

- REVISTA DE -
**MEDICINA DE
LABORATORIO**

ISSN (versión papel): 2660-7484

ISSN (versión electrónica): 2660-7638

Vol. 3 Núm. 3 | septiembre-diciembre 2022 | Págs. 93-125

Editorial

- A propósito de un despropósito 93
E. Rodríguez Borja, M. R. Caro Narros

Original

- Routine laboratory tests for risk stratification of COVID-19 patients discharged from the Emergency Department 95
L. García de Guadiana-Romualdo, E. Montoro Jorquera, M. T. Orgaz Morales, M. González Morales, E. Martín García, Á. Puche Candel

Revisión

- Utilidad de la espectrometría de masas para el análisis de metabolitos en líquido cefalorraquídeo de pacientes con errores congénitos del metabolismo 101
M. A. Caro-Miró, B. Morales-Romero, J. García-Villoria

Casos Clínicos

- Pseudohiperpotasemia por trombocitosis: una entidad a veces olvidada 111
S. Salguero Fernández, J. M. Acedo Sanz, M. P. Ricard Andrés

- Reinfección por SARS-CoV-2: infección por las variantes delta y ómicron en un periodo de 20 días 114
G. Recio Comí, C. Benavent Bofill, C. Andrés, A. Antón, C. Gutiérrez Fornés

Imágenes/Infografías

- Cristales de cistina en orina 117
S. Castañeda Nieto, F. Prada Blanco, C. Macías Blanco

- Infiltración de médula ósea por *Leishmania spp.* en paciente con mieloma múltiple 119
S. García Muñoz, A. García Menchón

Entrevista/Podcast

- Test prenatal no invasivo: preguntas emergentes desde el laboratorio clínico 121
A. Pozo Giráldez

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

AEFA
Asociación Española del Laboratorio Clínico

www.revistamedicinadelaboratorio.es

ARÁN

©AEBM-ML (2022)
©AEFA (2022)
©Arán Ediciones, S.L. (2022)

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-14367-2022

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.

www.revistamedicinadelaboratorio.es



Equipo Directivo

DIRECTOR

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

EDITORA JEFE

Dra. M^a del Rosario Caro Narrós
(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



Santiago Prieto Menchero

**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. 3 Núm. 3 | septiembre-diciembre 2022

Sumario

Editorial

A propósito de un despropósito 93
E. Rodríguez Borja, M. R. Caro Narros

Original

Biomarcadores clásicos para la estratificación del riesgo de pacientes con COVID-19 dados de alta desde el Servicio de Urgencias 95
L. García de Guadiana-Romualdo, E. Montoro Jorquera, M. T. Orgaz Morales, M. González Morales, E. Martín García, Á. Puche Candel

Revisión

Utilidad de la espectrometría de masas para el análisis de metabolitos en líquido cefalorraquídeo de pacientes con errores congénitos del metabolismo 101
M. A. Caro-Miró, B. Morales-Romero, J. García-Villoria

Casos Clínicos

Pseudohiperpotasemia por trombocitosis: una entidad a veces olvidada 111
S. Salguero Fernández, J. M. Acedo Sanz, M. P. Ricard Andrés

Reinfección por SARS-CoV-2: infección por las variantes delta y ómicron en un periodo de 20 días 114
G. Recio Comí, C. Benavent Bofill, C. Andrés, A. Antón, C. Gutiérrez Fornés

Imágenes/Infografías

Cristales de cistina en orina 117
S. Castañeda Nieto, F. Prada Blanco, C. Macías Blanco

Infiltración de médula ósea por *Leishmania spp.* en paciente con mieloma múltiple 119
S. García Muñoz, A. García Menchón

Entrevista/Podcast

Test prenatal no invasivo: preguntas emergentes desde el laboratorio clínico ... 121
A. Pozo Giráldez



- REVISTA DE - MEDICINA DE LABORATORIO

www.revistamedicinadelaboratorio.es

Vol. 3 No. 3 | September-December 2022

Summary

Editorial

About a nonsense 93
E. Rodríguez Borja, M. R. Caro Narros

Original

Routine laboratory tests for risk stratification of COVID-19 patients discharged from the Emergency Department 95
L. García de Guadiana-Romualdo, E. Montoro Jorquera, M. T. Orgaz Morales, M. González Morales, E. Martín García, Á. Puche Candel

Review

Mass spectrometry utility for the analysis of cerebrospinal fluid metabolites from patients with inborn errors of metabolism 101
M. A. Caro-Miró, B. Morales-Romero, J. García-Villoria

Case Reports

Pseudohyperkalaemia due to thrombocytosis: an entity sometimes forgotten 111
S. Salgüero Fernández, J. M. Acedo Sanz, M. P. Ricard Andrés

SARS-CoV-2 reinfection: delta and omicron variant infection within 20 days ... 114
G. Recio Comí, C. Benavent Bofill, C. Andrés, A. Antón, C. Gutiérrez Fornés

Images/Inphographics

Cystine crystals in urine 117
S. Castañeda Nieto, F. Prada Blanco, C. Macías Blanco

Bone marrow infiltration by *Leishmania spp.* in a multiple mieloma patient 119
S. García Muñoz, A. García Menchón

Interview/Podcast

Non invasive prenatal testing: emerging questions from the clinical laboratory 121
A. Pozo Giráldez



A propósito de un despropósito

About a nonsense

Despropósito. m. Dicho o hecho fuera de razón, de sentido o de conveniencia.

Hace apenas un par de meses se celebró el último Congreso Nacional del Laboratorio Clínico LabClin2022, organizado por las tres sociedades de laboratorio clínico españolas (AEBM-ML, AEFA y SEQC-ML). Tras dos años sin haber podido realizar un congreso presencial debido a la pandemia, el Congreso LabClin2022 ha sido, sin lugar a dudas, un éxito organizativo y de afluencia profesional que merece una efusiva felicitación por nuestra parte al comité organizador. Pero lo más importante es que el congreso ha vuelto a resaltar la importancia de disponer de un foro único a nivel nacional donde todos los compañeros del sector podamos reunirnos, encontrarnos, discutir sobre proyectos y compartir conocimiento y experiencias de éxito.

Durante esos días el comité editorial de *Revista de Medicina de Laboratorio*, como viene siendo habitual desde nuestra fundación, revisó pormenorizadamente todas las comunicaciones científicas aceptadas con el fin de detectar aquellas con la calidad y la originalidad suficientes como para que los autores reciban tras el congreso una invitación a publicar sus hallazgos en nuestra revista. Huelga decir que aquellas veinte seleccionadas para el Premio a la Mejor Comunicación también están en nuestro punto de mira. No es una tarea sencilla, puesto que hablamos de casi un millar de comunicaciones anuales.

Nuestra experiencia revisando y "tamizando" comunicaciones a congresos durante los últimos años de una manera global despertó un presentimiento que quisimos analizar con mayor profundidad. La sensación que subyace es que, en estos últimos años, el número de casos clínicos aceptados en el Congreso Nacional del Laboratorio Clínico ha aumentado de manera ostensible. Hay que dejar claro que no tenemos nada

en contra del caso clínico como forma de comunicación científica, todo lo contrario (1). Es más, desafortunadamente hemos sido una especialidad que históricamente ha desatendido su vertiente clínica para centrarse en los aspectos más metodológicos y procedimentales y puede que necesitáramos un oportuno empuje en este sentido. A este respecto, siempre encontrará cabida en nuestra publicación un caso clínico que destaque la relevancia capital del laboratorio en su resolución o en el manejo del paciente y, además, aporte un aspecto novedoso o poco conocido de nuestro impacto en el proceso asistencial global.

Ahora bien, también es cierto que habitualmente el caso clínico se considera un tipo de comunicación científica de mayor sencillez en su elaboración y que implica una menor carga de trabajo previo. Asimismo, su relevancia, originalidad, impacto y alcance suelen ser inferiores a las de una comunicación "clásica"; lo que en nuestra humilde opinión compromete en cierto modo la calidad científica del congreso.

De igual manera, el hecho de emplear en los títulos de las comunicaciones la muletilla "a propósito de un caso" es un claro ejemplo de redacción incorrecta, ya que constituye un pleonismo desaconsejado por la gran mayoría de revistas y guías de escritura científicas.

Dada nuestra naturaleza inquieta, quisimos corroborar esa sensación, para lo que revisamos todos y cada uno de los libros de comunicaciones de todas las ediciones del Congreso Nacional del Laboratorio Clínico desde 2007 a 2022 con el fin de contabilizar y clasificar los casos clínicos aceptados respecto del total de comunicaciones. Además, determinamos el porcentaje que incluyó "a propósito de un caso" en su título (Tabla I).

Tabla I.

Casos clínicos aceptados en el Congreso Nacional del Laboratorio Clínico desde 2007 a 2022 respecto al total de comunicaciones

| Año | Total de comunicaciones | Casos clínicos (%) | "A propósito de un caso" en el título (%) |
|------|-------------------------|--------------------|---|
| 2007 | 924 | 5,6 | 1,6 |
| 2008 | 910 | 11,2 | 4,0 |
| 2009 | 1097 | 12,5 | 4,6 |
| 2010 | 996 | 18,2 | 6,4 |
| 2011 | 1174 | 18,3 | 7,2 |
| 2012 | 917 | 23,6 | 8,3 |
| 2013 | 938 | 26,2 | 2,5 |
| 2014 | 951 | 29,2 | 9,5 |
| 2015 | 901 | 29,4 | 9,2 |
| 2016 | 914 | 31,4 | 11,1 |
| 2017 | 1059 | 32,6 | 10,6 |
| 2018 | 989 | 36,9 | 10,9 |
| 2019 | 841 | 34,8 | 17,0 |
| 2020 | 1092 | 34,2 | 17,1 |
| 2021 | 1246 | 32,4 | 16,7 |
| 2022 | 954 | 40,4 | 20,6 |

Los resultados son ciertamente descorazonadores: 4 de cada 10 comunicaciones en el último congreso nacional fueron casos clínicos y un 50 % de estos incluyó en su título una expresión claramente desaconsejada. Pero lo que es indudablemente peor es la tendencia creciente. La tasa de casos clínicos se ha multiplicado por 8 en 15 años.

