

- REVISTA DE -

MEDICINA DE LABORATORIO

ISSN (versión papel): 2660-7484

ISSN (versión electrónica): 2660-7638

Vol. 4 Núm. 1 | enero-abril 2023 | Págs. 1-44

Editorial

La validación en el laboratorio de urgencias 1
S. Prieto Menchero

Original

Utilidad clínica de la proteína tau total y la ratio con su fracción fosforilada en el diagnóstico de enfermedad de Creutzfeldt-Jakob 4
B. Nafria Jiménez, A. Garrido Chércoles, F. Moreno Izco

Revisión

Biomarcadores diagnósticos de la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob 12
B. Nafria Jiménez, A. Garrido Chércoles

Casos Clínicos

Detección temprana de cristales de sulfadiazina en un paciente VIH positivo con toxoplasmosis 24
R. J. García Martínez, G. Velasco de Cos, A. Fuente Alonso, R. Cobo Díaz, J.-M. Martínez García

Detección de la Hb J-Baltimore durante la medición de la HbA1c por HPLC 28
N. E. Larocca González, M. A. Álvarez Rueda, E. M. Deschamps Mosquera, F. J. Peteiro-Cartelle

Dermatomiositis con anticuerpos anti-TIF1 gamma positivos asociados a neoplasia 32
J. León Lázaro, R. Herranz Llorente, S. Martín Junco, B. Sacristán Enciso, M. Espárrago Rodilla

Imagen/Infografía

Neoplasia de ovario en líquido ascítico 36
R. J. García Martínez, V. Martín-Riera, C. Ramírez-Serra

Evaluación Técnica/Equipos

Estudio de intercambiabilidad entre dos métodos analíticos para la determinación del receptor soluble del activador del plasminógeno tipo urocinasa (suPAR) en el laboratorio de urgencias: inmunoensayo de flujo lateral frente a turbidimetría 38
M. E. Paniagua Arribas, R. Padilla Berdugo, S. Álvarez Kailis, F. Neria Serrano, E. de las Nieves Rodríguez

Carta al Director

Reglas automatizadas en el sistema informático del laboratorio para la detección de pseudohiperpotasemias 43
N. González Pereira, A. Castañeda de la Mata, S. Prieto Menchero

AEBM-ML
Asociación Española de
Biopatología Médica - Medicina de Laboratorio

AEFA
Asociación Española del Laboratorio Clínico

www.revistamedicinadelaboratorio.es

ARÁN

©AEBM-ML (2023)
©AEFA (2023)
©Arán Ediciones, S.L. (2023)

La *Revista de Medicina de Laboratorio* es una revista open access, lo que quiere decir que todo su contenido es accesible libremente sin cargo para el usuario individual y sin fines comerciales. Los usuarios individuales están autorizados a leer, descargar, copiar, distribuir, imprimir, buscar o enlazar a los textos completos de los artículos de esta revista sin permiso previo del editor o del autor, de acuerdo con la definición BOAI (Budapest Open Access Initiative) de open access. La reutilización de los trabajos puede hacerse siempre y cuando el trabajo no se altere en su integridad y sus autores sean adecuadamente referenciados o citados en sucesivos usos, y sin derecho a la producción de obras derivadas

Esta revista se publica bajo la licencia CC BY-NC-SA (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>)



ISSN electrónico: 2660-7638
ISSN papel: 2660-7484
Publicación cuatrimestral
Depósito legal: M-14367-2023

Edición y administración:



Arán Ediciones, S.L.
Castelló, 128, 1.º
Tel. +34 91 745 17 29
28006 Madrid (España)

Suscripciones:

Tarifa de suscripción anual (España):

Profesionales 95 € + IVA - Instituciones 120 € + IVA

Tarifa de suscripción anual (internacional):

250 € + IVA

Arán Ediciones, S.L.
Castelló, 128, 1.º - 28006 Madrid (España) - Teléfono: +34 91 745 17 29
Correo electrónico: suscripc@grupoaran.com

Reservados todos los derechos. Ninguna parte de esta publicación puede ser reproducida, transmitida en ninguna forma o medio alguno, electrónico o mecánico, incluyendo fotocopias, grabaciones o cualquier sistema de recuperación de almacenaje de información, sin la autorización por escrito del titular del Copyright.

La editorial declina toda responsabilidad sobre el contenido de los artículos que aparezcan en esta publicación.

Equipo Directivo

DIRECTOR

Dr. Enrique Rodríguez Borja
(Hospital Clínico Universitario de Valencia, Valencia)
enrobor@gmail.com

EDITORA JEFE

Dra. M^a del Rosario Caro Narros
(Complejo Asistencial de Segovia, Segovia)
rcaro@saludcastillayleon.es

EDITORES

Dra. Montserrat González Esteche
(Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Madrid)
montse@cmtx.net

Dr. Joan Batista Castellví
(Consultor Senior en Medicina de Laboratorio,
Tarragona)
jbatista@tinet.cat

Editores Asociados

Díaz-Flores Estévez, Felicitas
(Complejo Hospitalario Universitario de Canarias. San
Cristóbal de La Laguna, Santa Cruz de Tenerife)
fdiazflo@ull.edu.es/fdiaest@gobiernodecanarias.org

Gil Ruiz, María Teresa
(Hospital General Nuestra Señora del Prado
de Talavera de la Reina, Toledo)
tgruiz@sescam.jccm.es

Kabaroglu, Ceyda
(Department of Clinical Biochemistry. School of
Medicine. Ege University. Izmir, Turkey)
ckabaroglu@gmail.com

Laserna Mendieta, Emilio
(Unidad de Investigación del Hospital General
de Tomelloso, Ciudad Real. Instituto
de Investigación Sanitaria del Hospital Universitario
de La Princesa, Madrid)
ejlaserna@gmail.com

López Gómez, Juan Manuel
(Hospital Univ. de Badajoz, Badajoz)
lopezhospi@gmail.com

Martínez Triguero, María Luisa
(Hospital Universitari i Politècnic La Fe, Valencia)
martinez_mlutri@gva.es

Pérez García, Lourdes
Laboratorio de Análisis Clínicos.
Complejo Asistencial de Palencia. Palencia

Pineda Tenor, Daniel
(Hospital de Antequera. Área de Gestión Sanitaria
Norte de Málaga)
dpinedatenor@gmail.com

Villalta Robles, Victoria
(Complejo Asistencial de Segovia, Segovia)
villaltarobles@gmail.com

Consejo Asesor

Rui Manuel Amaro Pinto
Profesor en la Facultad de Farmacia.
Universidad de Lisboa. Portugal

Adela Castañeda de la Mata
Especialista en Hematología y Hemoterapia.
Hospital Universitario de Fuenlabrada.
Fuenlabrada, Madrid. España

Gilbert C. Faure
MD, PhD. Laboratoire d'Immunologie.
Faculté de Médecine.
Université Lorraine and CHU Nancy. France

Jesús Miguel García-Foncillas
Director, Translational Oncology Division.
Research Institute FJD-UAM. Madrid, España

Montserrat González Esteche
Jefe de Servicio de Bioquímica Clínica.
Hospital General Universitario Gregorio Marañón.
Madrid, España

Juan Miguel Guerrero Montávez
Jefe de Servicio de Bioquímica Clínica. Hospital
Universitario Virgen del Rocío. Sevilla. Catedrático
vinculado a la Universidad de Sevilla. Sevilla, España

Gustav Kovac
Slovak Medical University: Institute of Chemistry,
Clinical Chemistry and Laboratory Medicine.
Bratislava, Slovak Republic

Vesna Kusec
MD PhD. University Hospital Centre Zagreb. Clinical
Institute of Laboratory Diagnosis Zagreb. Croatia

Juan Ernesto del Llano-Señaris
Presidente de la Fundación Gaspar Casal.
Madrid, España

Franklin Marques
Profesor de la Facultad de Farmacia. Universidad
de Porto. Laboratorio de Bioquímica. Porto, Portugal

Luis Nogueira Martins
Centro de Medicina Laboratorial Germano de Sousa.
Lisboa, Portugal

Leverton Ortiz Cáceres
Jefe del Laboratorio Clínico. Hospital de la Serena.
Chile

Wytze Pier Oosterhuis
Zuyderland Medical Center. Heerlen/Sittard.
The Netherlands

M.^a del Carmen Pasquel
Directora General Revista DIV/RIA/IFCC.
Asesora Regional de la Fundación Wiener. Ecuador

Patrick Twomey
Professor. Consultant Chemical Pathologist.
Head of Department/Laboratory Director for Clinical
Chemistry. St. Vincent's University Hospital.
Dublin, Ireland

Roberto Verna
MD PhD. Professor Faculty of Medicine.
Sapienza University of Rome. President of World
Association of Societies of Pathology and
Laboratory Medicine. President of World Pathology
Foundation. Rome, Italy



María S. Pacheco Delgado

**Presidente de la Asociación Española
de Biopatología Médica-Medicina de Laboratorio (AEBM-ML)**



Antonio Rider Pérez

**Presidente de la Asociación Española
del Laboratorio Clínico**





- REVISTA DE - MEDICINA DE LABORATORIO

www.revistamedicinadelaboratorio.es

Vol. 4 Núm. 1 | enero-abril 2023

Sumario

Editorial

La validación en el laboratorio de urgencias 1
S. Prieto Menchero

Original

Utilidad clínica de la proteína tau total y la ratio con su fracción fosforilada
en el diagnóstico de enfermedad de Creutzfeldt-Jakob 4
B. Nafría Jiménez, A. Garrido Chércoles, F. Moreno Izco

Revisión

Biomarcadores diagnósticos de la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob 12
B. Nafría Jiménez, A. Garrido Chércoles

Casos Clínicos

Detección temprana de cristales de sulfadiazina en un paciente VIH positivo
con toxoplasmosis 24
*R. J. García Martínez, G. Velasco de Cos, A. Fuente Alonso, R. Cobo Díaz,
J.-M. Martínez García*

Detección de la Hb J-Baltimore durante la medición de la HbA1c por HPLC 28
*N. E. Larocca González, M. A. Álvarez Rueda, E. M. Deschamps Mosquera,
F. J. Peteiro-Cartelle*

Dermatomiositis con anticuerpos anti-TIF1 gamma positivos asociados
a neoplasia 32
*J. León Lázaro, R. Herranz Llorente, S. Martín Junco, B. Sacristán Enciso,
M. Espárrago Rodilla*

Imagen/Infografía

Neoplasia de ovario en líquido ascítico 36
R. J. García Martínez, V. Martín-Riera, C. Ramírez-Serra

Evaluación Técnica/Equipos

Estudio de intercambiabilidad entre dos métodos analíticos
para la determinación del receptor soluble del activador del plasminógeno tipo
urocinasa (suPAR) en el laboratorio de urgencias: inmunoensayo de flujo
lateral frente a turbidimetría 38
*M. E. Paniagua Arribas, R. Padilla Berdugo, S. Álvarez Kailis, F. Neria Serrano,
E. de las Nieves Rodríguez*

Carta al Director

Reglas automatizadas en el sistema informático del laboratorio
para la detección de pseudohiperpotasemias 43
N. González Pereira, A. Castañeda de la Mata, S. Prieto Menchero



- REVISTA DE - MEDICINA DE LABORATORIO

www.revistamedicinadelaboratorio.es

Vol. 4 No. 1 | January-April 2023

Summary

Editorial

Validation in the emergency laboratory 1
S. Prieto Menchero

Original

Clinical utility of tau total protein and the ratio to its phosphorylated form
in the diagnosis of Creutzfeldt-Jakob disease 4
B. Nafría Jiménez, A. Garrido Chércoles, F. Moreno Izco

Review

Diagnostic biomarkers of Creutzfeldt-Jakob disease 12
B. Nafría Jiménez, A. Garrido Chércoles

Case Reports

Early detection of sulfadiazine crystals in an HIV positive patient
with toxoplasmosis 24
*R. J. García Martínez, G. Velasco de Cos, A. Fuente Alonso, R. Cobo Díaz,
J.-M. Martínez García*

Detection of Hb J-Baltimore during HbA1c measurement by HPLC 28
*N. E. Larocca González, M. A. Álvarez Rueda, E. M. Deschamps Mosquera,
F. J. Peteiro-Cartelle*

Neoplasm associated dermatomyositis with anti-tif1 gamma positive
antibodies 32
*J. León Lázaro, R. Herranz Llorente, S. Martín Junco, B. Sacristán Enciso,
M. Espárrago Rodilla*

Image/Inphografic

Ovarian cancer in peritoneal fluid 36
R. J. García Martínez, V. Martín-Riera, C. Ramírez-Serra

Technical Evaluation/Equipments

Interchangeability study between two analytical methods for the determination
of the soluble receptor of the urokinase-type plasminogen activator (suPAR)
in the Emergency Laboratory: lateral flow immunoassay versus turbidimetry 38
*M. E. Paniagua Arribas, R. Padilla Berdugo, S. Álvarez Kailis, F. Neria Serrano,
E. de las Nieves Rodríguez*

Letter to the Editor

Automated rules in the laboratory computer system for the detection
of pseudohyperkalemia 43
N. González Pereira, A. Castañeda de la Mata, S. Prieto Menchero



La validación en el laboratorio de urgencias

Validation in the emergency laboratory

La validación del informe representa el desenlace del proceso diagnóstico. Sea el motivo de la solicitud drama, comedia o tragedia, el momento en el que el profesional del laboratorio entiende que el dato, la imagen o el texto generado como respuesta a la pregunta clínica están preparados para salir al aire, para ser visualizados e integrados en el acto médico que está desarrollándose en el paciente, en ese momento procede a ejecutar la validación como punto final.

La validación es, por lo tanto, la seña de identidad del profesional que ejerce la medicina de laboratorio y lo que le da valor al "dato metrológico", que pasa a tener sentido clínico.

En el ámbito del laboratorio de urgencias, la validación tiene unas características especiales que la hacen única, compleja y fuente de controversias. Además de todo el procedimiento habitual propio del laboratorio, tiene tres características diferenciales:

- El tiempo de respuesta, que es el eje esencial del proceso: no hay tiempo para dejarlo, revisarlo, para discutir en sesión o comentar con un compañero.
- El estado del paciente y la toma de las muestras: no es un estado basal, no tiene necesariamente la preparación preanalítica precisa para una interpretación óptima. Por otro lado, las características de la obtención de la muestra propia de la atención urgente son peculiares y tienen un mayor riesgo de factores como hemólisis, muestras inadecuadas o insuficientes e incluso errores de identificación.
- El enfoque holístico. En el laboratorio de urgencias no hay *a priori* sección y áreas; toda la medicina de laboratorio está presente, integrada y requiere una validación del total de la petición y no de una fracción de esta.

Si a esto le añadimos que el facultativo en ocasiones no está presente (guardias localizadas) o lo está durante un largo periodo (guardia de presencia de 17

o 24 horas ininterrumpidas) entendemos lo complejo del proceso en ese escenario, que suele representar entre el 20 y el 40 % de la actividad de un laboratorio.

VERIFICAR Y VALIDAR

Debemos distinguir conceptos que a veces se utilizan como sinónimos o de manera confusa.

La *verificación* es una actividad eminentemente técnica. En ella se asegura que la medición se ha ajustado a las especificaciones de calidad técnica que se han definido y que además no ha habido factores externos que hayan interferido en el resultado medido (alteración preanalítica, interferencias conocidas, rango de medición, etc.).

La verificación puede ser automática, mediante un conjunto de reglas, o manual, mediante la revisión del resultado o del proceso frente a los metadatos de los equipos de medida y ensayo: calibraciones, controles, alarmas del equipo, etc.

La *validación* es una actividad facultativa que garantiza que el valor verificado puede incluirse e interpretarse dentro de la historia del paciente, aportando valor en la cadena de decisiones clínicas o respondiendo a preguntas diagnósticas, pronósticas o terapéuticas en relación al paciente y a su entidad nosológica.

Dentro de la validación podemos distinguir tres niveles:

- Validación automática por reglas o algoritmos.
- Validación manual por el facultativo de laboratorio.
- Y, sobre todo en el caso de la urgencia, pero también en el POCT y en otras áreas, la validación delegada. Este tipo de validación es más amplia y compleja que la validación automática y a menudo incluye otras comprobaciones basadas en protocolos específicos que permiten autorizar al técnico de laboratorio o al profesional a cargo del POCT

la “liberación” o la visualización del resultado bajo la responsabilidad de un facultativo de laboratorio concreto. Estos protocolos de validación delegada deben dejar claro en qué casos no puede liberarse el conjunto de resultados porque estos deben ser validados por el especialista de laboratorio.

Determinadas acciones, por lo tanto, pueden delegarse, pero de una manera documentada. La norma ISO 15189 (UNE ISO-15189-2023) identifica claramente que “el director del laboratorio puede delegar determinadas obligaciones o responsabilidades, o ambas, en personal calificado y competente, se debe documentar tal delegación. Sin embargo, el director del laboratorio debe mantener la última responsabilidad del funcionamiento general del laboratorio” (Fig. 1).

¿Cuáles son los riesgos?

La complejidad y la presión del tiempo de respuesta pueden reducir la actividad del facultativo de laboratorio a una simple verificación más o menos compleja, y por extensión, a que todos los resultados sean liberados por el técnico de laboratorio si “los controles del turno han entrado”.

Desde la perspectiva urgente, pero por semejanza en todo el proceso del laboratorio, esta es una actitud que devalúa el servicio prestado por el laboratorio en aras de la comodidad o de la imposibilidad de poder abarcar todo el proceso. Hay incluso situaciones en las que el técnico verifica permitiendo que esos datos sean vi-

sibles y unas horas o incluso un día después el facultativo de urgencias procede a validar todo lo verificado. Esta es una práctica totalmente inadecuada.

La actividad del profesional del laboratorio, según los criterios de AEBM-ML, se reparte a tres niveles: logística/gestión, metrología y medicina de laboratorio. Aplicando estos criterios al área del laboratorio de urgencias podemos identificar los puntos críticos que “conducen” o lideran el proceso:

En la parte de la logística y de la gestión: todo el proceso de solicitud, cartera, obtención de la muestra, transporte, disponibilidad de contacto para reclamaciones y valores críticos y, sobre todo, tiempo de disponibilidad del resultado y volcado de valores a la historia clínica electrónica para combinar con formularios y algoritmos.

En la parte metrológica: aspectos de mantenimiento, definición de serie y controles de calidad e interferencias *in vivo* o *in vitro*, así como la posibilidad de solicitud de pruebas no incluidas en cartera urgente y cómo garantizamos la verificación de los resultados en esos casos.

En la parte de medicina de laboratorio, en el proceso de validación: cómo evaluamos frente a valores de referencia basales estándares (y no necesariamente ajustados a la situación urgente), el acceso a datos clínicos, la ampliación o modificación de la petición, la aplicación de algoritmos en el entorno urgente (por ejemplo, sepsis, etc.), la generación de otros test que quedan pendientes para la rutina, etc. También es importante

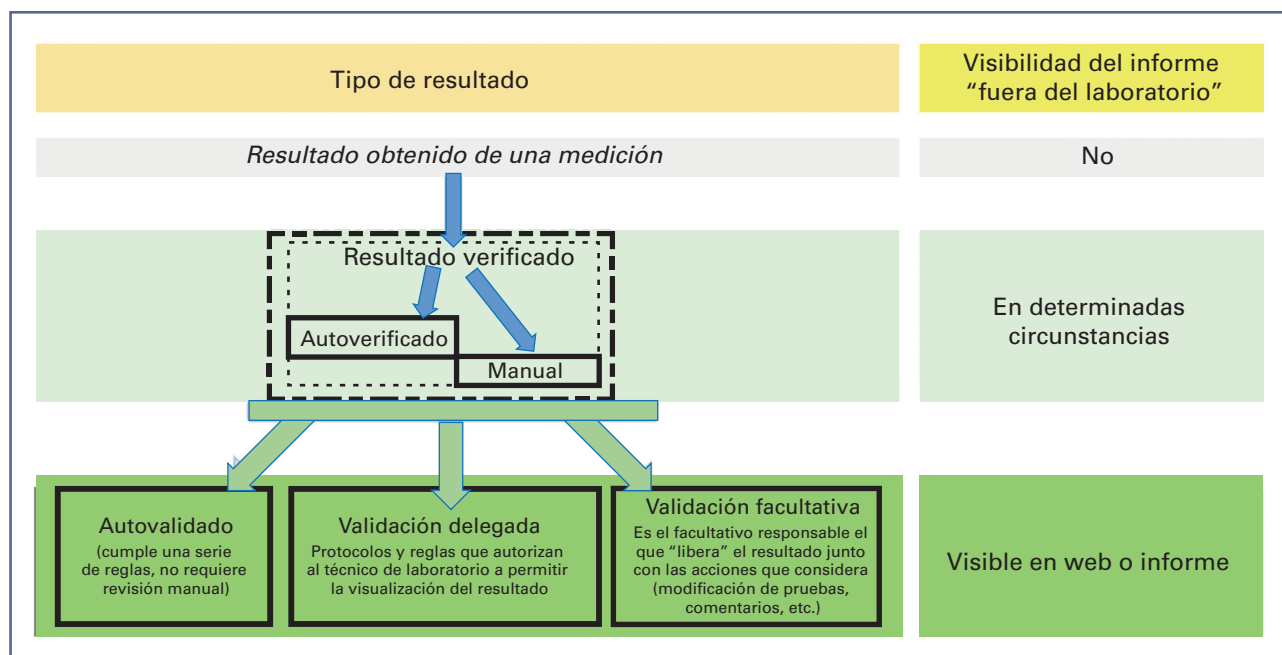


Figura 1 –

cómo se garantiza la trazabilidad y la visibilidad del validador o del responsable si no es la misma persona, en la web y en el informe.

Todos estos elementos son factores de riesgo potencial que deben evaluarse y valorarse a través de un sistema de garantía de calidad documentado y monitorizado, sobre todo desde la perspectiva de la seguridad del paciente (disminuir los falsos positivos y negativos).

Alternativas y soluciones

Es necesario reflexionar, definir los escenarios y las posibilidades de que disponemos para realizar nuestra actividad y validarla con la máxima calidad y el mínimo riesgo.

Los modernos sistemas informáticos y de ayuda a la decisión hacen posible articular escenarios concretos que garanticen la calidad y monitoricen y registren la responsabilidad del proceso.

Aspectos de inteligencia artificial o algoritmos complejos que usan no solo datos actuales del paciente, sino previos o de otros parámetros o incluso de parámetros no analíticos, como signos o síntomas clínicos, motivo diagnóstico de petición (que puede ser articulado como perfil de petición o mediante preguntas asociadas a la petición), son elementos a explorar y a desarrollar; y trabajando en su implementación y desarrollo, veremos que son útiles no solo en el entorno de urgencias, sino también en la rutina y en el seguimiento de patologías del paciente.

Hay que incluir la acción facultativa directa en todas las situaciones en las que la acción del facultativo

de urgencias imprima valor en el proceso y huir (en aras de la seguridad del paciente y de la dignidad profesional) de un simple clic rápido para “validar”.

Hay situaciones específicas que nos obligaran a hacer un análisis más concreto e identificar en qué casos nuestra acción directa como facultativos no solo es necesaria, sino esencial: el caso de los valores críticos, el POCT, determinados resultados que no podemos interpretar en el escenario urgente y que tendrán que quedar como informes provisionales pendientes de una acción o análisis posteriores, etc.

En definitiva, se trata de ser capaces de separar y de diferenciar entre el acto físico de pulsar una tecla y el proceso intelectual de la validación. Delimitar cuándo pueden realizarse de manera automática o delegada y cuándo no. Y nunca olvidar la esencia de nuestra actividad: cómo queda recogido el facultativo responsable final de la emisión del resultado.

La validación del informe representa el desenlace del proceso diagnóstico desde la perspectiva de la medicina de laboratorio.

Conflicto de intereses: el autor declara no tener conflicto de interés.

Santiago Prieto Menchero

Servicio de Laboratorio Clínico. Hospital Universitario de Fuenlabrada. Fuenlabrada, Madrid.
Miembro de la Junta Directiva de la AEBM-ML



Original

Utilidad clínica de la proteína tau total y la ratio con su fracción fosforilada en el diagnóstico de enfermedad de Creutzfeldt-Jakob

Clinical utility of tau total protein and the ratio to its phosphorylated form in the diagnosis of Creutzfeldt-Jakob disease

Beatriz Nafría Jiménez¹, Adolfo Garrido Chércoles¹, Fermín Moreno Izco²

Servicios de ¹Análisis Clínicos y ²Neurología. Hospital Universitario Donostia. Donostia

Recibido: 23/03/2023
Aceptado: 18/04/2023

Correspondencia: Beatriz Nafría Jiménez. Servicio de Análisis Clínicos. Hospital Universitario Donostia. Paseo Doctor Begiristain, 107. Donostia
e-mail: bea.nafria.95@gmail.com

Palabras clave:

Biomarcadores. Enfermedad de Creutzfeldt-Jakob. Líquido cefalorraquídeo. Prión. Proteína tau. RT-QuIC.

RESUMEN

Introducción: la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob (ECJ) es la principal encefalopatía espongiiforme transmisible humana que cursa con demencia de progresión rápida y evolución fatal. En la estrategia diagnóstica los biomarcadores subrogados en líquido cefalorraquídeo (LCR) aportan información inicial de gran utilidad. El más utilizado ha sido la proteína 14-3-3, pero recientemente han adquirido interés la proteína tau total (T-tau) y su forma fosforilada (p-tau181), utilizadas ya en el diagnóstico de otras enfermedades neurodegenerativas.

