



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN
CIENCIAS MÉDICAS, ODONTOLÓGICAS Y DE LA SALUD

NIVELES DE LACTATO CELULAR Y DIAGNÓSTICO DE CÁNCER
PAPILAR DE TIROIDES

TESIS QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
MAESTRIA EN CIENCIAS MÉDICAS

PRESENTA:
DANIEL ANGEL TORRES DEL REAL

TUTOR:
DR. LUIS MAURICIO HURTADO LÓPEZ
HOSPITAL GENERAL DE MÉXICO DR EDUARDO LICEÁGA

CIUDAD DE MÉXICO, JUNIO 2019



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

ÍNDICE

SECCIÓN	PAGINA
ÍNDICE.....	2
RESUMEN.....	3
MARCO TEÓRICO.....	6
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	10
JUSTIFICACIÓN.....	10
HIPÓTESIS.....	11
OBJETIVOS.....	11
METODOLOGÍA.....	12
TAMAÑO DE LA MUESTRA.....	13
CRITERIOS DE SELECCIÓN.....	14
VARIABLES.....	15
ASPECTOS ÉTICOS Y RELEVANCIA.....	15
RESULTADOS.....	16
DISCUSIÓN.....	26
CONCLUSIONES.....	28
BIBLIOGRAFÍA.....	29

RESUMEN

INTRODUCCIÓN: La prevalencia del nódulo tiroideo puede llegar a ser tan alta como 19.6% en población abierta, y se presenta predominantemente en mujeres, de estos, el 7% corresponden a pacientes con carcinoma de tiroides y a pesar de esto, no contamos con un método que tenga un alto poder diagnóstico para descartar carcinoma. La punción que se realiza en la BAAF (estándar de oro) obtiene una muestra similar a una punción capilar en cuanto a cantidad de material y características. La biopsia con aguja fina (estándar de oro) obtiene células similar a una punción capilar.

JUSTIFICACIÓN: Se ha descrito que hasta el 40% de los pacientes con un nódulo tiroideo estudiados por BAAF (estándar de oro) obtienen un resultado no diagnóstico, por lo que al validar la concordancia del valor de lactato en tiroides y en sangre capilar podría justificar estudiar su utilidad para descartar malignidad en un nódulo tiroideo y así tener en el mismo evento de una biopsia un completo de diagnóstico accesible, económico, sencillo Evitando así cirugías innecesarias debido a una baja potencia diagnóstica/inecesibilidad de los métodos disponibles.

HIPÓTESIS: Si las células malignas tienen niveles elevados de lactato y en el nódulo tiroideo maligno hay células malignas; Entonces el nivel de lactato será diferente entre nódulos benignos y malignos.

OBJETIVO: Determinar si el nivel de lactato en nódulos tiroideos malignos es diferente al de los nódulos tiroideos benignos medidos con analizador portátil.

DISEÑO: Estudió prospectivo, comparativo, transversal, observacional, descriptivo El estudio se divide en dos fases: La primera corresponde a la validación del instrumento utilizado, esto se realizó mediante la medición de concordancia para variables continuas y correlación. En la segunda fase se realizará la comparación entre los niveles de lactato entre nódulos con resultado de histopatológico benigno y con resultado maligno.

MATERIAL Y METODOS: En la consulta inicial se tomó BAAF a los pacientes con nódulo tiroideo y se decidió programación quirúrgica según los criterios normales que se utilizan en la clínica de tiroides del HGM; (Bethesda II pero con indicación quirúrgica por síntomas compresivos, II, IV, V o VI o ser la segunda biopsia con Bethesda) Los pacientes programados para cirugía ingresaron a sala de cirugía y bajo AGB con saturación de oxígeno entre 95% y 100% se realizó punción con aguja amarilla (20G) (guiada por ultrasonido al lóbulo sano, al nódulo

tiroideo y capilar en el dedo índice no dominante y se analizó el nivel de lactato con un equipo Accutrend® Plus. Que mide la concentración de lactato mediante fotometría de refractancia a través de una reacción colorimétrica mediadora de lactato-oxidasa. la porción del filtro de vidrio del filtro detiene las células y solo la porción de plasma alcanza las sustancias químicas las cuales inician las reacciones que procesan el lactato, reportando el resultado en mmol/l. Posteriormente se realizó tratamiento resectivo según lo habitual. Para el análisis se realizó correlación de Pearson de los dos datos obtenidos por cada paciente así como concordancia para variables continuas con coeficiente de correlación intraclase, coeficiente de correlación de concordancia y gráfica de Bland- Altman. Además de prueba T para los nódulos y pruebas de valor diagnóstico (Sensibilidad, especificidad, VPP y VPN) así como curvas ROC.

RESULTADOS: Obtuvimos una correlación de Pearson de 0.14 con $p=0.05$. Un coeficiente de correlación intraclase de 0.052 con $p= 0.04$ y un coeficiente de correlación de concordancia de 0.52. El gráfico de Bland Altman presenta 3 puntos fuera de los intervalos de confianza al 95%. Obtener una sensibilidad del 75% con especificidad del 88.2%, un VPP del 75% y un VPN del 88.2%, probabilidad preprueba de 32% y una razón de verosimilitud positiva de 6.36 con una probabilidad postprueba de 74.94%.

DISCUSIÓN: La concordancia es un modelo estadístico que no evalúa la validez o la certeza sobre una u otra observación con relación a un estándar de referencia dado, sino cuán acordes están entre sí observaciones sobre el mismo fenómeno. En estos casos se considera que los estudios evalúan la consistencia entre los métodos o instrumentos.³⁹ Por lo que como menciona Ranganathan et al ⁴⁰ es necesario realizar un coeficiente de correlación intraclase (CCI) ya que se considera una prueba robusta que utiliza análisis de la varianza para analizar la concordancia de las pruebas. En nuestro estudio este coeficiente resulta en 0.52 con una $p<0.05$ lo cual equivale a una concordancia moderada. Y si calculamos un coeficiente de correlación de concordancia (CCC) ⁴¹ que grafica que tanto se separan las diferencias de los valores individuales de una línea que traza un ángulo de 45° obtenemos una pobre concordancia con un valor de 0.50 (se considera con concordancia leve a partir de 0.90).

Al comparar los niveles de lactato medidos por el analizador portátil encontramos claramente una diferencia significativa entre pacientes con histopatológico final con cáncer con un prueba de T de student significativa. Al realizar la curva ROC encontramos que 4.4mMol/l resulta ser el valor que mejor rendimiento presenta (Sensibilidad del 75% y Especificidad del 88.2%)

Por lo que dentro de la población estudiada la medición de lactato con analizador portátil es más sensible y específico que la BAAF para el diagnóstico de cáncer papilar de tiroides. Sin embargo es necesario aumentar la muestra estudiada para agregar poder al estudio.

CONCLUSIÓN: Existe una correlación positiva y concordancia moderada entre los niveles de lactato capilar y los niveles en tejido tiroideo sano medido por analizador de lactato portátil, el cual es un método accesible y económico, por lo que se debe estudiar su capacidad para descartar o confirmar carcinoma papilar de tiroides. El nivel de lactato medido con un analizador portátil es económico y puede convertirse en un método sencillo y accesible como complemento del algoritmo diagnóstico del nódulo tiroideo ya que la medición de lactato mediante analizador portátil posee una buena sensibilidad, especificidad y valores predictivos.