Lejos de constituir una crítica gratuita, nuestros hallazgos (y esta editorial) sencillamente buscan introducir elementos de reflexión y de debate dentro de nuestra comunidad científica. El aumento desproporcionado de la tasa de casos clínicos estos últimos años pone

de manifiesto una pérdida de dinamismo y de originalidad en las comunicaciones que se envían al congreso, lo que puede suponer una merma importante en su calidad a este nivel. Esta pérdida de dinamismo se traduce, como es obvio, en los manuscritos originales que recibimos en *Revista de Medicina de Laboratorio*: la inmensa mayoría son casos clínicos de baja o muy baja utilidad y que, por lo tanto, son rechazados. De hecho, algunas revistas de nuestro mismo campo ya no aceptan este tipo de trabajos al considerarlos "menores".

Por último, instamos a las Sociedades Científicas de la especialidad a que estudien las múltiples causas que pueden justificar este fenómeno con el fin de paliarlo. Algunas de ellas podrían ser la menor carga de trabajo requerida para los casos en comparación con otro tipo de comunicaciones, el escaso tiempo entre un congreso y la fecha límite de envío de originales para el siguiente o no tener fijado un porcentaje máximo de aceptación para este tipo de comunicaciones, entre otras. La producción científica de nuestros jóvenes especialistas y residentes no debería basarse primordialmente en la presentación de casos clínicos. Una especialidad médica que no genera conocimiento o evidencia de alto grado estará siempre condenada al ostracismo. No cometamos un despropósito.

Agradecimientos: quisiéramos agradecer especialmente a la Dra. Marta Bello Rego, residente del Hospital do Meixoeiro, su colaboración a la hora de revisar los libros de comunicaciones de los congresos nacionales.

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

Enrique Rodríguez Borja¹
y M.^a del Rosario Caro Narros²

¹Director y ²Editora Jefe
de la *Revista de Medicina de Laboratorio*

BIBLIOGRAFÍA

1. Nissen T, Wynn R. The clinical case report: a review of its merits and limitations. *BMC Res Notes* 2014;7:264. DOI: 10.1186/1756-0500-7-264



Original

Routine laboratory tests for risk stratification of COVID-19 patients discharged from the Emergency Department

Biomarcadores clásicos para la estratificación del riesgo de pacientes con COVID-19 dados de alta desde el Servicio de Urgencias

Luis García de Gadiana-Romualdo¹, Esther Montoro Jorquera², Manuel Tomás Orgaz Morales¹, Mercedes González Morales¹, Elena Martín García¹, Ángela Puche Candel¹

¹Laboratory Medicine Department and ²Emergency Department. Hospital General Universitario Santa Lucía. Cartagena, Murcia, Spain

Received: 22/08/2022

Accepted: 22/11/2022

Correspondence: Luis García de Gadiana-Romualdo. Laboratory Medicine Department. Hospital General Universitario Santa Lucía. C/ Mezquita, s/n. Paraje Los Arcos. 30202 Santa Lucía, Cartagena. Murcia, España
e-mail: guadianarom@yahoo.es

Keywords:

COVID-19. Emergency Department. Discharge. Risk-stratification. Canonical biomarkers.

ABSTRACT

Objective: to evaluate the value of canonical biomarkers for prognosis of COVID-19 patients discharged from Emergency Department (ED) to home for ambulatory management.

Methods: single-center study. Primary outcome was the return hospital admission.

Results: population study included 145 patients. 19 (13.1 %) patients revisited ED requiring admission to hospital. LDH was the biomarker with the highest discriminatory ability for outcome. The hospitalization was associated with elevated LDH activity and creatinine levels and decreased sodium levels.

Conclusion: canonical biomarkers as LDH might have a role for prognosis in seemingly stable COVID-19 patients.

Research funding: none declared.

Author contributions: LGGR conceived the idea and wrote the manuscript. EMJ, MGR, EMG and APC collected the data and MTOM contributed to statistical analysis. All the authors approved the final version of this manuscript.

Competing interests: authors state no conflict of interest.

DOI: 10.20960/revmedlab.00147

García de Gadiana-Romualdo L, Montoro Jorquera E, Orgaz Morales MT, González Morales M, Martín García E, Puche Candel Á. Routine laboratory tests for risk stratification of COVID-19 patients discharged from the Emergency Department. Rev Med Lab 2022;3(3):95-100

Palabras clave:

COVID-19. Servicio de Urgencias. Alta. Estratificación del riesgo. Biomarcadores clásicos.

RESUMEN

Objetivo: evaluar la utilidad de biomarcadores clásicos para el pronóstico de pacientes con COVID-19 dados de alta desde el Servicio de Urgencias (SU) para manejo ambulatorio.

Métodos: estudio unicéntrico. La revisita a urgencias con ingreso hospitalario fue definida como el evento principal.

Resultados: la población de estudio incluyó 145 pacientes, de los que 19 (13,1 %) regresaron al SU y requirieron ingreso hospitalario. La LDH fue el biomarcador con mayor capacidad discriminadora. La hospitalización estuvo asociada con el incremento de LDH y creatinina y descenso de sodio.

Conclusión: biomarcadores como la LDH pueden tener utilidad para el pronóstico de pacientes con COVID-19 aparentemente estables.

INTRODUCTION

The role of clinical laboratories in COVID-19 pandemic includes staging, prognostication and therapeutic monitoring. Hence, numerous laboratory tests have been identified as outcome-related predictors in hospitalized patients (1), but their usefulness for a safe discharge of seemingly stable COVID-19 patients admitted to an Emergency Department (ED) has been scarcely studied.

Because in the current context of high transmissibility, less severity and high rate of vaccinated individuals, to identify which patients can be safely discharged to home for self-isolation is a challenge for ED physicians (2), we evaluated the role of canonical biomarkers for short-term (14 days) risk stratification of COVID-19 patients discharged from ED.

MATERIALS AND METHODS**Study design and patients**

This was a single-center prospective observational study recruiting symptomatic and laboratory-confirmed adult COVID-19 patients admitted to the ED of our hospital from November 29 2021 to January 13 2022 and discharged to home for ambulatory care. Exclusion criteria were: 1) patients with criteria for hospital admission, but requiring self-discharge from the ED; 2) pregnant women, and 3) follow-up not feasible or lack of social support for ambulatory care. The criteria for ED discharge were the presence of stability hemodynamic and the absence of respiratory insufficiency, defined as respiratory rate ≤ 24 breaths per minute and oxygen saturation ≥ 94 %.

The study was approved by the local Ethics Committee (E.O.2020-38 LAB2-COVID19) and performed under a waiver of informed consent, because samples were not collected for research purpose (3), and in accordance with the Declaration of Helsinki.

The primary outcome was the return hospital admission, defined as an unscheduled return ED visit

for COVID-19-related symptoms requiring hospitalization within 14 days from discharge.

Variables to collect

For eligible patients, health records underwent individual chart review by a ED physician to extract the following data, selected from literature (4-12): demographics, previous comorbidities, laboratory tests on admission to ED, vaccination status and outcome data.

Laboratory assays

Samples were analysed for sodium and potassium ions, by indirect potentiometry on Cobas ISE analyzer (Roche Diagnostics, Switzerland); creatinine, by a colorimetric assay (Jaffe reaction); C-reactive protein (CRP), by an immunoturbidimetric assay; lactate dehydrogenase (LDH), by an ultraviolet assay (lactate to pyruvate, traceable to IFCC method) and alanine aminotransferase (ALT), by a method according to IFCC without pyridoxal phosphate activation, on Cobas c702 (Roche Diagnostics, Switzerland) platform; procalcitonin by a chemiluminiscent enzyme immunoassay on G600II analyzer (Fujirebio Diagnostics Inc. Japan); D-dimer, by immunoturbidimetry on ACL-TOP Family (Instrumentation Laboratory, US) analyzers; and cell blood count by flow cytometry on Sysmex XN (Sysmex, Japan) analyzers (13).

Statistical analysis

Continuous variables were tested for normal distribution using the Kolmogorov-Smirnov or Shapiro-Wilk tests, as appropriate. Data were described as numbers and percentages for categorical variables and as medians (interquartile ranges [IQR]) or mean (standard deviation [SD]) for continuous data. Comparisons between groups were performed with chi-square or Fisher tests

for categorical data and Mann-Whitney U or t-Student tests for continuous data, as appropriate. Areas under the receiver operating characteristic (ROC) curve (AUC) were calculated as a measure of the discriminatory ability for the outcome and optimal cut-offs were defined as the value maximizing the Youden index. We also investigated the association of biomarkers with the endpoint reporting odds ratios (ORs) with corresponding 95% confidence intervals (CIs).

Statistical analysis was performed using SPSS vs. 22 (SPSS Inc) and MedCalc 15.0 (MedCalc Software). Statistical significance was set at 5 %.

RESULTS

During the enrolment period, 160 COVID-19 patients were recruited. Finally, before exclusion criteria were applied, the study population included 145 COVID-19 patients discharged from the ED for ambulatory follow-up. Revisits to the ED within 14 days occurred for 41/145 (28.3 %) of patients and returns resulting in hospitalization within 14 days occurred in 19/145 (13.1%) of patients. A summary of the results is provided in table I.

Focusing on laboratory findings, creatinine, procalcitonin, CRP, ALT, LDH, were significantly higher and, in contrast, sodium significantly lower, in patients revisiting the ED and requiring admission to hospital (Table I). We also investigated which baseline factors were associated with our primary endpoint by means of discrimination and association. For discrimination, LDH was the biomarker with the highest ROC AUC, greater

than 0.8 (Table II) (Fig. 1). Optimal cutoffs are listed in table III (LDH: 237 U/L, creatinine: 76.91 mmol/L, procalcitonin: 0.06 mg/L, ALT: 21 U/L and CRP: 14.8 mg/L) achieving all of them a high negative predictive value, greater than 95%, to rule-out the outcome. Finally, only LDH, creatinine and sodium were associated in univariate analysis with the primary outcome (Table II).

Of note, those patients revisiting the ED but not requiring admission to hospital (n = 22) showed lower levels than the selected cutoffs for LDH, creatinine, CRP, procalcitonin and ALT.