Material y métodos: se ha realizado un estudio retrospectivo en el que se ha comparado la utilidad diagnóstica de la proteína 14-3-3 (Western blot) y de las proteínas T-tau y p-tau181 (electroquimioluminiscencia) en una cohorte de 188 pacientes con sospecha de ECJ, de los que 18 fueron diagnosticados (10 confirmados, 7 probables y 1 posible).

Resultados: valores cualitativos (positivo/negativo) de la proteína 14-3-3 lograron discriminar a los pacientes ECJ de los no ECJ, con baja sensibili-

Conflicto de intereses: los autores declaran que no existe ningún conflicto de interés.

DOI: 10.20960/revmedlab.00177

Nafría Jiménez B, Garrido Chércoles A, Moreno Izco F. Utilidad clínica de la proteína tau total y la ratio con su fracción fosforilada en el diagnóstico de enfermedad de Creutzfeldt-Jakob. Rev Med Lab 2023;4(1):4-11

dad (61 %) y buena especificidad (98 %). En contraste, la cuantificación de T-tau (punto de corte: 800 pg/mL) y la ratio T-tau/p-tau181 (punto de corte: 28) mejoraron el rendimiento diagnóstico de ECJ, con alta sensibilidad (88 % y 94 %) y especificidad (97 % y 98 %), respectivamente. A partir de los datos anteriores se propone un algoritmo diagnóstico de ECJ basado en T-tau, Tau/p-Tau181 y una prueba de confirmación RT-QuIC (*Real-Time Quaking-Induced Conversion*).

Conclusiones: las proteínas T-tau y p-tau181 son biomarcadores de primera línea con elevado rendimiento diagnóstico de ECJ. Su automatización en plataformas de inmunoensayo con mejoras en la calidad analítica y en los tiempos de respuesta incrementa su utilidad diagnóstica.

Keywords:

Biomarkers. Creutzfeldt-Jakob disease. Cerebrospinal fluid. Prion. Tau protein. RT-QuIC.

ABSTRACT

Introduction: Creutzfeldt-Jakob disease (CJD) is the main human transmissible spongiform encephalopathy that presents with rapidly progressive dementia and fatal evolution. In the diagnostic strategy, surrogate biomarkers in cerebrospinal fluid (CSF) provide very useful initial information. The most widely used has been the 14-3-3 protein, but recently the total tau protein (T-tau) and its phosphorylated form (p-tau181) have gained interest, already used in the diagnosis of other neurodegenerative diseases.

Material and methods: in this retrospective study we compare the diagnostic performance of the 14-3-3 protein (Western blot) with that of T-tau and p-tau181 proteins (electrochemiluminescence) in a cohort of 188 suspected CJD patients of which 18 were diagnosed (10 confirmed, 7 probable, one possible).

Results: qualitative values (positive/negative) of the 14-3-3 protein were able to discriminate CJD from non-CJD patients, with low sensitivity (61%) and good specificity (98 %). In contrast, T-tau quantification (cut-off 800 pg/mL) and T-tau/p-tau181 ratio (cut-off 28) improved CJD diagnosis, with high sensitivity (88 % and 94 %) and specificity (97 % and 98 %), respectively. Based on the above data, a CJD diagnostic algorithm based on T-tau, tau/p-tau181 and the confirmation test RT-QuIC (Real-Time Quaking-Induced Conversion) is proposed.

Conclusions: CSF T-tau and p-tau181 proteins are first-line biomarkers with elevated diagnostic accuracy for CJD. Its automation in immunoassay platforms with improvements in analytical quality and response times increases its diagnostic utility.

INTRODUCCIÓN

Las encefalopatías espongiformes transmisibles humanas (EETH) o prionopatías constituyen un grupo raro de enfermedades neurodegenerativas mortales que representan un importante problema de salud pública (1). En la actualidad, en humanos, se incluyen la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob (ECJ), el insomnio familiar fatal, el síndrome de Gerstmann-Sträussler-Scheinker y el kuru. Todas ellas se caracterizan por la conversión de la proteína priónica monomérica celular (PrPC) en multímeros con una conformación alterada y anormalmente plegados, denominados colectivamente proteína priónica scrapie (PrPSc), que es capaz de autoagregarse y depositarse en cerebro (2).

La enfermedad de Creutzfeldt-Jakob es la forma más común de EETH (~90 % de los casos), con una incidencia anual de aproximadamente 1,5-2,0 casos por millón de habitantes (1). La ECJ puede ser de origen genético (gECJ), iatrogénico (iECJ) o esporádico (sECJ). Este último es el caso más frecuente, con una supervivencia media de 4 a 6 meses (3).

El diagnóstico de ECJ supone un reto dada la heterogeneidad de síntomas que pueden aparecer (como demencia de rápido empeoramiento, mioclonías, trastornos de la visión o trastornos piramidales/extrapiramidales) y que se superponen, especialmente al inicio, con los cuadros de otras demencias rápidamente progresivas (4). En este sentido, el diagnóstico debe respaldarse con las pruebas de imagen disponibles, tales como electroencefalograma (EEG) o resonancia mag-

nética nuclear (RMN), y el análisis de biomarcadores en LCR (5). No obstante, el diagnóstico definitivo, siguiendo los criterios actualizados del Grupo Europeo de Vigilancia de EETH, requiere una autopsia o biopsia del tejido cerebral para su estudio anatomopatológico (6,7).

La introducción de los biomarcadores en LCR en los laboratorios clínicos ha contribuido a mejorar el diagnóstico *ante mortem* de la ECJ. Dentro de estos, cabe distinguir los biomarcadores subrogados de primera línea, las proteínas 14-3-3, T-tau y su forma fosforilada, que indican daño en el tejido cerebral, aunque no están implicados en la patogénesis directa de la enfermedad, y un biomarcador específico, RT-QulC (*Real-Time Quaking-Induced Conversion*), que se utiliza para aumentar la certeza diagnóstica de ECJ (8).

La proteína 14-3-3 se incluyó en los criterios diagnósticos de sECJ por la Organización Mundial de la Salud (OMS) en 1998, ya que se libera en el LCR ante la rápida muerte neuronal que caracteriza a esta enfermedad (9). La sensibilidad y la especificidad medias encontradas para ECJ son de alrededor del 80-90 %, de manera que incrementos de esta proteína también pueden asociarse a otras afecciones neurológicas, tales como la encefalitis herpética, la isquemia cerebral, la enfermedad de Alzheimer (EA) o la degeneración frontotemporal, entre otras (10). Para su medición, existen dos tipos de metodologías. Una está basada en la separación electroforética en gel de poliacrilamida con dodecilsulfato sódico (SDS-PAGE) y detección cualitativa por Western blot. Es una técnica manual que plantea problemas de reproducibilidad y está sujeta a interferencias analíticas (por ejemplo, muestras de LCR hemáticas), lo que dificulta su acreditación por la norma ISO15189. La otra, propuesta como alternativa y basada en la metodología ELISA, ha tenido una baja implantación en los laboratorios clínicos por falta de estandarización y apenas se han desarrollado kits comerciales (11).

Como alternativa, la proteína T-tau es un biomarcador de muerte neuronal que se ha asociado a EA, pero también se eleva en LCR en la ECJ y, de hecho, en una mayor proporción. De hecho, se han descrito valores de hasta 41 veces mayor que en controles normales (12). Asimismo, la relación de tau total y su fracción fosforilada (p-tau181) ha demostrado que es capaz de mejorar significativamente la discriminación de ECJ de otras demencias, incluso de la EA. Esto puede reflejar el rápido proceso de degeneración axonal que incluye la ECJ, lo que conduce a una liberación excesiva de la proteína, pero que no se acompaña con el grado de fosforilación. Además, a diferencia de la proteína 14-3-3, la proteína tau aumenta al inicio de los signos clínicos (13).

Los métodos iniciales para la cuantificación de tau total y p-tau181 se han basado en la metodología ELISA, en la que la mayoría de los estudios realizados han informado de una buena sensibilidad (75-97 %) y especificidad (87-95 %) para sECJ (14). Algunos estudios también han definido una concentración umbral para guiar

el diagnóstico de entre 1200 y 1300 ng/L (13,15). Sin embargo, últimamente estas pruebas se han adaptado a plataformas de inmunoensayo con marcaje quimio-luminiscente (ECLIA) automatizados con mejores prestaciones analíticas y tiempos de respuesta (16), pero que requieren actualizar los puntos de corte de decisión clínica.

Por su parte, el ensayo RT-QulC se basa en la amplificación de la forma PrPSc presente en el LCR y se considera la prueba de referencia *ante mortem*. Se ha propuesto como una de las pruebas con mejor enfoque diagnóstico de ECJ, ya que diversos estudios han demostrado que presenta una sensibilidad y una especificidad de hasta el 96 % y el 100 %, respectivamente (8). Sin embargo, la implementación de RT-QulC como prueba de detección de primera línea para la ECJ es muy exigente en términos de disponibilidad de recursos, tanto por los elevados costes de reactivo y requerimiento de equipo especializado como por los niveles de bioseguridad de un laboratorio P3 (14). Por lo tanto, esta prueba quedaría relegada a laboratorios especializados que recibirían peticiones y muestras de LCR para confirmar resultados realizados por biomarcadores subrogados.

Con esta perspectiva, el objetivo de nuestro estudio fue evaluar la utilidad diagnóstica de las pruebas tau total y la ratio T-tau/p-tau181 en pacientes con sospecha de ECJ en la práctica hospitalaria habitual, estableciendo, por una parte, los puntos de corte con mejor rendimiento diagnóstico y, por otra, combinarlas con RT-QulC para proponer un algoritmo que facilite un enfoque inicial efectivo y temprano en el diagnóstico de ECJ.

MATERIAL Y MÉTODOS

Población de estudio

En este estudio retrospectivo se incluyeron 188 pacientes durante el periodo de enero del 2018 a agosto del 2021 cuyas muestras de LCR fueron remitidas a nuestro laboratorio desde los servicios de neurología del área sanitaria de Guipúzcoa (País Vasco, España) ante la sospecha clínica o con el fin de descartar ECJ. En cada muestra de LCR se analizó la presencia de la proteína 14-3-3 y se cuantificaron las proteínas T-tau y p-tau181.

El diagnóstico de ECJ lo realizó un especialista en neurología en función de los datos o de criterios clínicos, de las pruebas de imagen (EEG, RMN), de los biomarcadores en LCR y, en algunos casos, de estudio anatomopatológico. De esta manera, los pacientes se clasificaron siguiendo los criterios diagnósticos establecidos por el Grupo de Trabajo para la Vigilancia de EETH en España y de acuerdo con las recomendaciones del Grupo Europeo (6). Estos grados de certeza diagnóstica para la estadificación de la ECJ son los siguientes (7):

Caso posible: demencia rápidamente progresiva junto con dos criterios clínicos (mioclonías, alteraciones

visuales o cerebelosas, síntomas piramidales o extrapiramidales y mutismo acinético) y duración inferior a dos años.

Caso probable: demencia rápidamente progresiva junto con dos criterios clínicos (mioclonías, alteraciones visuales o cerebelosas, síntomas piramidales o extrapiramidales y mutismo acinético) y una prueba de imagen típica de ECJ (aparición en el EEG de complejos periódicos de onda corta [PSWC], o en la RMN cerebral, de anomalías de alta señal en los núcleos caudado y putamen o en al menos dos regiones corticales en técnica de difusión por resonancia magnética (DWI) o en recuperación de la inversión atenuada de fluido (FLAIR) o una prueba positiva de biomarcadores en LCR (proteína 14-3-3 o RT-QulC).

Caso confirmado: además de los criterios para un caso probable, debe confirmarse por autopsia o biopsia cerebral mediante anatomía patológica o inmunohistoquímica de PrPSC.

Muestras de LCR y análisis de biomarcadores

Las muestras de LCR se obtuvieron mediante punción lumbar, a nivel L3/L4 o L4/L5, siguiendo los procedimientos estandarizados. Las muestras de LCR se recogieron en tubos de ensayo de polipropileno (Sarstedt™), se enviaron al laboratorio dentro de las 4 horas posteriores a la recolección y se centrifugaron (4000 g, 10 min, 4 °C). Los sobrenadantes se dividieron en alícuotas de 1,5 mL en tubos de ensayo de polipropileno (Sorenson Bioscience) y se congelaron (-40 °C) hasta su posterior análisis.

La detección de la presencia de proteína 14-3-3 en LCR se realizó mediante electroforesis por SDS-PAGE/Inmunoblot usando los reactivos de la casa comercial Invitrogen (ThermoFisher). Para cada serie, el ensayo se validó aplicando un patrón o estándar de tamaño de proteínas en el rango 3,5-260 kDa y controles positivo y negativo.

La cuantificación de los biomarcadores (T-tau y p-tau181) en LCR se realizó mediante ECLIA acoplado a las plataformas cobas e801 y e601 (Roche®). La imprecisión interserial, expresada como coeficiente de variación, estuvo alineada con la indicada por el fabricante del método, que fue inferior a un 3 % en los niveles de concentración de utilidad clínica. Estas dos pruebas estaban incluidas en la participación del programa externo de la calidad (EQA) para biomarcadores en LCR organizado por The Alzheimer's Association. En la comparación entre laboratorios, se marcó como objetivo que la desviación de los resultados con respecto a la media del grupo par estuviera comprendida entre 2 SD.

Por su parte, y debido a que el ensayo RT-QulC solo estuvo disponible al final del periodo de inclusión de los pacientes, se realizó en un número reducido de casos utilizando como sustrato proteína priónica recombinante de hámster truncada (ensayo de segunda generación). El análisis se llevó a cabo en un laboratorio de referencia a nivel estatal.

Análisis estadístico de los datos

Todos los procedimientos estadísticos se realizaron utilizando el programa IBM SPSS Statistics versión 22.

La distribución de valores de los biomarcadores en nuestra muestra, estudiada mediante la prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnow, no seguía una distribución normal. Por ello, los datos se presentan como mediana y rango intercuartílico. Resultados de T-tau obtenidos en el autoanizador como > 1300 pg/mL no pudieron diluirse en el momento del estudio y se consideraron como 1300 con el fin de poder realizar los cálculos. Para evaluar las diferencias entre los dos grupos (ECJ y no-ECJ), se utilizaron las pruebas no paramétricas de U de Mann-Whitney en las variables continuas y de χ^2 para las variables categóricas (sexo y positividad de la proteína 14-3-3). Las diferencias se consideraron estadísticamente significativas a valores de $p < 0,05$. Para calcular la sensibilidad y la especificidad y demostrar los valores discriminatorios de los biomarcadores, se llevaron a cabo las curvas ROC (acrónimo de *Receiver Operating Characteristic* o característica operativa del receptor). El área bajo la curva ROC (AUC) con los intervalos de confianza acordes del 95% (IC 95 %) se consideró como medida para la exactitud diagnóstica y los puntos de corte óptimos de T-tau y p-tau181 se calcularon utilizando el índice de Youden.

La solicitud facultativa de los biomarcadores en LCR lleva implícito el consentimiento informado del paciente y la autorización por el comité de ética para realizar la punción lumbar y la interpretación clínica de los resultados con fines diagnósticos.

RESULTADOS

Datos demográficos y biomarcadores del LCR

Se incluyeron un total de 188 pacientes, de los que 18 resultaron finalmente clasificados como ECJ. No hubo diferencias con respecto a la edad y al sexo entre los casos de ECJ y los casos sin ECJ (Tabla I).

Como era de esperar, la proporción de pacientes con proteína 14-3-3 positiva fue de un 66,67 % y 0,5 % para los grupos ECJ y no ECJ, respectivamente ($p < 0,005$). En cuanto a los otros biomarcadores del LCR estudiados, los niveles de T-tau fueron significativamente mayores en el grupo de ECJ, mientras que los niveles de la fracción fosforilada fueron similares entre ambos grupos. La relación T-tau/p-Tau181 mostró mayor capacidad discriminante.

De los once casos que pudo realizarse de RT-QulC, fue positivo en ocho de ellos. De los tres restantes, dos casos se clasificaron finalmente como no ECJ y el otro en un caso, de probable origen genético.

Las características clínicas de los pacientes con diagnóstico de ECJ se muestran en la tabla II. Entre estos pacientes, el diagnóstico de ECJ se confirmó mediante un examen anatomopatológico *post mortem* en diez casos.

Tabla I.
VARIABLES DEMOGRÁFICAS Y RESULTADOS DE BIOMARCADORES EN LOS GRUPOS ESTUDIADOS ECJ Y NO CJ

Diagnóstico	No ECJ (n = 170)	ECJ (n = 18)	p
Edad (años), mediana (IQR)	72,00 (15,0)	69,00 (17,0)	0,457
Hombres (%)	114 (84,7 %)	9 (50 %)	0,329
Proteína 14-3-3 positiva (%)	1 (0,58 %)	12 (66,67 %)	< 0,0001*
T-tau (pg/mL), mediana (IQR)	202,50 (155,7)	1300,00 (276,0)	< 0,0001*
p-tau181 (pg/mL), mediana (IQR)	17,88 (17,7)	19,50 (17,5)	0,342
Ratio T-tau / p-tau181, mediana (IQR)	11,24 (3)	41,90 (47,1)	< 0,0001*
RT-QuIC (positivo/realizados)	0/2	8/9	–

IQR: rango intercuartílico. *Resultados estadísticamente significativos considerados con $p < 0,05$.

Tabla II.
Grados de certeza diagnóstica del grupo ECJ

Diagnóstico ECJ	Posible	Probable	Confirmado
Casos totales (n)	1	7	10
Edad (años), mediana (IQR)	82	63,5 (22)	72,0 (12)
EEG típico (%)	0	2 (28,57 %)	8 (80 %)
RMN cerebral típica (%)	1	6 (85,71 %)	9 (90 %)
Proteína 14-3-3 positiva (%)	1	4/7 (57,14 %)	6/9 (66,67 %)
RT-QuIC positivo	-	3/4 (75 %)	5/5 (100 %)
Tipo histológico	-	1 Ins 2-OPRI	6 MM/MV1 2 MM/MV1+2C 1 VV2 1 gCJ (PRNP-E200K)

gCJ: Creutzfeldt-Jakob genético; EEG: electroencefalograma; RMN: resonancia magnética nuclear.

Nueve de ellos se clasificaron como ECJ esporádica y uno como caso genético con la mutación más frecuente E200K en el gen *PRNP*. Casi todos estos casos confirmados de ECJ presentaron una RMN típica y la mayoría de ellos, un EEG típico, aunque el caso genético no. Los otros ocho casos (posible y probables) no pudieron confirmarse, ya que no se dispuso del consentimiento para realizar la autopsia.

Exactitud diagnóstica de los biomarcadores del LCR

Se realizó un análisis de curvas ROC para evaluar la exactitud diagnóstica de los biomarcadores T-tau y p-tau181 en LCR para distinguir a los pacientes clasificados con ECJ de los no ECJ (Fig. 1). Como puede visualizarse, el biomarcador subrogado en LCR más exacto para el diagnóstico de ECJ fue la ratio T-tau/p-tau181. Por su parte, la curva ROC de T-tau

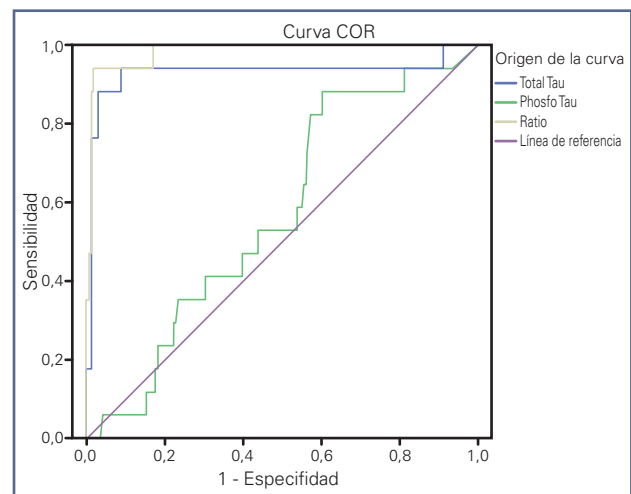


Figura 1 – Análisis mediante curvas ROC de T-tau, p-tau181 y su ratio. Los segmentos de diagonal se generaron mediante empates.

también muestra buena sensibilidad y especificidad, pero no así la fracción fosforilada por sí sola. Estos resultados se confirmaron en el análisis de áreas bajo la curva (AUC), en el que se seleccionaron los puntos de corte óptimos, basados en el índice de Youden, para cada biomarcador (Tabla III). Por último, al comparar la sensibilidad y la especificidad de la proteína 14-3-3 frente a la ratio T-tau/p-tau181 se observa que para esta última los puntos de corte 25 y 28 ofrecen una sensibilidad superior a la proteína 14-3-3 (Tabla IV).

Algoritmo diagnóstico

A raíz de estos resultados construimos este algoritmo de decisión clínica en el que se proponen las proteínas T-tau y p-tau181 como pruebas de detección rápida de primera línea (Fig. 2). De tal manera que, si un paciente con sospecha clínica de ECJ presenta una concentración superior de T-tau o de la ratio con su fracción fosforilada superiores a los puntos de corte establecidos, se continuaría con la prueba de referencia RT-QuIC para otorgar un diagnóstico de ECJ con muy alta probabili-

Tabla III.
Exactitud diagnóstica de ECJ de los biomarcadores en LCR y puntos de corte óptimos

Biomarcador	AUC	IC 95 %	Punto de corte	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)
Ratio T-tau/ p-tau181	0,983	0,953-0,996	28	94	98
T-tau	0,931	0,885-0,963	800 pg/mL	88	97
p-tau181	0,570	0,496-0,642	16 pg/mL	77	43

Tabla IV.
Análisis de sensibilidad y especificidad de la proteína 14-3-3 y diferentes puntos de corte de ratio T-tau/ p-tau181

	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)
Proteína 14-3-3	61,12	99,50
Ratio T-tau/ p-tau181 (Punto de corte 25)	94,12	97,67
Ratio T-tau/ p-tau181 (Punto de corte 28)	94,12	98,3
Ratio T-tau/ p-tau181 (Punto de corte)	70,58	98,83

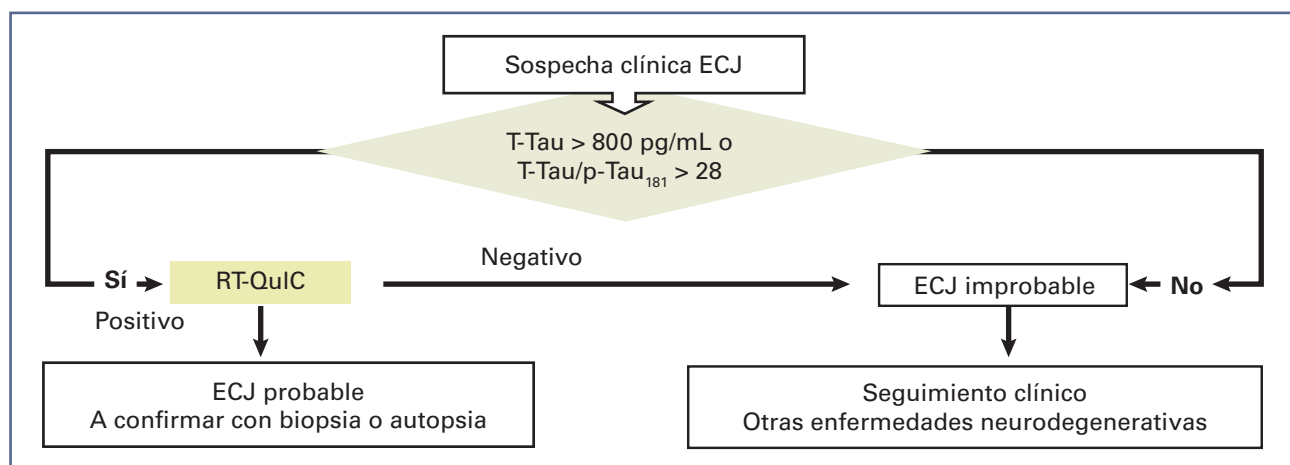


Figura 2 – Algoritmo diagnóstico basado en los biomarcadores subrogados tau total y la ratio con su fracción fosforilada, seguidos de RT-QuIC.

dad (a la espera de confirmación con biopsia). Por el contrario, si no se alcanzasen los puntos de corte establecidos, se informaría como ECJ improbable. Todo ello bajo un seguimiento clínico muy exhaustivo.

CONCLUSIÓN

En este trabajo nuestro objetivo fue estudiar la utilidad diagnóstica de las proteínas T-tau, p-tau181 y su ratio en una cohorte de pacientes remitidos al laboratorio por sospecha de ECJ. Con este fin, proporcionamos una investigación sobre el rendimiento de dichos biomarcadores en LCR y establecemos unos puntos de corte óptimos para discriminar con exactitud entre casos de ECJ (incluidos los casos patológicamente confirmados, clínicamente definidos y probables) y los pacientes sin ECJ.

El diagnóstico de ECJ presenta una progresión muy rápida y muchos síntomas se superponen con otras enfermedades neurodegenerativas (17). Por ello, el empleo de los biomarcadores subrogados aportaría utilidad diagnóstica en las fases más tempranas de la enfermedad. La proteína 14-3-3 ha sido el biomarcador subrogado de LCR más utilizado. Sin embargo, en nuestro estudio obtenemos una baja sensibilidad que contrasta con algunos estudios previos (10,13,18) que aportan que la proteína 14-3-3 tiene una sensibilidad más elevada para ECJ, aunque baja especificidad. Una de las razones probablemente esté relacionada con el uso del Western blot como técnica más empleada para su determinación. Este método, con resultados semicuantitativos, se ve interferido positivamente por las altas concentraciones de proteína o hematies en el LCR y, además, puede verse afectado por las interpretaciones visuales subjetivas (19). También se ha informado de que la heterogeneidad de la ECJ parece influir en los resultados diagnósticos, aunque la razón precisa aún no está clara en la actualidad (20).