MARCO TEÓRICO

El término nódulo tiroideo se refiere a cualquier crecimiento anormal de las células tiroideas formando un tumor dentro de la tiroides. En el Valle de México, un área con suficiencia de yodo, se considera que la prevalencia en población abierta de nódulo tiroideo por palpación clínica es de 1.4% y con USG de 19.6%¹ y su importancia clínica radica en que debe excluirse el cáncer de tiroides el cual ocurre en 7%-15% de los casos dependiendo la edad, historia de exposición a la radiación y genética entre otros factores del riesgo.² La herramienta clave en su evaluación es la biopsia-aspiración con aguja fina (BAAF) con la cual desde el 2007 se han estandarizado resultados, dividiendo en 6 categorías según el sistema de Bethesda para el estudio citológico tiroideo³ sin embargo se reportan estudios en donde hasta el 40% de los casos la biopsia resulta no diagnóstica.^{4,5}

Este sistema Bethesda, tiene la característica que solo las categorías II y VI son diagnósticas; Benigno y maligno, respectivamente, y el resto se consideran no diagnósticas, por tanto, se debe realizar otro tipo de evaluación o directamente ir a cirugía diagnóstica situación que enfrentará al paciente a un procedimiento que podría repercutir en morbilidad a nervio laríngeo recurrente y paratiroides provocando disfonía hipocalcemia en algunas ocasiones (6,7,8) lo que es una situación poco deseable en el mundo. La prevalencia de cáncer en las categorías no diagnósticas varía, de 15 a 80% según la clasificación de Bethesda⁷, sin embargo para fines prácticos no se logra definir si es o no cáncer y en consecuencia existen pacientes intervenidos quirúrgicamente por enfermedades tiroideas benignas y que se tuvieron que operar en forma innecesaria al no contar con un diagnóstico preoperatorio adecuado.

En un intento por disminuir la cantidad de pacientes a los que se les realiza cirugía diagnóstica varios grupos han estudiado y utilizado varios métodos diagnósticos alternos como son repetir la BAAF, ultrasonido^{8,9}, elastografía ultrasonográfica¹⁰ y la determinación de mutaciones y rearrreglos en BRAF¹¹ y RET/PTC,¹² así como miRNA¹³ sin embargo pese a realizar estos estudios continua existiendo un riesgo de aproximadamente 25-30% de no realizar adecuadamente el diagnóstico de cáncer, sin contar que algunas de estas pruebas tienen un costo elevado el cual no es accesible para gran parte de la población.

Un estudio que realizó nuestro grupo estudió la utilidad de la gammagrafía con Tc-99m y Tc-99m-Metoxi-isobutil-isonitrilo (MIBI), obteniendo como resultado una sensibilidad del 100% y un valor predictivo negativo también del 100%, siendo este estudio de gran utilidad para descartar cáncer ya que todos los nódulos con malignidad captaron MIBI ^{14,15} Cuando esta herramienta se utiliza en la clínica en el caso de los pacientes con nódulo tiroideo no diagnosticado por BAAF se logra reclasificar hasta un 39% de los pacientes hacia diagnóstico de benignidad debido a que un gamagrama MIBI negativo descarta la presencia de malignidad. Sin embargo el 61% de los pacientes restantes continúa sin diagnóstico ya que las células malignas así como algunos nódulos benignos pueden captar el radiotrazador. ¹⁶

El efecto Warburg o glucolisis anaerobia fue descrito por el médico alemán Otto Warburg en 1924 ¹⁷ y se refiere a los cambios metabólicos en la célula tumoral que producen glucolisis fermentativa con la consecuente formación de lactato a pesar del adecuado aporte de oxígeno, lo cual le hizo acreedor al premio Nobel de fisiología y medicina en 1931 y cuyo descubrimiento se ha retomado con mayor fuerza en las últimas décadas gracias al advenimiento de la tomografía por emisión de positrones y al gamagrama MIBI el cual se describió previamente.

Con la observación de que la energía celular se producía en el citosol de la célula tumoral mediante glucolisis y no en la mitocondria mediante fosforilación oxidativa a pesar de ser un ser un mecanismo menos eficiente para la generación de ATP, en un inicio se adjudicó este cambio a daños solo en la mitocondria ¹⁸ sin embargo hoy en día sabemos que es el resultado de múltiples cambios ¹⁹ que conllevan a la célula a un intenso anabolismo que conducen a un microambiente ideal para la proliferación y crecimiento de las células tumorales generando un ambiente de carcinogénesis.

En un esfuerzo por parte de nuestro grupo por esclarecer que mecanismo mitocondrial se encuentra afectado en la célula cancerígena se estudiaron las ATPasas mitocondriales tiroideas encontrándose que la unidad ϵ de la ATPasa de la membrana mitocondrial se encuentra disfuncional, evitando que la ATPasa cambie de conformación para poder convertir el ADP en ATP y producir energía sin embargo clínicamente no resulta ser una herramienta diagnóstica adecuada debido a que posee la misma sensibilidad y VPN que el gamagrama con MIBI pero a un costo muy superior. ²⁰

Otra de las razones por la cual la célula tumoral realiza estos cambios es la habilidad que se adquiere para captar más glucosa. En la célula normal existen varios tipos de receptores GLUT

los cuales se expresan en tejidos que son sensibles a la acción de la insulina y del IGF (insulin growth factor) hoy en día se sabe que existe una sobrerregulación de GLUT1 en cáncer tiroideo ²¹ pulmón de células no pequeñas y vejiga, esto como consecuencia a mutaciones de en KRAS o BRAF, además otros cambios que se han referido es aumento de la retención de la glucosa por la hexocinasa II

Debido a la producción elevada de piruvato como metabolito final de la glucólisis, la enzima LDH (lactato deshidrogenasa) metaboliza a esta molécula para la producción de lactato y se ha encontrado que varios tipos de cáncer requieren la expresión del gen LDH-A que codifica para la producción de LDH-5^{22 23} con la cual se logra mantener la producción de energía. La célula maligna requiere por tanto una mutación en donde se obtenga un mecanismo excretor adecuado como lo son los transportadores de monocarboxilatos, que están sobrepresados y están relacionados a un aumento de la excreción de lactato hacia el medio extracelular que a su vez genera aumento de la producción de NADPH que favorece la acidez del ambiente extracelular y protege a la célula maligna de ataques del sistema inmune. Por lo que medir la cantidad de LDH en sangre ha sido utilizado en algunos estudios para evaluar la supervivencia a algunos tipos de cáncer²⁴ Debido a esto se han encontrado en estudios previos niveles altos de LDH y lactato en cáncer de tiroides como condición acompañante y no utilizado como método diagnóstico.²⁵⁻²⁷

El analizador Accutrend Plus® (Roche Diagnostics GmbH®) es un sistema portátil (115 £ 62 £ 18.5 mm), con batería (tipo AAA) y pesa aproximadamente 100 g. utiliza tiras con diferente código para medir ya sea glucosa, lactato colesterol o triglicéridos respectivamente Su rango de medición en cuanto a lactato es 0.8-21.8 mM. Este aparato se ha utilizado en varios estudios obteniendo adecuada correlación y concordancia para medir lactato capilar en comparación con gasómetros que utilizan sangre venosa (utilizados como estándar de oro)²⁸⁻³⁰, La muestra se aplica primero a una tira de prueba amarilla codificada con una sustancia química reactiva. Posteriormente la tira se inserta en el analizador, donde la concentración de lactato se determina mediante fotometría de refractancia a través de una reacción colorimétrica mediadora de lactato-oxidasa. El resultado se muestra en aproximadamente 60 segundos. Cuando se agrega sangre completa a la tira, la porción del filtro de vidrio del filtro detiene las células y solo la porción de plasma alcanza las sustancias químicas las cuales inician las reacciones que procesan el lactato.

En los últimos años se ha estudiado la capacidad de los analizadores portátiles para el diagnóstico de algunas enfermedades como la acidosis neonatal³¹, insuficiencia cardíaca³² y monitorizar la viabilidad de colgajos miocutáneos^{33,34} y sepsis en pacientes críticos³⁵ con adecuados resultados y se ha validado la medición en otros líquidos corporales como son el líquido peritoneal y sinovial de equinos para determinar sepsis abdominal³⁶ e infecciones intrarticulares³⁷ así como líquido cefalorraquídeo en humanos³⁸ para detectar toxicidad por uso de terapia antiretroviral todas estas generando adecuada correlación lineal y un gráfico de Bland-Altman con adecuada concordancia. Sin embargo nunca se ha utilizado en tejido tiroideo.