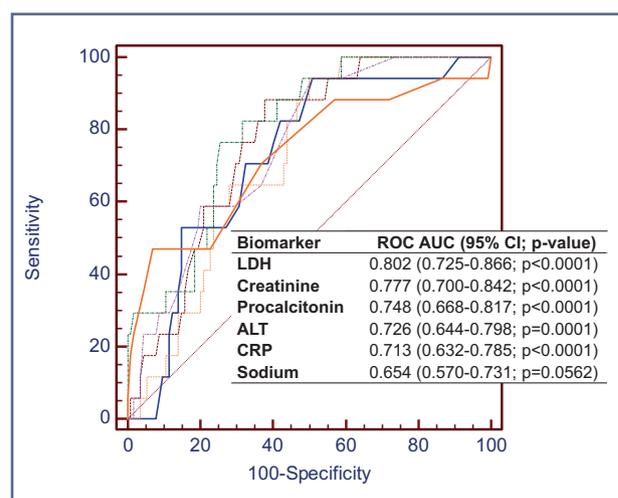


Figure 1 – ROC curves of biomarkers for outcome.

Table I.
Baseline characteristics in overall population and in groups according to return hospital admission

| | All patients n = 145 | Non-return hospital admission n = 126 (86.9 %) | Return hospital admission n = 19 (13.1 %) | p |
|--|-------------------------|---|--|---------|
| Age (years), mean (DE) | 51.3 (16.8) | 50.9 (17.4) | 54 (11.6) | 0.449 |
| Sex, male (n [%]) | 75 (51.7) | 60 (47.6) | 15 (78.9) | 0.011 |
| Vaccination stage, vaccinated (n [%]) | | | | |
| Vaccinated | 92 (63.4) | 87 (69.0) | 5 (26.3) | < 0.001 |
| Non-vaccinated | 53 (36.6) | 39 (31.0) | 14 (73.7) | |
| Time from symptom onset (days), median (IQR) | 4 (2-7) | 3 (1-7) | 5 (4-7) | 0.028 |
| Time from discharge to ED revisit (days), median (IQR) | 3 (2-5) | - | - | - |
| Comorbidities, n (%) | | | | |
| Hypertension | 45 (31.0) | 37 (29.4) | 9 (42.1) | 0.263 |
| Diabetes mellitus | 20 (13.8) | 17 (13.5) | 3 (15.8) | 0.728 |

(Continues on next page)

| Table I (cont.) | | | | |
|---|-------------------------|---|--|----------|
| Baseline characteristics in overall population and in groups according to return hospital admission | | | | |
| | All patients n = 145 | Non-return hospital admission n = 126 (86.9 %) | Return hospital admission n = 19 (13.1 %) | <i>p</i> |
| Rheumatologic diseases | 9 (6.2) | 9 (7.1) | 0 | 0.272 |
| COPD or other chronic respiratory diseases | 17 (11.7) | 16 (12.7) | 1 (5.3) | 0.310 |
| Cardiovascular disease | 15 (10.3) | 12 (9.5) | 3 (15.8) | 0.310 |
| Chronic kidney disease | 9 (6.2) | 6 (4.8) | 3 (15.8) | 0.096 |
| Active cancer | 5 (3.4) | 3 (2.4) | 2 (10.5) | 0.128 |
| Immunosuppression | 9 (6.2) | 6 (4.8) | 3 (15.8) | 0.096 |
| Laboratory findings | | | | |
| Creatinine (mmol/L) | 74.3 (58.4-92.8) | 71.6 (57.5-85.8) | 97.2 (84.0-106.1) | <0.001 |
| Sodium (mmol/L) | 139 (137-141) | 139 (138-141) | 138 (134-139) | 0.030 |
| Potassium (mmol/L), n = 139 | 4.2 (3.9-4.5) | 4.2 (3.9-4.5) | 4.3 (4.1-4.5) | 0.495 |
| ALT (U/L), n=140 | 22 (15-34) | 21 (15-31) | 41 (25-47) | 0.003 |
| LDH (U/L), n=136 | 211 (169-263) | 206 (166-243) | 264 (246-387) | <0.001 |
| CRP (mg/L) | 17.3 (6.1-45.3) | 15.1 (5.4-33.2) | 38.4 (18.2-58.0) | 0.003 |
| Procalcitonin (mg/L), n = 142 | 0.06 (0.04-0.11) | 0.06 (0.03-0.10) | 0.12 (0.07-0.15) | 0.001 |
| WBC count (*10 ⁹ /L) | 6.27 (4.75-8.09) | 6.23 (4.72-8.30) | 6.51 (5.70-7.81) | 0.688 |
| Neutrophil count (*10 ⁹ /L) | 4.19 (2.83-5.49) | 3.95 (2.67-5.49) | 4.47 (3.77-5.61) | 0.302 |
| Lymphocyte count (*10 ⁹ /L) | 1.33 (0.98-1.82) | 1.38 (1.01-1.87) | 1.16 (0.98-1.31) | 0.110 |
| NLR | 3.1 (2.1-4.9) | 2.9 (2.0-4.8) | 4.02 (3.1-5.2) | 0.058 |
| Platelet count (*10 ⁹ /L) | 205 (170-252) | 209 (170-255) | 179 (169-200) | 0.097 |
| D-dimer (ng/mL FEU), n = 139 | 457 (272-713) | 469 (271-749) | 440 (319-655) | 0.979 |

ED: Emergency Department; IQR: Interquartile range; DE: deviation standard; COPD: Chronic Obstructive Pulmonary Disease; ICU: Intensive Care Unit; LOS: length of stay (days); LDH: lactate dehydrogenase; ALT: alanine aminotransferase; CRP: C-reactive protein; WBC: white blood cell; NLR: neutrophil-to-lymphocyte ratio.

| Table II. | | |
|--|--|--|
| Analysis of discriminatory ability and association of biomarkers with the primary endpoint | | |
| Biomarker | ROC AUC (95 CI %; <i>p</i>) | Univariate OR (95 % CI; <i>p</i>) |
| LDH | 0.802 (0.725-0.866; <i>p</i> < 0.0001) | 1.015 (1.007-1.022; <i>p</i> < 0.001) |
| Creatinine | 0.777 (0.700-0.842; <i>p</i> < 0.0001) | 4.963 (1.382-17.820; <i>p</i> = 0.014) |
| Procalcitonin | 0.748 (0.668-0.817; <i>p</i> < 0.0001) | 1.149 (0.359-1.149; <i>p</i> = 0.815) |
| ALT | 0.726 (0.644-0.798; <i>p</i> = 0.0001) | 1.011 (0.994-1.029; <i>p</i> = 0.220) |
| CRP | 0.713 (0.632-0.785; <i>p</i> < 0.0001) | 1.120 (0.988-1.270; <i>p</i> = 0.077) |
| Sodium | 0.654 (0.570-0.731; <i>p</i> = 0.0562) | 0.801 (0.677-0.948; <i>p</i> = 0.010) |

Only biomarkers with a significant difference between groups were included in the analysis. ROC: receiver operating characteristics; AUC: area under the curve; CI: confidence interval; OR: odd ratio; LDH: lactate dehydrogenase; ALT: alanine aminotransferase; CRP: C-reactive protein.

Table III.
Accuracy of biomarkers for predicting return hospital admission

| Biomarker | Cutoff* | Sensitivity (95 CI %) | Specificity (95 CI %) | Positive predictive value (95 CI %) | Negative predictive value (95 CI %) |
|---------------|--------------|-----------------------|-----------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|
| LDH | 237 U/L | 82.4 (56.6-96.2) | 69.8 (60.7-77.8) | 28.0 (16.2-42.5) | 96.5 (90.1-99.3) |
| Creatinine | 76.91 mmol/L | 89.5 (66.9-98.7) | 59.5 (50.4-68.2) | 25.0 (15.3-37.0) | 97.4 (90.9-99.7) |
| Procalcitonin | 0.06 mg/L | 94.4 (72.7-99.9) | 50.0 (40.9-59.1) | 21.5 (13.0-32.3) | 98.4 (91.4-100) |
| ALT | 21 U/L | 94.1 (71.3-99.9) | 48.8 (39.7-58.0) | 20.3 (12.0-30.8) | 98.4 (91.2-100) |
| CRP | 14.8 mg/L | 94.7 (74.0-99.9) | 49.2 (40.2-58.3) | 22.0 (13.6-32.5) | 98.4 (91.4-100) |

*Optimal cut-off according to Index Youden. CI: confidence interval; LDH: lactate dehydrogenase; ALT: alanine aminotransferase; CRP: C-reactive protein.

DISCUSSION

Similar to other infectious diseases, an early diagnosis and assessment of severity is therefore key in order to initiate triaging and appropriate therapeutic strategies in patients infected by SARS-CoV-2. Hence, trying to identify those that could be safely discharged from ED for ambulatory care would avoid the admission of patients with uncomplicated infections who are at no further risk of disease progression that subsequently leads to extra clinical workload and financial burden. The use of laboratory tests for assessing disease severity may therefore be of great clinical interest in order to facilitate improved triaging and earlier therapeutic decisions.

Recent studies have reported the association between the need for hospitalization among COVID-19 patients initially discharged from ED for ambulatory care and different factors, including time from onset of symptoms, demographics such as age ≤ 48 years, symptoms such as fever and comorbidities such as COPD, hypertension, cognitive impairment, diabetes mellitus, coronary artery disease and chronic kidney disease (6,7,11,12). Although some studies have reported the value of emerging biomarkers, such as soluble urokinase plasminogen activator receptor (suPAR) and mid-regional pro-adrenomedullin (MR-proADM), for a safe discharge of COVID-19 patients in an ED (9,14), the role of canonical biomarkers usually available in STAT laboratories is less known. Hernández-Biete *et al.* identified a lymphocyte count $< 1.0 \times 10^9$ as predictor for hospitalization afterwards (4). In a similar study, admission was associated with elevated LDH and creatin-kinase levels and lymphopenia (12). Moreno-Pérez *et al.* (15) have also reported significant higher CRP, procalcitonin, LDH, and potassium levels and lower lymphocyte count in mild COVID-19 patients initially discharged from ED and admitted to hospital later. In Menditto *et al.* study, patients requiring a return hospital admission had higher procalcitonin and D-dimer

levels and neutrophilia was a major predictor of return hospital admission (7). Our results confirm the potential role of some canonical biomarkers for predicting revisit to the ED and hospital admission. Inflammatory biomarkers such as LDH achieved a high discriminatory ability for the outcome, with ROC AUC above 0.8.