Por el contrario, la proteína tau no está presente en hematies y los métodos para su medición se han basado en métodos inmunoquímicos cuantitativos (21). Varios estudios han informado de una sensibilidad y de una especificidad de la ratio T-tau/p-tau181 superiores a la prueba 14-3-3 (10, 22). En nuestro trabajo, también observamos mediante el análisis de curvas ROC que la combinación de la cuantificación de T-tau y su relación con la fracción fosforilada presentan un aumento de la exactitud diagnóstica. Asimismo, establecimos los puntos de decisión óptimos, obteniendo un valor de T-tau de 800 pg/mL o una ratio T-tau/p-tau181 mayor de 28. Estos puntos son semejantes a otros que se han descrito, aunque no se han unificado ni estandarizado dichos límites (23).

Otra ventaja de la ratio T-tau/p-tau181 es la posibilidad de calcularla con resultados obtenidos mediante métodos quimioluminiscentes automatizados en plataformas de inmunoensayo habituales en los laboratorios clínicos, lo que facilita su estandarización y la

mejora en el tiempo de respuesta (24). En concreto, el tiempo de respuesta en nuestro laboratorio para la proteína 14-3-3 es de aproximadamente 21 días frente a los 7 días para T-tau o p-tau181 por término medio, pero teniendo en cuenta que pueden proporcionarse tiempos de respuesta preferentes de uno o dos días si la situación clínica del paciente lo requiere.

En vista de todos estos resultados, junto con la rápida evolución y el mal pronóstico de la ECJ en muchos casos, se propone un algoritmo basado en la combinación de la prueba T-tau y de la ratio T-tau/p-tau181 como prueba de primera línea, seguida del ensayo RT-QuIC como prueba confirmatoria de un resultado positivo. La aplicación de este algoritmo en la práctica clínica puede aportar ventajas en el enfoque diagnóstico y en el manejo asistencial de los pacientes.

La principal limitación de nuestro estudio está relacionada con el número relativamente pequeño de casos de ECJ. Sin embargo, hemos incluido un número de muestras mucho más elevado y procedentes de una situación clínica real ante signos o síntomas clínicos que sugieren una enfermedad neurodegenerativa, con la aceptación del compromiso ético-legal de realizar una punción lumbar. Por lo tanto, a diferencia de comparar ECJ frente a otras patologías no neurológicas, en nuestro estudio la cohorte es representativa de la práctica hospitalaria, limitándose el sesgo.

Hay que mencionar que los nuevos análisis de la proteína tau en sangre representan un nuevo enfoque, con resultados alentadores en cuanto a la correlación LCR-plasma (25). Sin embargo, el nivel plasmático de tau se cuantifica actualmente utilizando ensayos comerciales de uso exclusivo de investigación, por lo que aún no puede ponerse en práctica en la rutina hospitalaria.

En conclusión, nuestros resultados muestran que la cuantificación de la proteína T-tau y la relación con su fracción fosforilada en LCR ofrece una mayor sensibilidad y especificidad que la proteína 14-3-3 para el diagnóstico *ante mortem* de ECJ. Asimismo, su determinación puede implementarse fácilmente en la práctica clínica de cualquier laboratorio no especializado y establecerse como enfoque inicial efectivo y precoz antes de la prueba de confirmación RT-QuIC en la estrategia diagnóstica de ECJ.

BIBLIOGRAFÍA

1. Hermann P, Appleby B, Brandel J-P, Caughey B, Collins S, Geschwind MD, et al. Biomarkers and diagnostic guidelines for sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *The Lancet Neurology* 2021;20(3):235-46.
2. Baral PK, Yin J, Aguzzi A, James MNG. Transition of the prion protein from a structured cellular form (PrP^C) to the infectious scrapie agent (PrP^{Sc}). *Protein Sci* 2019;28(12):2055-63.
3. Brown P, Brandel J-P, Sato T, Nakamura Y, MacKenzie J, Will RG, et al. Iatrogenic Creutzfeldt-Jakob Disease, Final Assessment. *Emerg Infect Dis* 2012;18(6):901-7.
4. Geschwind MD, Murray K. Differential diagnosis with other rapid progressive dementias. In: *Handbook of Clinical Neurology*. Hand Clin Neurol 2018;153:371-97.

5. Figgie MP, Appleby BS. Clinical Use of Improved Diagnostic Testing for Detection of Prion Disease. *Viruses* 2021;13(5):789.
6. European Centre for Disease Prevention and Control (CDC). Review of guidelines for prevention of Creutzfeldt–Jakob disease transmission in medical settings in EU Member States and Norway 2011 [cited 2023 Jan 13]. Available from: <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/review-guidelines-prevention-creutzfeldt-jakob-disease-transmission-medical>
7. Osakidetza. Encefalopatías espongiformes transmisibles humanas. Adaptación de los protocolos de la red nacional de vigilancia epidemiológica (RENAVE). Protocolos de vigilancia epidemiológica. Euskadi.eus [citado el 23 de enero de 2023]. Disponible en: https://www.osakidetza.euskadi.eus/contenidos/informacion/vigilancia_protocolos/es_def/adjuntos/EZJ_Castellano_31-01-2019.pdf
8. McGuire LI, Poleggi A, Poggiolini I, Suardi S, Grznarova K, Shi S, et al. Cerebrospinal fluid real-time quaking-induced conversion is a robust and reliable test for sporadic creutzfeldt-jakob disease: An international study: sCJD CSF RT-QuIC. *Ann Neurol* 2016;80(1):160-5.
9. Muayqil T, Gronseth G, Camicioli R. Evidence-based guideline: diagnostic accuracy of CSF 14-3-3 protein in sporadic Creutzfeldt Jakob disease: report of the guideline development subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology* 2012;79:1499-506.
10. Fayolle M, Lehmann S, Delaby C. Comparison of cerebrospinal fluid tau, ptau(181), synuclein, and 14-3-3 for the detection of Creutzfeldt-Jakob disease in clinical practice. *J Neural Transm (Vienna)* 2022;129(2):133-9.
11. Stoeck K, Sánchez-Juan P, Gawinecka J, Green A, Ladogana A, Pochiari M, et al. Cerebrospinal Fluid Biomarker Supported Diagnosis of Creutzfeldt-Jakob Disease and Rapid Dementias: A Longitudinal Multicentre Study over 10 Years. *Brain J Neurol* 2012;135:3051-61.
12. Blennow K, Díaz-Lucena D, Zetterberg H, Villar-Pique A, Karch A, Vidal E, et al. CSF Neurogranin as a Neuronal Damage Marker in CJD: A Comparative Study with AD. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2019;90,846-53.
13. Foucault-Fruchard L, Delaye JB, Morange V, Beaufilets E, Duwicquet C, Quadrio I, et al. An automated alert system based on the p-Tau/Tau ratio to quickly inform health professionals upon a suspected case of sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *J Neurol Sci* 2020;415(116971):116971.
14. Ascari LM, Rocha SC, Gonçalves PB, Vieira TCRG, Cordeiro Y. Challenges and Advances in Antemortem Diagnosis of Human Transmissible Spongiform Encephalopathies. *Front Bioeng Biotechnol* 2020;8:585896.
15. Skillbäck T, Rosén C, Asztely F, Mattsson N, Blennow K, Zetterberg H. Diagnostic performance of cerebrospinal fluid total tau and phosphorylated tau in Creutzfeldt-Jakob disease: results from the Swedish Mortality Registry: Results from the Swedish mortality registry. *JAMA Neurol* 2014;71(4):476-83.
16. Agnello L, Piccoli T, Vidali M, Cuffaro L, Lo Sasso B, Iacolino G, et al. Diagnostic accuracy of cerebrospinal fluid biomarkers measured by chemiluminescent enzyme immunoassay for Alzheimer disease diagnosis. *Scand J Clin Lab Invest* 2020;80(4):313-7.
17. Baiardi S, Capellari S, Bartoletti Stella A, Parchi P. Unusual clinical presentations challenging the early clinical diagnosis of Creutzfeldt-Jakob disease. *J Alzheimers Dis* 2018;64(4):1051-65.
18. Llorens F, Karch A, Golanska E, Schmitz M, Lange P, Sikorska B, et al. Cerebrospinal fluid biomarker-based diagnosis of sporadic Creutzfeldt-Jakob disease: A validation study for previously established cutoffs. *Dement Geriatr Cogn Disord* 2017;43:71-80.
19. Schmitz M, Ebert E, Stoeck K, Karch A, Collins S, Calero M, et al. Validation of 14-3-3 protein as a marker in sporadic Creutzfeldt-Jakob disease diagnostic. *Mol Neurobiol* 2016;53:2189-99.
20. Castellani RJ, Colucci M, Xie Z, Zou W, Li C, Parchi P, et al. Sensitivity of 14-3-3 protein test varies in subtypes of sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *Neurology* 2004;63(3):436-642.
21. Hyeon JW, Kim SY, Lee J, Park JS, Hwang KJ, Lee SM, et al. Alternative application of Tau protein in Creutzfeldt-Jakob disease diagnosis: Improvement for weakly positive 14-3-3 protein in the laboratory. *Sci Rep* 2015;5(1):15283.
22. Hamlin C, Puoti G, Berri S, Sting E, Harris C, Cohen M, et al. A comparison of tau and 14-3-3 protein in the diagnosis of Creutzfeldt-Jakob disease. *Neurology* 2012;79:547-52.
23. Abu-Rumeileh S, Baiardi S, Polisch B, Mammana A, Franceschini A, Green A, et al. Diagnostic value of surrogate CSF biomarkers for Creutzfeldt-Jakob disease in the era of RT-QuIC. *J Neurol* 2019;266(12):3136-43.
24. Llorens F, Schmitz M, Zerr I. Progress in CSF biomarker discovery in sCJD. *Oncotarget* 2017;8:5666-7.
25. Staffaroni AM, Kramer AO, Casey M, Kang H, Rojas JC, Orrú CD, et al. Association of blood and cerebrospinal fluid tau level and other biomarkers



Revisión

Biomarcadores diagnósticos de la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob

Diagnostic biomarkers of Creutzfeldt-Jakob disease

Beatriz Nafría Jiménez, Adolfo Garrido Chércoles

Servicio de Análisis Clínicos. Hospital Universitario de Donostia. Donostia

Recibido: 14/04/2022
Aceptado: 28/11/2022

Correspondencia: Beatriz Nafría Jiménez. Servicio de Análisis Clínicos. Hospital Universitario de Donostia. Paseo Doctor Begiristain, 107. 20014 Donostia
e-mail: bea.nafria.95@gmail.com

Palabras clave:

Biomarcadores. Enfermedad de Creutzfeldt-Jakob. Líquido cefalorraquídeo. Priones. RT-QuIC.

RESUMEN

Introducción: las encefalopatías espongiiformes transmisibles constituyen un grupo de enfermedades de baja incidencia caracterizadas por depósitos neuronales de proteína priónica mal plegada que cursan con una demencia de progresión rápida. Actualmente no existen terapias eficaces y su evolución es fatal. Los criterios diagnósticos incluyen una combinación de síntomas neurológicos, pruebas de neuroimagen y biomarcadores del líquido cefalorraquídeo (LCR). Sin embargo, existen algunas controversias sobre el valor clínico de estas pruebas y el diagnóstico definitivo sigue requiriendo la confirmación neuropatológica mediante biopsia cerebral.

Objetivo: el objetivo de esta revisión es presentar una actualización de la utilidad clínica de los principales biomarcadores disponibles para el diagnóstico de la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob (ECJ).

Material y métodos: los últimos avances en las pruebas de diagnóstico han llevado a una detección cada vez más específica de la ECJ. En concreto, el ensayo de conversión inducida por temblor en tiempo real (RT-QuIC) presenta la misma sensibilidad con una mayor especificidad que los mejores biomarcadores sustitutos en LCR.

Conclusión: la inclusión de RT-QuIC en los criterios diagnósticos de la ECJ, junto con las características clínicas y anomalías sugestivas en las investigaciones de apoyo, como el electroencefalograma, la resonancia y los biomarcadores en LCR, han constituido un importante avance para el estudio *pre mortem* y las nuevas estrategias terapéuticas.

Conflicto de intereses: los autores declaran que no existe ningún conflicto de interés.

DOI: 10.20960/revmedlab.00125

Nafría Jiménez B, Garrido Chércoles A. Biomarcadores diagnósticos de la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob. Rev Med Lab 2023;4(1):12-23

Keywords:

Biomarkers. Creutzfeld-Jakob disease.
Cerebrospinal fluid. Prions. RT-QuIC.

ABSTRACT

Introduction: transmissible spongiform encephalopathies are a group of low-incidence diseases characterized by neuronal deposits of misfolded prion protein, which present with rapidly progressing dementia. Currently there are no effective therapies and its evolution is fatal. Diagnostic criteria include a combination of neurological symptoms, neuroimaging tests, and cerebrospinal fluid (CSF) biomarkers. However, there is some controversy about the clinical value of these tests and the definitive diagnosis still requires neuropathological confirmation by cerebral biopsy.

Objective: the objective of this review is to present an update on the clinical utility of the main biomarkers available for the diagnosis of Creutzfeldt-Jakob disease (CJD).

Material and methods: recent advances in diagnostic tests have led to increasingly specific detection of CJD. Specifically, the Real-time quaking-induced conversion (RT-QuIC) has the same sensitivity with higher specificity than the best surrogate biomarkers in CSF.

Conclusion: the inclusion of RT-QuIC in the diagnostic criteria for CJD, together with the clinical characteristics and suggestive abnormalities in supporting investigations, such as electroencephalogram, MRI, and biomarkers in CSF, has constituted an important advance for pre-mortem study. And new therapeutic strategies.

INTRODUCCIÓN

Las encefalopatías espongiformes transmisibles (EET), también denominadas enfermedades priónicas o prionopatías, constituyen un grupo raro de enfermedades neurodegenerativas mortales en humanos y en diversas especies animales (1).

Como grupo, las EET comparten el mismo mecanismo patológico por la deposición y el acúmulo de proteínas priónicas mal plegadas en el cerebro. El término *prión* fue acuñado originalmente en 1982 por el estadounidense Stanley Prusiner para definir estas partículas infecciosas. Durante sus estudios demostró que su composición era exclusivamente de naturaleza proteica, sin ácidos nucleicos, pero con capacidad de replicación y transmisión, trabajo por el que fue galardonado con el Premio Nobel de Medicina en 1997 (2). No obstante, las EET ya se habían descrito en el ganado ovino y caprino por ganaderos europeos como scrapie o tembladera desde hace al menos dos siglos.

Los síntomas iniciales de las EET suelen ser inespecíficos, comunes con otras afecciones neuropsiquiátricas, lo que dificulta su diagnóstico (3). Sin embargo, generalmente se presentan como demencias progresivas de evolución fatal cuyas principales manifestaciones clínicas incluyen ataxia, mioclonías, crisis motoras, parestesias y signos vegetativos (4). Asimismo, comparten ciertas características neuropatológicas, como una pérdida neuronal con cambios espongiformes y gliosis, junto con depósitos de proteína priónica resistente a la proteasa. En contraste con otras enferme-

dades neurodegenerativas, el periodo entre el inicio de los síntomas y la muerte del paciente suele ocurrir aproximadamente dentro del primer año, lo que las convierte en demencias con progresión rápida (5).

En la actualidad no existe ningún tratamiento que pueda revertir o detener el progreso de la neurodegeneración asociada a las EET humanas, por lo que el objetivo de las terapias es paliar los síntomas (1). A pesar de ello, y de las dificultades de detección en fases tempranas, la combinación de criterios clínicos, de pruebas de imagen y de biomarcadores en fluidos biológicos permite llegar a un diagnóstico *pre mortem* posible o probable. La aparición de nuevos biomarcadores y los avances en las metodologías analíticas justifican el interés de actualizarlos con el fin de valorar su posible implantación en la práctica clínica.

LA PROTEÍNA PRIÓNICA

El evento distintivo de todas las EET es la conversión de la isoforma normal de la proteína priónica monomérica celular (PrPC) en multímeros con conformación alterada y anormalmente plegados, denominados colectivamente *proteína priónica scrapie* (PrPSc) (6).

La forma no patogénica PrPC es una glicoproteína que se encuentra de forma constitutiva en la superficie de muchas células, particularmente en las neuronas del sistema nervioso central (SNC). Aunque no se conoce por completo su función, se cree que participa en la sinapsis y en la supervivencia celular, actuando como un recep-

tor de cobre en la hendidura sináptica (7). Esta isoforma PrPC consta de una cadena peptídica con una región N-terminal con cinco secuencias repetitivas, una región central hidrofóbica, una región C-terminal con 3 hélices- α y su punto de anclaje a la membrana por un grupo glicosil-fosfatidilinositol. Aunque la secuencia es la misma, diversos estudios muestran que en la PrPSc se produce un cambio en la conformación tridimensional y una digestión parcial que la convierten en una isoforma anómala (8). Esta estructura peculiar, con una enorme proporción de láminas β , es la que le permite autopropagarse induciendo el replegamiento de las PrPC normales a la conformación anormal, lo que favorece su transmisión por el SNC (9). Además, esta diferencia estructural es la que, a diferencia de la PrPC, determina el carácter insoluble de la proteína priónica anormal y su resistencia a proteasas y métodos de desinfección (como altas temperaturas, presiones, ultrasonidos, radiación ultravioleta, etanol y formol) (10). Asimismo, la isoforma patológica PrPSc tiene tendencia a la agregación extracelular, formando fibrillas y placas amiloides que se depositan y se acumulan sobre todo en el cerebro. Como consecuencia, se produce la degeneración neuronal acompañada de un cambio de aspecto esponjiforme, apariencia que dio nombre a estas enfermedades, y las propiedades neurotóxicas características (11).

Hay que destacar que esta teoría supone la existencia de dos plegamientos para una única secuencia de aminoácidos y, lo que resulta más interesante, que el replegamiento de la PrPC normal por acción de la PrPSc sugiere un flujo de información de una proteína a otra a nivel de la estructura terciaria y no en el material genético. Por tal motivo, los priones constituyen agentes patógenos no convencionales que contradicen el dogma central de la biología (Fig. 1).

En lo que respecta al gen que codifica dicha proteína priónica, en humanos está localizado en el brazo corto del cromosoma 20 (20pter-12) y se denomina PRNP. Contiene 16 Kb, dos exones, un intrón y una región rica en GC en el extremo 5' del sitio de inicio de transcripción. A pesar de su alta conservación en mamíferos, se han descrito más de 50 mutaciones deletéreas, así como deleciones o inserciones de octapéptidos en la región codificante del gen (13). Cabe señalar la importancia del polimorfismo en el codón 129 (rs1799990), que se traduce en los aminoácidos metionina (M) o valina (V), tanto para la susceptibilidad a las EET humanas como para la expresión de su fenotipo clínico (14).

CLASIFICACIÓN DE LAS ENCEFALOPATÍAS ESPONGIFORMES TRANSMISIBLES

Para facilitar su estudio, las EET se han clasificado en función de su vía patogénica: pueden ser espontáneas, hereditarias o adquiridas. En la actualidad, en humanos, se incluyen la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob (ECJ), el insomnio familiar fatal (FFI), el síndrome de Gerstmann-Sträussler-Scheinker (GSS) y el Kuru.

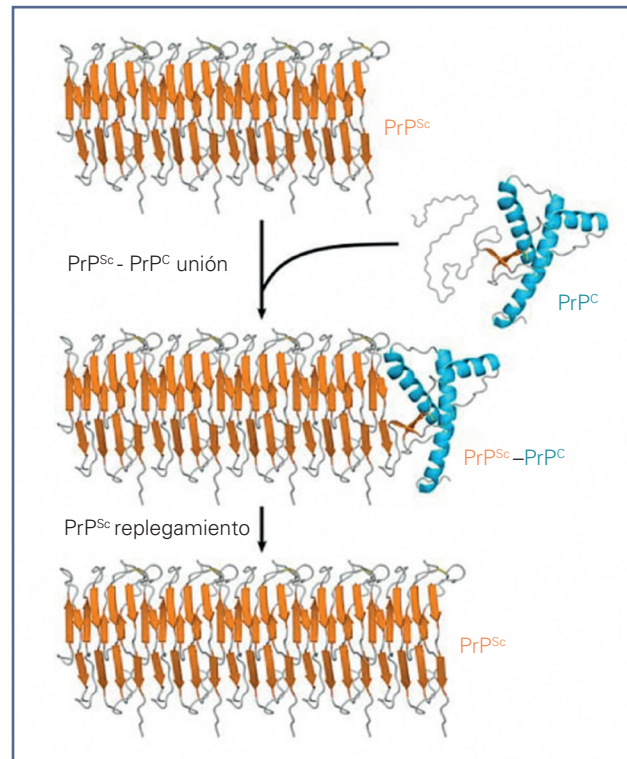


Figura 1 – Mecanismo de conversión y autopropagación de la isoforma normal PrPC en multímeros de la proteína priónica PrPSc. Una unidad de PrPC forma un complejo con PrPSc, el cual induce su cambio conformacional a una estructura rica en láminas β . Coloración: hélices α en azul y láminas β en naranja (elaboración propia).

Enfermedad de Creutzfeldt-Jakob

En 1920 los neurólogos alemanes Creutzfeldt y Jakob fueron los que registraron los primeros casos de esta EET. Adoptaron ambos apellidos para su denominación (15).

ECJ esporádica (sECJ): se trata de la forma más frecuente de ECJ (90 % de los casos), con una incidencia anual de 1-1,5 casos por millón habitantes. Aunque el mecanismo de adquisición sigue siendo desconocido, se han planteado dos hipótesis: bien una conversión espontánea de PrPC en la proteína patógena PrPSc o bien una mutación somática (no genómica) del gen PRNP. Asimismo, se clasifica en 6 subtipos clínico-patológicos distintos: MM1, MV1, VV1, MM2, MV2 y VV2 (16). Estos se determinan por el genotipo (M/V) en el codón polimórfico 129 del gen PRNP y por el peso molecular (tipo 1 ~21kDa o tipo 2 ~19kDa) de la banda migrada en Western blot del núcleo resistente a la proteínasa K de la PrPSc. El cuadro clínico clásico es un deterioro cognitivo rápidamente progresivo. La fase de inicio se caracteriza por alteraciones cognitivas (pérdida de memoria y falta de concentración), paranoias y labilidad emocional. A posteriori, destacan la encefalopatía mioclónica subaguda (70 % de pacientes), la afec-

tación visual o cerebelosa, mala coordinación y signos piramidales o extrapiramidales (17). También hay que mencionar una de las presentaciones más peculiares que ocurre en la variante Heidenhain, con síntomas visuales aislados, pero sin ninguna enfermedad ocular, que pueden persistir de forma aislada durante semanas sin signos motores (18). En la mayoría de los casos la sECJ aparece en torno a los 65 años y la supervivencia es muy corta (4-6 meses).

ECJ iatrogénica (IECJ): la transcendencia de la iECJ radica sobre todo en su forma de transmisión, aunque afortunadamente su incidencia (< 1 %) ha disminuido considerablemente gracias a las prácticas de control de infecciones. Dicha transmisión adquirida entre humanos puede ocurrir por: inoculación directa (transfusiones de sangre o con instrumentos de neurocirugía contaminados), trasplante de tejidos (duramadre biológica infectada o córnea) o por tratamientos con hormona de crecimiento u otras hormonas derivadas de la glándula pituitaria de cadáveres portadores (19). Las manifestaciones clínicas son muy similares a la sECJ, si bien la infección periférica con hormona de crecimiento se caracteriza por la aparición temprana del síndrome cerebeloso, que afecta primero a la marcha.

ECJ genética (gECJ): esta es la forma genética o familiar de la ECJ (10-15 % de todos los casos) y está causada por mutaciones, inserciones o deleciones del gen *PRNP*. El patrón de herencia es autosómico dominante (AD), con penetrancia muy alta o completa dependiendo de la mutación. En concreto, las mutaciones E200K, D178N, P102L, V210I y la inserción de 5-octopéptidos suponen más del 95 % del total. De estas, la más común es la sustitución de ácido glutámico por lisina (GAG → AAG) en el codón 200 (E200K) (20). El debut clínico es muy similar al de la sECJ, con ataxia cerebelosa de forma progresiva. Destacan también las mioclonías y la demencia. La edad de presentación es muy variable y la supervivencia en general, mayor (de 1-5 años).

ECJ variante (vECJ): como consecuencia de la epidemia de la encefalopatía espongiforme bovina (EET), que afectó principalmente a las vacas del Reino Unido entre 1985 y 1995, se reportaron los primeros casos de esta forma atípica en humanos, denominada *variante* porque las manifestaciones clínicas no coincidían del todo con los tres tipos conocidos hasta entonces. Esta nueva forma de enfermedad priónica, también conocida como *mal de las vacas locas*, se debe a la ingesta de carne de vacuno infectado (21). A pesar de su especial relevancia debido a su carácter zoonótico, la rápida actuación en los protocolos de seguridad y de vigilancia lograron una reducción drástica de los casos en un corto periodo de tiempo (22). La edad media de aparición es menor (30 años) y la clínica más atípica: los síntomas iniciales son psiquiátricos o sensitivos. Más tarde aparecen parestesias y ataxia cerebelosa, y luego ya cuadro neurológico con deterioro cognitivo progresivo. A nivel histopatológico, además de la gran cantidad de PrPSc depositada en el SNC, también se observa tropismo por órganos linfoides, como amígdalas, bazo y ganglios linfáticos.