Actualmente contamos con un analizador portátil marca Accutrend Plus en el servicio de cirugía de cuello el cual cuenta con tiras para medir lactato.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La prevalencia del nódulo tiroideo puede llegar a ser tan alta como 19.6% en población abierta, y se presenta predominantemente en mujeres, de estos, el 7% corresponden a pacientes con carcinoma de tiroides y a pesar de esto, no contamos con un método que tenga un alto poder diagnóstico para identificar el carcinoma. Ya que la BAAF, la cual se considera el estándar de oro en algunos estudios puede llegar a tener hasta el 40% de pacientes con diagnóstico incierto (Bethesda I, III, IV y V). Se ha descrito en varios estudios que el cáncer y en particular el cáncer de tiroides presentan nivel alto de lactato debido al efecto Warburg sin embargo actualmente en la literatura no encontramos algún método de medición de este.

La punción que se realiza en la BAAF obtiene una muestra similar a una punción capilar en cuanto a cantidad de material y características, por lo que deseamos validar si el valor de lactato en tejido tiroideo puede ser adecuadamente medido con un analizador portátil mediante el estudio de concordancia entre lactato capilar y lactato en una BAAF de tiroides midiendo ambos con un analizador portátil de lactato y posteriormente definir si el nivel de lactato es diferente entre nódulos benignos y malignos para utilizarlo como un apoyo diagnóstico de cáncer.

JUSTIFICACIÓN

Se ha descrito que hasta el 40% de los pacientes con un nódulo tiroideo estudiados por BAAF (estándar de oro) obtienen un resultado no diagnóstico, por lo que complementar la biopsia con la medición de los niveles de lactato en un medidor portátil podría incrementar el valor diagnóstico obteniendo así un completo de diagnóstico accesible, económico, sencillo y no invasivo ya que la punción aun así se tendría que realizar. Evitando así cirugías innecesarias debido a una baja potencia diagnóstica/inaccesibilidad de los métodos disponibles.

HIPÓTESIS

Si el analizador portátil de lactato Accutrend Plus ® ha demostrado ser concordante con gasómetros al medir el valor en sangre, líquido peritoneal, sinovial y cefalorraquídeo en estudios publicados, entonces el valor de lactato medido en sangre capilar y en lóbulo tiroideo sano serán concordantes.

Si las células malignas tienen niveles elevados de lactato y en el nódulo tiroideo maligno hay células malignas; Entonces el nivel de lactato será diferente entre nódulos benignos y malignos.

OBJETIVO

Objetivo general

- Determinar si el nivel de lactato en nódulos tiroideos malignos es diferente al de los nódulos tiroideos benignos.

Objetivos específicos

- Comparar la concordancia entre el nivel de lactato en tejido tiroideo sano y el nivel de lactato capilar al medirse con un analizador portátil. Accutrend Plus® (Roche Diagnostics GmbH®)
- Determinar si la cantidad en lactato medida durante la BAAF ayuda a reclasificar a los pacientes con nódulos y BAAF no diagnóstica

METODOLOGÍA: DISEÑO GENERAL

Estudió prospectivo, comparativo, transversal, observacional y descriptivo

El estudio se divide en dos fases:

La primera corresponde a la validación del instrumento utilizado, esto se realizó mediante la medición de concordancia para variables continuas y correlación.

En la segunda fase se realizará la comparación entre los niveles de lactato entre nódulos con resultado de histopatológico benigno y con resultado maligno.

En la consulta inicial se tomará BAAF a los pacientes con nódulo tiroideo y se decidirá programación quirúrgica según los criterios normales que se utilizan en la clínica de tiroides del HGM; Bethesda II (Benigno) pero con indicación quirúrgica de tiroidectomía total por síntomas compresivos, III (Atipia de significado incierto), V (Sospecha de malignidad) o VI (Malignidad confirmada) o ser la segunda biopsia con Bethesda I (No diagnóstica).

Los pacientes programados para cirugía ingresarán al área de hospitalización de la torre quirúrgica del Hospital General de México de 12-24 horas antes del procedimiento quirúrgico, estando en reposo durante este tiempo, se canalizaran con solución glucosada al 5% a una velocidad de infusión de 75cc por hora e ingerirán alimentos hasta 8 horas antes del procedimiento, se les tomará glucometría capilar al ingreso, y al inicio del procedimiento,

Una vez en sala de cirugía con el paciente bajo anestesia general balanceada, con saturación de oxígeno entre 95% y 100% se realizará punción con aguja amarilla (20G) (guiada por ultrasonido al lóbulo sano y se analizará el nivel de lactato con un equipo Accutrend® Plus (Roche Diagnostics GmbH®) el cual usa tiras reactivas Lactate-BM La muestra se aplica primero a una tira de prueba amarilla codificada con una sustancia química reactiva. Posteriormente la tira se inserta en el analizador, donde la concentración de lactato se determina mediante fotometría de refractancia a través de una reacción colorimétrica mediadora de lactato-oxidasa. El resultado se muestra en aproximadamente 60 segundos. Cuando el líquido corporal completa la tira, la porción del filtro de vidrio del filtro detiene las células y solo la porción de plasma alcanza las sustancias químicas las cuales inician las reacciones que procesan el lactato, reportando el resultado en mmol/l. (rango de lectura de 0.8mmol/l a 21.8 mmol/l)

Se realizarán 3 punciones en total: La primera al lóbulo tiroideo sano, la segunda al nódulo tiroideo y la tercera mediante punción capilar del dedo índice de la mano no dominante. Ambas punciones tiroideas se realizarán por medio de guía ultrasonografica. Todas las punciones se analizarán con el mismo equipo (Accutrend Plus) y posteriormente se realizará tratamiento resectivo según lo habitual.

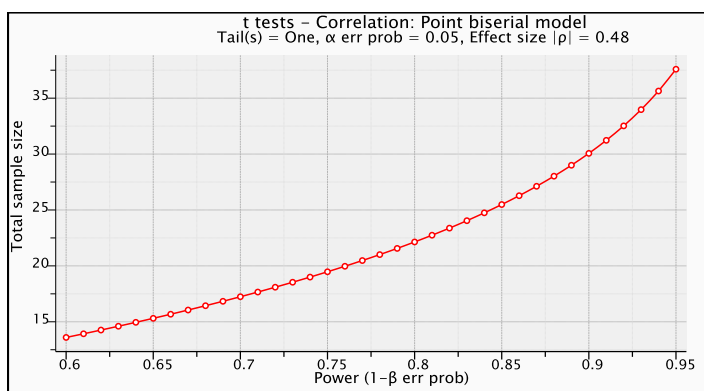
Para la validación del instrumento se realizará una correlación de Pearson de los dos datos obtenidos durante la punción capilar y la punción del lóbulo sano, posteriormente se realizará concordancia para variables continuas mediante cálculo de coeficiente de correlación intraclase y coeficiente de correlación concordancia según lo descrito por Lin para posteriormente realizar gráfica de Bland- Altman

Posteriormente al obtener el resultado del histopatológico del nódulo tiroideo resecado durante la cirugía, se comparará si existen diferencias entre los niveles de lactato en los nódulos tiroideos benignos y los malignos mediante T de student y se realizarán pruebas de rendimiento diagnóstico (sensibilidad, especificidad, curvas ROC etc.)

TAMAÑO DE LA MUESTRA

Se realizara en pacientes con nódulo tiroideo no funcional eutiroideo de 18 a 80 años de edad, de ambos géneros, que acudan para diagnóstico y tratamiento del mismo a la clínica de tiroides del Hospital General de México.