This study has some limitations. First, the sample size was small and a previous estimation was not calculated, limiting the fastness of our findings. Second, due to preanalytical interferences for measurement of some biomarkers, such as hemolysis for potassium, ALT, LDH or D-dimer, not all evaluated laboratory parameters were available for all patients, resulting in some missing data. Also, only association for biomarkers and outcome was studied and we did not perform multivariable analysis due to the small sample size and number of outcomes. However, the main purpose was not to derive a multivariable prediction model, including demographics, comorbidities and other variables, but rather to identify potential easily available biomarkers for risk-stratification of COVID-19 patients discharged from ED. Hence, we strongly encourage such an effort performing multicenter surveys, which would be much more generalizable.

In conclusion, in apparently stable COVID-19 patients discharged from ED, canonical blood biomarkers such as LDH might be used as support tools to help clinicians. Further investigations are needed in order to develop risk stratification tools including these biomarkers and other variables, which help physicians to choose the better disposition for patients with COVID-19 in the ED.

REFERENCES

- Rubio-Sánchez R, Esteban de Celis MC, Zárate M, Giménez Blanco M, Vilorio Peñas MM. Factores pronósticos de muerte en pacientes con infección por SARS-CoV-2 ingresados en UCI. *Rev Med Lab* 2021;2(3):91-9.

2. Llorens P, Moreno-Pérez O, Espinosa B, García T, Payá AB, Sola S, et al. An integrated emergency department/hospital at home model in mild COVID-19 pneumonia: feasibility and outcomes after discharge from the emergency department. *Intern Emerg Med* 2021;16(6):1673-82. DOI: 10.1007/s11739-021-02724-w
3. Borovecki A, Mlinaric A, Horvat M, Supak Smolcic V. Informed consent and ethics committee approval in laboratory medicine. *Biochem Med (Zagreb)* 2018;28(3):030201. DOI: 10.11613/BM.2018.030201
4. Hernández-Biette A, Sanz-Santos J, Boix-Palop L, Navarro Rolón A, Martínez-Palau M, de la Sierra Iserte A. Risk factors for later hospitalization of patients discharged from an emergency department with nonsevere COVID-19 symptoms. *Emergencias* 2020;32(6):413-5.
5. Kilaru AS, Lee K, Snider CK, Meisel ZF, Asch DA, Mitra N, et al. Return Hospital Admissions Among 1419 COVID-19 Patients Discharged from Five U.S. Emergency Departments. *Acad Emerg Med* 2020;27(10):1039-42. DOI: 10.1111/acem.14117
6. López-Barbeito B, García-Martínez A, Coll-Vinent B, Placer A, Font C, Vargas CR, et al; Grupo de Trabajo sobre la atención de la COVID-19 en Urgencias (COVID19-URG). Factors associated with revisits by patients with SARS-CoV-2 infection discharged from a hospital emergency department. *Emergencias* 2020;32(6):386-94.
7. Menditto VG, Fulgenzi F, Bonifazi M, Gnudi U, Gennarini S, Mei F, et al. Predictors of readmission requiring hospitalization after discharge from emergency departments in patients with COVID-19. *Am J Emerg Med* 2021;46:146-9. DOI: 10.1016/j.ajem.2021.04.055
8. Husain I, O'Neill J, Mudge R, Bishop A, Soltany KA, Heinen J, et al. Clinical Characteristics Associated with Return Visits to the Emergency Department after COVID-19 Diagnosis. *West J Emerg Med* 2021;22(6):1257-61. DOI: 10.5811/westjem.2021.9.52824
9. Chalkias A, Skoulakis A, Papagiannakis N, Laou E, Turlakopoulos K, Pagonis A, et al; SPARCOL Investigators. Circulating suPAR associates with severity and in-hospital progression of COVID-19. *Eur J Clin Invest* 2022;52(7):e13794. DOI: 10.1111/eci.13794
10. Berdahl CT, Glennon NC, Henreid AJ, Torbati SS. The safety of home discharge for low-risk emergency department patients presenting with coronavirus-like symptoms during the COVID-19 pandemic: A retrospective cohort study. *J Am Coll Emerg Physicians Open* 2020;1(6):1380-5. DOI: 10.1002/emp2.12230
11. McKay B, Meyers M, Rivard L, Stoltzfus J, Rammohan G, Stankewicz H. Predicting 30-Day outcomes in emergency department patients discharged with COVID-19. *Am J Emerg Med* 2021;50:513-7. DOI: 10.1016/j.ajem.2021.08.077
12. Gutiérrez Gabriel S, Domínguez García MJ, Pérez Mañas G, Moreno García N, Silvan Domínguez M, Andrés EM. Biological markers and follow-up after discharge home of patients with COVID-19 pneumonia. *Emergencias* 2021;33(3):174-80.
13. González del Castillo J, Piñera Salmerón P, Jiménez S, Losa JE, Berenguer J, Moreno S, et al. Manejo de la infección por SARS-CoV-2 en urgencias. *REUE* 2022;1:23-7.
14. Saeed K, Legramante JM, Angeletti S, Curcio F, Miguens I, Poole S, et al. Mid-regional pro-adrenomedullin as a supplementary tool to clinical parameters in cases of suspicion of infection in the emergency department. *Expert Rev Mol Diagn* 2021;21(4):397-404. DOI: 10.1080/14737159.2021.1902312
15. Moreno-Pérez Ó, Ribes I, Fuertes-Kenneally L, Carratalá JM, Román F, Otero-Rodríguez S, et al. Effective fast-track ambulatory care pathway for patients with COVID-19 at risk for poor outcome: the COVID-A2R model in a hospital emergency department. *Emergencias* 2022;34(2):103-10.



Revisión

Utilidad de la espectrometría de masas para el análisis de metabolitos en líquido cefalorraquídeo de pacientes con errores congénitos del metabolismo

Mass spectrometry utility for the analysis of cerebrospinal fluid metabolites from patients with inborn errors of metabolism

Maria Antònia Caro-Miró¹, Blai Morales-Romero^{1,2}, Judit García-Villoria¹⁻³

¹Sección de Errores Congénitos del Metabolismo. IBC-Clínic. Servicio de Bioquímica y Genética Molecular. Centro de Diagnóstico Biomédico. Hospital Clínic. Barcelona. ²Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS). Barcelona. ³Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras (CIBERER). Barcelona

Recibido: 14/09/2022
Aceptado: 17/12/2022

Correspondencia: Maria Antònia Caro Miró. Sección de Errores Congénitos del Metabolismo. IBC-Clínic. C/ Mejía Lequerica, s/n. Edificio Helios III. 08028 Barcelona. e-mail: macaro@clinic.cat

Palabras clave:

Enfermedades genéticas congénitas.
Agentes neurotransmisores. Aminas biógenas. Líquido cefalorraquídeo. Espectrometría de masas.

RESUMEN

Los errores congénitos del metabolismo de los neurotransmisores son enfermedades poco prevalentes que cursan con síntomas en el sistema nervioso central y, en algunos casos, afectan también a nivel periférico. En general, estos pacientes tienen que pasar por largos procesos hasta conocer su diagnóstico definitivo. El análisis de los metabolitos en el líquido cefalorraquídeo por espectrometría de masas en tándem presenta una buena sensibilidad y especificidad, agiliza el diagnóstico bioquímico y optimiza el uso de la muestra. En los últimos años, se tiende al estudio de paneles de metabolitos para facilitar el diagnóstico.

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

DOI: 10.20960/revmedlab.00150

Caro-Miró MA, Morales-Romero B, García-Villoria J. Utilidad de la espectrometría de masas para el análisis de metabolitos en líquido cefalorraquídeo de pacientes con errores congénitos del metabolismo. Rev Med Lab 2022;3(3):101-110

Keywords:

Genetic diseases inborn. Neurotransmitter agents. Biogenic amines. Cerebrospinal fluid. Mass spectrometry.

ABSTRACT

Inborn errors of neurotransmitter metabolism are rare diseases with central nervous system symptoms and, in some cases, peripheral involvement. In general, these patients must go through long processes before a definitive diagnosis is made. The analysis of cerebrospinal fluid metabolites by mass spectrometry has good sensitivity and specificity, speeds up biochemical diagnosis and optimises the use of the sample. In recent years, the trend has been towards the study of metabolites panels to facilitate the diagnosis.

INTRODUCCIÓN

Desde principios del siglo xx, cuando se estableció la definición de *error congénito del metabolismo*, atribuida al médico inglés Archibald Edward Garrod, que se basó en estudios realizados con pacientes afectados de alcaptonuria, albinismo, cistinuria y pentosuria (1), hasta la actualidad, se han producido múltiples avances en el área de conocimiento de las enfermedades metabólicas hereditarias. La implementación de la tecnología de espectrometría de masas en tándem (MS/MS) en los programas de cribado neonatal realizados a partir de sangre seca del talón de los recién nacidos, con su alta sensibilidad y especificidad, constituye un gran hito que ha permitido mejorar el rendimiento diagnóstico de un elevado número de enfermedades metabólicas hereditarias (2). Sin embargo, los pacientes que padecen otras patologías que no presentan marcadores bioquímicos periféricos continúan experimentando una larga odisea diagnóstica (3).

En la actualidad, el estudio de metabolitos que se realiza para diagnosticar estas entidades puede llevarse a cabo mediante dos estrategias. Por un lado, encontramos la metodología dirigida (la más extendida en los laboratorios clínicos), centrada en el estudio de un panel de metabolitos relacionados con la sospecha clínica. Por otro lado, la metodología no dirigida está basada en el estudio de un número muy elevado de metabolitos, incluyendo los que no están relacionados con la sospecha clínica inicial (4). Sin embargo, actualmente esta tecnología solo está disponible en centros muy especializados. Es importante recalcar que estos avances han ido de la mano de la creación de multitud de bases de datos, entre las que destaca la Human Metabolome Database (5).