Insomnio familiar fatal (FFI)

Afecta principalmente al tálamo. Clínicamente se caracteriza por un insomnio progresivo con pérdida del patrón de actividad del sueño circadiano normal, disautonomía (hiperhidrosis, hipertermia e hipertensión), ataxia, mioclonías y ataques epilépticos. La forma esporádica es extremadamente rara en comparación con el FFI genético. Este último se presenta con una mutación heredada (AD) D178N en el gen *PRNP* junto con el genotipo M129, lo que da lugar a una PrPC más susceptible al plegado incorrecto. La edad de inicio está en torno a los 50 años y la supervivencia media es aproximadamente de 18 meses (rango de 6-36 meses) (23). En este caso, las pruebas genéticas para la mutación FFI son el procedimiento de diagnóstico de elección.

Síndrome de Gerstmann-Sträussler-Scheinker (GSS)

Se presenta como una ataxia cerebelosa lentamente progresiva con deterioro cognitivo y, más tarde, parkinsonismo. Se hereda con un patrón AD con alta penetrancia y la mutación más común es P102L (12). Tiene una edad de inicio en torno a los 40 años y una esperanza de vida de 1-10 años. Al igual que en los casos genéticos, la detección de mutaciones en el gen *PRNP* es la forma más sensible y específica de diagnóstico.

Kuru

Es una forma prácticamente extinta de las EET humanas que afectó principalmente a los aborígenes de la tribu Fore de Papúa Nueva Guinea. Se transmitía a través del canibalismo de restos de difuntos en las prácticas rituales (24).

Hay que mencionar que, independientemente de su clasificación, todas las EET humanas constituyen un importante problema de salud pública. Son enfermedades de declaración obligatoria. Por ello, en 1998 la Unión Europea creó la red EuroCJD y en España la vigilancia epidemiológica ya comenzó en 1995 con la instauración de un Registro Nacional (RNEETH) coordinado desde el Centro Nacional de Epidemiología (Instituto de Salud Carlos III), que recoge todos los casos de EET humanas comunicados y gestionados por las comunidades autónomas (25,26).

DIAGNÓSTICO DE LA ENFERMEDAD DE CREUTZFELDT-JAKOB

Dado que la ECJ es la forma más común de EET humanas, esta revisión se enfoca en las principales pruebas disponibles para su detección.

Independientemente del subtipo de ECJ, en las primeras etapas el diagnóstico es difícil, ya que los síntomas iniciales son variables e inespecíficos (27). Por ello, debe realizarse un diagnóstico diferencial con un amplio abanico de enfermedades neurodegenerativas, entre las que se incluyen la enfermedad de Alzheimer (EA) y otras demencias (párkinson, demencia de origen vascular, esclerosis múltiple, encefalitis de Hashimoto, enfermedad de Whipple, etc.). También habrá que descartar la existencia de reacciones adversas a los medicamentos, como antidepresivos tricíclicos o litio, las carencias de vitaminas o la encefalopatía hepática (28).

Siguiendo las recomendaciones del Grupo de Trabajo para la Vigilancia Epidemiológica de la Enfermedad en España, de acuerdo con el EuroCJD, se describen tres grados de certeza diagnóstica y de clasificación: caso posible, probable y confirmado (29). Para establecer un caso como confirmado se exige la presencia de neuropatología típica junto con una confirmación inmunohistoquímica patognomónica. Por ello, la biopsia cerebral y su estudio anatomopatológico son los únicos métodos específicos actuales que permiten establecer categóricamente el diagnóstico de la ECJ.

El hallazgo anatomopatológico característico es el aspecto esponjiforme del cerebro, a causa de la acumulación de PrPSc. Se realiza una inmunotinción para PrP resistente a la digestión con proteasas (25). Esta característica esencial de las EET se evidencia, junto con cambios histopatológicos, en determinadas áreas del SNC, que consisten en la vacuolización del cuerpo neuronal o del neuropilo de la sustancia gris (principalmente en el tronco encefálico), gliosis y pérdida neuronal (11). No obstante, este diagnóstico *ante mortem* definitivo que requiere la demostración de PrPSc en muestras de biopsia cerebral a menudo no puede realizarse, tanto por la invasividad del procedimiento para el paciente como por los riesgos para el personal sanitario. Asimismo, puede conducir a resultados falsos negativos, ya que la patología de la ECJ se distribuye de manera variable en el cerebro y las muestras biopsiadas pueden no contener las características histológicas patognomónicas ni niveles detectables. En consecuencia, en la mayoría de los casos, la detección de PrPSc en el tejido cerebral se realiza *post mortem* (1).

En cambio, existen otros exámenes de apoyo menos invasivos y más seguros, como los biomarcadores en el líquido cefalorraquídeo (LCR), los nuevos ensayos de conversión de PrP libres de células *in vitro*, los estudios genéticos y las pruebas de imagen (30), que van a permitir orientar el diagnóstico hacia posible o probable ECJ.

Biomarcadores de neuroimagen

Electroencefalograma (EEG): como herramienta que refleja la actividad bioeléctrica cerebral en elementos gráficos, desempeña un importante papel en la ECJ

para el diagnóstico. Sin olvidar que puede haber patrones pasajeros, se considera un trazado EEG típico el formado por complejos de ondas agudas periódicas (PSWC) (31). Estos complejos se caracterizan por ser potenciales cerebrales de ondas trifásicas que se repiten periódicamente y de manera ininterrumpida durante al menos un periodo de 10 segundos (32). Estos PSWC tienen una especificidad relativamente alta en sECJ (90 %), pero generalmente ocurren al final del curso de la enfermedad y suelen estar ausentes en la vECJ (33). Sin embargo, el EEG sigue siendo una prueba de neurodiagnóstico muy importante, principalmente para descartar otras patologías más comunes, y puede ser una pista de orientación clínica si se encuentran PSWC (34).

Resonancia magnética nuclear (RMN) craneal: ha demostrado tener una gran utilidad diagnóstica para la ECJ, incluso con una sensibilidad y una especificidad mayores que el EEG (Tabla I). En la sECJ es frecuente encontrar, en secuencias potenciadas en T2 o en fases de densidad protónica o fases de recuperación de la inversión atenuada de fluido (FLAIR) o en difusión, una hiperseñal de los ganglios basales (caudado y putamen) (35,36). Por otro lado, en la vECJ se ha descrito el signo pulvinar o de *palo de hockey* como una señal alta solo en esta zona del tálamo posterior, más brillante que en el putamen (37). Por lo tanto, esta prueba es otro parámetro de utilidad para el diagnóstico *pre mortem*.

Biomarcadores en el líquido cefalorraquídeo

El LCR es una muestra muy valiosa para analizar biomarcadores que contribuyen al diagnóstico de ECJ. Además del perfil típico de LCR acelular, con niveles de glucosa normales, se han estudiado otros biomarcadores, entre los que destacan las proteínas 14-3-3 y la proteína Tau (38). No obstante, ninguno es totalmente específico para la ECJ, considerándose marcadores subrogados para mejorar la capacidad diagnóstica.

En cuanto a la obtención del LCR y aspectos preanalíticos, las muestras se obtienen mediante punción lumbar a nivel de L3/L4 o L4/L5, siguiendo los procedimientos estándares y utilizando contenedores fabricados con materiales de baja afinidad a proteínas (39). Tras desechar las primeras 20 gotas (1-2 ml), la muestra se centrifuga si se aprecia visualmente contaminación sanguínea y se realizan alícuotas y se congela en viales de polipropileno a temperaturas que oscilan entre -40 y -80 °C para enviarla a laboratorios de referencia especializados que mantengan estas condiciones. En el caso de los biomarcadores que se analicen en los propios laboratorios asistenciales (como Tau-total y p-Tau181), se utilizan procedimientos preanalíticos estandarizados que recomiendan analizar la muestra en fresco en el tubo primario de obtención si se ha mantenido refrigerada (2-8 °C) durante un periodo máximo de 7 días (40).

Tabla I.
Pruebas diagnósticas en la sECJ

Biomarcadores	Muestra	Método de detección	S (%)	E (%)
Subrogados				
Proteína 14-3-3	LCR	Western blot	85-95	40-100
Tau	LCR	Inmunoensayo	ELISA	67-91
	Suero		SIMoA	
NfL	LCR	Inmunoensayo	ELISA	43-95
	Suero		SIMoA	
NSE	LCR	ELISA	53-80	83-98
α -sinucleína	LCR	Inmunoensayo (ELISA, ECL)	94-98	96-97
S100B	LCR	Inmunoensayo	ELISA	78-94
	Suero		ECL	
Específicas de priones				
RT-QuIC	LCR	Primera generación	85-87	98-100
		Segunda generación	90-97	98-100
Examen histopatológico	Tejido cerebral	Western blot Inmunohistoquímica	20-60	/
Neuroimagen				
EEG	/	/	65	90
RMN	/	/	95-98	90-99

E: especificidad; ECL: electroquimioluminiscencia; EEG: electroencefalograma; ELISA: *Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay* o "ensayo por inmunoadsorción ligado a enzimas"; LCR: líquido cefalorraquídeo; NfL: cadena ligera de neurofilamentos; NSE: enolasa específica de neuronas; RMN: resonancia magnética nuclear; S: sensibilidad; SIMOA: *Single Molecule Array*. Datos tomados de Ascari LM, Rocha SC, Gonçalves PB, et al. (12), Figgie MP, Appleby BS (33) y Morales R, Durán-Aniotz C, Díaz-Espinoza R, et al. (65).

También es importante que los laboratorios clínicos reciban o tengan acceso a la información de la enfermedad actual, a la evolución clínica y a otras pruebas diagnósticas que justifiquen la petición y ayuden a interpretar los resultados. A continuación, se explican los principales aspectos analíticos y de interpretación de resultados de los principales biomarcadores de CJ:

Proteína 14-3-3: desde su introducción en los criterios diagnósticos por la Organización Mundial de la Salud (OMS) en 1998, el análisis de la proteína 14-3-3 se ha convertido en una prueba ampliamente aceptada en pacientes con sospecha de sECJ (1). Esta proteína se libera en el LCR como resultado del daño neuronal agudo y, como tal, es un marcador de cambios degenerativos (12). Su aumento también puede asociarse a otras afecciones neurológicas, como la encefalitis herpética, la isquemia cerebral, metástasis, EA y degeneración frontotemporal (FTD), entre otras.

Existen dos tipos de metodologías para la medida de la proteína 14-3-3: una de ellas se basa en la separación electroforética en gel de poliacrilamida con dodecilsulfato sódico (SDS-PAGE) y detección por *Western blot*

con anticuerpos anti 14-3-3. Esta técnica es manual y puede proporcionar a veces resultados ambiguos (lecturas débiles o traza), difíciles de interpretar, lo que plantea problemas de reproducibilidad y de acreditación de la técnica según ISO15189 (41). Diversos estudios reportan una especificidad del Western Blot entre el 40 y el 92 %. Parte de esta variabilidad se explica por las diferentes características de los grupos de control (42). Asimismo, la sensibilidad reportada oscila entre el 85 y el 95 % para la sECJ, disminuyendo en los subtipos moleculares MM2 y MV2 al 60 % [42-44]. Por lo tanto, la negatividad de la prueba no descarta completamente el diagnóstico de ECJ, pero lo hace más improbable. En contra, la positividad de la proteína 14-3-3 en un contexto clínico compatible es altamente sugestiva de patología priónica, siempre que se hayan tenido en cuenta otras situaciones de destrucción neuronal severa o interferencias, como la presencia de hematíes en el LCR, lo que puede ocasionar un resultado falsamente positivo (45).

Como técnica alternativa se ha propuesto la metodología ELISA, basada en anticuerpos que reconocen

la isoforma gamma de la proteína 14-3-3. Estudios comparativos muestran mejor rendimiento diagnóstico de ELISA frente a *Western blot*, pero depende en gran medida del punto de corte elegido (46). Además, aunque permite obtener una medida cuantitativa (unidades arbitrarias/mL, AU/mL) y establecer puntos de corte de decisión clínica, apenas se han desarrollado equipos comerciales basados en esta metodología, lo que limita este segundo enfoque.

Proteína tau: es una proteína asociada a los microtúbulos que se expresa en células neuronales y gliales (47). Su incremento en el LCR también es un indicador de muerte neuronal y ha sido típicamente asociado con la EA. Sin embargo, los niveles de tau-total en LCR también aumentan en la ECJ, mostrando ratios hasta 41 veces mayores que en controles normales (48). Asimismo, la relación de tau-total y su forma fosforilada (p-tau181) ha demostrado ser capaz de mejorar significativamente la discriminación de ECJ de otras demencias, incluso la EA. Esto puede reflejar el rápido proceso de degeneración axonal que incluye la ECJ, lo que conduce a una liberación excesiva de la proteína, pero que no se acompaña con el grado de fosforilación, lo que causa un aumento de tau-total, pero no de tau-fosforilada (49).

Los métodos iniciales para la medida de tau-total y p-tau181 se han basado en la metodología ELISA. Aunque depende del grupo de control empleado, la mayoría de los estudios realizados por ELISA de la prueba tau-total han informado de una buena sensibilidad (75-97 % para sECJ, 65-86 % para gECJ, 50-60 % para iECJ y 24-80 % para vECJ) y especificidad (87-95 %) (12). Similar a la 14-3-3, presenta una sensibilidad reducida en los subtipos MM2 y MV2 y en las primeras etapas de la enfermedad (50,51). En cuanto al ratio tau-total/p-tau181, este es capaz de discriminar los valores elevados de tau-total (> 1250 pg/mL por ELISA) observados en pacientes con ECJ, encefalopatías inflamatorias y vasculares, ya que mantienen dicho ratio elevado frente a pacientes con EA que lo normalizan (51).

Sin embargo, últimamente estas pruebas se han adaptado a plataformas de inmunoensayo con mejores prestaciones analíticas, principalmente en cuanto a imprecisión y rango analítico de medida. Su inclusión en programas externos de garantía de la calidad, junto con los avances en la estandarización, favorecerán la intercambiabilidad de resultados, así como la definición de objetivos analíticos y de puntos de cortes de decisión clínica más universales para diversas enfermedades neurodegenerativas, en concreto para ECJ.

Hay que destacar además que, aunque la combinación de LCR positivo para las proteínas 14-3-3 y tau-total elevada tiene un valor predictivo positivo alto para la sECJ (94 %) (38), los últimos estudios indican que la detección de proteína tau es el enfoque más efectivo y adecuado para la detección rutinaria de esta prionopatía en un entorno clínico (41).

Cadena ligera de neurofilamentos (NfL): son proteínas específicas del citoesqueleto de las neuronas

y su aumento en fluidos corporales representa un daño neuroaxonal. Algunos estudios han informado que la NfL del LCR está significativamente elevada en sECJ en comparación con otros trastornos neurodegenerativos (EA, FTD y demencia con cuerpos de Lewy), mientras que otros concluyen que tienen una utilidad limitada (33). Estos estudios se realizaron mediante ELISA, disponibles comercialmente (*NF-light*).

Enolasa específica de neuronas (NSE): esta isoenzima tiene utilidad diagnóstica como marcador precoz de daño cerebrovascular agudo, sobre todo en áreas subcorticales, como el tálamo (38). Su determinación cuantitativa está disponible mediante ELISA con varios *kits* comerciales y la mayoría de literatura disponible actualmente informa como punto de corte de un valor de NSE superior a 30 ng/mL (52).

α -sinucleína: los últimos hallazgos destacan la precisión de esta proteína neuronal como biomarcador sustituto en las EET, pero se necesitan más estudios que refuerzan su utilidad diagnóstica (53). Tampoco se disponen de *kits* certificados para su detección, lo que limita su uso en la práctica clínica en la actualidad.

S100B: este péptido de unión al calcio se ha estudiado ampliamente como parámetro de activación glial o muerte en muchos trastornos del SNC, pero estudios comparativos en la ECJ han mostrado un rendimiento diagnóstico inferior a las proteínas 14-3-3 y tau-total (43).

Biomarcadores en suero: debido a las limitaciones de la extracción de LCR por punción lumbar, varios esfuerzos se han dirigido a estudiar estos biomarcadores en la sangre. Por ejemplo, se han reportado concentraciones elevadas de tau-total sérica en la sECJ y se ha propuesto como una prueba de triaje más accesible que pueda utilizarse como un marcador de deterioro neuronal rápido y sirva para priorizar el diagnóstico de los pacientes (41). Estos ensayos se midieron cuantitativamente mediante el método ELISA. No obstante, aunque la obtención de suero como muestra es más sencilla, menos invasiva y puede procesarse con mayor facilidad, el LCR refleja mejor la situación patogénica del cerebro y muestra una mayor correlación con las pruebas de imagen. Asimismo, se requieren más estudios de validación y con cohortes más grandes para presentar el suero como una alternativa diagnóstica y poder establecer valores de referencia y límites de decisión clínica (54).

RT-QuIC

A pesar de la innegable ayuda al diagnóstico de los biomarcadores sustitutos, estas pruebas no son específicas para las EET y ninguna es capaz de detectar todas las formas de ECJ. Por ello, para el diagnóstico *pre mortem* se han buscado métodos más precisos que pudieran detectar directamente la proteína priónica en líquidos corporales accesibles, como el LCR. Sin embargo, debido a que la concentración de PrPSc

en estos especímenes es probable que sea muy baja, sobre todo en estadios iniciales, uno de los enfoques ha sido explotar la capacidad de la PrP^{Sc} para inducir el plegamiento incorrecto de la isoforma nativa de manera cíclica (11,55,56). Así, la cantidad mínima de PrP^{Sc} en fluidos biológicos puede amplificarse a un umbral de detección medible y de manera específica. Uno de estos ensayos de agregación se conoce como *conversión inducida por temblor en tiempo real* (RT-QuIC, *Real-time quaking-induced conversion*) (57). Tras su descripción en 2010, el ensayo RT-QuIC se convirtió en la primera prueba de laboratorio específica de priones sin requerir tejido cerebral (58). Se utilizó clínicamente por primera vez en 2015 en Estados Unidos y, tres años más tarde, se agregó a los criterios de diagnóstico para la ECJ de los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC).

RT-QuIC explota el proceso de conversión de PrP^c a PrP^{Sc} en un formato acelerado *in vitro* (56). Para ello, esta técnica utiliza PrP recombinante (rPrP) como sustrato, de manera que cualquier PrP^{Sc} presente en el LCR de un paciente sospechoso de tener ECJ se une al rPrP y lo induce a cambiar de conformación y formar fibrillas. La formación de estos agregados se controla en tiempo real gracias a la unión del colorante fluorescente tioflavina T (ThT), incluido en la mezcla de reacción (Fig. 2). Así, se monitoriza la fluorescencia emitida y, con ello, la cinética de agregación, que muestra una curva sigmoidal característica (58).

En general, cada muestra se analiza por cuadruplicado y la positividad se confirma cuando al menos 2 de las 4 réplicas cruzan el valor de fluorescencia establecido como umbral (56). Además, como en cualquier técnica del laboratorio, es fundamental monitorizar cualquier agregación espontánea de sustrato que pueda generar señales falsas positivas. Por eso se incluye un control negativo (individuo sano) y un control positivo (LCR de paciente con ECJ confirmada). Hay que destacar que la interpretación de los resultados se ve afectada por recuentos elevados de glóbulos blancos, de hematíes y de proteínas en el LCR. Por ello, se recomienda que las muestras de punción lumbar sean claras e incoloras, con un recuento de leucocitos < 10/L y una concentración total proteica < 1 g/L (60). También cabe señalar que, respecto a las muestras utilizadas, además del LCR, está investigándose el análisis RT-QuIC en otros tejidos, como la piel, el epitelio olfativo o el tejido ocular. Hasta ahora se han informado sensibilidades del 89-99 % para sECJ (61,62). Sin embargo, no es rutinario recolectar tales muestras y puede requerir experiencia y metodología especializadas, lo que limita, de momento, su utilidad en un entorno clínico (11).

Diversos estudios internacionales han informado en el LCR un alto grado de sensibilidad (85-87 %, semejante al de la proteína 14-3-3) y de especificidad (98-100 %, algo mayor que el de la de la proteína 14-3-3) (55,63). También hay investigaciones que demuestran una buena concordancia entre laboratorios de todo el mundo que, compartiendo las mismas muestras de LCR, rea-

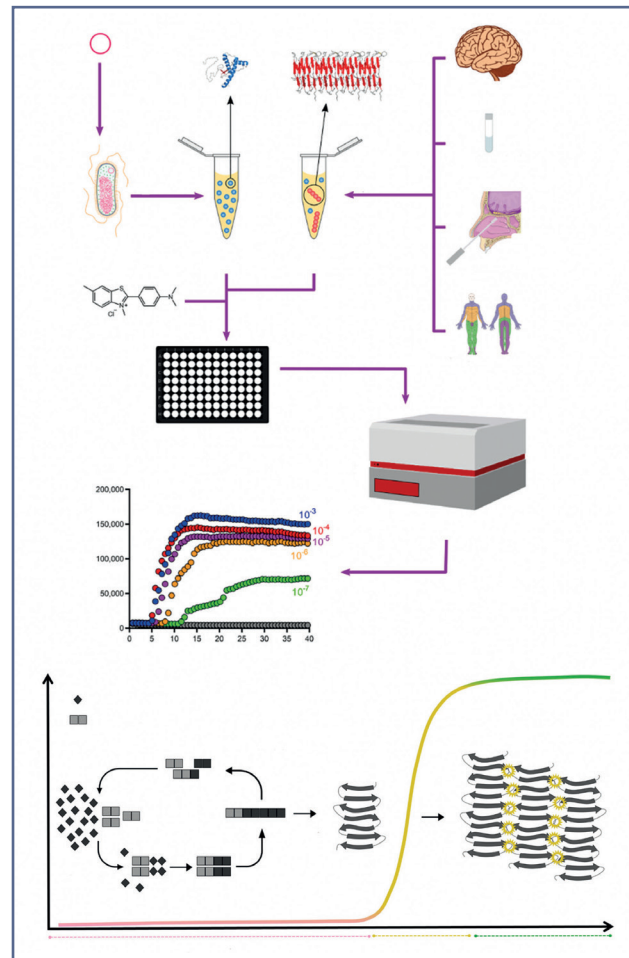


Figura 2 – Esquema del ensayo de RT-QuIC. RT-QuIC utiliza rPrP (recombinante) como sustrato y una muestra de LCR o tejidos (cerebral o periféricos) para estudiar la existencia de proteína priónica en ellos. Tras la homogeneización del posible material infeccioso con la fuente de rPrP, se añade el tampón de reacción con ThT y se carga todo en una microplaca de 96 pocillos, lo que facilita su uso como ensayo de alto rendimiento. Un paso crucial en este proceso de amplificación es el uso de sacudidas mecánicas intermitentes para romper los agregados iniciales formados de PrP^{Sc} en unidades más pequeñas que luego puedan inducir una mayor agregación y puedan detectarse (30). Para ello, la ThT va a unirse a la proteína agregada de manera que la fluorescencia emitida (excitación a 450 nm y emisión a 480 nm) es directamente proporcional a la cantidad proteica agregada y esto se monitoriza en tiempo real (25,53). Una muestra normal no conduce a ningún aumento en la fluorescencia, lo que indica que no está produciéndose ninguna conversión, en contraposición con el crecimiento sigmoidal característico de la curva de fluorescencia en los resultados positivos.

lizan RT-QuIC, lo que favorece su estandarización y su replicación (64).

No obstante, esta primera generación de RT-QuIC tardaba hasta 90 horas en completarse. Así, se han hecho mejoras enfocadas en su velocidad y en su sensibilidad, añadiendo dodecilsulfato sódico (SDS), aumentando

la temperatura de incubación (de 42 a 55 °C) y utilizando como sustrato rPrP de hámster truncado (90-231, en lugar de la proteína de longitud completa) (57). Así, este RT-QuIC de segunda generación en muestras de LCR ha demostrado ser considerablemente más rápido (completándose en 48 horas) y tener mayor sensibilidad (de 90,3 a 97,2 %) sin reducción de la especificidad (de 98,5 a 100 %) (60,65,66).

En cuanto al diagnóstico de los subtipos moleculares de sECJ, la sensibilidad es muy alta en MM1/MV1 y VV2 (subtipos más comunes), mientras que es ligeramente menor en MV2 (75-93 %). Con respecto a los subtipos raros, hay pocos casos reportados, lo que dificulta la validez de los resultados, pero se ha informado de que la sensibilidad es sustancialmente menor en MM2 (44-78 %) (67). Asimismo, aunque el diagnóstico de las EET genéticas se obtiene mediante secuenciación del gen *PRNP*, algunos datos disponibles muestran que el ensayo RT-QuIC de segunda generación en LCR presenta una adecuada sensibilidad para la mutación E200K (93 %), el síndrome de GSS (90 %) y el FFI (83,3 %) (60,64).

Por consiguiente, la asociación de RT-QuIC con otras técnicas, como las pruebas de neuroimagen, junto con la detección de proteínas 14-3-3, tau-total y una presentación clínica típica, tiene una muy alta sensibilidad y especificidad en el diagnóstico de la ECJ (Tabla I), por lo que es plausible que pueda obtenerse un diagnóstico *pre mortem* definitivo. Además, RT-QuIC ha demostrado ser una herramienta potencial no solo en el diagnóstico de prionopatías, sino también en la discriminación de cepas y en la detección de otras enfermedades de plegamiento incorrecto de proteínas (por ejemplo, taupatías y sinucleinopatías) (63).

Estudios genéticos

Para la asignación del carácter hereditario de la ECJ se realiza la identificación de mutaciones en el gen *PRNP*. Se estudia mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y secuenciación directa (Sanger) los dos exones codificantes y las regiones de unión exón-intrón de dicho gen (68). Esta secuenciación permite la diferenciación de gECJ y sECJ con similitudes clínicas y es crucial en casos atípicos, con antecedentes familiares positivos o demencias rápidamente progresivas (33).