El cálculo del tamaño de la muestra fue de un total de 23 pacientes y se realizó por medio de la fórmula para calcular correlación de Pearson tomando un poder estadístico del 80% y alfa de 0.04 con un tamaño del efecto moderado



CRITERIOS DE SELECCIÓN

Criterios de inclusión

- Pacientes con nódulo tiroideo no funcional eutiroideo con indicación de tiroidectomía total, mayores a 18 años, que sean enviados para manejo quirúrgico en el HGM y que acepten participar en el estudio.

Criterios de exclusión

- Pacientes con insuficiencia cardíaca
- Pacientes con enfermedades pulmonares graves
- Pacientes con cirrosis hepática
- Pacientes que hayan presentado alguna enfermedad infecciosa hasta 3 días antes del internamiento.
- Pacientes que no aceptaron el tratamiento quirúrgico.
- Pacientes que utilicen metformina

Criterios de eliminación

- Pacientes que presentaron descontrol glucémico (>180mg/dl) en cualquiera de las glucometrías de control.
- Pacientes que no lograron saturación >95% antes de la punción para muestra de lactato.
- Pacientes con temperatura >38 grados en cualquier momento desde el internamiento hasta la cirugía.

DEFINICIÓN DE VARIABLES

Variable: Lactato en lóbulo tiroideo sano

Variable independiente, cuantitativa, continua.

Definición conceptual: Producto final de glucolisis anaerobia

Dimensión: Número indicado de 0.8-21.8 mmol/l

Indicador: Medido a través de punción con aguja fina

Instrumento: Medidor portátil de lactato por espectofotometría

Variable: Lactato capilar

Variable independiente, cuantitativa, continúa.

Definición conceptual: Producto final de glucolisis anaerobia

Dimensión: Número indicado de 0.8-21.8 mmol/l

Indicador: Medido a través de punción con aguja fina

Instrumento: Medidor portátil de lactato por espectofotometría

Variable: Lactato en nódulo tiroideo

Variable independiente, cuantitativa, continua.

Definición conceptual: Producto final de glucolisis anaerobia

Dimensión: Número indicado de 0.8-21.8 mmol/l

Indicador: Medido a través de punción con aguja fina

Instrumento: Medidor portátil de lactato por espectofotometría

Variable: Resultado histopatológico.

Variable dependiente, cualitativa, dicotómica

Definición conceptual: Presencia o ausencia de cáncer

Dimensión: SI/No

Indicador: Resultado según análisis del patólogo

Instrumento: Microscopio óptico y tinciones.

Variable: Resultado citopatológico

Variable independiente, cualitativa, ordinaria

Definición conceptual: Características observadas después de la biopsia por aspiración inicial

Dimensión: Bethesda I-VI

Indicador: Resultado según análisis del patólogo

Instrumento: Microscopio óptico y tinciones.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para la primera fase del estudio se realizó concordancia para variables continuas como lo describió Altman así como correlación de Pearson, coeficiente de correlación intraclass y coeficiente de correlación de concordancia.

Para la segunda fase del estudio se realizó prueba T de student para ver si hay diferencias entre el nivel de lactato en los nódulos benignos y en los malignos, posteriormente se realizaron pruebas de valor diagnóstico (sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y negativo, así como curvas ROC)

ASPECTOS ÉTICOS Y DE BIOSEGURIDAD

Los sujetos de estudio que acepten ser parte del estudio corrieron un riesgo bajo ya que la indicación quirúrgica para tiroidectomía fue totalmente independiente de su participación o no en el estudio por lo que su inclusión en este no representa un riesgo adicional al normal de un tratamiento quirúrgico. El paciente será ampliamente informado y firmará el formato específico de consentimiento informado.

El protocolo fue aprobado por los comités de ética e investigación del Hospital General de México con clave de registro DI/18/307/03/086

RELEVANCIA Y EXPECTATIVAS

La información que se obtuvo al realizar el presente trabajo no existe en la literatura médica, ofrecerá la posibilidad de conocer si se puede utilizar el lactato medido con un analizador portátil mediante muestra por BAAF como método diagnóstico en el estudio de un nódulo tiroideo.

El presente trabajo será divulgado en revista científica relacionada al tema y presentado en congresos de índole nacional e internacional en áreas de endocrinología, cirugía general y oncología.

RECURSOS DISPONIBLES

RECURSOS MATERIALES

- Instalaciones Hospitalarias:
- Consultorios 1 y 6 de Torre quirúrgica 310
- Medidor de lactato portátil Accutrend Plus® (Roche Diagnostics GmbH®) con tiras reactivas Lactate BM (2 por paciente)
- Área de hospitalización en Cirugía General 310
- Quirófanos de torre quirúrgica 310

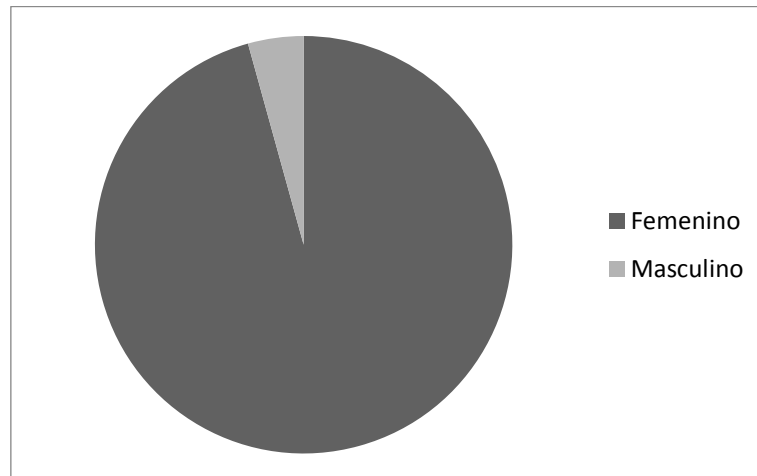
RECURSOS HUMANOS

- Cirujanos Generales adscritos a clínica de tiroides de Cirugía General 310
- Anestesiólogo en quirófanos centrales
- Patólogos especializados en citología y enfermedades tiroideas.

RESULTADOS

Primera fase del estudio

Del total de los 25 pacientes analizados con patología tiroidea que requirieron tiroidectomía total 24 correspondieron al género femenino (96%) y solo 1 (4%) al género masculino.



Gráfica 2. Distribución de género de los pacientes.

La edad promedio de estos pacientes tuvo una media de 47.9 años con un mínimo de 26 años y un máximo de 77.

Estadísticos descriptivos

	N	Mínimo	Máximo	Media	Desv. típ.
Edad	25	26	77	47.92	14.574
N válido (según lista)	25				

Tabla 1. Edad de los pacientes.

Al medir el lactato capilar con el medidor portátil se obtuvieron valores que iban desde 0.7 a un máximo de 4.0mmol/l con una media de 1.95mmol/l

Resultado de lactato capilar

	N	Mínimo	Máximo	Media	Desv. típ.
Lactato_capilar	25	.7	4.0	1.952	.8889
N válido (según lista)	25				

Tabla 2. Medición de lactato capilar sano con analizador portátil

Por otro lado al medir el lactato en el lóbulo sano con el mismo medidor portátil e inmediatamente después de medir el lactato capilar se obtuvo un mínimo de 0.7mmol/l con un máximo de 4.5mmol/l y con una media de 2.17mmol/l (Tabla 3)

Estadísticos descriptivos

	N	Mínimo	Máximo	Media	Desv. típ.
Lactato_tejido_sano	25	.7	4.5	2.176	1.1461
N válido (según lista)	25				