Un número importante de enfermedades metabólicas hereditarias cursan con afectación del sistema nervioso central, que interfiere en el proceso de neurodesarrollo y predispone a la neurodegeneración (6). No obstante, los defectos primarios del metabolismo y del transporte de los neurotransmisores son un grupo de enfermedades neurometabólicas muy poco frecuentes (7,8) que pueden afectar tanto a pacientes pediá-

tricos como a adultos (7). Por ello, ante la sospecha de la mayoría de estas patologías se requiere el análisis de determinados metabolitos en líquido cefalorraquídeo (LCR) (9). En los últimos años se ha constituido un grupo de trabajo a nivel internacional para el estudio de estas enfermedades (International Working Group on Neurotransmitter Related Disorders) cuyo objetivo principal es la creación de un registro global de pacientes (8).

En esta revisión se pretende describir el estado del arte del estudio de los principales metabolitos presentes en LCR de pacientes con errores congénitos del metabolismo de los neurotransmisores, ya sean defectos enzimáticos primarios o de sus cofactores, mediante cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas en tándem (LC-MS/MS).

En los últimos años, la espectrometría de masas en tándem ha ido sustituyendo a las técnicas de cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC) acoplada a detección electroquímica o fluorescente para la cuantificación de metabolitos presentes en LCR de pacientes con errores congénitos del metabolismo de los neurotransmisores (10). Básicamente esto se debe a la mayor sensibilidad y especificidad de los detectores de espectrometría de masas en comparación con los detectores electroquímicos o fluorescentes. Por otro lado, también se ha puesto de manifiesto la necesidad de optimizar el uso de la muestra de LCR con el objetivo de poder analizar paneles de metabolitos de forma más rápida y con un menor volumen (3).

ERRORES CONGÉNITOS DEL METABOLISMO DE LAS AMINAS BIÓGENAS

Los neurotransmisores monoaminérgicos son moléculas derivadas de aminoácidos aromáticos (fenilalanina, tirosina y triptófano) implicadas en procesos de señalización (11). En esta revisión nos centraremos en los defectos primarios del metabolismo de las catecolaminas (adrenalina, noradrenalina y dopamina) y de la serotonina. Estos pueden clasificarse en defectos enzimáticos primarios y deficiencias de la tetrahidro-

biopterina (BH₄), que actúa como cofactor enzimático de la tirosina hidroxilasa (TH), de la triptófano hidroxilasa (TPH) y de la fenilalanina hidroxilasa (PAH), entre otras enzimas.

En la tabla I se muestran las alteraciones de metabolitos en los errores congénitos del metabolismo de las aminas biógenas, su tipo de herencia y su número

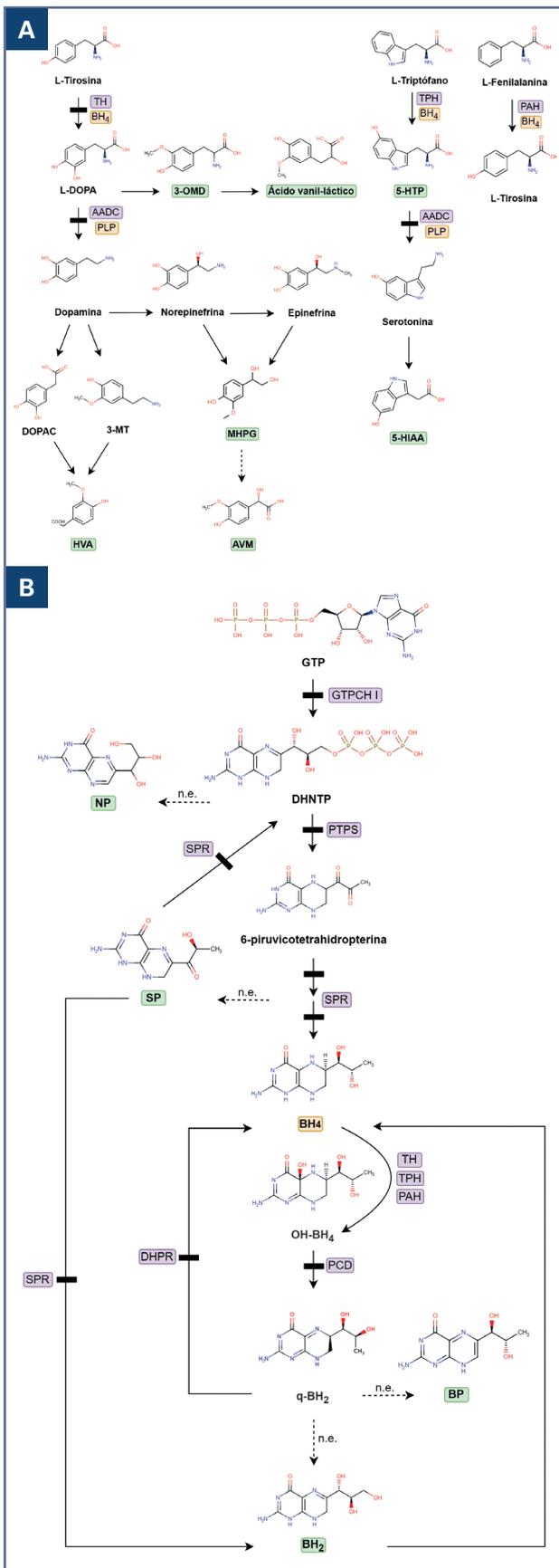
Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM). Por otro lado, en la figura 1 se representan las principales rutas metabólicas implicadas en los errores congénitos del metabolismo de las aminas biógenas.

En primer lugar, destacaremos la deficiencia de la TH y la deficiencia de la carboxilasa de los aminoácidos aromáticos (AADC).

Tabla I.
Alteraciones de metabolitos en LCR y orina de los errores congénitos del metabolismo de las aminas biógenas, GABA, folato y vitamina B₆, tipo de herencia y número OMIM de las entidades

| | Patología | Número OMIM | Tipo de herencia | Metabolitos alterados en LCR | Metabolitos alterados en orina |
|--|---|-------------|------------------|--|--------------------------------|
| Errores congénitos del metabolismo de las aminas biógenas | Deficiencia de TH | 605407 | AR | ↓ HVA, MHPG | |
| | Deficiencia de AADC | 608643 | AR | ↓↓ HVA, 5-HIAA ↑↑ 3-OMD, 5-HTP | ↑ Ácido vanil-láctico, 3-OMD |
| | Deficiencia de GTPCH I | 233910 | AR | ↓ HVA, 5-HIAA | ↓ BP, NP |
| | Deficiencia de PTPS | 261640 | AR | ↓ HVA, 5-HIAA, BP ↑ NP | ↓ BP ↑ NP |
| | Deficiencia de PCD | 264070 | AR | No se observan alteraciones | ↓ BP |
| | Deficiencia de DHPR | 261630 | AR | ↓ HVA, 5-HIAA, 5-MTHF ↑ BP | ↓ BP |
| | Deficiencia de GTPCH I | 128230 | AD, AR | ↓ HVA, 5-HIAA, NP, BP y BH ₄ | |
| | Deficiencia de SPR | 612716 | AD, AR | ↓ HVA, 5-HIAA, BH ₄ ↑ SP, BP, BH ₂ | ↑ SP |
| Errores congénitos del metabolismo del GABA | Deficiencia de GABA-T | 613163 | AR | ↑ GABA, β-alanina | |
| | Deficiencia de SSADH | 271980 | AR | ↑ GABA, GHB, homocarnosina, carnosina | ↑↑ GHB |
| Errores congénitos del metabolismo del folato | Deficiencia de folato cerebral | 613068 | AR | ↓ 5-MTHF | |
| | Malabsorción hereditaria de folato | 229050 | AR | ↓ 5-MTHF | |
| Errores congénitos del metabolismo de la vitamina B ₆ | Deficiencia de PNPO | 610090 | AR | ↓ HVA, 5-HIAA ↑ 3-OMD, 5-HTP, glicina, treonina, histidina, taurina ↓ β-alanina, PLP | ↑ Ácido vanil-láctico, 3-OMD |
| | Deficiencia de antitriptina o α-AASA deshidrogenasa | 266100 | AR | ↑ P6C, α-AASA, ácido piperidínico, 3-OMD ↓ PLP, HVA, 5-HIAA, glicina, treonina | |

↑: valores aumentados en comparación los valores de referencia de edad; ↓: valores disminuidos en comparación los valores de referencia de edad; AR: autosómica recesiva; AD: autosómica dominante; LCR: líquido cefalorraquídeo; TH: tirosina hidroxilasa; HVA: ácido homovanílico; MHPG: 3-metoxi-4-hidroxifenilglicol; AADC: carboxilasa de los aminoácidos aromáticos; 5-HIAA: ácido 5-hidroxiindolacético; 3-OMD: 3-O-metildopa; GTPCH I: guanosina-5'-trifosfato ciclohidrolasa I; 5-HTP: 5-hidroxitriptófano; BP: biopterina; NP: neopterina; PTPS: 6-piruvicetetrahydropterina sintasa; PCD: pterina-4α-carbaminolamina deshidratasa; DHPR: dihidropterina reductasa; 5-MTHF: 5-metiltetrahydrofolato; BH₄: tetrahydrobiopterina; SPR: sepiapterina reductasa; SP: sepiapterina; BH₂: 7,8-dihydrobiopterina; GABA: ácido γ-aminobutírico; GABA-T: GABA transaminasa; SSADH: succinato semialdehído deshidrogenasa; GHB: γ-hidroxibutírico; PNPO: piridox(am)ina-5'-fosfato oxidasa; PLP: piridoxal-5'-fosfato; α-AASA: α-aminoadípico semialdehído; P6C: piperidina-6-carboxilato.



Estas patologías se incluyen en los defectos enzimáticos primarios del metabolismo de las aminas biógenas y para su diagnóstico es imprescindible el análisis de determinados metabolitos en LCR. La TH es la enzima limitante de la síntesis de las catecolaminas, por lo que su deficiencia provoca una disminución en LCR de la concentración de ácido homovanílico (HVA), metabolito producido a partir de la dopamina y 3-metoxi-4-hidroxi-fenilglicol (MHPG) (9,12). Por otro lado, la AADC es la enzima que cataliza el último paso de la vía de síntesis de la dopamina y serotonina. Su deficiencia genera una disminución de las concentraciones de HVA y ácido 5-hidroxiindolacético (5-HIAA) acompañada de un incremento en las concentraciones de 3-O-metildopa (3-OMD) y 5-hidroxitriptófano (5-HTP) en LCR (9). Por último, también se observa un incremento en la concentración de ácido vanil-láctico en orina detectado mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS) (13), cuya cuantificación es de utilidad para el diagnóstico.