Además, el fenotipo en el codón 129 puede afectar a la predisposición, por lo que su secuenciación también debe tenerse en cuenta para lograr un diagnóstico clínico más preciso (69). Por ejemplo, se ha descrito que el alelo M otorga una susceptibilidad sustancial a ciertas formas de la ECJ (esporádica e iatrogénica) y, en consecuencia, la proporción de personas con genotipo homocigoto MM está sobrerrepresentada en ambas categorías (33). A nivel mundial, casi el 55 % de la población es MM, mientras que el 9 % es homocigota para valina (VV) y el 36 % es heterocigota (MV) (12). Por todo ello, se recomienda el análisis genético del gen *PRNP* en todos los casos de sospecha de ECJ

para determinar el polimorfismo del codón 129 y excluir mutaciones patogénicas que, además de la relevancia en familiares de primer grado afectados, podrían estar presentes incluso en pacientes con antecedentes familiares negativos (68).

PERSPECTIVAS FUTURAS

Nuevos biomarcadores

Actualmente siguen investigándose más biomarcadores diagnósticos potenciales, tanto en LCR como en sangre (β -amiloide, proteína ácida fibrilar glial, neurofilamentos, neurogranina, etc.) (1,70). En este punto, se recomienda que se consideren nuevos biomarcadores aquellos que, además de tener una evidencia clínica sólida (es decir, con una validación de los puntos de corte en cohortes independientes, controles apropiados, etc.), deberían mejorar sustancialmente el diagnóstico clínico de la ECJ.

Asimismo, uno de los desafíos en el diagnóstico de la ECJ, dada su heterogeneidad clínica, es la dificultad de encontrar un biomarcador con capacidad pronóstica y que cambie de manera paralela a la evolución de la enfermedad. Por ello, las pruebas específicas de esta prionopatía, como RT-QuIC, podrían emplearse en el registro y los biomarcadores basados en sangre podrían usarse repetidamente durante un ensayo para rastrear el daño axonal y en el curso de posibles tratamientos experimentales (71). Sin embargo, se requiere mayor investigación de la variabilidad de dichos biomarcadores y su contribución a los modelos pronósticos.

RT-QuIC

Generalmente, un especialista en neurología es el que sospecha de un posible caso de ECJ en el medio hospitalario. Este médico responsable del paciente completa toda la información clínica disponible y suele ponerse en contacto con el responsable del laboratorio o de centros diagnósticos de referencia a los que se envían las muestras de LCR para la realización del RT-QuIC. Por lo tanto, esta prueba no debe utilizarse como un cribado general, ya que es muy exigente en términos de reactivos (lotes controlados obligatoriamente de sustrato PrP) u organización (bioseguridad), sino en el contexto clínico adecuado. No obstante, dada su utilidad clínica sí es recomendable que esta técnica estuviera disponible en más hospitales, así como la unificación de los protocolos y la evaluación de más tejidos candidatos (1).

Enfermedades PRION-LIKE

Existen otros trastornos neurodegenerativos, como la EA, la enfermedad de Parkinson y la de Huntington, en los que se produce una acumulación de proteínas

amiloidogénicas, como tau, β -amiloide y α -sinucleína. Recientemente, se ha propuesto que estas proteínas pueden autorreplicarse de manera semejante a la proteína priónica y parecen ser capaces de diseminarse célula a célula, hasta resultar finalmente tóxicas para el SNC (72). A partir de esta teoría, una de las preguntas que surge es si las proteínas amiloidogénicas tienen potencial infeccioso al igual que las EET. No obstante, hasta la fecha no hay evidencias de que la transmisión entre personas sea posible (73).

DISCUSIÓN

A pesar de que las EET son enfermedades poco frecuentes, la alta resistencia del agente causal, su carácter transmisible, la heterogeneidad clínica, la ausencia de tratamiento eficaz y su inevitable desenlace fatal plantean graves problemas de salud pública a nivel mundial.

De acuerdo con los criterios actuales, las imágenes de RMN cerebral, los biomarcadores sustitutos del LCR y el EEG respaldan el diagnóstico clínico de la probable ECJ. Sin embargo, la sensibilidad general y la especificidad de estas investigaciones diagnósticas no son totalmente óptimas. En este sentido, el ensayo RT-QuIC, con su especificidad prácticamente completa para la ECJ, ha contribuido significativamente a la mejora de la evaluación diagnóstica *pre mortem* (74). Por ello, ante la sospecha clínica de ECJ, el laboratorio debe establecer estrategias diagnósticas que combinen los marcadores subrogados y RT-QuIC.

BIBLIOGRAFÍA

- Hermann P, Appleby B, Brandel J-P, et al. Biomarkers and diagnostic guidelines for sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *The Lancet Neurology* 2021;20(3):235-46.
- Prusiner SB. Prions. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998;95(23):13363-83.
- Geschwind MD, Murray K. Differential diagnosis with other rapid progressive dementias. *Handbook of Clinical Neurology* 2018;153:371-97. DOI: 10.1016/B978-0-444-63945-5.00020-9
- Arranz-Martínez E, Trillo-Sánchez-Redondo G, Ruiz-García A, et al. Prionopatías: las encefalopatías por priones. *SEMERGEN. Medicina de Familia* 2010;36(8):443-8.
- Wadsworth JD, Hill AF, Beck JA, et al. Molecular and clinical classification of human prion disease. *British Medical Bulletin* 2003;66(1):241-54.
- Baral PK, Yin J, Aguzzi A, et al. Transition of the prion protein from a structured cellular form (PrP^C) to the infectious scrapie agent (PrP^{Sc}). *Protein Sci* 2019;28(12):2055-63.
- Flechsiger E, Weissmann C. The role of PrP in health and disease. *Curr Mol Med* 2004;4(4):337-53.
- Smirnovas V, Baron GS, Offerdahl DK, et al. Structural organization of brain-derived mammalian prions examined by hydrogen-deuterium exchange. *Nat Struct Mol Biol* 2011;18(4):504-6.
- Requena JR, Wille H. The Structure of the Infectious Prion Protein and Its Propagation. *Prog Mol Biol Transl Sci* 2017;150:341-59.
- Rodríguez Fernández A. Vías de señalización en enfermedades priónicas. Instituto de Neuropatología. Hospital Universitario de Bellvitge [Tesis doctoral]. Universidad de Barcelona. Departamento de Patología y Terapéutica Experimental; 2007.
- Green AJE. RT-QuIC: a new test for sporadic CJD. *Pract Neurol* 2019;19(1):49-55.
- Ascari LM, Rocha SC, Gonçalves PB, et al. Challenges and Advances in Antemortem Diagnosis of Human Transmissible Spongiform Encephalopathies. *Front Bioeng Biotechnol* 2020;8:585896.
- Lloyd SE, Mead S, Collinge J. Genetics of prion diseases. *Current Opinion in Genetics & Development* 2013;23(3):345-51.
- Kim M-O, Takada LT, Wong K, et al. Genetic PrP Prion Diseases. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2018;10(5):a033134.
- Bosque PJ, Tyler KL. Prions and prion diseases of the central nervous system (transmissible neurodegenerative diseases). In: Bennett JE, Dolin R, Blaser MJ, eds. *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*. 8th ed. Philadelphia, PA: Elsevier Saunders; 2015. chap 181.
- Baiardi S, Rossi M, Capellari S, et al. Recent advances in the histo-molecular pathology of human prion disease: Histo-molecular pathology of human prion disease. *Brain Pathol* 2019;29(2):278-300.
- Zerr I, Parchi P. Sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *Handbook of Clinical Neurology* 2018;154:155-74. DOI: 10.1016/B978-0-444-63945-5.00009-X
- Baiardi S, Capellari S, Ladogana A, et al. Revisiting the Heidenhain Variant of Creutzfeldt-Jakob Disease: Evidence for Prion Type Variability Influencing Clinical Course and Laboratory Findings. *JAD* 2015;50(2):465-76.
- Brown P, Brandel J-P, Sato T, et al. Iatrogenic Creutzfeldt-Jakob Disease, Final Assessment. *Emerg Infect Dis* 2012;18(6):901-7.
- Gao L-P, Shi Q, Xiao K, et al. The genetic Creutzfeldt-Jakob disease with E200K mutation: analysis of clinical, genetic and laboratory features of 30 Chinese patients. *Sci Rep* 2019;9(1):1836.
- Glatzel M, Giger O, Seeger H, et al. Variant Creutzfeldt-jakob disease: between lymphoid organs and brain. *Trends Microbiol* 2004;12(2):51-3.
- Brown P, Brandel JP, Sato T, et al. Iatrogenic Creutzfeldt-Jakob Disease, Final Assessment. *Emerg. Infect Dis* 2012;18:901-7.
- Toribio-Díaz E, Quintas S, Peláez-Hidalgo A, et al. Fatal familial insomnia: A new case description with early response to immunotherapy. *J Neuroimmunol* 2020;346:577321.
- Liberski PP, Gajos A, Sikorska B, et al. Kuru, the First Human Prion Disease. *Viruses* 2019;11(3):232. DOI: 10.3390/v11030232
- Gobierno Vasco. Departamento de Salud. Encefalopatías espongiformes transmisibles humanas. Adaptación de los protocolos de la red nacional de vigilancia epidemiológica (RENAVE). Protocolos de vigilancia epidemiológica [citado el 25 de febrero de 2022]. Disponible en: https://www.osakidetza.euskadi.eus/contenidos/informacion/vigilancia_protocolos/es_def/adjuntos/EZJ_Castellano_31-01-2019.pdf
- European Centre for Disease Prevention and Control (CDC). Review of guidelines for prevention of Creutzfeldt-Jakob disease transmission in medical settings in EU Member States and Norway; 2011 [citado el 25 de febrero de 2022]. Disponible en: <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/review-guidelines-prevention-creutzfeldt-jakob-disease-transmission-medical>
- Thompson A, MacKay A, Rudge P, et al. Behavioral and Psychiatric Symptoms in Prion Disease. *AJP* 2014;171(3):265-74.
- Centre for Disease Prevention and Control (CDC). About CJD 2021 [citado el 25 de febrero de 2022]. Disponible en: <https://www.cdc.gov/prions/cjd/about.html>
- Centro Nacional de Epidemiología. Instituto de Salud Carlos III. Unidades de vigilancia de encefalopatías espongiformes transmisibles humanas de las comunidades autónomas. Iscii.es. Vigilancia Epidemiológica de las Encefalopatías Espongiformes Transmisibles Humanas. Datos actualizados a 31 de diciembre de 2019. [citado el 25 de febrero de 2022]. Disponible en: <https://www.iscii.es/>

- QueHacemos/Servicios/VigilanciaSaludPublicaRENAVE/EnfermedadesTransmisibles/Documents/archivos%20A-Z/EETH/EETH_Informe_2019.pdf
30. Green AJE, Zanusso G. Prion protein amplification techniques. *Handbook of Clinical Neurology* 2018;153:357-70. DOI: 10.1016/B978-0-444-63945-5.00019-2
 31. Wieser H, Schindler K, Zumsteg D. EEG in Creutzfeldt-Jakob Disease. *Clin Neurophysiol* 2006;117:935-51.
 32. Shin JW, Yim B, Oh SH, et al. Redefining periodic patterns on electroencephalograms of patients with sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *Clin Neurophysiol* 2017;128:756-62.
 33. Figgie MP, Appleby BS. Clinical Use of Improved Diagnostic Testing for Detection of Prion Disease. *Viruses* 2021;13(5):789.
 34. Feng S, Zhao X, Zhou X, et al. Epidemiological and Clinical Characteristics of Sporadic Creutzfeldt-Jakob Disease: A Retrospective Study in Eastern China. *Front Neurol* 2021;12:700485.
 35. Staffaroni AM, Elahi FM, McDermott D, et al. Neuroimaging in dementia. *Semin Neurol* 2017;37:510-37.
 36. Eisenmenger L, Porter M-C, Carswell CJ, et al. Evolution of Diffusion-Weighted Magnetic Resonance Imaging Signal Abnormality in Sporadic Creutzfeldt-Jakob Disease, With Histopathological Correlation. *JAMA Neurol* 2016;73(1):76.
 37. Collie DA, Summers DM, Sellar RJ, et al. Diagnosing Variant Creutzfeldt-Jakob Disease with the Pulvinar Sign: MR Imaging Findings in 86 Neuropathologically Confirmed Cases. *Am J Neuroradiol* 2003;24:1560-9.
 38. Chohan G, Pennington C, Mackenzie JM, et al. The role of cerebrospinal fluid 14-3-3 and other proteins in the diagnosis of sporadic Creutzfeldt-Jakob disease in the UK: a 10-year review. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2010;81(11):1243.
 39. Johnson K, Sexton DJ. Lumbar puncture: Indications, contraindications, technique, and complications in adults. UpToDate. [citado el 28 de julio de 2022]. Disponible en: https://www.uptodate.com/contents/lumbar-puncture-technique-indications-contraindications-and-complications-in-adults?search=punc%C3%B3n%20lumbar&source=search_result&selectedTitle=1~150&usage_type=default&display_rank=1
 40. Ferrer R, Zhu N, Arranz J, et al. Importance of cerebrospinal fluid storage conditions for the Alzheimer's disease diagnostics on an automated platform. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)* 2022;60(7):1058-63.
 41. Muayqil T, Gronseth G, Camicioli R. Evidence-based guideline: diagnostic accuracy of CSF 14-3-3 protein in sporadic Creutzfeldt Jakob disease: report of the guideline development subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology* 2012;79:1499-506.
 42. Fayolle M, Lehmann S, Delaby C. Comparison of cerebrospinal fluid tau, ptau(181), synuclein, and 14-3-3 for the detection of Creutzfeldt-Jakob disease in clinical practice. *J Neural Transm (Vienna)* 2022;129(2):133-9.
 43. Hamlin C, Puoti G, Berri S, et al. A comparison of tau and 14-3-3 protein in the diagnosis of Creutzfeldt-Jakob disease. *Neurology* 2012;79(6):547-52.
 44. Sanchez-Juan P, Green A, Ladogana A, et al. CSF tests in the differential diagnosis of Creutzfeldt-Jakob disease. *Neurology* 2006;67:637-43.
 45. Stoek K, Sánchez-Juan P, Gawinecka J, et al. Cerebrospinal Fluid Biomarker Supported Diagnosis of Creutzfeldt-Jakob Disease and Rapid Dementias: A Longitudinal Multicentre Study over 10 Years. *Brain J Neurol* 2012;135:3051-61.
 46. Hamlin C, Puoti G, Berri S, et al. A Comparison of Tau and 14-3-3 Protein in the Diagnosis of Creutzfeldt-Jakob Disease. *Neurology* 2012;79:547-52.
 47. Wang Y, Mandelkow E. Tau in physiology and pathology. *Nat Rev Neurosci* 2016;17:5-21.
 48. Blennow K, Díaz-Lucena, Zetterberg H, et al. CSF Neurogranin as a Neuronal Damage Marker in CJD: A Comparative Study with AD. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2019;90:846-53.
 49. Karch A, Hermann P, Ponto C, et al. Cerebrospinal fluid tau levels are a marker for molecular subtype in sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *Neurobiol Aging* 2015;36:1964-68.
 50. Hermann P, Haller P, Goebel S, et al. Total and Phosphorylated Cerebrospinal Fluid Tau in the Differential Diagnosis of Sporadic Creutzfeldt-Jakob Disease and Rapidly Progressive Alzheimer's Disease. *Viruses* 2022;14(2):276.
 51. Riemenschneider M, Wagenpfeil S, Vanderstichele H, et al. Phospho-tau/total tau ratio in cerebrospinal fluid discriminates Creutzfeldt-Jakob disease from other dementias. *Mol Psychiatry* 2003;8(3):343-7.
 52. Forner SA, Takada LT, Bettcher BM, et al. Comparing CSF biomarkers and brain MRI in the diagnosis of sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *Neurol Clin Pract* 2015;5(2):116-25.
 53. Llorens F, Kruse N, Karch A, et al. Validation of α -synuclein as a CSF biomarker for sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *Mol Neurobiol* 2018;55:2249-57.
 54. Kovacs GG, Andreasson U, Liman V, et al. Plasma and cerebrospinal fluid tau and neurofilament concentrations in rapidly progressive neurological syndromes: a neuropathology-based cohort. *Eur J Neurol* 2017;24:1326-e77.
 55. McGuire LI, Poggioli A, Poggiolini I, et al. Cerebrospinal fluid real-time quaking-induced conversion is a robust and reliable test for sporadic creutzfeldt-jakob disease: An international study: sCJD CSF RT-QuIC. *Ann Neurol* 2016;80(1):160-5.
 56. McGuire LI, Peden AH, Orrú CD, et al. Real time quaking-induced conversion analysis of cerebrospinal fluid in sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *Ann Neurol* 2012;72(2):278-85.
 57. Orrú CD, Groveman BR, Hughson AG, et al. Rapid and Sensitive RT-QuIC Detection of Human Creutzfeldt-Jakob Disease Using Cerebrospinal Fluid. *MBio* 2015;6(1):e02451-14. DOI: 10.1128/mBio.02451-14
 58. Atarashi R, Satoh K, Sano K, et al. Ultrasensitive human prion detection in cerebrospinal fluid by real-time quaking-induced conversion. *Nat Med* 2011;17:175-8.
 59. Candelise N, Baiardi S, Franceschini A, et al. Towards an improved early diagnosis of neurodegenerative diseases: the emerging role of in vitro conversion assays for protein amyloids. *Acta Neuropathol Commun* 2020;8(1):117.
 60. Foutz A, Appleby BS, Hamlin C, et al. Diagnostic and prognostic value of human prion detection in cerebrospinal fluid: CSF RT-QuIC Test. *Ann Neurol* 2017;81(1):79-92.
 61. Bongianni M, Orrú C, Groveman BR, et al. Diagnosis of human prion disease using real-time quaking-induced conversion testing of olfactory mucosa and cerebrospinal fluid samples. *JAMA Neurol* 2017;74:155-62.
 62. Orrú CD, Yuan J, Appleby BS, et al. Prion seeding activity and infectivity in skin samples from patients with sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *Sci Transl Med* 2017;9(417):eaam7785.
 63. Cramm M, Schmitz M, Karch A, et al. Stability and Reproducibility Underscore Utility of RT-QuIC for Diagnosis of Creutzfeldt-Jakob Disease. *Mol Neurobiol* 2016;53(3):1896-904.
 64. Rhoads DD, Wrona A, Foutz A, et al. Diagnosis of prion diseases by RT-QuIC results in improved surveillance. *Neurology* 2020;95:e1017-26.
 65. Morales R, Durán-Aniotz C, Díaz-Espinoza R, et al. Protein misfolding cyclic amplification of infectious prions. *Nat Protoc* 2012;7:1397-409. DOI: 10.1038/nprot.2012.067
 66. Barbosa B, Castrillo BB, Alvim RP, et al. Second-Generation RT-QuIC Assay for the Diagnosis of Creutzfeldt-Jakob Disease Patients in Brazil. *Front Bioeng Biotechnol* 2020;8:929.
 67. Groveman BR, Orrú CD, Hughson AG, et al. Extended and direct evaluation of RT-QuIC assays for Creutzfeldt-Jakob disease diagnosis. *Ann Clin Transl Neurol* 2016;4:139-44.

68. Ladogana A, Kovacs GG. Genetic Creutzfeldt-Jakob disease. *Handb Clin Neurol* 2018;153:219-42.
69. Mead S, Burnell M, Lowe J, et al. Clinical Trial Simulations Based on Genetic Stratification and the Natural History of a Functional Outcome Measure in Creutzfeldt-Jakob Disease. *JAMA Neurol* 2016;73(4):447.
70. Staffaroni AM, Kramer AO, Casey M, et al. Association of blood and cerebrospinal fluid Tau level and other biomarkers with survival time in sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *JAMA Neurol* 2019;76:969-77.
71. Vallabh SM, Minikel EV, Williams VJ, et al. Cerebrospinal fluid and plasma biomarkers in individuals at risk for genetic prion disease. *BMC Med* 2020;18:140.
72. Frost B, Diamond M. Prion-like mechanisms in neurodegenerative diseases. *Nat Rev Neurosci* 2010;11:155-9.
73. González G, Sierra U, Gómez L. (2015). Teoría Prión-Enfermedades Priónicas. *Acta Neurológica Colombiana* 2015;31:101-12.
74. Franceschini A, Baiardi S, Hughson AG, et al. High diagnostic value of second



Caso Clínico

Detección temprana de cristales de sulfadiazina en un paciente VIH positivo con toxoplasmosis

Early detection of sulfadiazine crystals in an HIV positive patient with toxoplasmosis

Rafael José García Martínez¹, Guillermo Velasco de Cos¹, Alejandro Fuente Alonso², Ramón Cobo Díaz³, Josefina-Micaela Martínez García¹

¹Servicio de Análisis Clínicos. Hospital Universitario Marqués de Valdecilla. Santander. ²Servicio de Atención Primaria. Centro de Salud de Dávila. Santander. ³Servicio de Otorrinolaringología. Hospital Universitario Marqués de Valdecilla. Santander

Recibido: 6/12/2021
Aceptado: 6/3/2023

Correspondencia: Rafael José García Martínez. Servicio de Análisis Clínicos. Hospital Universitario Marqués de Valdecilla. Avda. Valdecilla, s/n. 39008 Santander
e-mail: rafagaraciarmartinez@gmail.com

CASO CLÍNICO

Paciente varón de 45 años que acude al hospital con síndrome general de tres días de evolución. Presenta astenia, pérdida de peso y un episodio sincopal. Tras realizar anamnesis el paciente nos informa de que es VIH positivo desde 1998. Recibió tratamiento con diferentes antivirales, aunque lleva diez años sin seguir el tratamiento. Inicia tratamiento con Symtuza® (darunavir, cobicistat, emtricitabina y tenofovir alafenamida) y fue dado de alta, pendiente de revisión en la consulta de enfermedades infecciosas.

Diez días después del alta el paciente reingresa por aumento de los procesos sincopales, astenia en aumento y por presentar un cuadro neurológico de una semana de evolución con debilidad en las extremidades focalizada a la derecha. Durante el ingreso se le solicita una analítica general y TAC cerebral.

En la analítica general destaca una leve hiperglucemia, una hipergammaglobulinemia policlonal y un estudio serológico previo que resultó positivo para VIH1/VIH2 (Ag+Ac), citomegalovirus, virus Epstein Barr, virus del herpes simple y toxoplasma gondii.

En el TAC se objetiva una lesión intraaxial en la región de núcleos de la base izquierda cerebral con morfología oval, captación de contraste en anillo y llamativo edema vasogénico compatible con absceso piogénico frente a toxoplasma frente a criptococoma. Finalmente, se diagnóstica al paciente de una toxoplasmosis cerebral y se inicia tratamiento con pirimetamina, sulfadiazina y ácido fólico (Fig. 1).

Dos meses después del inicio del tratamiento con sulfadiazina, llega al laboratorio de análisis clínicos una solicitud para realizar estudio de sistemático y sedimento de orina, bioquímica general y hemograma.

Conflicto de intereses: los autores declaran no tener ningún conflicto de interés.

DOI: 10.20960/revmedlab.00115

García Martínez RJ, Velasco de Cos G, Fuente Alonso A, Cobo Díaz R, Martínez García J-M. Detección temprana de cristales de sulfadiazina en un paciente VIH positivo con toxoplasmosis. Rev Med Lab 2023;4(1):24-27



Figura 1 – Resonancia magnética nuclear del paciente en la que se observa un edema vasogénico de 1,6 x 1,5 cm.

De la bioquímica general destaca una hiperglucemia de 499 mg/dL (74-109 mg/dL) debido a su diabetes *mellitus* de tipo 2 descompensada por corticoides y una hipoalbuminemia de 2,4 g/dL (3,2-4,4 g/dL). En el hemograma se observa una leucopenia leve de $2,7 \times 10^3$ leucocitos/ μ L ($3,0$ - $10,0 \times 10^3$ leucocitos/ μ L) y trombocitopenia leve de 127×10^3 plaquetas/ μ L (150 - 450×10^3 plaquetas/ μ L). Dentro de las subpoblaciones linfocitarias destaca un déficit de CD4 tanto absoluta (27 células/ μ L [244-1441 células/ μ L]) como relativa (7,6 % [29-57 %]). En la bioquímica de orina se detecta proteinuria de 94 mg/dL [0-30 mg/dL], con un cociente de proteínas/creatinina de 706,8 mg/g (0-200 mg/g), y en el sistemático de orina un pH urinario de 6 (4,8-7,4) y una densidad de 1033 g/L (1005-1035 g/L). Al microscopio se observan abundantes cristales provocados por el tratamiento de sulfadiazina contra la toxoplasmosis.

Por lo tanto, nos encontramos ante un paciente VIH positivo en estadio tres, con absceso en el putamen izquierdo por una toxoplasmosis cerebral y ocular. Se inicia tratamiento con pirimetamina, sulfadiazina y ácido fólico. Durante el ingreso, las pruebas radiológicas de evolución acaban concluyendo con una disminución del tamaño de la lesión y del edema asociado a esta, que concuerda con la mejora de la clínica del paciente. Dos meses después del ingreso, se detectó abundante cristaluria de sulfadiazina por el tratamiento contra la toxoplasmosis, por lo que se sustituyó este tratamiento por trimetoprim/sulfametoxazol (Cotrimoxazol®).

DISCUSIÓN

La nefrolitiasis es una alteración común que afecta a 5 de cada 1000 personas. Es un trastorno heterogéneo

causado por una amplia variedad de condiciones metabólicas y ambientales. Las piedras frecuentes son las renales, mientras que las vesicales son poco comunes. El paso de las piedras a lo largo de los uréteres puede producir cólicos renales acompañados de hematuria, que pueden dar lugar a una obstrucción de la pelvis renal o del uréter, lo que acaba normalmente en una infección e incluso en una hidronefrosis. La precipitación intratubular de cristales en el riñón es una causa importante de la insuficiencia renal aguda.

