: Segundo umbral ventilatorio

12. Lista de tablas

Tabla 1. Zonas de intensidad del ejercicio físico. Tabla adaptada de Pallarés y colaboradores (37).

Tabla 2. Escala de esfuerzo percibido. Tabla adaptada de Borg G y colaboradores (41).

Tabla 3. Magnitudes de laboratorio y el efecto producido en la concentración plasmática post-ejercicio.

Tabla 4. Métodos analíticos e instrumentos empleados para la medición de las magnitudes determinadas.

Tabla 5. Mediana y rango intercuartílico de las variables antropométricas registradas durante cada una de las visitas de los atletas divididos en función del género.

Tabla 6. Mediana y el rango intercuartílico de los resultados obtenidos en la prueba de esfuerzo incremental realizada por los atletas en función del género.

Tabla 7. Media y desviación estándar (SD) del número de días y sesiones registrados, así como la frecuencia, y duración de la actividad física diaria realizada por los atletas.

Tabla 8. Duración, distancia e intensidad en función del tipo de deporte practicado en los entrenamientos registrados por los atletas.

Tabla 9. Mediana y rango intercuartílico de la concentración de las magnitudes de la gasometría analizadas en la población de atletas estudiada para las cuales no se encontraron diferencias entre ambos sexos.

12. Lista de tablas

Tabla 10. Mediana y rango intercuartílico de la concentración de las magnitudes bioquímicas analizadas en la población de atletas estudiada. Las magnitudes en las que existen diferencias en función del sexo, se presentan por separado.

Tabla 11. Mediana y rango intercuartílico de la medida de las magnitudes hematológicas analizadas en la población de atletas estudiada. Las magnitudes en las que existen diferencias en función del sexo, se presentan por separado.

Tabla 12. Número de sujetos y resultados incluidos para el cálculo de los estimados de VB, porcentaje de outliers excluidos, media y desviación estándar (SD) de los resultados, imprecisión analítica (CV_A), estimados de VB intraindividual (CV_I) e interindividual (CV_G) y sus intervalos de confianza al 95% para las magnitudes de la gasometría en atletas separados en el caso de que hubiera diferencias significativas.

Tabla 13. Número de sujetos y resultados incluidos para el cálculo de los estimados de VB, porcentaje de outliers excluidos, media y desviación estándar (SD) de los resultados, imprecisión analítica (CV_A), estimados de VB intraindividual (CV_I) e interindividual (CV_G) y sus intervalos de confianza al 95% para las magnitudes bioquímicas en atletas separados en el caso de que hubiera diferencias significativas. Los estimados en los que se encontraron diferencias entre ambos sexos se reportan por separado.

Tabla 14. Número de sujetos y resultados incluidos para el cálculo de los estimados de VB, porcentaje de outliers excluidos, media y desviación estándar (SD) de los resultados, imprecisión analítica (CV_A), estimados de VB intraindividual (CV_I) e interindividual (CV_G) y sus intervalos de confianza al 95% para las magnitudes bioquímicas en atletas separados en el caso de que hubiera diferencias significativas. Los estimados en los que se encontraron diferencias entre ambos sexos se reportan por separado.

Tabla 15. Comparación de los estimados de VB intraindividual (CV_I) e interindividual (CV_G) de magnitudes de la gasometría derivados de los resultados de este estudio en atletas, con los publicados en la bibliografía en individuos sanos.

Tabla 16. Comparación de los estimados de VB intraindividual (CV_I) e interindividual (CV_G) de magnitudes bioquímicas derivados de los resultados de este estudio en atletas con los publicados en la bibliografía en individuos sanos y atletas.

Tabla 17. Comparación de los estimados de VB intraindividual (CV_I) e interindividual (CV_G) derivados de los resultados de este estudio en atletas con los publicados en la bibliografía en individuos sanos y atletas.

Tabla 18. IRB declarados por el proveedor para población sana de las diferentes magnitudes de la gasometría, si han sido verificados en la población de atletas estudiada y la correspondiente significación estadística (p). Para los IRB no verificados, se muestra los nuevos IRB calculados a partir de la población de atletas.