Tabla 3. Medición de lactato en tejido tiroideo sano con analizador portatil

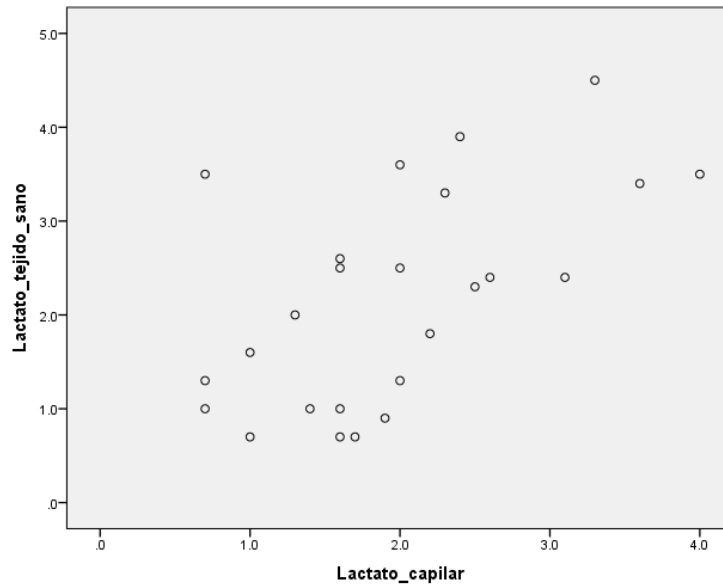
Al Analizar los datos con una prueba de correlación para datos bilaterales de Pearson obtenemos una correlación positiva de 0.58 con una significancia de $p < 0.01$. (Tabla 4)

Correlaciones

		Lactato_tejido_sano	Lactato_capilar
Lactato_tejido_sano	Correlación de Pearson	1	.580**
	Sig. (bilateral)		.002
	N	25	25
Lactato_capilar	Correlación de Pearson	.580**	1
	Sig. (bilateral)	.002	
	N	25	25

** La correlación es significativa al nivel 0,05 (bilateral).

Tabla 4. Correlación de Pearson entre lactato capilar y en tejido tiroideo. La p es <0.01 (significativa)



Gráfica 2. Correlación entre lactato capilar y en tejido tiroideo medido con analizador portátil.

Posteriormente aplicamos un coeficiente de correlación intraclase (ICC) para obtener un resultado de 0.557 con una significancia de $p < 0.01$ en las medidas individuales y una correlación de 0.71 con la misma significancia para las medidas promedio. (Tabla 5).

Coefficiente de correlación intraclase

	Correlación intraclase	Intervalo de confianza 95%		Prueba F con valor verdadero 0			
		Límite inferior	Límite superior	Valor	gl1	gl2	Sig.
Medidas individuales	.557	.221	.776	3.513	24	25	.001
Medidas promedio	.715	.362	.874	3.513	24	25	.001

Modelo de efectos aleatorios de un factor en el que los efectos de las personas son aleatorios.

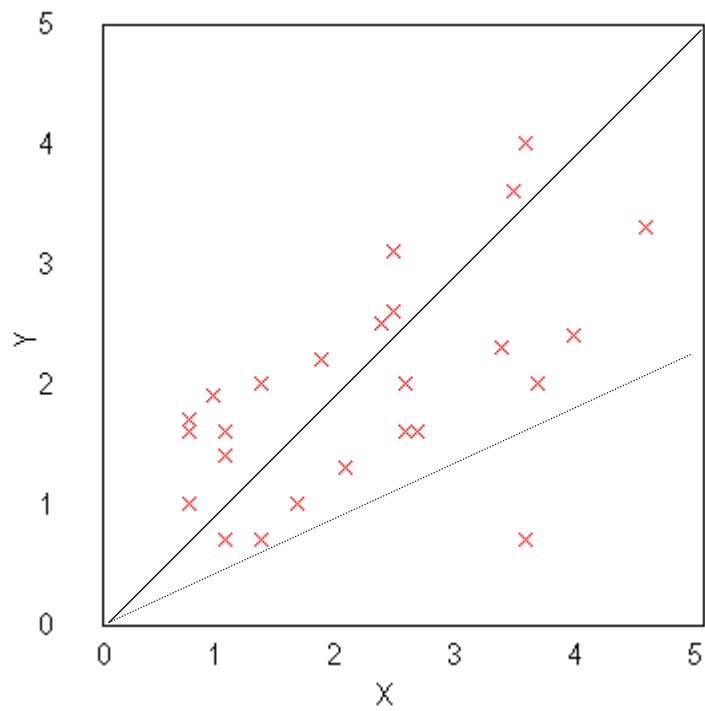
Tabla 5. Coeficiente de correlación intraclase

< 0,4: baja fiabilidad;

Entre 0,4 y 0,75: fiabilidad de moderada a buena

> 0,75 : Fiabilidad excelente..

Calculamos también el coeficiente de correlación de concordancia (CCC) según lo descrito por Li et al. para analizar variables continuas obteniendo un resultado de 0.506 (Gráfica 3)



Concordance Results

Sample concordance correlation coefficient (ρ_c) = 0.5481

Lower one-sided 95% CL for ρ_c = 0.2868

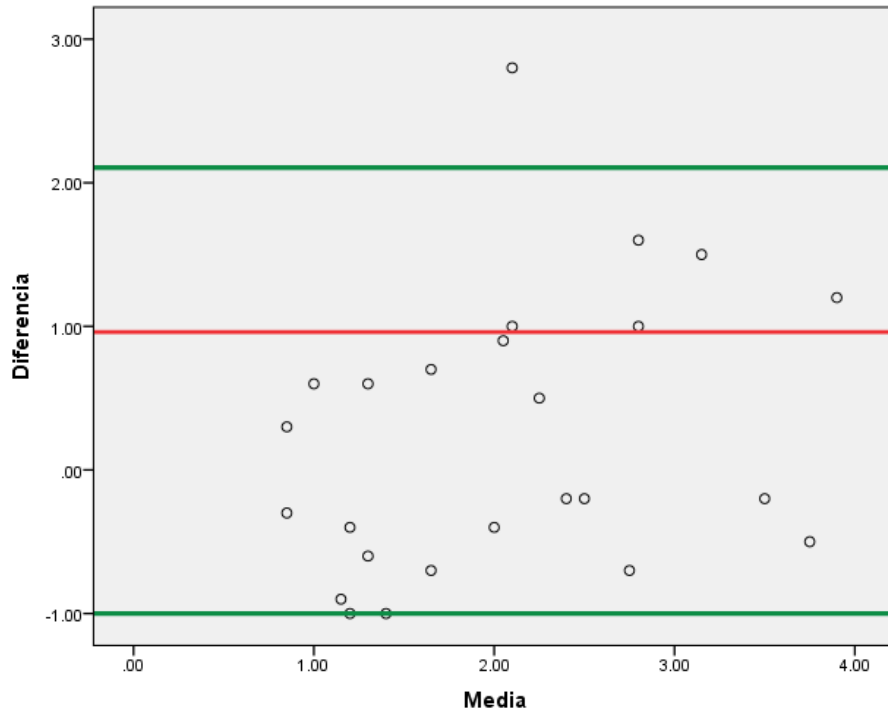
Lower two-sided 95% CL for ρ_c = 0.2296

Upper one-sided 95% CL for ρ_c = 0.7335

Upper two-sided 95% CL for ρ_c = 0.7606

Gráfica 3. Coeficiente de correlación de concordancia para muestras continuas.

Y graficamos las diferencias entre las mediciones comparando con la media de las mismas mediciones obteniendo así un gráfico de Bland Altman (Gráfica 4.)



Gráfica 4. Gráfico de Bland Altman.

La línea roja del centro corresponde a la media de las mediciones mientras que las líneas verdes grafican los límites de la concordancia al 95% (1.96 desviaciones estándar).

Segunda fase del estudio

Una vez validada la prueba se realizó T de student para comprar los valores de lactato en nódulo entre pacientes cuyo resultado histopatológico resulto cáncer y los fueron benignos obteniendo un resultado significativo con una $p < 0.01$.

