



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.

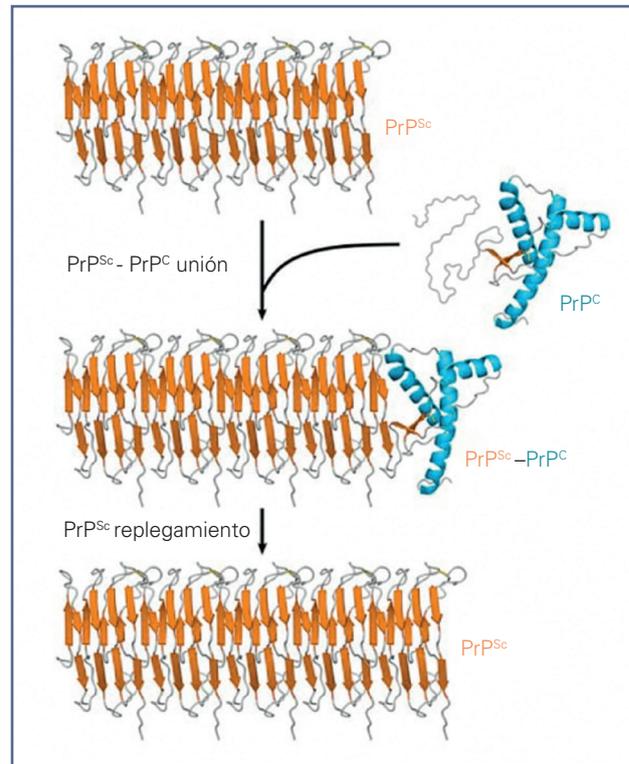


Figura 1 – Mecanismo de conversión y autopropagación de la isoforma normal PrPC en multímeros de la proteína priónica PrPSc. Una unidad de PrPC forma un complejo con PrPSc, el cual induce su cambio conformacional a una estructura rica en láminas β . Coloración: hélices α en azul y láminas β en naranja (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	86-97
	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 inmunoabsorción 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 PrPsc para inducir el plegamiento incorrecto de la isoforma nativa de manera cíclica (11,55,56). Así, la cantidad mínima de PrPsc 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 PrPc a PrPsc en un formato acelerado *in vitro* (56). Para ello, esta técnica utiliza PrP recombinante (rPrP) como sustrato, de manera que cualquier PrPsc 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 sigmoide 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-

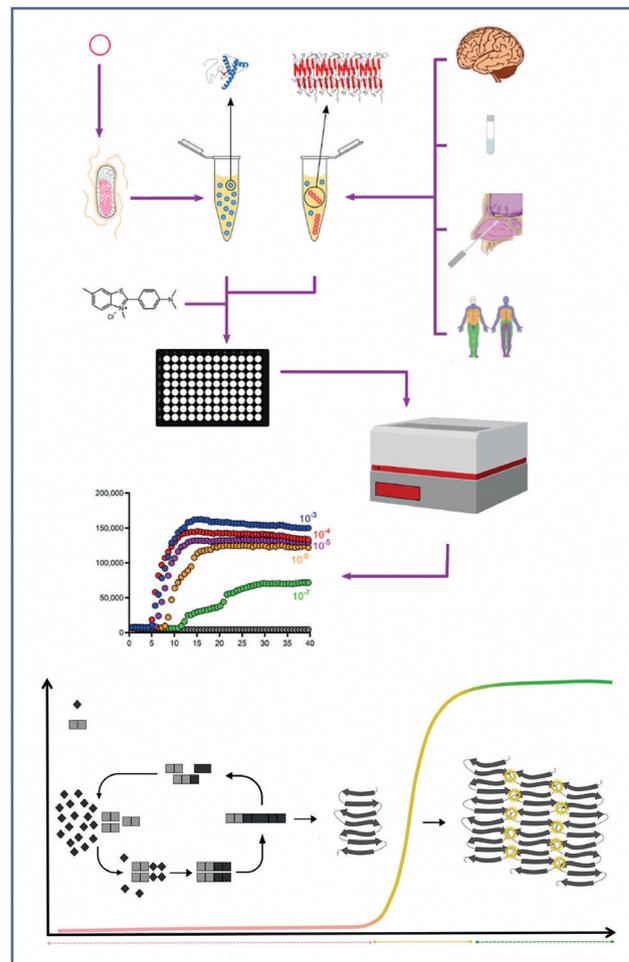


Figura 2 – Esquema del ensayo de RT-QuIC. RT-QuIC utiliza rPrP (recombinante) como sustrato y una muestra de LCR o tejidos (cerebral o periféricos) para estudiar la existencia de proteína priónica en ellos. Tras la homogeneización del posible material infeccioso con la fuente de rPrP, se añade el tampón 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 PrPsc 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 sigmoide 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