Tabla 19. IRB declarados por el proveedor para población sana de las diferentes magnitudes bioquímicas, si han sido verificados en la población de atletas estudiada y la correspondiente significación estadística (p). Para los IRB no verificados, se muestra los nuevos IRB calculados a partir de la población de atletas. *Han sido excluidos los individuos con valores extremos de troponina I según los criterios de Reed`s. En el caso de la troponina I no se ha utilizado el método recomendado por la IFCC para el cálculo de percentil 99.

Tabla 20. IRB declarados por el proveedor para población sana de las diferentes magnitudes hematológicas, si han sido verificados en la población de atletas estudiada y la correspondiente significación estadística (p).

12. Lista de tablas

Tabla 21. EPA deseables para la imprecisión (CV_A), el error sistemático (ES) y el error total (ET) de las magnitudes de la gasometría derivadas de la BV en atletas comparadas con las derivadas de la base de datos de Ricós y colaboradores.

Tabla 22. EPA deseables para la imprecisión (CV_A), el error sistemático (ES) y el error total (ET) derivadas de la BV de las magnitudes bioquímicas en atletas comparadas con las derivadas de la base de datos de Ricós y colaboradores.

Tabla 23. EPA deseables para la imprecisión (CV_A), el error sistemático (ES) y el error total (ET) derivadas de la BV de las magnitudes hematológicas en atletas comparadas con las derivadas de la base de datos de Ricós y colaboradores.

Tabla 24. Índice de individualidad y valor de referencia del cambio para la interpretación de aumentos (VCR_{pos}) y disminuciones (VCR_{neg}) de resultados en determinaciones seriadas de atletas en magnitudes de la gasometría. El VRC ha sido calculado con el CV_A obtenido en nuestro laboratorio.

Tabla 25. Índice de individualidad y valor de referencia del cambio para la interpretación de aumentos (VCR_{pos}) y disminuciones (VCR_{neg}) de resultados en determinaciones seriadas de atletas en magnitudes bioquímicas. El VRC ha sido calculado con el CV_A obtenido en nuestro laboratorio.

Tabla 26. Índice de individualidad y valor de referencia del cambio para la interpretación de aumentos (VCR_{pos}) y disminuciones (VCR_{neg}) de resultados en determinaciones seriadas de atletas en magnitudes hematológicas. El VRC ha sido calculado con el CV_A obtenido en nuestro laboratorio.

13. Lista de figuras

Figura 1. Gráfico de Levey-Jennings en el que se muestran los resultados del control de calidad para el colesterol total (concentración, mg/dL) a lo largo del tiempo (semanas).

Figura 2. Variaciones (%) del volumen de sangre total, el volumen plasmático y el volumen eritrocitario a lo largo del tiempo (días) después de haber iniciado una rutina de entrenamientos (59).

Figura 3. En azul, se representan los resultados de hemoglobina (g/L) a lo largo del tiempo de un atleta que fue penalizado por dopaje. En rojo se representan los límites que define el modelo bayesiano que utiliza la AMA. La barra inferior representa la potencia estadística de predicción del modelo, que aumenta a medida que lo hacen el número de muestras recogidas al atleta. (73).

Figura 4. Diagrama de cajas con los resultados de hemoglobina (g/dL) para cada uno de los sujetos incluidos en el estudio, que fue considerada una magnitud homocedástica.

Figura 5. Diagrama de cajas con los resultados de troponina I (ng/L) para cada uno de los sujetos incluidos en el estudio, que fue considerada una magnitud no homocedástica.

Figura 6. Representación gráfica de la media de los resultados de todos los sujetos para el análisis de tendencia de la hemoglobina (g/dL) en azul y la glucosa (mg/dL) en rojo, en función del tiempo.

Figura 7. Representación gráfica de los resultados de un individuo para el análisis de tendencia de la creatinina (mg/dL) en azul y la albúmina (g/dL) en rojo en función del tiempo.

13. Lista de figuras

Figura 8. Máxima disminución del estimado de VB intraindividual (CV_i) después de incorporar las variables con potencial influencia sobre la VB en el modelo lineal mixto y número de magnitudes afectadas en más de un 2% por cada una de estas variables.

Figura 9. Máxima disminución del estimado de VB interindividual (CV_G) después de incorporar las variables con potencial influencia sobre la VB en el modelo lineal mixto, y número de magnitudes afectadas en más de un 2% por cada una de estas variables.