Por otro lado, las patologías relacionadas con la deficiencia de BH₄ se clasifican en dos grupos: las que cursan con hiperfenilalaninemia y las que no cursan con hiperfenilalaninemia.

Las deficiencias de BH₄ que cursan con hiperfenilalaninemia pueden detectarse en los programas de cribado neonatal mediante una elevación de fenilalanina o una alteración del ratio fenilalanina/tirosina en sangre seca obtenida del talón de los recién nacidos y analizada mediante MS/MS. Posteriormente, ante una detección positiva en el programa de cribado, de-

Figura 1 – (A y B). Principales rutas metabólicas implicadas en los errores congénitos del metabolismo de las aminas biógenas. Las enzimas se representan de color lila; los cofactores, de color amarillo y los metabolitos que pueden estar alterados, de color verde. Las reacciones no enzimáticas se muestran con flechas discontinuas con la indicación "n.e." Las flechas discontinuas sin "n.e." indican que no se presentan las reacciones enzimáticas intermedias. Los defectos enzimáticos mencionados en la revisión se representan mediante barras sólidas sobre las flechas. TH: tirosina hidroxilasa; BH₄: tetrahidrobiopterina; L-DOPA: levodopa; 3-OMD: 3-O-metildopa; AADC: carboxilasa de los aminoácidos aromáticos; PLP: piridoxal-5'-fosfato; DOPAC: ácido 3,4-dihidroxi-fenilacético; 3-MT: 3-metoxitiramina; HVA: ácido homovanílico; MHPG: 3-metoxi-4-hidroxi-fenilglicol; AVM: ácido vanilmandélico; TPH: triptófano hidroxilasa; 5-HTP: 5-hidroxitriptófano; 5-HIAA: ácido 5-hidroxiindolacético; PAH: fenilalanina hidroxilasa; GTP: guanosina-5'-trifosfato; GTPCH I: guanosina-5'-trifosfato ciclohidrolasa I; DHNTP: 7,8-dihidroneopterina trifosfato; PTPS: 6-piruvicotetrahidropterina sintasa; SPR: sepiapterina reductasa; OH-BH₄: hidroxitetrahidrobiopterina; PCD: pterina-4 α -carbaminolamina dehidratasa; DHPR: dihidropterina reductasa; q-BH₂: quininoide dihidrobiopterina; BH₂: 7,8-dihidrobiopterina; BP: biopterina; NP: neopterina; SP: sepiapterina. Las fórmulas se han obtenido de la Human Metabolome Database y de ChemsSpider. La imagen se ha elaborado con la aplicación draw.io.

ben realizarse otras pruebas complementarias para su confirmación bioquímica, como la determinación de los niveles de fenilalanina en plasma, la cuantificación de las pterinas en orina o incluso la determinación de determinados metabolitos en LCR (15). Podemos diferenciar dos subgrupos: la deficiencia de enzimas que participan en la síntesis de la BH_4 y el déficit de enzimas implicadas en su regeneración. La guanosina-5'-trifosfato ciclohidrolasa I (GTPCH I) es la enzima limitante de la vía de síntesis de la BH_4 . Su deficiencia heredada de forma autosómica recesiva (AR) provoca una disminución de las concentraciones de HVA y 5-HIAA en LCR, además de una disminución de biopterina (BP) y neopterinina (NP) en orina. La enzima 6-piruvicotetrahydropterina sintasa (PTPS) elimina el grupo trifosfato de la 7,8-dihidroneopterinina trifosfato (DHN-TP), y mediante una reacción de óxido-reducción, genera la molécula 6-piruvicotetrahydropterina, que posteriormente será convertida en BH_4 por la acción de la sepiapterina reductasa (SPR). La deficiencia enzimática de la PTPS es el desorden más frecuente del metabolismo de las pterinas (16). En LCR se observa una baja concentración de HVA y 5-HIAA, además de una disminución en los metabolitos de la vía de las pterinas, excepto la NP, que se encuentra elevada. En orina, también se demuestra la reducción de los metabolitos de la vía de las pterinas acompañada de un aumento en la concentración de NP (17). En la regeneración de la BH_4 participan la pterina-4 α -carbaminolamina dehidratasa (PCD) y la dihydropterina reductasa (DHPR). La primera cataliza la conversión de la pterina-4 α -carbaminolamina en quininoide dihydrobiopterina (q- BH_2) y la segunda genera la molécula de BH_4 a partir de la q- BH_2 (16). En la deficiencia enzimática de la PCD, en general, no se observan alteraciones del perfil de los neurotransmisores en el LCR e incluso algunos pacientes pueden ser asintomáticos (16,18). El déficit de la DHPR constituye la segunda deficiencia más prevalente de las enzimas implicadas en el metabolismo de las pterinas (19). La disminución de la actividad de esta enzima provoca un descenso en la concentración de HVA, 5-HIAA y 5-metiltetrahydrofolato (5-MTHF) acompañada de un aumento de BP en LCR (17,18).

Las deficiencias de BH_4 que no cursan con hiperfenilalaninemia engloban la distonía sensible a levodopa (L-DOPA) o deficiencia de GTPCH I con herencia autosómica dominante (AD) y la deficiencia de SPR, heredada generalmente de forma AR, aunque existe un paciente descrito en la bibliografía con herencia AD (20). Los pacientes afectados de distonía sensible a L-DOPA o deficiencia de GTPCH I con herencia AD muestran una disminución de las concentraciones de HVA, 5-HIAA, NP, BP y BH_4 en LCR (7,12), ya que presentan una alteración en la vía de síntesis de la BH_4 . Por otro lado, la deficiencia de SPR, enzima implicada en el último paso en la síntesis de la BH_4 , provoca una disminución de las concentraciones de HVA, 5-HIAA y BH_4 acompañada de un incremento en las concentra-

ciones de sepiapterina (SP), BP y 7,8-dihydrobiopterina (BH_2) en LCR, además de un incremento de SP en orina (11,12).

Principales técnicas para el análisis de metabolitos presentes en LCR de pacientes con errores congénitos del metabolismo de las aminas biógenas

En el artículo de Mena *et al.* (21) se describen las condiciones cromatográficas para el análisis de las aminas biógenas en LCR mediante HPLC de fase reversa acoplada a un detector electroquímico (ED). En la publicación de Ormazábal *et al.* (22) se exponen los valores de referencia de HVA, 5-HIAA, 3-OMD, 5-HTP y MHPG en LCR analizados mediante HPLC acoplado a ED en una población pediátrica control, además de en pacientes con déficit de TH y de GTPCH I. En los últimos años, debido a su mayor sensibilidad y especificidad de detección y cuantificación, muchos laboratorios han implementado la tecnología de espectrometría de masas en tándem para el estudio de los neurotransmisores. Sin embargo, debido a la elevada polaridad que presentan gran parte de estos metabolitos, su capacidad de retención en las columnas de los sistemas de HPLC de fase reversa es baja. Por ello, su análisis es complicado y su sensibilidad de detección puede verse disminuida. Así, en algunos casos, puede ser necesario realizar procesos previos de derivatización (23) o utilizar sistemas de cromatografía de interacción hidrofílica (HILIC) (24) que permitan alargar los tiempos de retención y, consecuentemente, aumentar su sensibilidad de detección. No obstante, modificando las condiciones cromatográficas y la composición de la fase móvil también puede optimizarse la retención de estos metabolitos en columnas C18 de fase reversa (25-27). En el artículo de Wassenberger *et al.* (14) se describen los valores de distintos metabolitos en LCR, además de en suero y en orina, en pacientes con deficiencia de TH y deficiencia de AADC antes y durante el tratamiento.

El primer método descrito para llevar a cabo el análisis de las pterinas en LCR requería de una etapa de oxidación previa de las formas reducidas de la BP en la que su análisis tenía que realizarse por separado (28). Unos años más tarde se publicó otro método que permitía el análisis simultáneo de las formas oxidadas y reducidas de la BP (29). Sin embargo, se ha cuestionado la especificidad de este último (10). En el artículo de Ormazábal *et al.* (22) se exponen los valores de referencia de la NP y de la BP en LCR analizados mediante HPLC de fase reversa acoplada a un detector de fluorescencia (FD) en una población pediátrica control, además de en pacientes con déficit de TH y de GTPCH I. En la publicación de Arning *et al.* (30) se describe un método para la determinación de la BH_4 , BH_2 , NP y SP en LCR mediante LC-MS/MS con dilución isotópica.

ERRORES CONGÉNITOS DEL METABOLISMO DEL ÁCIDO γ -AMINO BUTÍRICO (GABA)

En este apartado van a describirse las principales patologías relacionadas con los defectos del catabolismo del ácido γ -aminobutírico (GABA) en las que el análisis de determinados metabolitos en LCR es de utilidad. En esta revisión no van a tratarse los defectos de receptores y de transportadores del GABA, ya que su diagnóstico es predominantemente genético (12).

En la tabla I se muestran las alteraciones de metabolitos en los errores congénitos del metabolismo del GABA, su tipo de herencia y su número OMIM. Por otro lado, en la figura 2 se representan las principales rutas metabólicas implicadas en los errores congénitos del metabolismo del GABA.

La deficiencia de la GABA transaminasa (GABA-T) produce una alteración en la vía de degradación del GABA, lo que genera su acumulación en LCR, además de un aumento en la concentración de β -alanina (31,32). En el artículo de Jaeken *et al.* (33) se describen dos casos clínicos en los que se demuestra la utilidad de los marcadores citados en LCR ante la sospecha diagnóstica de esta patología.