Varios medicamentos, como aciclovir, metrotexato, sulfonamidas, indinavir, triamtereno, vitamina C o primidona, pueden cristalizar, lo que origina piedras que pueden derivar en un fallo renal agudo. Los cálculos inducidos por fármacos solo representan el 1-2 % de todos los cálculos renales (1). Los pacientes con fallo renal agudo inducido por cristales relacionados con fármacos suelen ser asintomáticos y la lesión renal se detecta a nivel bioquímico, principalmente por un aumento de la creatinina sérica, cuando el riñón ya está dañado. Por lo general, no se observa proteinuria significativa (es decir, > 500 mg/día), a menos que el paciente tenga una enfermedad renal proteinúrica subyacente y, posteriormente, desarrolle un fallo renal agudo inducido por cristales (2). Este tipo de pacientes acaba ingresando con síntomas de cólico renal, dolor abdominal y vómitos.

La toxoplasmosis cerebral es una infección causada por *Toxoplasma gondii*, un parásito protozoario intracelular obligado que infecta a un tercio de la población mundial. Durante décadas se ha considerado una infección silenciosa de por vida, pero las personas con una infección latente pueden llegar a presentar cambios psiquiátricos y neurocognitivos como ansiedad, depresión y pérdida de memoria (3). En pacientes inmunodeprimidos o con síndrome de inmunodeficiencia adquirida (sida) puede reactivarse tras estar latente durante grandes periodos de tiempo. La infección se adquiere por la ingestión de carne cruda o por la ingestión de alimentos o agua contaminada con ooquistes expulsados por los gatos. La contaminación del medio por los ooquistes está muy extendida, sobre todo en personas con gatos domésticos, que son el principal medio de propagación (4). La toxoplasmosis es la infección del sistema nervioso central más frecuente en pacientes con sida que no reciben la profilaxis adecuada. La primera línea de tratamiento para pacientes inmunodeprimidos frente a la toxoplasmosis congénita es sulfadiazina, pirimetamina y ácido fólico, que produce una mejoría clínica o radiográfica en el 70 % al 90 % de los pacientes (5).

La sulfadiazina es un fármaco que pertenece a la familia de las sulfamidas y que inhibe la síntesis de ácido fólico, lo que evita la formación de los ácidos nucleicos bacterianos. Las toxicidades comunes de la sulfadiazina incluyen erupción cutánea, fiebre, leucopenia, hepatitis, náuseas, vómitos, diarrea, insuficiencia renal y cristaluria. Este tratamiento se excreta por vía renal en parte

como forma inalterada y en parte como su metabolito acetilado, N-acetilsulfadiazina. Ambos tienen una solubilidad muy pobre en ácido, por lo que pueden precipitar cuando el pH urinario es inferior o igual a 6. Hasta el 29 % de los pacientes tratados con sulfadiazina corren el riesgo de desarrollar un fracaso renal agudo por cristales de N-acetilsulfadiazina (6). El mecanismo por el que se produce el daño renal es doble. Por un lado, los cristales producen irritación química del epitelio tubular y, por otro lado, su acumulación puede derivar en una obstrucción tubular secundaria a la litiasis. Este segundo mecanismo es el más importante. La diálisis y otras medidas de atención de apoyo pueden ser necesarias en algunos pacientes para reducir la morbilidad asociada (1). La cristaluria por sulfadiazina es más probable en pacientes con edad avanzada, deshidratación, hipovolemia, disfunción renal y pacientes que presentan hipoalbuminemia (7). El fármaco se transporta en suero unido a albúmina; únicamente la fracción libre de este está disponible para su eliminación por vía renal. El descenso de la albúmina provoca un incremento en la fracción libre que se acompaña de un incremento de la concentración urinaria del fármaco. Es frecuente que los pacientes VIH positivos coinfectados con toxoplasmosis presenten deshidratación debido a alteraciones en su centro regulador de la sed hipotálamico (8) y a los frecuentes trastornos gastrointestinales que padecen.

Los pacientes seropositivos a toxoplasma que tienen recuentos de CD4 < 100 células/ μ L deben recibir profilaxis contra encefalitis toxoplasmática con trimetoprim-sulfametoxazol. Si son diagnosticados de encefalitis toxoplasmática, como en nuestro caso, el tratamiento con pirimetamina y sulfadiazina debe ser monitoreado de forma rutinaria por posibles eventos adversos y mejoría clínica y radiológica (9). En el caso presentado, gracias a la detección precoz de la cristaluria no se objetivó daño renal, pero sí empezaba a presentar una proteinuria subyacente que podría haber derivado en una enfermedad renal aguda inducida por cristales. De hecho, para evitar el daño renal, la mayoría de los autores coinciden en la hiperhidratación del paciente y en la alcalinización urinaria hasta un pH mayor de 7,15 (10). En ocasiones puede ser necesario interrumpir el tratamiento y sustituirlo por Cotrimoxazol[®] como tratamiento de segunda línea (10). Una vez que se corrige el grado de hidratación y desaparece la cristaluria no está contraindicado retomar la terapia con sulfadiazina (Fig. 2).

La morfología de los cristales de sulfadiazina es muy característica y debe ser conocida por el facultativo especialista. Son cristales glomerulares y densos de sulfadiazina libre que se encuentran como "choques de trigo con encuadración excéntrica" y formas de "caparazón" más grandes y menos comunes que corresponden con el metabolito de la sulfadiazina, principalmente N-acetilsulfadiazina (Figs. 2 y 3). En ocasiones pueden estar cubiertos por protuberancias con forma de aguja.

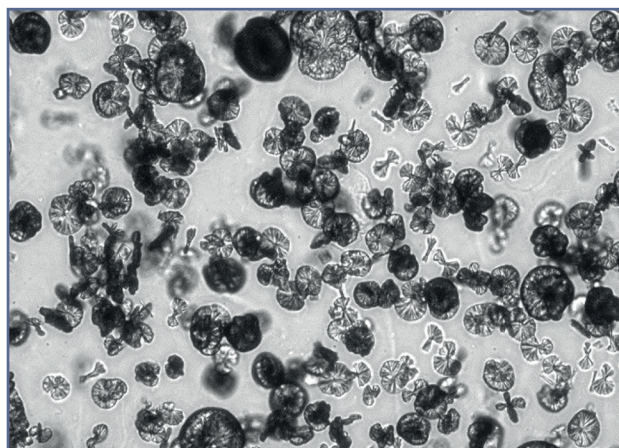


Figura 2 – Imagen al microscopio de cristales de sulfadiazina.

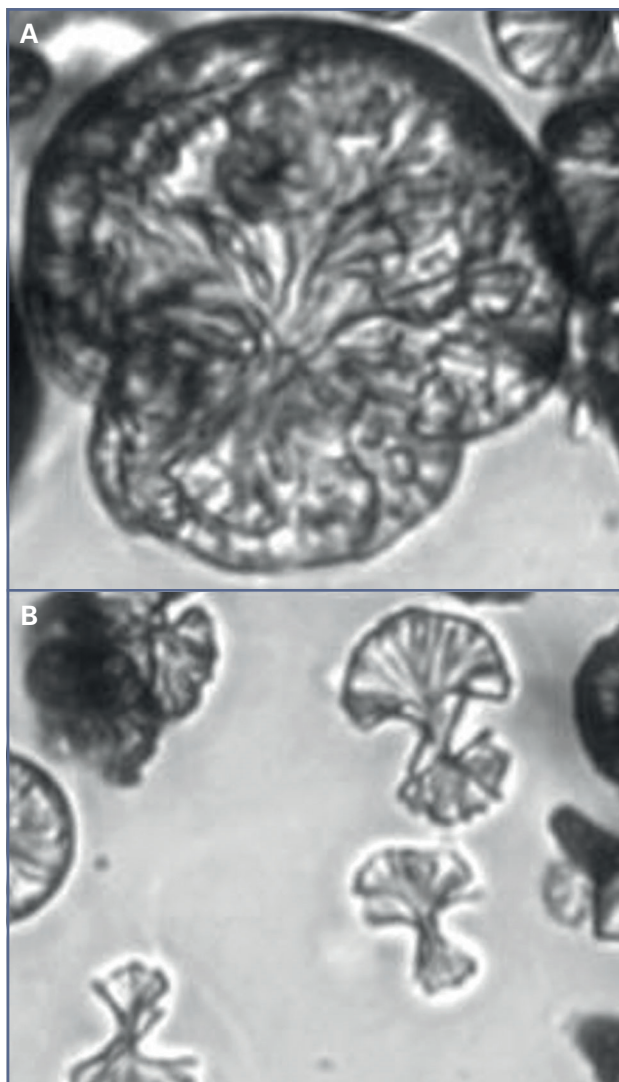


Figura 3 – A. Cristal de sulfadiazina en forma de "caparazón". B. Cristales de sulfadiazina en forma de "choques de trigo en encuadración excéntrica".

PUNTOS A RECORDAR

- La nefrolitiasis (cálculos renales) es un trastorno común que puede producirse por diferentes tratamientos farmacológicos.
- La toxoplasmosis cerebral y ocular es una infección causada por *Toxoplasma gondii* y la primera línea de tratamiento para pacientes inmunodeficientes contra esta enfermedad es sulfadiazina, pirimetamina y ácido fólico.
- La sulfadiazina es un medicamento con mucha tendencia a producir cristales a pH ácidos. Esta cristaluria puede provocar un fracaso renal agudo si no se detecta a tiempo.
- La morfología de los cristales de sulfadiazina se caracteriza por formas de "choques de trigo" y de "caparazón".
- El sedimento de orina es una prueba económica, eficaz, sencilla y útil para detectar precozmente este tipo de cristalurias.

BIBLIOGRAFÍA

1. Daudon M, Frochot V, Bazin D, et al. Drug-Induced Kidney Stones and Crystalline Nephropathy: Pathophysiology, Prevention and Treatment. *Drugs* 2018;78(2):163-201.
2. Russo LM, Sandoval RM, McKee M, et al. The normal kidney filters nephrotic levels of albumin retrieved by proximal tubule cells: retrieval is disrupted in nephrotic states. *Kidney Int* 2007;71(6):504-13.
3. Castaño BL, Silva AA, Hernández-Velasco LL, et al. Sulfadiazine Plus Pyrimethamine Therapy Reversed Multiple Behavioral and Neurocognitive Changes in Long-Term Chronic Toxoplasmosis by Reducing Brain Cyst Load and Inflammation-Related Alterations. *Front Immunol* 2022 27;13:822567.
4. Webster JP, Dubey JP. Toxoplasmosis of Animals and Humans. *Parasites Vectors* 2010 3:112.
5. Wei HX, Wei SS, Lindsay DS, et al. A Systematic Review and Meta-Analysis of the Efficacy of Anti-Toxoplasma gondii Medicines in Humans. *PLoS One* 2015 22;10(9):e0138204.
6. Rostaing L. Sulfadiazine-related obstructive urinary tract lithiasis: an unusual cause of acute renal failure after kidney transplantation. *Clin Nephrol* 2005;63(5):405-7.
7. Allinson J, Topping W, Edwards SG, et al. Sulphadiazine-induced obstructive renal failure complicating treatment of HIV-associated toxoplasmosis. *Int J STD AIDS* 2012;23(3):210-2.
8. Balcázar-Hernández L, Vargas-Ortega G, Valverde-García Y, et al. Anorexia-cachexia syndrome-like hypothalamic neuroendocrine dysfunction in a patient with a papillary craniopharyngioma. *Endocrinol Diabetes Metab Case Rep* 2017;2017:17-8.
9. National Institutes of Health. Guidelines for the Prevention and Treatment of Opportunistic Infections in Adults and Adolescents with HIV: Toxoplasma gondii Encephalitis. Available from: <https://clinicalinfo.hiv.gov/en/guidelines/adult-and-adolescent-opportunistic-infection/toxoplasma-gondii-encephalitis?view=full>
10. Kabha M, Dekalo S, Barnes S, et al. Sulfadiazine-Induced Obstructive Nephropathy Presenting with Upper Urinary Tract Extravasation. *J Endourol Case Rep* 2016 1;2(1):159-61.



Caso Clínico

Detección de la Hb J-Baltimore durante la medición de la HbA1c por HPLC

Detection of Hb J-Baltimore during HbA1c measurement by HPLC

Nancy Elizabeth Larocca González, María Asunción Álvarez Rueda, Eva María Deschamps Mosquera, Francisco Javier Peteiro-Cartelle

Hospital Materno Infantil Teresa Herrera. A Coruña

Recibido: 19/08/2022
Aceptado: 22/02/2023

Correspondencia: Nancy Elizabeth Larocca González. Hospital Materno Infantil Teresa Herrera. Avenida da Pasaxe, 67. 15006 A Coruña
e-mail: nancy.elizabeth.larocca.gonzalez@sergas.es

INTRODUCCIÓN

La hemoglobina glicada (HbA1c) se utiliza para el diagnóstico y el seguimiento del tratamiento de los pacientes con prediabetes y diabetes *mellitus* de tipo 1 y de tipo 2. Su medición en el laboratorio por la cromatografía líquida de alta eficacia puede verse afectada por la presencia de variantes de hemoglobina.

A continuación exponemos las mediciones de la HbA1c realizadas en cinco pacientes no consanguíneos procedentes del municipio de Vimianzo, de la provincia de A Coruña, que acudieron al servicio de laboratorio de análisis clínicos para descartar diabetes. Estos pacientes fueron seleccionados al observarse en los cromatogramas obtenidos durante una primera determinación de la HbA1c picos anómalos (> 10 %) y con un patrón similar en cada uno de ellos.

CASO CLÍNICO

Se utilizaron muestras de sangre total recogidas en tubos con EDTA procesadas mediante el HPLC DC-100™ Biorad calibrado de acuerdo con la referencia de la Federación Internacional de Química Clínica y Medicina de Laboratorio (IFCC).

Los resultados se presentaron con la generación de un gráfico con los diferentes picos de hemoglobina (cromatograma) acompañado del informe correspondiente. El área bajo la curva de la HbA1c se llevó a cabo mediante un algoritmo de Gauss modificado tomando en cuenta el tiempo de retención (RT) y el volumen de elución en cada una de las muestras.

Los valores de hemoglobina, de hematocrito, de glucemia en ayunas y los valores de la HbA1c de los individuos estudiados se muestran en la tabla I. En cada caso

Conflicto de intereses: los autores declaran no tener ningún conflicto de interés.

DOI: 10.20960/revmedlab.00146

Larocca González NE, Álvarez Rueda MA, Deschamps Mosquera EM, Peteiro-Cartelle FJ. Detección de la Hb J-Baltimore durante la medición de la HbA1c por HPLC. Rev Med Lab 2023;4(1):28-31

Tabla I.
Valores obtenidos de los cinco individuos estudiados

Individuos	Hemoglobina (VN: 13-18 gr/dl)	Hematocrito (VN: 41-50 %)	Glucosa en ayunas (VN:70-110 mg/dl)	HbA1c (%) (VN por la NGSP*:4,0-6,1)	HbA1c (mmol/mol) (VN por la IFCC†:20,0-43,0)
1	16,3	51,3	112	4,8	29
2	11	34,1	94	4,2	22
3	13,8	39,6	116	4,5	26
4	17,2	48,9	123	4,3	23
5	15,5	47	138	5,9	41

*NGSP: National Glycohemoglobin Standardization Program; †IFCC: International Federation of Clinical Chemistry; VN: valores de normalidad.

se obtuvo un gráfico en el que se identificaban las fracciones de hemoglobina HbA1a, Hb1b, Hb1c, la HbF y la HbA0, además de la presencia de dos picos anómalos (> 10 %): un pico antes de la elución de la HbA1c y otro pico antes de la elución de la HbA0 (Fig. 1A), lo que nos hizo sospechar la presencia de una variante de hemoglobina en estos individuos al compararlo con un cromatograma de un paciente sin estas variantes (Fig. 1B).

Con la finalidad de investigar la presencia de una posible variante de hemoglobina, se enviaron las cinco muestras al Servicio de Hematología del Hospital San Carlos de Madrid para la comparación del resultado obtenido por HPLC con un método alternativo y para el diagnóstico molecular. Como método alternativo, se comprobó que se observaba un pico anómalo mediante electroforesis capilar de zona, realizada en el Capillarys Flex (Sebia). La caracterización molecular se realizó mediante extracción genómica del ADN y amplificación selectiva del gen de la cadena β de hemoglobina utilizando el método automatizado Biorobot® EZ1 (Quiagen GmbH, Hilden, Alemania), la cuantificación mediante NanoDrop 1000 (Thermo Scientific, Wilmington, DE, EE. UU.) y la posterior secuenciación mediante el método de Sanger utilizando un secuenciador ABI PRISM 3100 Genetic Analyzer (Applied Biosystems Foster City, Ca, EE. UU.). El estudio mostró la mutación GGC→GAC en el codón 16, que determina un cambio de glicina por ácido aspártico en heterocigosis en todos los casos. Esta variante se corresponde a la hemoglobina J-Baltimore (beta 16 (A13) Gly > Asp).

DISCUSIÓN

Desde hace varias décadas la medición de la HbA1c se ha usado para el diagnóstico y el seguimiento del control glucémico a largo plazo en pacientes con prediabetes y diabetes *mellitus* de tipo 1 y de tipo 2 de acuerdo a las pautas de la Asociación Americana de Diabetes (ADA), que recomienda su inclusión como prueba diagnóstica para la diabetes *mellitus* si sus valores son ≥ 6,5 % en dos ocasiones (1).

La hemoglobina del adulto está compuesta por tres fracciones, llamadas hemoglobina A, hemoglobina A2 y hemoglobina F. La hemoglobina A (HbA) es la más abundante de todas. Representa aproximadamente el 97 %. A través de una reacción bioquímica conocida como reacción de Maillard, parte de esta HbA puede combinarse en forma covalente y no enzimática con residuos de azúcares, como la glucosa, convirtiéndose en glucohemoglobina o glicohemoglobina (HbA1). Dependiendo del azúcar que incorpore, se obtienen las diferentes subfracciones, conocidas como hemoglobinas menores o rápidas (HbA1a, HbA1b y HbA1c) por ser las que primero eluyen en los procesos de HPLC usados habitualmente para identificarlas. La HbA1c, que es la que medimos en el laboratorio, representa aproximadamente el 80 % de la HbA1 (2,3).

Los niveles de HbA1c se han relacionado con el desarrollo y la progresión de las complicaciones crónicas de la diabetes mellitus, por lo que mantener unos valores bajos es el principal objetivo del tratamiento en pacientes diabéticos (3).

Los valores de la HbA1c pueden estar alterados en algunas situaciones clínicas que afecten a la vida media de los eritrocitos (embarazo, hemorragia reciente, anemia hemolítica, terapia de reemplazo de hierro o tratamiento con vitamina B12) y en presencia de variantes estructurales de la hemoglobina cuando se realiza su medición por el método de la HPLC. Se han descrito más de mil variantes de hemoglobina, la mayoría con un patrón de herencia recesivo, con una mutación puntual en una de las cadenas de la Hb. En la mayoría de los casos estas hemoglobinas estructurales no se diagnostican y pueden conducir a falsos valores de HbA1c durante el ensayo, lo que origina errores de diagnóstico y un manejo inadecuado del paciente diabético (3,4).

Una de las variantes de la hemoglobina es la Hb J-Baltimore. Su presencia puede causar picos anómalos e interferir con los valores de la glicohemoglobina medida por HPLC (4,5). La Hb J-Baltimore fue descrita por primera vez en 1963 por Baglioni y Weatherall en una familia afroamericana (5). Desde entonces, se han reportado varios casos en distintos grupos raciales,

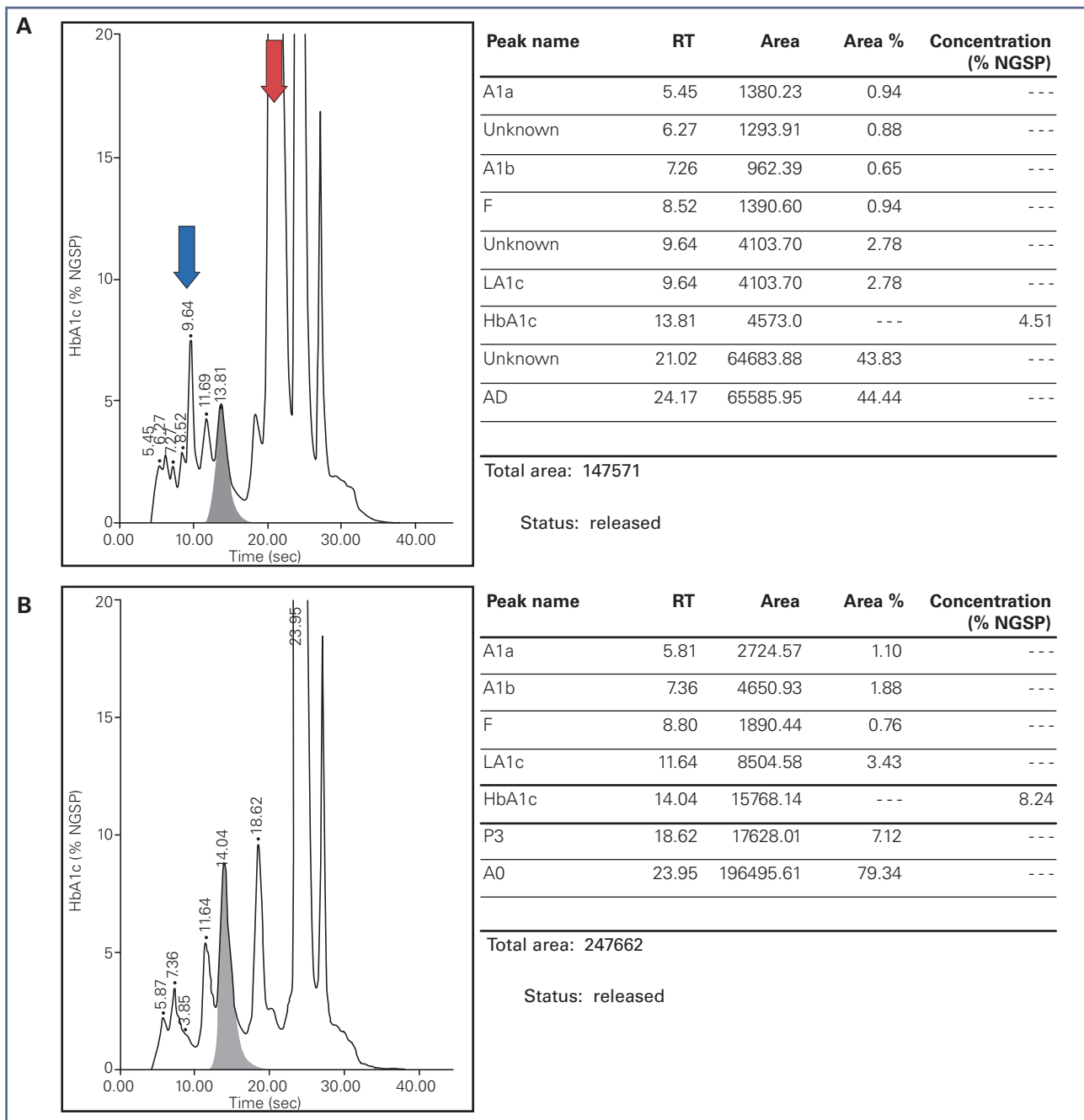


Figura 1 – A. Cromatograma obtenido durante la medición de la HbA1c por HPLC D-100™ Biorad, con presencia de picos anómalos durante la medición de la HbA1c. Se observa un pico que aparece a los 9,64 segundos antes del pico de la HbA1c y que corresponde a la fracción glicada de una variante de hemoglobina (HbXc), señalada con la flecha azul, y un segundo pico que aparece a los 21,02 segundos antes de la HbA0 y que corresponde a la fracción no glicada de una variante de hemoglobina (HbX), señalada con flecha roja. Este patrón se repitió con las mismas características en los cinco individuos estudiados. **B.** Cromatograma sin variantes de hemoglobina obtenido durante la medición de la HbA1c por HPLC D-100™ Biorad. El área sombreada corresponde a la fracción de la HbA1c que aparece a los 14,04 segundos y con una concentración de 8,24 %.

con una baja prevalencia en Europa (0,06 %) en comparación con la descrita en África (33 %). La mayoría de estos casos fueron descubiertos de manera incidental durante el estudio de otras patologías, como la talasemia (6-8).

En los casos que presentamos, observamos la presencia de esta variante en cinco individuos no sanguíneos que acudieron a nuestro laboratorio para el cribado de diabetes *mellitus* procedentes de la misma zona geográfica dentro la provincia de A Coruña,

en el municipio de Vimianzo (en el noroeste de España). La Hb J-Baltimore es relativamente infrecuente pero no excepcional en España, donde se han descrito hasta la fecha cinco familias con la forma heterocigota (8,9). También llama la atención que los casos de este estudio son de Vimianzo. La aparición de esta variante en los habitantes de este municipio pudiera explicarse por ancestros de origen africano, donde es frecuente, que emigraron a esta zona de España. A pesar de ello, no se han reportado en la literatura evidencias sobre la presencia de esta hemoglobina en sujetos procedentes del municipio de Vimianzo o de otras regiones de Galicia. Este hallazgo pudiera ser la base para futuras investigaciones.

El impacto analítico de esta rara variante es bien conocido en la medición de la HbA1c por HPLC (10). Barakat y cols. sugieren que la carga negativa, debida al cambio por una glicina en la posición 16 de la cadena β de la hemoglobina, no permite la adecuada separación de la Hb J-Baltimore o de su fracción glicada de la HbA o HbA1c, respectivamente, mediante HPLC, originando picos anómalos y valores falsamente disminuidos de la HbA1c (6).