Figura 10. Diagrama de cajas que muestra los resultados para el índice OFF-hr de los 32 atletas participantes.

Figura 11. Estimaciones de los índices OFF-hr y ABPS para las muestras ($n=17$) cuyos resultados para el índice ABPS podrían ser considerados como sospechosos.

Figura 12. Estimaciones de los índices ABPS y OFF-hr a lo largo del estudio para un atleta cuyos resultados para ambos índices están dentro de los intervalos definidos y no podría ser considerado sospechoso de dopaje.

Figura 13. Estimaciones de los índices ABPS y OFF-hr a lo largo del estudio para un atleta cuyos resultados para el índice ABPS están por encima de los intervalos definidos y podría ser considerado sospechoso de dopaje.

Figura 14. Índice ABPS y proteínas totales (g/dL) en uno de los atletas a lo largo de las 11 visitas.

14. Anexos

Anexo 1. Hoja de información a los participantes

Recogida de muestras en deportistas de alto rendimiento para la evaluación de su Variación Biológica. Protocolo [Atletas VB]		Versión 02
	Atletas VB Determinación de la variación biológica de magnitudes hematológicas y bioquímicas y de la metabólica en deportistas de alto rendimiento	Pag. 1 de 4

=====

HOJA DE INFORMACIÓN AL PARTICIPANTE

=====

Estimado participante.

En el Hospital Universitario la Paz pretendemos llevar a cabo un estudio de investigación al que se le invita a participar que tiene como objetivo recoger muestras de sangre para la definición y / o confirmación de los valores de variación biológica inter-individual (diferencias normales entre individuos sin ningún tipo de enfermedad) e intra- individual (variabilidad normal presente en el mismo individuo en torno a un punto de equilibrio) en deportistas de alto rendimiento.

Los valores de la variación intra-individual son de gran utilidad para la interpretación de los datos de laboratorio en el seguimiento del deportista. El título del proyecto es: "Determinación de la variación biológica de magnitudes hematológicas y bioquímicas y de la metabólica en deportistas de alto rendimiento " [Atletas VB]

Antes de tomar la decisión de aceptar o negarse a participar, por favor, lea cuidadosamente estas páginas, tomándose el tiempo necesario, y pida aclaraciones necesarias si no entendiera las condiciones. También, si lo desea, antes de decidirse, puede pedir opinión a su médico.

Los beneficios más importantes de este estudio son para la comunidad deportista, ya que se obtendrán valores de variación biológica más apropiados que los disponibles en la literatura actualmente.

El objetivo general de la investigación es el siguiente:

Crear una colección de muestras biológicas para la verificación y creación de una base de datos de variación biológica a nivel internacional, específica para atletas para el mayor número posible de magnitudes de laboratorio. Los valores de la variación biológica son fundamentales para la definición de los objetivos analíticos (valores máximos aceptables de variabilidad en los análisis de laboratorio) y en la definición de los valores de diferencia críticos (es decir las diferencias entre la medición de valores en serie que muestran la evolución de patologías o la eficacia, o no del tratamiento terapéutico durante la monitorización del paciente).

Estos valores son utilizados actualmente por profesionales sanitarios a nivel internacional, sin embargo están derivados de un número limitado de publicaciones científicas, por lo general con un diseño experimental pobre. El objetivo es determinar los valores de la variación biológica para el mayor número posible de parámetros de laboratorio y compararlos con la actual base de datos existente en sujetos sanos (no deportistas).

Además la variación biológica está estrechamente vinculada con el pasaporte biológico (sistema que establece las propiedades y variables en la sangre de los atletas), ampliamente utilizado por las agencias gubernamentales nacionales e internacionales (WADA) en la investigación para el control del dopaje.

¿En qué consistirá el estudio?

Para este estudio es necesaria la recolección de 11 muestras de sangre y orina, con una periodicidad mensual, y una duración total de 1 año. Por cada toma se requiere un total aproximado de 50 mL de sangre, que representa una décima parte de una donación normal (500mL), es decir, la cantidad total de

14. Anexos

Anexo 2. Hoja de consentimiento informado

CONSENTIMIENTO INFORMADO POR ESCRITO

Título del Proyecto de Investigación: Determinación de la variación biológica de magnitudes hematológicas y bioquímicas y de la metabólica en deportistas de alto rendimiento.