Prueba de muestras independientes

	Prueba de Levene para la igualdad de varianzas		Prueba T para la igualdad de medias						
	F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Error típ. de la diferencia	95% Intervalo de confianza para la diferencia	
								Inferior	Superior
Lactato_en_nódulo	.020	.889	-3.066	23	.005	-1.9971	.6513	-3.3445	-.6496

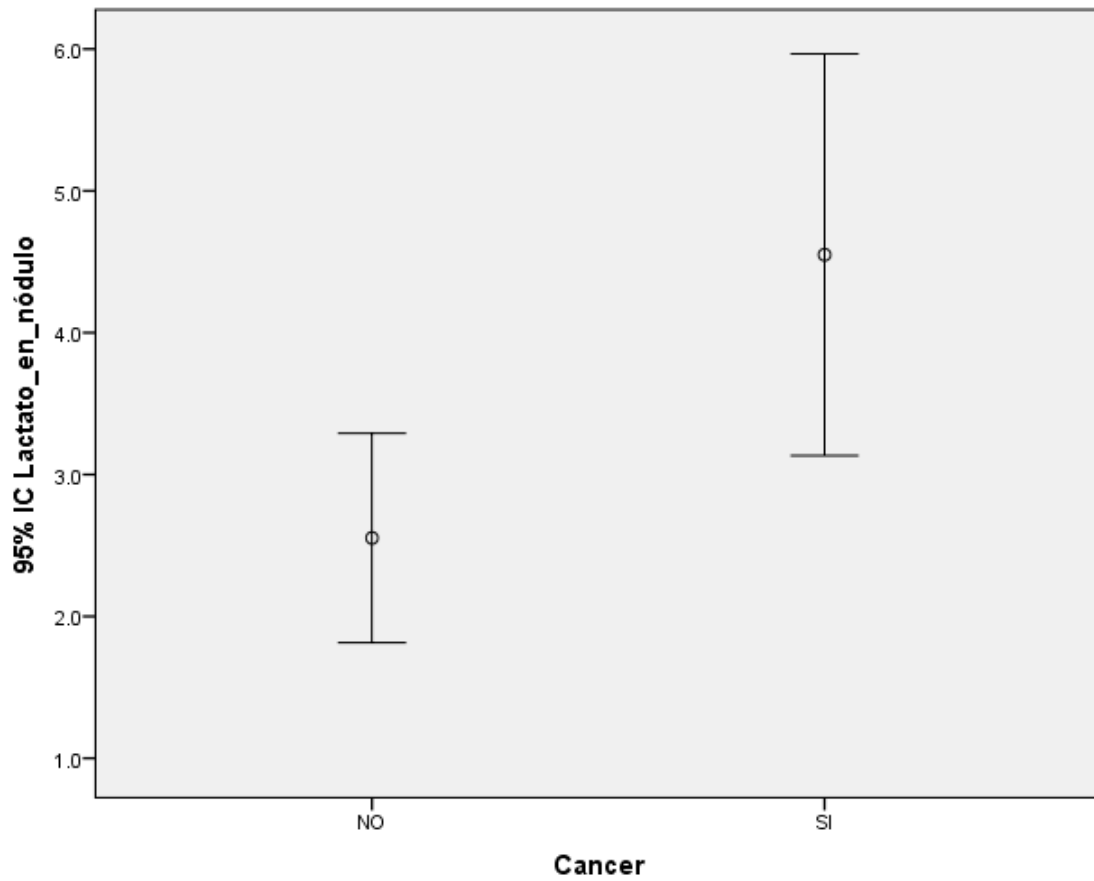
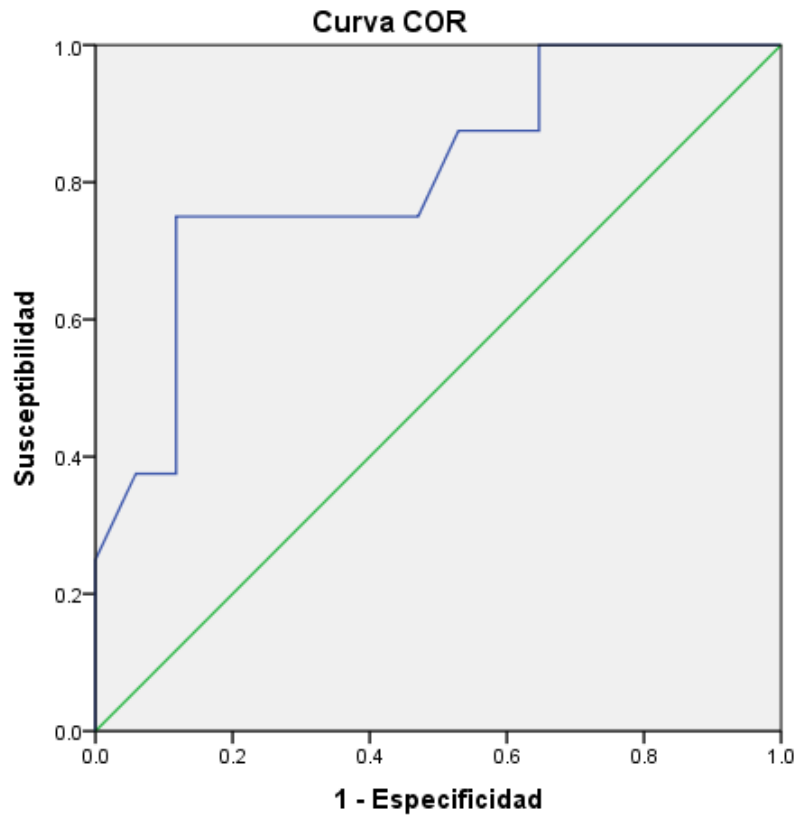


Tabla 6. Prueba T de student con prueba de Levene.

Gráfica 5. Gráfico en donde se muestran los intervalos de confianza al 95% entre los niveles de lactato de cada grupo.

Posteriormente realizamos una curva ROC la cual nos muestra un área bajo la curva de 0.809



Los segmentos diagonales son producidos por los empates.

Área bajo la curva

Variables resultado de contraste: Lactato_en_nódulo

Área	Error típ. ^a	Sig. asintótica ^b	Intervalo de confianza asintótico al 95%	
			Límite inferior	Límite superior
.809	.097	.014	.619	.999

Gráfica 6. Curva ROC que muestra un área bajo la curva de 0.80

Y tomando como punto de corte un lactato de 4.4 mM/l obtenemos la siguiente tabla de contingencia:

	Maligno	Benigno	Total
Prueba +	6	2	8
Prueba -	2	15	17

Con la cual podemos obtener una sensibilidad del 75% con especificidad del 88.2%, un VPP del 75% y un VPN del 88.2%, probabilidad preprueba de 32% y una razón de verosimilitud positiva de 6.36 con una probabilidad postprueba de 74.94%.

DISCUSIÓN

La correlación es una prueba estadística que se establece entre dos variables para determinar si existe una ecuación lineal en la que por cada unidad que se modifique una medición, se modifique en la otra con la misma magnitud. Una correlación de Pearson de 0.58 corresponde a una correlación positiva moderada.

La concordancia es un modelo estadístico que no evalúa la validez o la certeza sobre una u otra observación con relación a un estándar de referencia dado, sino cuán acordes están entre sí observaciones sobre el mismo fenómeno. En estos casos se considera que los estudios evalúan la consistencia entre los métodos o instrumentos.³⁹ Por lo que como menciona Ranganathan et al⁴⁰ es necesario realizar un coeficiente de correlación intraclase (CCI) ya que se considera una prueba robusta que utiliza análisis de la varianza para analizar la concordancia de las pruebas. En nuestro estudio este coeficiente resulta en 0.55 con una $p < 0.01$ lo cual equivale a una concordancia moderada. Y si calculamos un coeficiente de correlación de concordancia (CCC)⁴¹ que gráfica que tanto se separan las diferencias de los valores individuales de una línea que traza un ángulo de 45° obtenemos una pobre concordancia con un valor de 0.54 (se considera con concordancia leve a partir de 0.90).