Existen otros métodos analíticos, como la electroforesis capilar o la turbidimetría, que pueden utilizarse de manera alternativa, ya que no se ven afectados por estas hemoglobinopatías.

En este estudio hemos notado que la Hb J-Baltimore produce unos picos anómalos que generan un cromatograma muy característico. Su visualización y su reconocimiento durante la medición de la HbA1c deben alertar a los técnicos y a los facultativos de laboratorio de la presencia de esta hemoglobina estructural para llevar a cabo la realización del estudio molecular del paciente y de sus familiares, dado su componente hereditario. En el caso de que existan discordancias entre los niveles de HbA1c por HPLC y los valores de glucemia en pacientes diabéticos ya diagnosticados en los cuales quiera hacerse seguimiento de su control metabólico, pueden resultar útiles otros métodos, como la electroforesis capilar, la turbidimetría o la medición de la fructosamina o de la albúmina glicada.

PUNTOS A RECORDAR

- La medición de la HbA1c por HPLC se utiliza para el diagnóstico y el seguimiento del control glucémico a largo plazo en pacientes con prediabetes y diabetes *mellitus* de tipo 1 y de tipo 2.

- La presencia de variantes estructurales de la hemoglobina puede evidenciarse durante la medición de la HbA1c por HPLC. Estas variantes de la hemoglobina pueden detectarse como picos anómalos en los cromatogramas que sobrepasan el 10 %.
- Ante la sospecha de una posible variante de hemoglobina, debe recomendarse el estudio molecular en pacientes y familiares para su correcta identificación y el uso de métodos alternativos para el diagnóstico y el seguimiento de los pacientes con diabetes *mellitus* si estas hemoglobinas causan interferencias en la medición e interpretación de la HbA1c.
- El estudio molecular a través de muestras de ADN permite realizar el genotipaje de las hemoglobinas estructurales, identificando el tipo de mutación.

BIBLIOGRAFÍA

1. American Diabetes Association. Introduction: Standards of Medical Care in Diabetes 2022. *Diabetes Care* 2022;45(Suppl.1):S1-S2.
2. Sherwani SI, Khan HA, Ekhzaimy A, et al. Significance of HbA1c Test in Diagnosis and Prognosis of Diabetic Patients. *Biomark Insights* 2016;11:95-104.
3. Kojić Damjanov S, Đerić M, Eremić Kojić N. Glycated hemoglobin A1c as a modern biochemical marker of glucose regulation. *Med Pregl* 2014;67(9-10):339-44.
4. Saw S, Loh TP, Yin C, et al. Identification of hemoglobin variants in samples received for glycated hemoglobin testing. *Clin Chim Acta* 2013;415:173-5.
5. Baglioni C, Weatherall DJ. Abnormal Human Hemoglobins. Chemistry of Hemoglobin J Baltimore. *Biochimica et Biophysica Acta* 1963;78:637-643.
6. Barakat O, Murali Krishnan ST, Dhatariya K. Falsely low HbA1c value due to a rare variant of hemoglobin J-Baltimore. *Primary care diabetes* 2008;2:155-7.
7. Gargallo MA, Ataulfo González F, Villegas A. Abnormally low HbA1c secondary to hemoglobin J- Baltimore [β 16(A13)Gly \rightarrow Asp]. *Family study*. *J endocrinol* 2010:83-85.
8. Arribalza K, Ricard MP, Carreño DL, et al. Hb-J Baltimore [β 16(A13) Gly \rightarrow Asp] associated with B+ thalassemia in a spanish family. *Hemoglobin* 1996;20(1):79-84.
9. Rhea JM, Molinaro R. Rare presumptive Hb variant misidentification prevents appropriate Hb A1c result. *Clin Chim Acta* 2014;431:111-2.
10. Brunel V, Lahary A, Chagraoui A, et al. Haemoglobin J-Baltimore can be detected by HbA1c electropherogram but with underestimated HbA1c value. *Biochimica Medica* 2016;26(2):240-2.



Caso Clínico

Dermatomiositis con anticuerpos anti-TIF1 gamma positivos asociados a neoplasia

Neoplasm associated dermatomyositis with anti-tif1 gamma positive antibodies

Jesús León Lázaro, Rosana Herranz Llorente, Sara Martín Junco, Beatriz Sacristán Enciso, Manuel Espárrago Rodilla

Servicio de Análisis Clínicos. Hospital de Mérida. Mérida

Recibido: 30/11/2022
Aceptado: 31/03/2023

Correspondencia: Jesús León Lázaro. Servicio de Análisis Clínicos. Hospital de Mérida. Avda. Antonio Campos Hoyos. 06800 Mérida
e-mail: jesus.leon@salud-juntaex.es

CASO CLÍNICO

Se presenta el caso de una paciente de 71 años que acude a la consulta de reumatología derivada desde su médico de Atención Primaria por recomendación del laboratorio debido a la presencia de unos anticuerpos antisintetasa positivos.

La paciente acude a su médico de familia debido a unas lesiones eritematosas y descamativas. Estas lesiones habían aparecido en 2020 en la zona orbital y se habían extendido posteriormente a la parte alta de la espalda y del escote. Junto a los daños de la piel, se asocia sequedad de las vías respiratorias altas y astenia de predominio matutino. No presenta otra sintomatología de interés, como dolores articulares o limitación de movimientos, disnea, disfagia o pérdida de peso.

Se solicita la realización de un proteinograma junto con anticuerpos anticelulares (ANA) y anticuerpos anticitoplasma de neutrófilos (ANCA). Los anticuerpos ANA, realizados mediante inmunofluorescencia indi-

recta (IFI) sobre células HEp-2 (Menarini, Florencia, Italia), resultan positivos, con un patrón moteado (AC-2) a título 1:640. Tras este resultado y la sospecha clínica por las lesiones dérmicas, el laboratorio decide ampliar el estudio y realizar un *immunoblot* (Euroimmun, Lubeca, Alemania), que incluye los siguientes anticuerpos para el estudio de miopatías: CN-1A, Jo-1, Ej, PL-7, PL-12, OJ, SRP, PM, Scl, Ku, Mi2, MDA5, NXP2, SAE-1 y TIF1- γ . De este panel salen positivos los TIF1- γ y los SAE-1, compatibles con el patrón de ANA que la paciente presentaba. El estudio de los ANCA (Menarini, Florencia, Italia) resulta negativo.

Tras los resultados, se deriva a la paciente al servicio de reumatología por recomendación del laboratorio debido a los anticuerpos positivos, donde se reevalúan las lesiones, se solicita una nueva analítica en la que se incluyen los marcadores tumorales y desde donde se deriva a la paciente a la consulta de dermatología debido a la sospecha de dermatomiositis. Allí se confirma que las lesiones dérmicas son compatibles con esta patología.

Conflicto de intereses: los autores declaran no tener ningún conflicto de interés.

DOI: 10.20960/revmedlab.00160

León Lázaro J, Herranz Llorente R, Martín Junco S, Sacristán Enciso B, Espárrago Rodilla M. Dermatomiositis con anticuerpos anti-TIF1 gamma positivos asociados a neoplasia. Rev Med Lab 2023;4(1):32-35

En la analítica solicitada por el reumatólogo se objetiva un CA 19.9 de 6355 U/ml (VN: 0-39), CA 125 de 82,60 U/ml (0-35) y CEA de 81,10 ng/ml (0-4,30) (Roche, Basilea, Suiza). Tras estos resultados, se realizaron una tomografía y un PET-TAC, cuyos resultados eran compatibles con la presencia de nódulos a nivel digestivo sugestivos de neoplasia. Posteriormente, en una colonoscopia, se le extrajo un pólipa de 3 mm de la zona del ciego que anatomía patológica identificó como un adenocarcinoma de ciego de probable origen ginecológico, según las pruebas de inmunohistoquímica. El tumor ginecológico no pudo confirmarse ni establecerse su estadio.

Tras la confirmación de la neoplasia, la paciente se remitió al servicio de oncología médica y a cirugía. Se sometió a tratamiento quirúrgico para eliminar las lesiones y a quimioterapia. Actualmente está en remisión completa, con los marcadores tumorales normalizados. La dermatomiositis continúa en seguimiento por el servicio de reumatología y está controlada con corticoides. La mayoría de los síntomas cutáneos han desaparecido. Únicamente persisten unas leves lesiones en el dorso de las manos.

DISCUSIÓN

Las enfermedades autoinmunes son el resultado de una alteración de los mecanismos de tolerancia hacia los antígenos propios que provoca daños contra ele-

mentos celulares o tisulares del organismo y constituyen un amplio grupo en el que podemos encontrar patologías sistémicas u órgano específicas. Tienen origen multifactorial, en el que los factores genéticos, ambientales, hormonales y nutricionales juegan un papel importante y se asocian a los factores inmunitarios.

A nivel genético, los genes más estudiados en las patologías inmunitarias son los que pertenecen al complejo mayor de histocompatibilidad (*main histocompatibility complex*, MHC), al que muchas enfermedades suelen estar asociadas (1). En el caso de la dermatomiositis, se han sugerido asociaciones con el *HLA DRB1*0301* y el *DQA1*0501* en pacientes caucásicos y con el *HLA-B7* en asiáticos, así como asociaciones de otros HLA con la dermatomiositis juvenil o la inducida por fármacos (2).

Para clasificar las miopatías, se han propuesto dos clasificaciones:

- Una basada en sus características clínicas, en las que se distinguen dermatomiositis, polimiositis y miositis por cuerpos de inclusión (3).
- Otra, con base en los anticuerpos que aparecen en cada patología, en función de si son específicos de miositis o asociados a ella (4) (Tabla I).

La epidemiología es difícil de estimar debido a la variedad de clasificaciones que se han usado a lo largo de la historia. Ciertos estudios indican ratios de incidencia de 2,47-7,8 por cada 100 000 personas al año y una prevalencia de 9,54 a 32,74 por cada 100 000 individuos. Estudios específicos sobre dermatomiositis han estima-

Tabla I.
Anticuerpos en miositis inflamatorias y principales patologías asociadas (adaptado de Bielsa Marsol) (4)

Anticuerpo	Antígeno	Paciente con anticuerpos (%)	Síndrome clínico asociado
Específicos de miositis			
Antisintetasas			Formas agudas de miositis, artritis, afección pulmonar, fiebre, "manos de mecánico" y fenómeno de Raynaud
Anti-Jo-1	Histidinil-ARNt sintetasa	20	
Anti-PL-7	Treonil-ARNt sintetasa	5-10	
Anti-PL-12	Alanil-ARNt sintetasa	< 5	
Anti-OJ	Isoleucil-ARNt sintetasa	< 5	
Anti-EJ	Glicil-ARNt sintetasa	5-10	
Anti-KS	Asparraginil-ARNt sintetasa	< 5	
Anti-Zo	Tirosil-ARNt sintetasa	< 1	
Anti-YRS	Tirsosil-ARNt sintetasa	< 1	
Antipartícula de reconocimiento de señal	Partícula de reconocimiento de señal	5	Afección muscular grave, afección miocárdica y disfagia. Miopatía necrosante

(Continúa en página siguiente)

Tabla I (cont.).
Anticuerpos en miositis inflamatorias y principales patologías asociadas (adaptado de Bielsa Marsol) (4)

Anticuerpo	Antígeno	Paciente con anticuerpos (%)	Síndrome clínico asociado
Específicos de miositis			
Anti-Mi-2	Helicasa nuclear	5-10	Lesiones cutáneas
Anti-CADM-140	Desconocido	50 con DMA	Específico de DMA
Anti-p155/p140	TIF-1- γ	20 con DMA	DM, alta asociación a cáncer
Anti-SAE-1	Enzima activadora SUMO-1	8 5 si se asocia a enfermedad pulmonar intersticial	Dermatomiositis
Anti-MJ	Desconocido	< 5	DM juvenil
Anti-PMS1	Enzima reparadora de ADN	< 5	
Asociados a miositis			
Anti U1 ribonucleoproteína	U1 ribonucleoproteína nuclear	10	Solapamiento de miositis y enfermedad mixta de tejido conectivo
Anti-Ku	Subunidad reguladora ADN-PK	20-30	Solapamiento de polimiositis y esclerodermia (principalmente en japoneses)
Anti-PM-Scl	Complejo nuclear de 11 a 16 proteínas	8-10	Solapamiento de polimiositis y esclerodermia (principalmente en caucásicos)

ADN: ácido desoxirribonucleico; ADN-PK: ácido desoxirribonucleico dependiente de proteína cinasas; ARNt: ácido ribonucleico de transferencia; DM: dermatomiositis; DMA: dermatomiositis amioipática; TIF-1- γ : factor transcripcional intermediario 1- γ .

do un ratio de 1-6 personas por cada 100 000 adultos en Estados Unidos y el estudio Euromyositis identificó la patología en un 31 % de los pacientes estudiados. Afecta más a mujeres, en una proporción 2:1, y a todas las etnias, especialmente a los afroamericanos (5).

La dermatomiositis se engloba dentro del grupo de las miopatías inflamatorias, que es un grupo heterogéneo que afecta al sistema musculoesquelético y que habitualmente presenta manifestaciones extramusculares como la artritis, enfermedad pulmonar intersticial o problemas cutáneos (6).

La enfermedad cursa con afectación muscular, que incluye debilidad en músculos proximales, asociada o no a otros problemas sistémicos, y a nivel histológico pueden observarse diferentes niveles de necrosis de fibras musculares, así como infiltrados mononucleares. Los patrones histológicos ayudan a distinguir entre diversas patologías, como polimiositis o dermatomiositis. Estos hallazgos musculares se acompañan de alteraciones en estudios electromiográficos (7), valores de la creatina cinasa (CK) normales o aumentados y velocidad de sedimentación globular (VSG) alta (4). En el caso expuesto, la paciente presentaba niveles normales de CK y VSG, aunque posteriormente esta última aumentó ligeramente.

La piel también resulta muy afectada en esta patología. Se observan unas lesiones muy típicas y que pueden preceder o desarrollarse junto a los problemas musculares. Algunas son muy características, como el exantema heliotropo, que afecta de manera bilateral a los párpados y que era uno de los síntomas que la paciente presentaba, junto con los hallazgos del laboratorio, así como la presencia del síndrome de Gottron, unas lesiones violáceas que pueden acompañarse de descamación en el cuero cabelludo, el tronco y el escote (7).

Dentro de los diferentes anticuerpos que son específicos de las miopatías inflamatorias, la paciente presentaba positivos los anticuerpos anti-SAE-1, presentes en el 8 % de pacientes con dermatomiositis, y el anticuerpo contra la proteína TIF-1- γ , que es uno de los más relacionados con la presencia conjunta de dermatomiositis y neoplasia. Diversos estudios muestran que este anticuerpo estuvo presente en un 75 % de casos de miositis autoinmune con neoplasias asociada y en un 37 % en pacientes con dermatomiositis que posteriormente desarrollaron cáncer (8). El anticuerpo frente a TIF-1- γ tiene gran especificidad (alrededor de un 96 %) y una sensibilidad de un 50 % en pacientes que presentan dermatomiositis asociada a neoplasia (9).

Estudios recientes de cohortes han demostrado una asociación significativa entre miositis y neoplasias, con mayor riesgo en los casos de dermatomiositis, aunque no queda definida cuál es la mejor manera de estudiar esa neoplasia (10).

La edad y la presencia de lesiones necróticas en la piel se han relacionado como unos de los principales marcadores de neoplasia en el contexto de la enfermedad (4). En nuestro caso, la paciente presentaba una edad avanzada, pero no se objetivó la presencia de ninguna lesión necrótica en la afectación dérmica.

Los marcadores CA 19.9 y CA 125 pueden ser de especial interés para el estudio de los tumores (10). En nuestro caso, los niveles de ambos marcadores se encontraban elevados, lo que indicaba la posibilidad de una neoplasia asociada al problema reumatológico.

Es importante la actuación del laboratorio a la hora de reconocer los patrones IFI y su relación con los anticuerpos y las patologías que pueden estar relacionados con ellos para poder ampliar el estudio de forma más específica para ayudar en el diagnóstico de entidades tan complejas como en nuestro caso, en el que la paciente no presentaba ninguna sintomatología que pudiera indicar la presencia de un tumor.

PUNTOS A RECORDAR

- La dermatomiositis es una miopatía inflamatoria que puede aparecer en pacientes de cualquier edad.
- Es importante reconocer los distintos patrones de IFI, los anticuerpos relacionados con ellos y su relación con las patologías y la clínica de los pacientes para poder ampliar los estudios según los datos iniciales.

- Existen muchos anticuerpos asociados a las miopatías inflamatorias, algunos de los cuales aumentan el riesgo de padecer un tumor. Los anticuerpos anti-TIF-1- γ son unos de los que más se relacionan con la entidad dermatomiositis-neoplasia.
- En este grupo de pacientes, el uso de los marcadores tumorales puede ser de utilidad para poder identificar una posible neoplasia oculta.

BIBLIOGRAFÍA

1. Sorice M, Gulletta M. Enfermedades autoinmunes y enfermedades reumáticas sistémicas. En: Antonozzi I, Gulletta M, editores. Medicina de laboratorio, fundamentos y aplicaciones en el diagnóstico clínico. Madrid: Editorial Médica Panamericana;2015. p. 965-1002.
2. Bogdanov I, Kazandjieva J, Darlenski R, Tsankov N. Dermatomyositis: Current Concepts of Skin and Systemic Manifestations. Clin Dermatol 2018;36(4):450-58.
3. Selva O'Callaghan A, Trallero Araguás E. Miopatías inflamatorias. Dermatomiositis, polimiositis y miositis con cuerpos de inclusión. Reumatol Clin 2008;4:197-206
4. Bielsa Marsol I. Dermatomiositis. Reumatol Clin 2009;5:216-22.
5. DeWane ME, Waldman R, Lu J. Dermatomyositis Part I: Clinical Features and Pathogenesis. J Am Acad Dermatol 2019;82:267-81.
6. Hernández Valverde A, Arriola Acuña LE, Vargas Guzmán A. Dermatomiositis como síndrome paraneoplásico. Rev Med Sinergia 2020;5(7):e534.
7. Schlecht N, Sunderkötter C, Niehaus S, Nashan D. Update on dermatomyositis in adults. J Dtsch Dermatol Ges 2020;18(9):995-1013.
8. Targoff IN, Mamyrova G, Trieu EP, Perurena O, Koneru B, O'Hanlon TP, et al. A novel autoantibody to a 155-kd protein is associated with dermatomyositis. Arthritis Rheum 2006;54(11):3682-9.
9. Chinoy H, Fertig N, Oddis CV, Ollier WER, Cooper RG. The diagnostic utility of myositis autoantibody testing for predicting the risk of cancer-associated myositis. Ann Rheum Dis 2007;66(10):1345-9.
10. Amoura Z, Duhaut P, Le D, Huong T, Wechsler B, Costedoat-Chalumeau N, et al. Tumor Antigen Markers for the Detection of Solid Cancers in Inflammatory Myopathies. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2005;14(5):1279-82.



Imagen/Infografía

Neoplasia de ovario en líquido ascítico

Ovarian cancer in peritoneal fluid

Rafael J. García Martínez¹, Víctor Martín-Riera², Clara Ramírez-Serra²

¹Laboratorio de Análisis Clínicos. Hospital Universitario Marqués de Valdecilla. Santander. ²Grupo de Investigación de Bioquímica Clínica. Instituto de Recerca del Hospital Vall d'Hebrón (VHIR). Laboratorio de Bioquímica Core. Hospital Universitario Vall d'Hebrón. Barcelona

Recibido: 28/10/2022
Aceptado: 01/02/2023

Correspondencia: Rafael J. García Martínez. Laboratorio de Análisis Clínicos. Hospital Universitario Marqués de Valdecilla. Avda. Valdecilla, s/n. 39008 Santander
e-mail: rafagaraciarmartinez@gmail.com

El cáncer de ovario es la quinta causa principal de muertes entre las mujeres (1) y, junto a la neoplasia de tracto gastrointestinal, la principal causa de ascitis maligna (2).

Se presenta la imagen del líquido ascítico de una mujer de 57 años con antecedentes familiares de cáncer de mama. Acude a la consulta por un cuadro de epigastralgia con dos meses de evolución acompañado de molestia abdominal, febrícula y ascitis voluminosa. Decide realizarse paracentesis evacuadora y diagnóstica.

El líquido presenta un aspecto macroscópico turbio y de color amarillo anaranjado. El estudio bioquímico del líquido (Atellica CH, Siemens®) refleja: glucosa: < 10 mg/dL; lactato deshidrogenasa: 871 U/L (< 165 U/L sugestivo de trasudado), y proteínas: 5,2 g/dL (< 3 g/dL, sugestivo de trasudado). El estudio cito-

lógico se realiza por citometría de flujo fluorescente (XN1000, Sysmex®), en el que destaca una concentración de células nucleadas de 7559 células/uL y un 21 % de células de alta fluorescencia. Se realiza estudio microscópico para diferenciación celular tras citocentrifugación y tinción May-Grünwald-Giemsa. Observamos un 100 % de células no hematológicas con morfología atípica (3): gran tamaño, intensa basofilia del citoplasma, núcleos excéntricos e irregulares y algunas de ellas con grandes vacuolas. Además, se informa de la presencia de nidos celulares y de canibalismo celular, dos características patognómicas de infiltración por neoplasia sólida (Fig. 1).

El análisis de líquidos biológicos en el laboratorio de Urgencias es de gran interés por su tiempo de respuesta corto y aporta un gran valor añadido tanto en orientación diagnóstica como sobre el tratamiento del paciente.

Conflicto de intereses: los autores declaran no tener ningún conflicto de interés.

DOI: 10.20960/revmedlab.00156

García Martínez RJ, Martín-Riera V, Ramírez-Serra C. Neoplasia de ovario en líquido ascítico. Rev Med Lab 2023;4(1):36-37

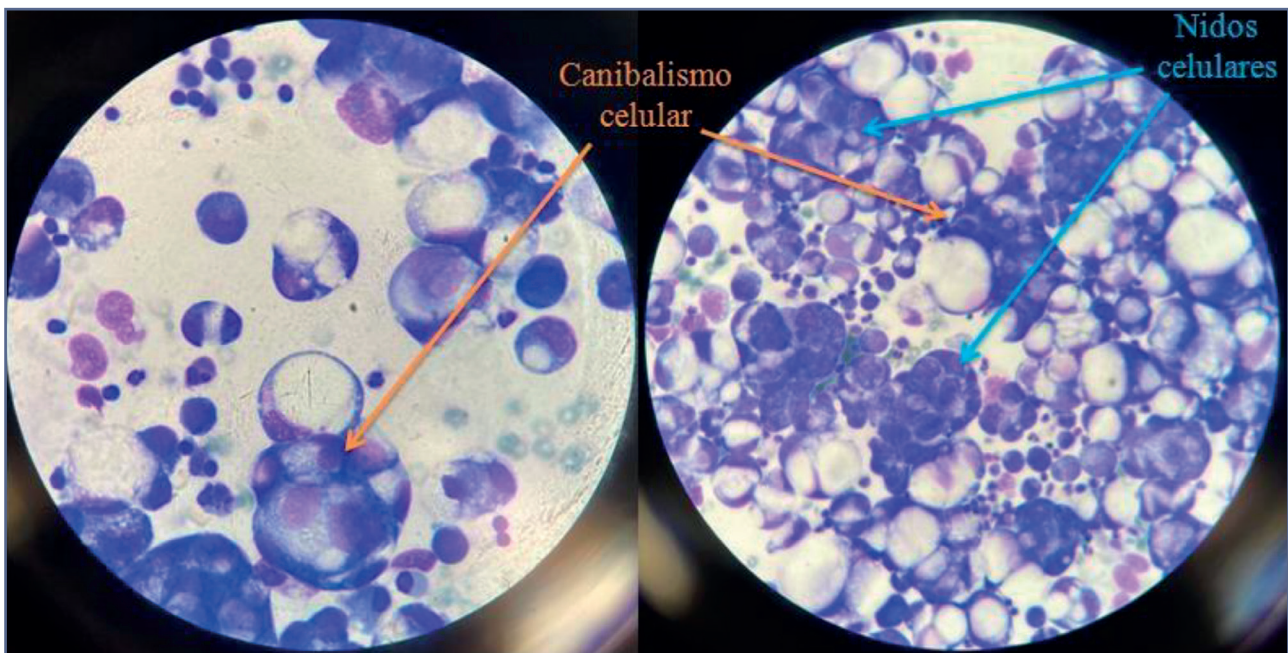


Figura 1 – Citología del líquido ascítico en un microscopio óptico (Nikon Eclipse E200) (Izquierda imagen a 100x; derecha imagen a 50x).

BIBLIOGRAFÍA

1. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin* 2021;71:209-49.
2. Pascual-Antón L, Cardeños B, Sainz de la Cuesta R, et al. Mesothelial-to-Mesenchymal Transition and Exosomes in Peritoneal Metastasis of Ovarian Cancer. *Int J Mol Sci* 2021;22(21):11496.
3. Merino A. Manual de citología de sangre periférica y líquidos biológicos. 2.ª ed. Madrid: Editorial Médica Panamericana; 2020.