Investigador Principal: Dr. Antonio Buño Soto
Hospital: Hospital Universitario La Paz
Servicio Análisis Clínicos

Yo (nombre y apellidos)

.....
He leído la hoja de información que se me ha entregado.
He podido hacer preguntas sobre el estudio.
He recibido suficiente información sobre el estudio.

He hablado con:

.....
(Nombre del Miembro del Equipo de Investigación)

Comprendo que mi participación es voluntaria.
Comprendo que puedo retirarme del estudio:
1º Cuando quiera
2º Sin tener que dar explicaciones.
3º Sin que esto repercuta en mis cuidados médicos.
Presto libremente mi conformidad para participar en el estudio.

FIRMA DEL PARTICIPANTE

FIRMA DEL MIEMBRO DEL EQUIPO DE
INVESTIGACIÓN

FECHA:

FECHA:

Anexo 3. Cuestionario de inclusión a los participantes

Cuestionario de inclusión

Nombre y Apellidos

Fecha de nacimiento

Sexo

¿Padeces algún tipo de enfermedad?

Selecciona si ha habido algún caso de las siguientes enfermedades en tu familia

- Cáncer
- Enfermedad cardiovascular
- Enfermedad Renal
- Diabetes
- Enfermedad Hepática
- Enfermedad Tiroidea
- Enfermedad Neurológica
- Talasemia u otras hemoglobinopatías
- Talasemia u otras hemoglobinopatías
- Otras _____

¿Sigues alguna tipo de dieta específico?

¿Tomas algún tipo de suplementación?

¿Tienes alguna alergia conocida?

¿Tomas alguna medicación de forma regular?

14. Anexos

Anexo 4. Ejemplo de tabla de registro de actividad física

dia/mes/año	EJEMPL	Tiempo (horas:minutos)	Distancia (m)	Intensidad (T1-T5)	Frecuencia Cardiaca media (bpm)	Esfuerzo (1-20)	Tiempo (horas:minutos)	Distancia (Km)	Intensidad (T1-T5)	Frecuencia Cardiaca media (bpm)	Esfuerzo (1-20)	Tiempo (horas:minutos)	Distancia (m)	Intensidad (T1-T5)	Frecuencia Cardiaca media (bpm)	Esfuerzo (1-20)
01/01/2017	Domingo	0:50	2.500	T5	195	20	4:15	115	T1	120	11	0:45	10000	T3	164	15
02/01/2017	Lunes															
03/01/2017	Martes						1:27	31,6	T2	133	11					
04/01/2017	Miercoles						1:26	40,3	T2	140	11	0:31	5320	T2	150	12
05/01/2017	Jueves															
06/01/2017	Viernes															
07/01/2017	Sabado											0:38	8000	T4	169	16
08/01/2017	Domingo						2:00	60	T3	149	13					
09/01/2017	Lunes	0:35	1500	T2	135	11										
10/01/2017	Martes											0:52	9500	T2	148	12
11/01/2017	Miercoles	0:30	1500	T2	140	11										
12/01/2017	Jueves						0:50	29	T2	129	10	0:30	5300		150	12
13/01/2017	Viernes	0:52:00	2250	T2	140	12										
14/01/2017	Sabado											0:44:00	7500	T2	140	11
15/01/2017	Domingo	13:16	1000	T5	178	20	1:13:00	24	T1	120	8					
16/01/2017	Lunes						0:50:00	28	T2	110	9					
17/01/2017	Martes	0:45:00	1700	T1	105	10						0:44:00	8000	T2	145	11
18/01/2017	Miercoles															
19/01/2017	Jueves						0:52:00	30	T1	118	10	0:30:00	5200	T2	144	11
20/01/2017	Viernes	0:50:00	2400	T1	120	10										
21/01/2017	Sabado	0:59:53	2650	T2	135	12										
22/01/2017	Domingo						3:00:00	83	T2	135	12					
23/01/2017	Lunes	1:02	300	T2	131	13										
24/01/2017	Martes						0:50:00	28	T2	118	11	0:50:00	8500	T2	139	12
25/01/2017	Miercoles															

Anexo 5. Ejemplo de informe de prueba de esfuerzo



PRUEBA DE ESFUERZO

NOMBRE:

EDAD:

SEXO: Femenino

PESO:

TALLA:

IMC: :

ECG: estrecho (< 0.10); eje normal; no impresiona de signos de hipertrofia ni alteraciones en el ST.