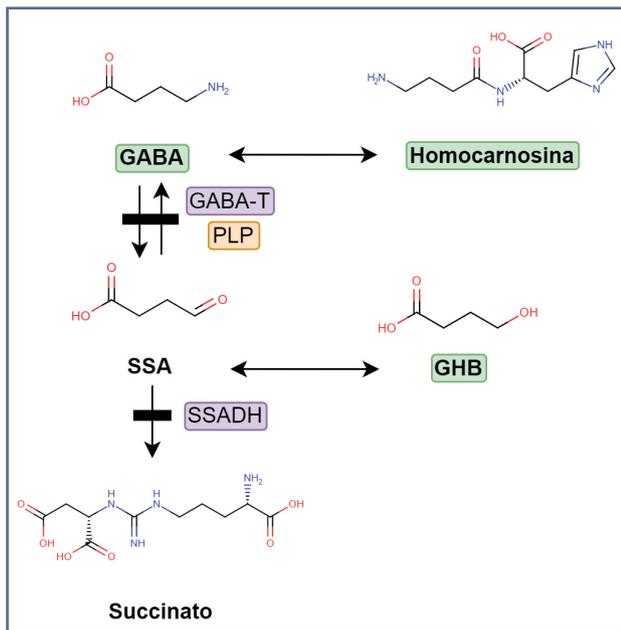


Figura 2 – Principales rutas metabólicas implicadas en los errores congénitos del metabolismo del GABA. Las enzimas se representan de color lila; los cofactores, de color amarillo y los metabolitos que pueden estar alterados, de color verde. Los defectos enzimáticos mencionados en la revisión se representan mediante barras sólidas sobre las flechas. GABA: ácido γ -aminobutírico; GABA-T: GABA transaminasa; PLP: piridoxal-5'-fosfato; SSA: succinato semialdehído; GHB: ácido γ -hidroxibutírico; SSADH: succinato semialdehído deshidrogenasa. Las fórmulas se han obtenido de la Human Metabolome Database y de Chemspider. La imagen se ha elaborado con la aplicación draw.io.

La deficiencia de la succinato semialdehído deshidrogenasa (SSADHD) también cursa con una alteración en el metabolismo del GABA (34). Los pacientes que padecen este déficit enzimático presentan una acumulación de GABA en LCR, además de ácido γ -hidroxibutírico (GHB), un potente depresor del sistema nervioso central que también puede detectarse en orina, homocarnosina y carnosina (dipéptido formado por β -alanina y L-histidina) (31). En general, ante la sospecha de esta patología, se realiza un perfil de ácidos orgánicos en orina como prueba de cribado. Sin embargo, el análisis del LCR también puede ser de utilidad (34).

Principales técnicas para el análisis de metabolitos presentes en LCR de pacientes con errores congénitos del metabolismo del GABA

Se han descrito varios métodos para el análisis del GABA: HPLC acoplada a FD (HPLC-FD) (35), HPLC-ED (36) o cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS), entre otras. No obstante, la mayoría requiere de largos protocolos de preparación y derivatización de la muestra antes de su análisis (37). En el artículo de Arning *et al.* (37) se describe un método para la cuantificación del GABA total y libre presente en LCR a través de LC-MS/MS con dilución isotópica y sin derivatización previa. La cuantificación del GABA total y libre se realiza por separado, tanto la preparación de la muestra como su análisis posterior. Además, para poder llevar a cabo la cuantificación del GABA libre se requiere la realización de una hidrólisis ácida previa que permita liberar el GABA unido a proteínas.

El estudio de la homocarnosina en LCR también es de utilidad ante una sospecha diagnóstica de un error congénito del metabolismo del GABA. Existen varias publicaciones en las que se describen diversas metodologías para su análisis: HPLC-FD (38) o HPLC de intercambio iónico acoplada a un detector ultravioleta (UV) (39), entre otras. En el artículo de Jansen *et al.* (40) se describe una metodología para el análisis de la homocarnosina mediante LC-MS/MS. Esta técnica presenta ciertas ventajas respecto a las anteriores, entre las que destacan: reducción del tiempo de la carrera cromatográfica de las muestras e introducción de un estándar interno para su posterior cuantificación.

ERRORES CONGÉNITOS DEL METABOLISMO DEL FOLATO

En esta revisión, nos centraremos en el análisis de la deficiencia de folato cerebral y en la malabsorción hereditaria de folato por su afectación al sistema nervioso central y por la importancia del análisis de metabolitos presentes en LCR ante una sospecha diagnóstica.

En la tabla I se muestran las alteraciones de metabolitos en los errores congénitos del metabolismo del folato, su tipo de herencia y su número OMIM.

La deficiencia de folato cerebral se define como un síndrome que cursa con afectación del sistema nervioso central en el que se demuestra una disminución en la concentración de 5-MTHF en LCR, con concentraciones normales en sangre periférica (12,41). La deficiencia del receptor de folato de alta afinidad, encargado de mediar el transporte de la molécula hacia el sistema nervioso central, constituye la forma congénita primaria.

Por otro lado, la malabsorción hereditaria de folato se produce ante una deficiencia del transportador de folato acoplado a protones, localizado en el intestino. Los pacientes afectados de esta patología muestran unos niveles disminuidos de folato tanto en LCR como en sangre periférica (12).

Principales técnicas para el análisis de metabolitos presentes en LCR de pacientes con errores congénitos del metabolismo del folato

En la determinación del 5-MTHF en LCR, ante una sospecha diagnóstica de una deficiencia cerebral de folato también se han descrito diversas metodologías, entre las que destacan: HPLC-ED, HPLC-FD (42) y LC-MS/MS con dilución isotópica (43). En la publicación de Ormazábal *et al.* (44) se exponen los valores de referencia de 5-MTHF en LCR analizados mediante HPLC de fase reversa acoplada a FD. Por otro lado, en el artículo de Akiyama *et al.* (45) se propone el uso de la determinación del folato total presente en LCR como prueba de cribado ante la sospecha de una deficiencia cerebral de folato. Se sugiere la realización de esta prueba de cribado debido al difícil acceso a la cuantificación de 5-MTHF en LCR en gran parte de los centros hospitalarios.

ERRORES CONGÉNITOS DEL METABOLISMO DE LA VITAMINA B₆

El piridoxal-5'-fosfato (PLP) es el metabolito biológicamente activo de la vitamina B₆. Se genera mediante reacciones de fosforilación y oxidación a partir de otros vitámeros precursores (piridoxina-5'-fosfato y piridoxamina-5'-fosfato). El PLP actúa como cofactor en múltiples reacciones enzimáticas esenciales en el sistema nervioso central como: el metabolismo de la dopamina, serotonina, glutamato, GABA, glicina y D-serina (46).

En la tabla I se muestran las alteraciones de metabolitos en los errores congénitos del metabolismo de vitamina B₆, su tipo de herencia y su número OMIM. Por otro lado, en la figura 3 se representan las principales rutas metabólicas implicadas en los errores congénitos del metabolismo de la vitamina B₆.

En este apartado nos centraremos en el déficit de la enzima piridox(am)ina-5'-fosfato oxidasa (PNPO) y en el déficit de antiquitina o α -aminoadípico semialdehído (α -AASA) deshidrogenasa. Ambas patologías cursan con convulsiones dependientes de determinados me-

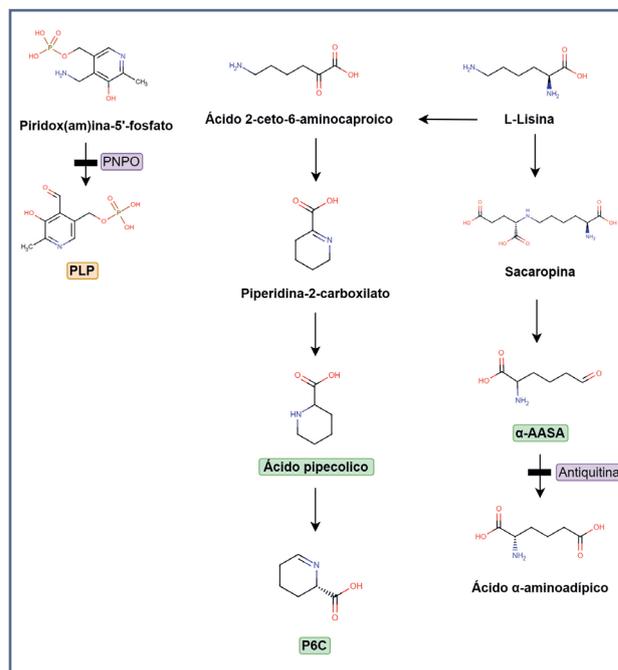


Figura 3 – Principales rutas metabólicas implicadas en los errores congénitos del metabolismo de la vitamina B₆. Las enzimas se representan de color lila; los cofactores, de color amarillo y los metabolitos que pueden estar alterados, de color verde. Los defectos enzimáticos mencionados en la revisión se representan mediante barras sólidas sobre las flechas. PNPO: piridox(am)ina-5'-fosfato oxidasa; PLP: piridoxal-5'-fosfato; P6C: piperidina-6-carboxilato; α -AASA: α -aminoadípico semialdehído. Las fórmulas se han obtenido de la Human Metabolome Database y de Chemspider. La imagen se ha elaborado con la aplicación draw.io.

tabolitos de la vitamina B₆. En el primer caso, los pacientes responden a la terapia con PLP y en el segundo, al tratamiento con piridoxina (12,47).

La PNPO es la enzima encargada de catalizar el paso de piridox(am)ina-5'-fosfato a PLP (48). Por ello, las convulsiones de los pacientes que presentan este déficit enzimático responden a la terapia con PLP. En el artículo de Mills *et al.* (49) se describen algunos casos de pacientes con este déficit en los que se observa una alteración de determinados metabolitos de las vías metabólicas en las que el PLP actúa como cofactor. Así, se demuestran disminuciones de HVA y 5-HIAA acompañadas de un aumento en las concentraciones de 3-OMD y 5-HTP en LCR. Además, se observa un incremento en la concentración de ácido vanil-láctico en orina, que también es de utilidad para el diagnóstico de la patología (13). Estas alteraciones se producen como consecuencia de una menor actividad enzimática de la AADC dependiente del cofactor. Por otro lado, se observa un aumento en las concentraciones de glicina y de treonina en LCR, igualmente explicado por una reducción de las actividades de determinadas enzimas implicadas en las vías de metabolización

de la glicina y de la treonina que requieren el PLP como cofactor. Las concentraciones de taurina e histidina en LCR también están aumentadas respecto a los valores de los pacientes control y las concentraciones de β -alanina y PLP se encuentran disminuidas (48,50). La antiquitina o α -AASA deshidrogenasa es una enzima implicada en el metabolismo cerebral de la lisina (51) y su déficit constituye la causa más común de epilepsia dependiente de piridoxina. Su deficiencia genera una elevación de piperidina-6-carboxilato (P6C), α -AASA y ácido piperólico (52). La P6C produce una reacción de condensación con el PLP que genera su inactivación (51). Así, se observa una disminución de PLP en LCR que, a su vez, provoca un descenso en la concentración de HVA, 5-HIAA, glicina y treonina, acompañado de un incremento en las concentraciones de 3-OMD (50). Los cambios en las concentraciones de estos metabolitos también explican una disminución de la actividad de las enzimas dependientes de PLP como cofactor.