Evaluación Técnica/Equipos

Estudio de intercambiabilidad entre dos métodos analíticos para la determinación del receptor soluble del activador del plasminógeno tipo urocinasa (suPAR) en el laboratorio de urgencias: inmunoensayo de flujo lateral frente a turbidimetría

Interchangeability study between two analytical methods for the determination of the soluble receptor of the urokinase-type plasminogen activator (suPAR) in the Emergency Laboratory: lateral flow immunoassay versus turbidimetry

María Esther Paniagua Arribas¹, Rosario Padilla Berdugo¹, Silvia Álvarez Kailis¹, Fernando Neria Serrano², Eva de las Nieves Rodríguez¹

¹Hospital Universitario de Móstoles. Móstoles, Madrid. ²Facultad de Medicina. Universidad Francisco de Vitoria. Majadahonda, Madrid

Recibido: 15/10/2022
Aceptado: 16/03/2023

Correspondencia: María Esther Paniagua Arribas. Hospital Universitario de Móstoles. C/ Dr. Luis Montes, s/n. 28935 Móstoles, Madrid
e-mail: esther.paniagua@salud.madrid.org

Palabras clave:

suPAR. Intercambiabilidad. Receptor soluble del activador del plasminógeno tipo urocinasa. suPARnostic®.

RESUMEN

El biomarcador suPAR (receptor soluble del activador del plasminógeno tipo urocinasa) es la forma soluble de una proteína sanguínea llamada uPAR, unida a la membrana celular y expresada principalmente en células inmunológicas y endoteliales. Altos niveles de suPAR están asociados con un aumento de la inflamación celular, progresión de la enfermedad y aumento del riesgo de mortalidad al ingreso hospitalario.

Cuantificar la concentración suPAR puede ser de utilidad para la estratificación del riesgo en los pacientes que acuden a un servicio de urgencias y para determinar la necesidad o no de un ingreso hospitalario y predecir la probabilidad de supervivencia.

Conflictos de intereses: los autores declaran no presentar conflictos de interés

DOI: 10.20960/revmedlab.00152

Fuentes de financiación: los reactivos suPARnostic® fueron cedidos por la casa comercial ViroGates (Dinamarca).

Paniagua Arribas ME, Padilla Berdugo R, Álvarez Kailis S, Neria Serrano F, de las Nieves Rodríguez E. Estudio de intercambiabilidad entre dos métodos analíticos para la determinación del receptor soluble del activador del plasminógeno tipo urocinasa (suPAR) en el laboratorio de urgencias: inmunoensayo de flujo lateral frente a turbidimetría. Rev Med Lab 2023;4(1):38-42

Se ha realizado un estudio de intercambiabilidad de métodos para la determinación del biomarcador suPAR mediante inmunoensayo de flujo lateral y turbidimetría. Hemos evaluado la intercambiabilidad de los dos métodos, su grado de concordancia y la equivalencia entre los resultados de ambos.

En ausencia de errores sistemáticos relevantes, el método turbidimétrico suPARnostic Roche Turbilatex puede ser intercambiable con el inmunoensayo de flujo lateral QuickTriage.

Por otra parte, aunque no sea el objetivo de este estudio, a partir de los valores de suPAR obtenidos se han agrupado los pacientes seleccionados según su riesgo de padecer eventos adversos.

Keywords:

suPAR. Interchangeability. Soluble urokinase-type plasminogen activator receptor. suPARnostic®.

ABSTRACT

The biomarker suPAR (urokinase-like plasminogen activator receptor) is the soluble form of a blood protein called uPAR, bound to the cell membrane and expressed mainly in immune and endothelial cells. High levels of suPAR are associated with increased cellular inflammation, disease progression, and increased risk of mortality upon hospital admission.

Quantifying suPAR may be useful for risk stratification in patients attending an emergency department and for determining the need or not for hospital admission and predicting the likelihood of survival.

A comparative study of the determination of the suPAR biomarker by lateral flow immunoassay and turbidimetry has been carried out. We have evaluated the interchangeability of the two techniques, their degree of agreement and the equivalence between the results of both.

In the absence of relevant systematic errors, the suPARnostic Roche Turbilatex turbidimetric technique may be interchangeable with the QuickTriage lateral flow immunoassay.

On the other hand, the quantitative values of suPAR have been related to the prediction of adverse events that occurred in the selected patients.

INTRODUCCIÓN

Las principales garantías que deben proporcionar todos los laboratorios clínicos son asegurar que sus resultados son exactos (veraces y precisos), que permiten una interpretación clínica correcta y que son comparables con los resultados anteriores o posteriores y conmutables entre los distintos métodos analíticos y los laboratorios (1).

Los reactantes de fase aguda son proteínas plasmáticas que sufren alteraciones durante la inflamación. Aunque la velocidad de sedimentación globular y la proteína C reactiva han sido tradicionalmente las más utilizadas como marcadores de inflamación en condiciones infecciosas y no infecciosas (2), existen muchos otros biomarcadores, como la procalcitonina, la proteína amiloide sérica A, el fibrinógeno, la ferritina, alfa-1 antitripsina, haptoglobina, alfa-1 glicoproteína o ceruloplasmina, entre otros.

El receptor soluble del activador de plasminógeno tipo urocinasa (suPAR) es la forma soluble de la proteína

uPAR unida a la membrana celular, la cual está expresada principalmente en células inmunológicas, células endoteliales y en células de músculo liso (3). Fue descubierto en 1992 y se trata de un biomarcador de inflamación que interviene en la cascada de señales del activador de plasminógeno de urocinasa, que se ha sugerido que juega un papel clave en el desarrollo, en la presencia y en la gravedad de múltiples enfermedades (4) como activador inmune y de la inflamación.

Entre los métodos de medida disponibles en el mercado para la determinación de suPAR en nuestro laboratorio hemos seleccionado el inmunoensayo de flujo lateral suPARnostic® QuickTriage y el suPARnostic® TurbiLatex Reagents, un método turbidimétrico.

Los objetivos de este estudio fueron comprobar la intercambiabilidad entre el inmunoensayo de flujo lateral y la turbidimetría, disponibles en nuestro laboratorio, y establecer el grado de equivalencia de los resultados identificando previamente los posibles sesgos para asegurar la ausencia de errores sistemáticos relevantes.

MATERIAL Y MÉTODOS

Muestras

Se han empleado muestras de plasma con EDTA o heparina de litio de 86 pacientes que acudieron al servicio de urgencias del Hospital Universitario de Móstoles (Madrid) durante un periodo de 3 semanas seleccionados de forma no consecutiva con los siguientes criterios de inclusión:

- Mayores de 16 años que acudieron a la urgencia general. Quedaron excluidos los que acudían por motivos de consulta relacionados con traumatología, ginecología, oftalmología y otorrinolaringología.
- Presentar alguno de los siguientes motivos de consulta: mareo, síncope, deterioro general, malestar general, dolor torácico, fiebre, disnea o dolor abdominal.
- Tener indicación médica de realización de análisis clínicos.
- Firmar el consentimiento de inclusión en el estudio (4).

El estudio fue aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital Universitario de Móstoles (n.º de registro 2019/028) y los pacientes fueron atendidos según los criterios habituales.

Las muestras una vez extraídas y enviadas al laboratorio de urgencias fueron centrifugadas a 3500 rpm durante 5 minutos para ser analizadas por ambos métodos.

En cuanto a los participantes, 86 pacientes se seleccionaron en una fase inicial del estudio y se les cuantificó suPAR a su llegada al servicio de urgencias por las dos técnicas disponibles.

Se dispone de los datos demográficos, información sobre comorbilidades y resultados bioquímicos de 85 de los 86 pacientes, por lo que un paciente queda excluido del estudio. La edad media de los pacientes fue de 58,2 años (\pm 21,3 años). En cuanto al sexo, 52 eran mujeres (61,2 %) y 33, hombres (38,8 %).

Las comorbilidades existentes en los pacientes seleccionados son las siguientes: diabetes mellitus de tipo 2, 12 pacientes (14,3 %); hipertensión arterial en tratamiento, 31 pacientes (36,5 %); enfermedad pulmonar obstructiva crónica en tratamiento, 12 pacientes (14,1 %); dislipemia en tratamiento, 27 pacientes (31,8 %); cardiopatía isquémica, 13 pacientes (15,3 %); insuficiencia cardiaca congestiva episodio agudo, 3 pacientes (3,5 %); fibrilación auricular, 8 pacientes (9,4 %) e insuficiencia renal crónica, 7 pacientes (8,2 %).

Los motivos de consulta más frecuentes fueron: dolor abdominal (24 casos, 28,2 %), disnea (16 casos, 18,8 %), malestar general (17 casos, 20,0 %), dolor torácico (10 casos, 11,8 %), fiebre (5 casos, 5,9 %), mareo (8 casos, 9,4 %), pérdida de consciencia (1 caso, 1,2 %) y deterioro (4 casos, 4,7 %).

51 fueron dados de alta sin eventos posteriores (grupo 1), 26 ingresaron o volvieron a urgencias durante el seguimiento (grupo 2) y 8 ingresaron en UCI o murieron en este tiempo (grupo 3).

Procedimientos de medida

suPARnostic® Quick Triage ViroGates A/S Denmark

Es el procedimiento evaluado. Permite la determinación cuantitativa de suPAR en el plasma. El dispositivo tiene fijados anticuerpos monoclonales de rata y ratón conjugados con oro contra suPAR humano. Las muestras de plasma con EDTA o heparina se mezclan con el *buffer* y se aplican al dispositivo suPARnostic® Quick Triage. Durante los 20 minutos de incubación, el suPAR de la muestra reacciona con los anticuerpos anti-suPAR conjugados con oro y migra a través de la membrana de nitrocelulosa. Los anticuerpos unidos al suPAR de la muestra se unen a los anticuerpos de captura en la línea de ensayo, mientras que los anticuerpos no unidos a suPAR serán capturados por la línea de control (anticuerpos antirratón).

El suPARnostic® Quick Triage se calibra internamente. Tiene un intervalo de medición de 2,5 ng/ml a 15,2 ng/ml (5).

suPARnostic® TurbiLatex Reagents

Es el procedimiento de comparación. Es un sistema de medida turbidimétrico validado para las plataformas de Roche Cobas c501/502.

Los anticuerpos anti-suPAR fijados al látex reaccionan con el antígeno de la muestra para formar complejos antígeno-anticuerpos que se determinan turbidimétricamente a 570/800 nm tras la aglutinación.

El intervalo de medida es de 1,8 ng/mL a 16,0 ng/mL (6).

Tratamiento de los resultados

Para analizar los resultados se han seguido las recomendaciones de la Comisión de Metrología de la Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular, que recomienda la utilización de dos métodos estadísticos: el análisis de las diferencias (Concordancia de Bland-Altman) y la regresión lineal (*Passing-Bablok*) (1). Se denomina Y al método que está probándose (en este estudio, el inmunoensayo de flujo lateral) y X, al método de comparación o de referencia (en nuestro laboratorio, la turbidimetría) (7). Dado que el método de comparación es el de referencia, consideramos que la posible diferencia entre ambos es también el sesgo que presenta el método a evaluar.

RESULTADOS

Con el fin de comparar los resultados entre ambas pruebas diagnósticas, se hizo un estudio de regresión *Passing-Bablok* (Tabla I).

El valor de la ordenada en el origen es de 0,059, con un intervalo de confianza (IC) de 95 % (-1,040-1,209). Este intervalo contiene el cero, por lo que puede con-

Tabla I.

Medianas y rangos intercuartílicos obtenidos para la clasificación de los pacientes en distintos grupos (pacientes de bajo riesgo, riesgo moderado y riesgo alto) con cada una de las técnicas

	<i>n</i>	Grupo 1, <i>n</i> = 51 (60,5 %)	Grupo 2, <i>n</i> = 26 (30,2 %)	Grupo 3, <i>n</i> = 8 (9,3 %)
Turbidimetría				
Mediana (25-75 %)	85	3,4 (2,6-4,8)	4,9 (3,8-7,1)	7,7 (5,7-12,2)
Inmunoensayo de flujo lateral				
Mediana (25-75 %)	85	4,0 (3,0-6,0)	5,0 (2,2-8,8)	8,0 (4,8-11,8)

cluírse que el procedimiento evaluado no presenta diferencias sistemáticas constantes con respecto al turbidimétrico.

El valor de la pendiente es de 1,126, con un IC del 95 % (0,833-1,396). Este intervalo contiene el valor 1, lo que indica que no hay diferencias sistemáticas proporcionales y que los resultados obtenidos con el inmunoensayo de flujo lateral son equivalentes a los obtenidos por turbidimetría.

Mediante el estudio de concordancia de Bland-Altman se calculó que la media de las diferencias es de -0,28, con un IC 95% (-9,837-9,276), lo que indica que esta media de las diferencias no es significativa (Fig. 1).

El coeficiente de correlación *r* de Pearson es de 0,612, lo que indica una correlación positiva moderada.

DISCUSIÓN

Un papel fundamental de los analistas clínicos es garantizar la fiabilidad de los resultados mediante estudios de comparación y la validación de métodos.

En los estudios de veracidad, para considerar la existencia de un error sistemático, este debe ser significativo tanto en el análisis de las diferencias por Bland-Altman (Fig. 1) como en la regresión lineal (1) (Tabla I).

En nuestro estudio no se ha detectado la presencia de error sistemático, ni proporcional ni constante significativos, lo que evidencia que las diferencias analíticas entre los dos métodos no son estadísticamente significativas.

Estratificación del riesgo de los pacientes

Un estudio realizado con la sangre de 9305 donantes estableció que la concentración de suPAR en personas sanas es de alrededor de 2-3 ng/mL; en pacientes que acuden al servicio de urgencias suele ser de alrededor de 3-6 ng/ml, y en pacientes con enfermedad grave y fallo orgánico, suPAR, a menudo tiene dos dígitos (3). Así, pued estratificarse a los pacientes en distintos grupos de riesgo en función de los niveles de suPAR.

En nuestro estudio las medianas obtenidas con ambos procedimientos para los tres grupos de pacientes fueron: 3,7 ng/ml para pacientes de bajo riesgo (grupo

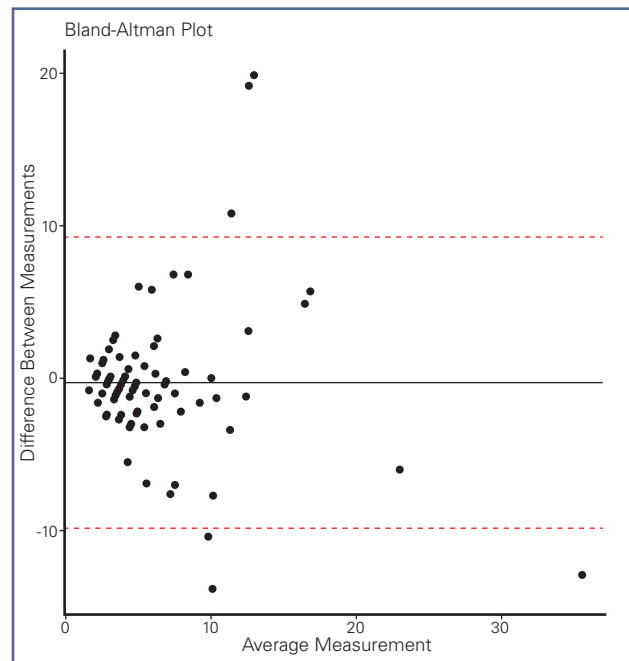


Figura 1 – Análisis de las diferencias por Bland-Altman.

1), 5 ng/ml para pacientes de riesgo moderado (grupo 2) y 7,9 ng/ml para pacientes de riesgo alto (grupo 3) (Tabla II).

Los valores medios de cada grupo fueron: 5,2 ng/ml para pacientes de bajo riesgo (grupo 1), 7,2 ng/ml para pacientes de riesgo moderado (grupo 2) y 9,8 ng/ml para pacientes de riesgo alto (grupo 3) (Tabla III).

Con base en la bibliografía, los puntos de corte utilizados en la práctica clínica para la clasificación de los pacientes a su llegada al servicio de urgencias son: niveles de suPAR < 3 ng/ml indican un buen pronóstico, pacientes con bajo riesgo de mortalidad o reingreso, ausencia de comorbilidades o que están bien tratadas y sujetos sanos; niveles de suPAR de 3,1 a 8,9 ng/ml indican que el riesgo de mortalidad y de reingreso están elevados, presencia de infecciones agudas o crónicas como cáncer, EPOC, enfermedades cardiovasculares, demencia, diabetes, hepatopatías y enfermedades renales; niveles de suPAR > 9 ng/ml se observan en pacientes graves y en condiciones de amenaza para la vida, como sepsis o daños graves de la función orgánica. El riesgo de mortalidad está significativamente elevado (3).

Tabla II.

Medias y desviaciones estándares obtenidas para la clasificación de los pacientes en distintos grupos (pacientes de bajo riesgo, riesgo moderado y riesgo alto) con cada una de las técnicas

	<i>n</i>	Grupo 1, <i>n</i> = 51	Grupo 2, <i>n</i> = 26	Grupo 3, <i>n</i> = 8
Turbidimetría				
Media ± DE	85	5,0 ± 4,6	7,0 ± 6,0	9,9 ± 6,4
Inmunoensayo de flujo lateral				
Media ± DE	85	5,4 ± 3,3	7,3 ± 8,1	9,7 ± 4,6

DE: desviación estándar.

Tabla III.

Estudio de regresión *Passing-Bablok*

	Valor	IC 95 %	
Ordenada origen	0,059	-1,040	1,209
Pendiente	1,126	0,833	1,396

Los valores medios obtenidos en nuestro estudio para cada grupo (Tabla III) coinciden con los de la bibliografía para el grupo de pacientes de riesgo moderado y alto. Sin embargo, para la clasificación de los pacientes de bajo riesgo, el valor medio obtenido en nuestro estudio es algo mayor (niveles de suPAR por debajo 5 ng/ml frente a 3 ng/ml). Este nuevo punto de corte reduce el tiempo medio de estancia de los pacientes en la urgencia al requerir un menor número de pruebas y de cuidados, lo que se traduce en menores costes hospitalarios.

CONCLUSIONES

Tanto el estudio de intercambiabilidad por regresión lineal de *Passing-Bablok* como el estudio de concordancia mediante el análisis de las diferencias de Bland-Altman concluyen que suPARnostic® Quick Triage

y suPARnostic® TurbiLatex Reagents son intercambiables para la determinación de suPAR.

BIBLIOGRAFÍA

- Martínez Morillo E, Gella Tomás FJ, Alonso Nieva N, et al. Recomendaciones para el estudio de la veracidad en el laboratorio clínico mediante la comparación de procedimientos de medida. Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular Comité Científico. Comisión de Metrología. Abril de 2011; Documento K, Fase 3, Versión 2.
- Urquiza Ayala G, Arteaga Coarite R, Chacón Yucra P. Utilidad de los reactantes de fase aguda en el diagnóstico clínico. Rev Med La Paz 2019;25(2).
- suPAR Monografía. M017 ES. Versión 3. Agosto de 2019.
- Álvarez-Kailis S, Paniagua-Arribas E, Paderne-Díaz B, et al. Valor pronóstico de la forma soluble del receptor activador de plasminógeno de uroquinasa (suPAR) en la predicción de eventos adversos a los 30 días en los servicios de urgencias hospitalarios. Emergencias 2021;33(6):477-9.
- Instructions for Use suPARnostic® Quick Triage soluble urokinase Plasminogen Activator Receptor. Test Device REF A003. ViroGates A/S Denmark.
- Application Note suPARnostic® TurbiLatex Reagents Soluble Urokinase Plasminogen Activator Receptor. REF T001. ViroGates A/S Denmark.
- Bernabéu Andreu FA, Corcho Robleda MA, Redondo Fernández M, et al. Procedimiento de validación de magnitudes bioquímicas en un gasómetro. Aplicación al alcance flexible en la Norma ISO 15189. Laboratorio Clínico 2010;3:58-62.



Reglas automatizadas en el sistema informático del laboratorio para la detección de pseudohiperpotasemias

Automated rules in the laboratory computer system for the detection of pseudohyperkalaemia

Sr. Director:

Hemos leído atentamente la exposición del caso clínico "Pseudohiperpotasemia por trombocitosis: una entidad a veces olvidada", presentado por Sergio Salguero y cols. (1), y ante todo queremos felicitar a los autores por su excelente presentación, aunque nos gustaría matizar algunos aspectos y aportar la experiencia de nuestro centro.

En este caso clínico, se define *pseudohiperpotasemia* como "elevación de potasio sérico superior al menos 0,4 meq/L a la de plasma, aunque se ha llegado a considerar práctico una diferencia de hasta 1 meq/L" (2,3).

Esta definición solo sería aplicable a aquellos casos de pseudohiperpotasemia producida por trombocitosis, pero no a otros casos, como las leucocitosis (linfocitosis) extremas, en las que los valores de la concentración de potasio estarían aumentados tanto en suero como en plasma debido a que, como bien se describe en su artículo, el mecanismo de presentación de la pseudohiperpotasemia se debe a la liberación de potasio intracelular por un aumento de la lisis celular tras la centrifugación.

Por lo tanto, aunque esta definición se ha recogido en la bibliografía de manera histórica y está contemplada en múltiples publicaciones, creemos que puede generar confusión y parece conveniente empezar a utilizar una definición más global y sencilla como: "Falsa elevación de potasio *in vitro*".

Como se muestra en su artículo, la presencia de una pseudohiperpotasemia puede dar lugar a la instauración de tratamientos inadecuados (poliestireno sulfonato cálcico, dieta baja en potasio, etc.), errores diagnósticos (paciente con hiperpotasemia) y aumento de estudios y consultas sucesivas. Es por ello

que los resultados emitidos desde el laboratorio sin interpretación facultativa pueden dar lugar a la creación de una patología ficticia y, por lo tanto, a una utilización inadecuada de los recursos sanitarios, pero sobre todo a un riesgo potencial para la vida del paciente (4).

En nuestro centro, a partir de la presentación del caso clínico que se expone a continuación, se decidió la instauración de una regla en el sistema informático de laboratorio (SIL) que ayudará a la detección de posibles pseudohiperpotasemias:

Mujer de 93 años que acude al Servicio de Urgencias por diarrea y mialgias y que tiene como antecedentes una leucemia linfática crónica. Presenta un valor de potasio de 8,9 mmol/L (3,5-5,1 mmol/L) en la analítica solicitada. No presentaba alteración del perfil hepático ni renal, sin datos analíticos sugerentes de hemólisis ni rhabdomiólisis. El electrocardiograma presentaba un registro normal y no había recibido ningún tratamiento que provocara hiperpotasemia.

En el hemograma la cifra de leucocitos fue 395 540 leucocitos/ μ L (4000-11 600 leucocitos/ μ L), con 384 000 linfocitos/ μ L (1000-3200 linfocitos/ μ L). Se sospechó que pudiera deberse a una elevación espuria de potasio debido a un aumento de la fragilidad celular, por lo que se solicitó desde el laboratorio el envío de una muestra de gasometría en mano para realizar la medición de potasio sin realizar centrifugación. Los valores obtenidos de potasio en sangre total sin centrifugar fueron de 3,6 mmol/L.

Tras este caso, se estableció una regla en SIL que consiste en la ampliación de una prueba interna (prueba no imprimible en el informe) cuando en el hemograma se observa una cifra de leucocitos superior a 100 000 leucocitos/ μ L o de plaquetas superior a 1 000 000 plaquetas/ μ L.

En la prueba interna se adjunta un texto que indica: "Chequear potasio. El paciente presenta un incremento de plaquetas o leucocitos. Es importante la revisión del paciente con hiperpotasemia y también con normopotasemia, ya que pueden enmascarar una hipopotasemia real!"

El primer ámbito de aplicación en nuestro centro ha sido el área de urgencias. Debe considerarse que en nuestra área de urgencias se utilizan muestras de plasma con tubos heparinizados, por lo que la interferencia por trombocitosis es muy poco probable.

Actualmente está en fase de revisión y con perspectiva de ampliar su uso al área de bioquímica de rutina. Transcurrido un año, se evaluarán los casos detectados, la posibilidad de hacer unos rangos más estrictos para evitar la revisión continua de muestras con muy poca probabilidad de presentar el evento y, por supuesto, con la incorporación al área de rutina, la repercusión de la utilización de muestras de suero y de plasma de manera alternativa.

Como conclusión podemos observar que la aplicación de algoritmos o de reglas en el SIL puede ayudar a la detección de situaciones que, al ser poco frecuentes, pueden pasar desapercibidas, sobre todo en el área de urgencias, donde existe mucha rotación de personal, tanto técnico como facultativo, mayor carga puntual de muestras que requieren una respuesta rápida e incluso menor formación, y a mejorar la asistencia a nuestros pacientes, además de a aumentar la seguridad en nuestras áreas de trabajo.

BIBLIOGRAFÍA

1. Salgüero Fernández S, Acedo Sanz JM, Ricard Andrés MP. Pseudohiperpotasemia por trombocitosis: una entidad a veces olvidada. *Rev Med Lab* 2022;3(3):111-3. DOI: 10.20960/revmedlab.00119
2. Sevastos N, Theodossiades G, Archimandritis AJ. Pseudohyperkalemia in serum: A new insight into an old phenomenon. *Clin Med Res* 2008;6(1):30-2.
3. Ranjitkar P, Greene DN, Baird GS, Hoofnagle AN, Mathias PC. Establishing evidence-based thresholds and laboratory practices to reduce inappropriate treatment of pseudohyperkalemia. *Clin Biochem* 2017;50(12):663-9. DOI: 10.1016/j.clinbiochem.2017.03.007
4. Prieto Menchero S, Pacheco Delgado MS, Castañeda de la Mata A. El informe fisiopatológico del laboratorio. Servicio de Laboratorio Clínico. Hospital Universitario de Fuenlabrada. En: Actualizaciones en el Laboratorio Clínico. Madrid: Asociación Española de Biopatología Médica; 2021.

Conflictos de intereses: los autores declaran no presentar conflictos de interés.

Natalia González Pereira, Adela Castañeda de la Mata, Santiago Prieto Menchero
Servicio de Laboratorio Clínico. Hospital Universitario de Fuenlabrada. Fuenlabrada, Madrid