ECG durante la realización de la prueba de esfuerzo máxima:

**Concluyente por criterios clínicos (alcanzando el 91% de su FCMT).
Ha resultado clínica y eléctricamente negativa para isquemia al nivel de carga alcanzado**

No se presenta sintomatología clínica durante la realización de la prueba.

No se inducen arritmias.

Recuperación correcta teniendo en cuenta que llega al máximo de la TA y la FC tras el ejercicio (a los 90" alcanza los 120 lpm y TA de 13/8)

TApre: 14/7

TApost: 13/8

PRUEBA DE ESFUERZO:

ERGÓMETRO: Cicloergómetro.

PROTOCOLO: Incremental en rampa hasta el agotamiento.

- Puesta en marcha y verificación de aparatos: 2 minutos 50w.
- Carga inicial: 50w.

Aumentos de carga: 5w cada 12".

14. Anexos

MODELO TRIFÁSICO SKINNER Y MCLELLAN

FASE I	VT ₁	FASE II	VT ₂	FASE III	Valores Máximos
	140 lpm	140-161 lpm	161lpm	161-185 lpm	FC _{máx} = 185 lpm
	77 % FC _{máx}		89 % FC _{máx}		W _{max} = 290W
	67% VO _{2máx}		90 % VO _{2máx}		VO _{2máx} = 43.0·kg ⁻¹ ·min ⁻¹

COMENTARIOS:

La prueba de esfuerzo ha sido pico a nivel cardiovascular, se observa en que la frecuencia cardíaca máxima está en 180(91% la FCMT teórica es de 192). A nivel ventilatorio se considera máxima; se observa en el RER (tasa de intercambio respiratorio) que asciende a 1,28, alcanzando el valor 1,15 (criterio de prueba máxima). El consumo de oxígeno máximo (VO_{2max}) en valores absolutos es 2,62 l·min⁻¹, y en relación al peso corporal es de 43.1 ml·kg⁻¹·min⁻¹. Son valores considerados SUPERIOR para la población de su misma edad y sexo (ver tabla de *Clasificación de la Capacidad Aeróbica*). Es decir, tiene una capacidad aeróbica alta. Esto en parte se ve favorecido por un Índice de Masa Corporal de normopeso (IMC de 22.8 kg/m²) (ver tabla de *IMC de valores de referencia para población general*). Es decir, al tener un peso óptimo, el coste energético a la hora de desplazarse hace que tenga una mejor capacidad de trabajo.

El umbral aeróbico o umbral ventilatorio 1 está situado al 67% de su VO_{2max} y a un porcentaje de la FC_{máx} del 77% (140 lpm) indicando que está por encima de los valores considerados normales o de referencia para la población sana (50-60% del VO_{2max}). El umbral anaeróbico o umbral ventilatorio 2 está situado al 89 % de su VO_{2max} y a un porcentaje de la FC_{máx} del 89% (161 lpm), indicando que está dentro de los valores de referencia (80-90% del VO_{2max}). La mejora de los umbrales, viene marcada por un trabajo de resistencia cardiovascular a unas intensidades marcadas a continuación.

Su sistema respiratorio se muestra poco eficiente a ritmos bajos, su equivalente de oxígeno VE/VO₂ es alto. Tiene una ventilación máxima que asciende a 130 l/min. Por tanto, tiene una potencia aeróbica suficiente (se ve en los valores de consumo de

oxígeno máximo y de ventilación máxima) . Posteriormente se detallan las intensidades para realizar el trabajo cardiorrespiratorio.

Clasificación de la capacidad aeróbica de acuerdo con el sexo y la edad.