El nódulo tiroideo es una entidad común en nuestro medio (hasta el 19% de prevalencia) y hasta en el 40% de los casos se realiza cirugía diagnóstica debido a un diagnóstico incierto que conlleva a la imposibilidad de descartar cáncer en la glándula. Lo que nos motiva a investigar otros métodos diagnósticos que puedan ser utilizados en estos pacientes.

La medición de lactato con analizador portátil es un método desarrollado para atletas de alto rendimiento y ha sido probado en sangre capilar y en otros tejidos para la adecuada lectura de lactato. Se trata de un método económico ya que actualmente 20 tiras rondan los \$1200.00 (\$60 cada tira) y el analizador ronda los \$3000.00.

Este es un estudio innovador debido a que no existe literatura médica en la que se utilice la medición de lactato en tiroides y no se conocen aún los valores de normalidad y si estos concuerdan o no con los séricos. Para realizar la validación de este instrumento sería necesario puncionar pacientes con tiroides completamente sanas y analizarlas en el estándar de oro. Sin embargo debido a que la muestra obtenida durante la BAAF son unas cuantas gotas, el material es insuficiente para introducirla a un gasómetro. Es por esta razón que

decidimos compararla con el lactato capilar medido en el mismo momento y con el mismo instrumento de medición (que ha sido perfectamente validado en sangre y otros tejidos).

Creemos que los resultados de correlación y concordancia son suficientes para demostrar que el medidor es perfectamente capaz de medir el nivel de lactato en tejido tiroideo.

Es así como comparamos el nivel de lactato en nódulo tiroideo cuyo histopatológico posterior a la resección resultó en enfermedad maligna y cuyo resultado fue en benigno.

Como parte indispensable del estudio del nódulo tiroideo en la clínica de cuello del Hospital General de México se realiza biopsia por aspiración con aguja fina y esta se clasifica con el sistema de Bethesda. En la población de nuestro estudio el 56% de los pacientes obtuvieron un resultado de Bethesda II (Benigno) y fueron sometidos a cirugía debido a síntomas compresivos. El 20% de los pacientes ingresaron a quirófano por un resultado Bethesda VI el cual corresponde a Carcinoma papilar. Y solo el 4% obtuvieron un resultado Bethesda III (atipia de significado incierto) y Bethesda V (Sospechoso de malignidad) respectivamente.

De los pacientes con histopatológico final de carcinoma papilar de tiroides solo la mitad de estos presentaron una biopsia con Bethesda VI (Carcinoma papilar) por lo que podría considerarse que presentó una sensibilidad del 50% en nuestra población de estudio. Mientras que de los pacientes cuyo histopatológico resultó benigno la BAAF presentó una sensibilidad del 66.7% para predecir benignidad.

Al comparar los niveles de lactato medidos por el analizador portátil encontramos claramente una diferencia significativa entre pacientes con histopatológico final con cáncer con un prueba de T de student significativa. Al realizar la curva ROC encontramos que 4.4mMol/l resulta ser el valor que mejor rendimiento presenta (Sensibilidad del 75% y Especificidad del 88.2%)

Por lo que dentro de la población estudiada la medición de lactato con analizador portátil es mas sensible y especifico que la BAAF para el diagnóstico de cáncer papilar de tiroides. Sin embargo es necesario aumentar la muestra estudiada para agregar poder al estudio.

CONCLUSIONES:

- Existe una correlación positiva moderada entre los niveles de lactato capilar y los niveles en tejido tiroideo sano.
- Existe una concordancia moderada entre los niveles de lactato en el tejido tiroideo y en los niveles capilares periféricos.
- El nivel de lactato tiroideo puede ser analizado por un analizador de lactato portátil (Accutrend Plus)
- El nivel de lactato medido con un analizador portátil es económico y puede convertirse en un método sencillo y accesible como complemento del algoritmo diagnóstico del nódulo tiroideo.
- La medición de lactato mediante analizador portátil posee una buena sensibilidad, especificidad y valores predictivos.
- Se requiere la inclusión de mas pacientes al estudio para aumentar la potencia de este estudio y validar su utilización en la clínica.

9. Referencias bibliográficas

1. Hurtado-López LM, Basurto-Kuba E, De Oca-Durán ERM, Pulido-Cejudo A, Vázquez-Ortega R, Athié-Gutiérrez C. Prevalencia de nódulo tiroideo en el valle de México. *Cir Cir.* 2011;79(2):114-117.
2. Haugen BR, Alexander EK, Bible KC, et al. 2015 American Thyroid Association Management Guidelines for Adult Patients with Thyroid Nodules and Differentiated Thyroid Cancer: The American Thyroid Association Guidelines Task Force on Thyroid Nodules and Differentiated Thyroid Cancer. *Thyroid.* 2016;26(1):1-133. doi:10.1089/thy.2015.0020
3. E C, Sied A. the Bethesda System for Reporting Thyroid. *Thyroid.* 2009;19(11):1159-1165. doi:10.1089/thy.2017.0500
4. Basolo F, Ugolini C, Proietti A, Iacconi P, Berti P, Miccoli P. Role of frozen section associated with intraoperative cytology in comparison to FNA and FS alone in the management of thyroid nodules. *Eur J Surg Oncol.* 2007;33(6):769-775. doi:10.1016/j.ejso.2006.12.004
5. Peng, Yan HHW. A Meta-Analysis of Comparing Fine-Needle Aspiration and Frozen Section for Evaluating Thyroid Nodules. *Diagn Cytopathol.* 2008;36(12):916-920. doi:10.1002/dc
6. Glinioer D, Andry G, Chantrain G, Samil N. Clinical aspects of early and late hypocalcaemia after thyroid surgery. *Eur J Surg Oncol.* 2000;26(6):571-577. doi:10.1053/ejso.2000.0949
7. Feldkamp J, Führer D, Luster M, Musholt TJ, Spitzweg C, Schott M. Fine Needle Aspiration in the Investigation of Thyroid Nodules. *Dtsch Arztebl Int.* 2016;113(20):353-359. doi:10.3238/arztebl.2016.0353
8. Tang AL, Falciglia M, Yang H, Mark JR, Steward DL. Validation of American Thyroid Association Ultrasound Risk Assessment of Thyroid Nodules Selected for Ultrasound Fine-Needle Aspiration. *Thyroid.* 2017;27(8):1077-1082. doi:10.1089/thy.2016.0555
9. Song JSA, Dmytriw AA, Yu E, et al. Investigation of thyroid nodules: A practical algorithm and review of guidelines. *Head Neck.* 2018;(July 2017):1-13. doi:10.1002/hed.25160
10. Rago T, Scutari M, Loiacono V, et al. Low Elasticity of Thyroid Nodules on Ultrasound Elastography Is Correlated with Malignancy, Degree of Fibrosis, and High Expression of Galectin-3 and Fibronectin-1. *Thyroid.* 2017;27(1):103-110. doi:10.1089/thy.2016.0341
11. Brandi ML, Giusti F, Falchetti A, Franceschelli F, Marini F, Tanini A. Thyroid cancer: Current molecular perspectives. *J Oncol.* 2010;2010. doi:10.1155/2010/351679
12. Liu R, Xing M. TERT promoter mutations in thyroid cancer. *Endocr Relat Cancer.* 2016;23(3):R143-R155. doi:10.1530/ERC-15-0533
13. Boufraquech M, Klubo-Gwiedzinska J, Kebebew E. MicroRNAs in the thyroid. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2016;30(5):603-619. doi:10.1016/j.beem.2016.10.001
14. Hurtado-López LM, Martínez-Duncker C. Negative MIBI thyroid scans exclude differentiated and medullary thyroid cancer in 100% of patients with hypofunctioning thyroid nodules [3]. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* 2007;34(10):1701-1703. doi:10.1007/s00259-007-0490-6