(Valores expresados en $\text{ml}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$)

HOMBRE	13-19 años	20-29 años	30-39 años	40-49 años	50-59 años	60 +
Muy pobre	< 35,0	<33,0	<31,5	<30,2	<26,1	<20,5
Mala	35,0-38,3	33,0-36,4	31-35,4	30,2-33,5	26,1-30,9	20,5-26
Suficiente	38,4-45,1	36,5-42,4	35,5-40,9	33,6-38,9	31,0-35,7	26,1-32,2
Buena	45,2-50,9	42,5-46,4	41,0-44,9	39,0-43,7	35,8-40,9	32,3-36,4
Excelente	51,0-55,9	46,5-52,4	45,0-49,4	43,8-48,0	41,0-45,3	36,4-44,2
Superior	>56,0	>52,5	>49,4	>48,1	>45,4	>44,3

MUJER	13-19 años	20-29 años	30-39 años	40-49 años	50-59 años	60 +
Muy pobre	< 25,0	<23,6	<22,8	<21,0	<20,2	<17,5
Mala	25,0-30,9	23,6-28,9	22,8-26,9	21,0-24,4	20,2-22,7	17,5-20,1
Suficiente	31,0-34,9	29,0-32,9	27,0-31,4	24,5-28,9	22,8-26,9	20,2-24,4
Buena	35,9-38,9	33,0-36,9	31,4-35,6	29,0-32,8	27,0-31,4	24,5-30,2
Excelente	39,0-41,9	37,0-40,0	35,7-40,0	32,9-36,9	31,5-35,7	30,3-31,4
Superior	>42,0	>41,0	>40,1	>37,0	>35,8	>31,5

Fuente: Cooper K. *The aerobic way*. New Cork: bantmen Books Inc 1982

14. Anexos

Valores normales de IMC para la población general	
Clasificación	Clasificación
Por debajo	< 18,5
Peso normal	18,5 – 24,9
Sobrepeso	25,0 – 29,9
Obesidad I	30,0 – 34,9
Obesidad II	35,0 – 39,9
Obesidad III (extrema)	≥ 40

¿Qué el consumo de oxígeno?

El consumo de oxígeno expresa la cantidad de oxígeno que el organismo transporta, absorbe y consume en la unidad de tiempo. Es el parámetro fisiológico más importante para determinar la capacidad funcional del sujeto y depende de tres sistemas: el cardiovascular, el pulmonar y el muscular. Considerado por la OMS (Organización Mundial de la Salud) como uno de los mejores indicadores de salud y relacionado con la longevidad. Cuanta más alta se tenga esta variable o si se produce una mejora de ésta, se reduce también el riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares.

¿A qué intensidad se debe trabajar el acondicionamiento cardiorrespiratorio?

Su resistencia aeróbica puede mejorarse a través de un entrenamiento continuado y largo en el tiempo (por encima de los 60 minutos) a intensidades un poco por encima de tu umbral ventilatorio (140-161) lpm. Con esto se conseguirá retrasar la aparición del primer umbral y reducir la fatiga. Recuerde que el umbral aeróbico es una intensidad de trabajo que se puede mantener durante largos períodos de tiempo.

El segundo umbral o anaeróbico puede mejorarse realizando trabajo interválico, donde 1/3 de días a la semana se realicen series de 1-35´ a intensidades por encima del umbral anaeróbico (161-185lpm) y otros 1 o 2 minutos a intensidades por debajo de éste (135 lpm aproximadamente), hasta completar unos 25-60 minutos de entrenamiento. Este tipo de entrenamiento le ayudará a mantener su capacidad máxima durante más tiempo (permite prolongar el trabajo a intensidades altas).

Lo que primero se tendría que hacer es entrenamientos continuados y largos a intensidades un poco por encima del primer umbral. Es importante coger base aeróbica

para posteriormente trabajar a intensidades más altas introduciendo por ejemplo, el trabajo de intervalos.

No obstante, para entrenar en zonas saludables se recomienda trabajar entre 140-161 latidos por minuto (Fase 2), con una duración de entre 20 y 60 minutos de 3 a 5 días semanales. Con esto se mantendrá y/o mejorará la capacidad aeróbica del individuo. Es recomendable entrenar con pulsómetro para tener en todo momento controlada la frecuencia cardíaca

Zonas de entrenamiento	Mejora metabolismo grasas	Resistencia aeróbica	Capacidad aeróbica-anaeróbica	Capacidad anaeróbica	Capacidad anaeróbica
F. Cardíaca	<140	140/150	150/161	161/175	175/185
Tipo entrenamiento	Continuo extensivo	Continuo intensivo	Interválico extensivo	Interválico intensivo Largo	Interválico intensivo medio-corto

Consejo

La frecuencia es muy importante. Realizar actividad física regular, es decir varias veces por semana, debe ser nuestra meta. De nada sirve hacer mucho un día y no volver a practicar hasta la semana siguiente...

Médico:

Licenciado en Educación Física:

14. Anexos

Anexo 6. Cuestionario de seguimiento a los participantes

Cuestionario de seguimiento

Nombre y Apellidos

Número de participante y número de visita del estudio

Fecha

¿Acude a la analítica en ayunas?

¿Ha tomado algún tipo de medicación durante la última semana? Especifique el nombre del fármaco, dosis y duración del tratamiento

¿Sigues alguna tipo de dieta específico?

¿Tomas algún tipo de suplementación? Especifique que tipo de suplementación está tomando

¿Ha estado enfermo durante la última semana? Si ha estado enfermo durante la última semana, especifique

¿Ha competido en los últimos 15 días?, si es así, indique la fecha de la competición

¿Ha entrenado en las últimas 24 horas? Si es así, indique la hora a la que realizo el entrenamiento. Especifique el tipo de entrenamiento que ha realizado en las últimas 24 horas (Actividad, tiempo, intensidad)

Solo mujeres:

¿Cuándo fue tu último periodo?

Anexo 7. Documento de aprobación por la comisión de investigación de idiPaz



Hospital Universitario La Paz
Paseo de La Castellana, 261
Edificio Escuela de Enfermería, 4ª Planta
28046 - Madrid

Comisión de Investigación IdiPAZ

Informe Proyecto de Investigación

Madrid, 11 de febrero de 2016

La Comisión de Investigación del Instituto de Investigación Sanitaria del Hospital Universitario La Paz - IdiPAZ ha examinado el proyecto de investigación titulado:

“Determinación de la variación biológica de magnitudes hematológicas y bioquímicas y de la metabolómica en deportistas de alto rendimiento”

Investigador Principal: Antonio Buño Soto. Servicio de Análisis Clínico.

El Proyecto de Investigación cumple los requisitos metodológicos necesarios y es viable en todos sus términos, por todo ello la Comisión de Investigación lo ha considerado adecuado y ha decidido su aprobación para ser presentado en el CEIC.

Fdo.: Francisco Arnalich Fernández
Presidente Comisión de Investigación IdiPAZ

Fdo.: David Hardisson Hernaez
Secretario Comisión de Investigación IdiPAZ

14. Anexos

Anexo 8. Documento de aprobación por el comité ético de investigación clínica



INFORME DEL COMITE ÉTICO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA

D^a Almudena Castro Conde, Presidenta del Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital Universitario La Paz

CERTIFICA

Que este Comité ha evaluado la propuesta del investigador Antonio Buño Soto del Servicio de Análisis Clínicos del Hospital Universitario "La Paz" para que se realice el estudio titulado "DETERMINACIÓN DE LA VARIACIÓN BIOLÓGICA DE MAGNITUDES HEMATOLOGICAS Y BIOQUÍMICAS Y DE LA METABOLÓMICA EN DEPORTISTAS DE ALTO RENDIMIENTO", Versión 02 Enero 2016, Hoja Información Participante/Consentimiento Informado Versión 02, código HULP: PI-2357

y considera que teniendo en cuenta la respuesta a las aclaraciones solicitadas:

- Se cumplen los requisitos necesarios de idoneidad del protocolo en relación con los objetivos del estudio y están justificados los riesgos y molestias previsibles para el sujeto.
- La capacidad del investigador y los medios de disponibles son apropiados para llevar a cabo el estudio.
- Es adecuado el procedimiento para obtener el consentimiento informado y no interfiere con el respeto a los postulados éticos.

Y que este Comité acepta que dicho estudio sea realizado por el investigador Antonio Buño Soto del Servicio de Análisis Clínicos del Hospital Universitario "La Paz" como investigador principal.

Lo que firmo en Madrid a 3 de mayo de 2016



Firmado:
D^a Almudena Castro Conde