15. Hurtado-López LM, Arellano-Montaña S, Torres-Acosta EM, et al. Combined of fine-needle aspiration biopsy, MIBI scans and frozen section biopsy offers the best diagnostic accuracy in the assessment of the hypofunctioning solitary thyroid nodule. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2004;31(9):1273-1279. doi:10.1007/s00259-004-1544-7
16. Verburg FA, Aktolun C, Chiti A, et al. Why the European Association of Nuclear Medicine has declined to endorse the 2015 American Thyroid Association management guidelines for adult patients with thyroid nodules and differentiated thyroid cancer. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2016;43(6):1001-1005. doi:10.1007/s00259-016-3327-3
17. Otto Warburg B, Wind F, Negelein N. THE METABOLISM OF TUMORS IN THE BODY. The Journal of General Physiology. *Biochem Z Biochem Z Biochem Z. Biol Chem*. 1923;309(2):397-519. doi:10.1097/00000441-193107000-00022
18. Herrera N, Martínez F, Mejía E. El efecto Warburg: la mano derecha en el desarrollo del cáncer. *Rev Espec Médico-Quirúrgicas*. 2015:171-177. <http://www.medigraphic.com/pdfs/quirurgicas/rmq-2015/rmq152h.pdf>.
19. Locasale JW, Cantley LC. Altered metabolism in cancer. *BMC Biol*. 2010;8:8-10. doi:10.1186/1741-7007-8-88
20. Hurtado-López Luis Mauricio , Fernández Ramírez Fernando, Martínez- Peñafiel Eva, Carrillo Ruiz José Damián HGN. Molecular Analysis by Gene Expression of Mitochondrial ATPase Subunits in Papillary Thyroid Cancer: Is ATP5E Transcript a Possible Early Tumor Marker? *Med Sci Monit*. 2015;21:1745-1751. doi:10.12659/MSM.893597
21. Grabellus F, Nagarajah J, Bockisch A, Schmid KW, Sheu SY. Glucose transporter 1 expression, tumor proliferation, and iodine/glucose uptake in thyroid cancer with emphasis on poorly differentiated thyroid carcinoma. *Clin Nucl Med*. 2012;37(2):121-127. doi:10.1097/RLU.0b013e3182393599
22. Li C, Zhang G, Zhao L, Ma Z, Chen H. Metabolic reprogramming in cancer cells: Glycolysis, glutaminolysis, and Bcl-2 proteins as novel therapeutic targets for cancer. *World J Surg Oncol*. 2016;14(1):1-7. doi:10.1186/s12957-016-0769-9
23. Kachel P, Trojanowicz B, Sekulla C, Prenzel H, Dralle H, Hoang-Vu C. Phosphorylation of pyruvate kinase M2 and lactate dehydrogenase A by fibroblast growth factor receptor 1 in benign and malignant thyroid tissue. *BMC Cancer*. 2015;15(1):1-13. doi:10.1186/s12885-015-1135-y
24. Yao Y, Wang H, Li B. LDH5 overexpression is associated with poor survival in patients with solid tumors: a meta-analysis. *Tumor Biol*. 2014;35(7):6973-6981. doi:10.1007/s13277-014-1903-3
25. Coelho RG, Fortunato RS, Carvalho DP. Metabolic Reprogramming in Thyroid Carcinoma. *Front Oncol*. 2018;8(March). doi:10.3389/fonc.2018.00082
26. Farrokhi Yekta R, Rezaie Tavirani M, Arefi Oskouie A, Mohajeri-Tehrani MR, Soroush AR. The metabolomics and lipidomics window into thyroid cancer research. *Biomarkers*. 2017;22(7):595-603. doi:10.1080/1354750X.2016.1256429
27. Tian Y, Nie X, Xu S, et al. Integrative metabolomics as potential method for diagnosis of thyroid malignancy. *Sci Rep*. 2015;21(5):1-12. doi:10.1038/srep14869
28. Baldari C, Bonavolontà V, Emerenziani G Pietro, Gallotta MC, Guidetti L, Silva AJ. Accuracy, reliability, linearity of Accutrend and Lactate Pro versus EBIO plus analyzer. *Eur J Appl Physiol*. 2009;107(1):105-111. doi:10.1007/s00421-009-1107-5

29. Baig MA, Shahzad H, Hussain E, Mian A. Validating a point of care lactate meter in adult patients with sepsis presenting to the emergency department of a tertiary care hospital of a low- to middle-income country. *World J Emerg Med.* 2017;8(3):184-189. doi:10.5847/wjem.j.1920
30. Gaiessi DF, Drumheller BC. Accuracy of Handheld Point-of-Care Fingertip Lactate Measurement in the Emergency Department. *West J Emerg Med.* 2013;XIV(February):58-62. doi:10.5811/westjem.2011.5.6706
31. Labrecque L, Provençal M, Caqueret A, et al. Correlation of Cord Blood pH, Base Excess, and Lactate Concentration Measured With a Portable Device for Identifying Fetal Acidosis. *J Obstet Gynaecol Canada.* 2014;36(7):598-604. doi:10.1016/S1701-2163(15)30539-9
32. Kubiak GM, Jachec W, Wojciechowska C, et al. Handheld capillary blood lactate analyzer as an accessible and cost-effective prognostic tool for the assessment of death and heart failure occurrence during long-term follow-up. *Dis Markers.* 2016;2016. doi:10.1155/2016/5965782
33. Guillier D, Moris V, Cristofari S, et al. Monitoring of Myocutaneous Flaps by Measuring Capillary Glucose and Lactate Levels: Experimental Study. *Ann Plast Surg.* 2018;80(4):416-423. doi:10.1097/SAP.0000000000001313
34. Henault B, Pluvy I, Pauchot J, Sinna R, Labrière-Chazal C, Zwetyenga N. Capillary measurement of lactate and glucose for free flap monitoring. *Ann Chir Plast Esthet.* 2014;59(1):15-21. doi:10.1016/j.anplas.2013.08.001
35. Léguillier T, Jouffroy R, Boisson M, et al. Lactate POCT in mobile intensive care units for septic patients? A comparison of capillary blood method versus venous blood and plasma-based reference methods. *Clin Biochem.* 2018;(January). doi:10.1016/j.clinbiochem.2018.03.006
36. Nieto JE, Dechant JE, le Jeune SS, Snyder JR. Evaluation of 3 Handheld Portable Analyzers for Measurement of L-Lactate Concentrations in Blood and Peritoneal Fluid of Horses With Colic. *Vet Surg.* 2015;44(3):366-372. doi:10.1111/j.1532-950X.2014.12231.x
37. Dechant JE, Symm WA, Nieto JE. Comparison of pH, Lactate, and Glucose Analysis of Equine Synovial Fluid using a Portable Clinical Analyzer with a Bench-Top Blood Gas Analyzer. *Vet Surg.* 2011;40(7):811-816. doi:10.1111/j.1532-950X.2011.00854.x
38. Almeida SM de, Marquie-Beck J, Bhatt A, Letendre S, McCutchan A, Ellis R. Portable lactate analyzer for measuring lactate in cerebrospinal fluid (CSF) and plasma - method-comparison evaluations. *Arq Neuropsiquiatr.* 2014;72(7):500-505. doi:10.1590/0004-282X20140076
39. Cortés-Reyes TF R-RJ, M.D. G-D. Métodos estadísticos de evaluación de la concordancia y la reproducibilidad de pruebas diagnósticas. *Educ Médica.* 2010;61(3):247-255.
40. Priya Ranganathan, C. S. Pramesh RA. Common pitfalls in statistical analysis: Measures of agreement. *Perspect Clin Res.* 2017;8(4):113-117. doi:10.4103/picr.PICR
41. Lin LI. A Concordance Correlation Coefficient to Evaluate Reproducibility. *Biometrics.* 1989;45(1):255-268.