Principales técnicas para el análisis de metabolitos presentes en LCR de pacientes con errores congénitos del metabolismo de la vitamina B₆

En la publicación de Bates *et al.* (53) se describe un protocolo para el análisis del PLP en plasma mediante HPLC de fase reversa acoplada a FD. En el artículo de Ormazábal *et al.* (54) se exponen los valores de referencia del cofactor enzimático PLP en LCR de pacientes pediátricos con deficiencia de PNPO analizados mediante HPLC de fase reversa acoplada a FD. En la publicación de Van der Ham *et al.* (55) se refieren los valores de referencia de los vitámeros de la vitamina B₆ (piridoxal, piridoxina, piridoxamina y sus formas fosforiladas) en LCR mediante una metodología de LC-MS/MS con ionización positiva por electrospray y dilución isotópica validada por el mismo grupo, en la que, además, se lleva a cabo una precipitación de las proteínas de la muestra con ácido tricloroacético. Unos años más tarde el mismo laboratorio proporcionó los valores de referencia en plasma y LCR de los vitámeros de la vitamina B₆ (piridoxal, piridoxina, piridoxamina y sus formas fosforiladas) en pacientes pediátricos con discapacidad intelectual, asociada o no a epilepsia, cuantificados mediante cromatografía líquida de ultra-alto rendimiento acoplada a espectrometría de masas (UHPLC-MS/MS) (46).

REQUERIMIENTOS PREANALÍTICOS PARA LA TOMA DE MUESTRA DE LCR

Para el análisis de los metabolitos presentes en LCR de pacientes con sospecha de errores congénitos del metabolismo con expresión en el sistema nervioso central, en general, se recogen tres tubos numerados según el orden de extracción, que deben protegerse de

la luz. El primer tubo se utiliza para el análisis del HVA y del 5-HIAA. En el segundo tubo se determinan los niveles de PLP y de 5-MTHF. Por último, el tercer tubo, que contiene 1,4-ditiotreitol (DTT) como agente reductor y ácido dietilentriaminopentacético (DTPA) como quelante de metales, se utiliza para llevar a cabo el análisis de las pterinas (18,56). Las muestras deben centrifugarse justo después de su extracción y debe separarse el sobrenadante en otro tubo estéril para evitar la oxidación de determinados metabolitos por la presencia de eritrocitos (18). Estas muestras deben conservarse en hielo seco o -80 °C hasta su análisis. Este procedimiento es de gran relevancia en el análisis de GABA libre y de determinados metabolitos de la vía de las pterinas por su alta termolabilidad (17,18,57).

TENDENCIA ACTUAL. ANÁLISIS DE PANELES DE METABOLITOS PRESENTES EN LCR PARA EL DIAGNÓSTICO DE PACIENTES CON ERRORES CONGÉNITOS DEL METABOLISMO DE LOS NEUROTRANSMISORES

En dos publicaciones del año 2020, Galla *et al.* (25) y Klinke *et al.* (3), se propone el análisis simultáneo de 30 y de 38 metabolitos, respectivamente, en LCR ante una sospecha de un error congénito del metabolismo que curse con síntomas neurológicos. El artículo de Galla *et al.* se centra en el análisis de los metabolitos que se encuentran alterados en los defectos del metabolismo de la tirosina y del triptófano, ya sea por defectos enzimáticos primarios o por déficit de sus cofactores. Además, también se cuantifican las pterinas, el cortisol y la histamina tanto en suero como en LCR. El método, validado por la Agencia Europea del Medicamento, se basa en el análisis del panel de metabolitos en un mismo ensayo de 20 minutos mediante LC-MS/MS en una columna C18 de fase reversa con dilución isotópica. Tanto en la muestra de suero como en la muestra de LCR se lleva a cabo un proceso de precipitación de las proteínas presentes en la muestra de forma previa a su análisis. Por otro lado, en la publicación de Klinke *et al.* se llevan a cabo dos ensayos distintos, ambos analizados mediante LC-MS/MS con una columna C18 de fase reversa con dilución isotópica. El primer ensayo incluye los metabolitos relacionados con los errores congénitos del metabolismo de la tirosina y del triptófano, ya sea por defectos enzimáticos primarios o por déficit de sus cofactores, de la vitamina B₆, del folato o del resto de las pterinas. Por otra parte, el segundo ensayo se centra en el análisis de las purinas y de las pirimidinas, además del guanidinoacetato.

Por último, es importante mencionar la publicación de Yan *et al.* (58), en la que se analiza un panel de 13 metabolitos relacionados con la inflamación. El ensayo se lleva a cabo en LCR mediante LC-MS/MS en una columna C18 con dilución isotópica y permite cuantificar metabolitos que forman parte de la vía de las pterinas, triptófano-quinurenina y óxido nítrico.

CONCLUSIONES

En este artículo de revisión se demuestra la utilidad del estudio de metabolitos en LCR mediante espectrometría de masas en tándem para el diagnóstico de las enfermedades hereditarias del metabolismo de los neurotransmisores. Además, se pone de manifiesto la tendencia al análisis simultáneo de múltiples metabolitos con el objetivo de reducir el tiempo para obtener un diagnóstico, optimizar el uso de la muestra de LCR y disminuir los tiempos de respuesta del laboratorio para el análisis de los metabolitos y de la emisión del correspondiente informe. Finalmente, cabe destacar la importancia de llevar a cabo estudios moleculares después de haber realizado el diagnóstico bioquímico para poder ofrecer consejo genético al paciente y su familia, y en el caso de que sea posible, orientar respecto al pronóstico o al tratamiento de la patología.

AGRADECIMIENTOS

Beca de rotación nacional 2021 concedida por la Asociación Española del Laboratorio Clínico.

BIBLIOGRAFÍA

- Prasad C, Galbraith PA. Sir Archibald Garrod and alkaptonuria-'Story of metabolic genetics'. *Clin Genet* 2005;68(3):199-203.
- Mussap M, Zaffanello M, Fanos V. Metabolomics: a challenge for detecting and monitoring inborn errors of metabolism. *Ann Transl Med* 2018;6(17):338.
- Klinke G, Richter S, Monostori P, Schmidt-Mader B, García-Cazorla A, Artuch R, et al. Targeted cerebrospinal fluid analysis for inborn errors of metabolism on an LC-MS/MS analysis platform. *J Inherit Metab Dis* 2020;43(4):712-25.
- Coene KLM, Kluijtmans LAJ, van der Heeft E, Engelke UFH, de Boer S, Hoegen B, et al. Next-generation metabolic screening: targeted and untargeted metabolomics for the diagnosis of inborn errors of metabolism in individual patients. *J Inherit Metab Dis* 2018;41(3):337-53.
- Wishart DS, Guo AC, Oler E, Wang F, Anjum A, Peters H, et al. HMDB 5.0: The Human Metabolome Database for 2022. *Nucleic Acids Res* 2022;50(D1):D622-31.
- Saudubray JM, García-Cazorla A. An overview of inborn errors of metabolism affecting the brain: from neurodevelopment to neurodegenerative disorders. *Dialogues Clin Neurosci* 2018;20(4):301-25.
- Pearl PL, Capp PK, Novotny EJ, Gibson KM. Inherited disorders of neurotransmitters in children and adults. *Clin Biochem* 2005;38(12):1051-8.
- Opladen T, Cortès-Saladelafont E, Mastrangelo M, Horvath G, Pons R, López-Laso E, et al. The International Working Group on Neurotransmitter related Disorders (iNTD): A worldwide research project focused on primary and secondary neurotransmitter disorders. *Mol Genet Metab Reports* 2016;9:61-6.
- Szymańska K, Kuśmierska K, Demkow U. Inherited disorders of brain neurotransmitters: Pathogenesis and diagnostic approach. *Adv Exp Med Biol* 2015;837:1-8.
- Guibal P, Lo A, Maitre P, Moussa F. Pterin determination in cerebrospinal fluid: State of the art. *Pteridines* 2017;28(2):83-9.
- Brennenstuhl H, Jung-Klawitter S, Assmann B, Opladen T. Inherited Disorders of Neurotransmitters: Classification and Practical Approaches for Diagnosis and Treatment. *Neuropediatrics* 2019;50(1):2-14.
- Couce ML, Aldámiz-Echevarría L, García-Jiménez MC, González-Lamuño D. Diagnóstico y tratamiento de las enfermedades metabólicas hereditarias; 2022.
- Ruiz A, García-Villoria J, Ormazábal A, Zschocke J, Fiol M, Navarro-Sastre A, et al. A new fatal case of pyridox(am)ine 5'-phosphate oxidase (PNPO) deficiency. *Mol Genet Metab* 2008;93(2):216-8.
- Wassenberg T, Geurtz BPH, Monnens L, Wevers RA, Willemsen MA, Verbeek MM. Blood, urine and cerebrospinal fluid analysis in TH and AADC deficiency and the effect of treatment. *Mol Genet Metab Reports* 2021;27:100762.
- Opladen T, López-Laso E, Cortès-Saladelafont E, Pearson TS, Sivri HS, Yıldız Y, et al. Consensus guideline for the diagnosis and treatment of tetrahydrobiopterin (BH4) deficiencies. *Orphanet J Rare Dis* 2020;15(1):126.
- Longo N. Disorders of biopterin metabolism. *J Inherit Metab Dis* 2009;32(3):333-42.
- Kurian MA, Gissen P, Smith M, Heales SJR, Clayton PT. The monoamine neurotransmitter disorders: An expanding range of neurological syndromes. *Lancet Neurol* 2011;10(8):721-33.
- Ng J, Papandreou A, Heales SJ, Kurian MA. Monoamine neurotransmitter disorders - Clinical advances and future perspectives. *Nat Rev Neurol* 2015;11(10):567-84.
- Opladen T, Hoffmann GF, Blau N. An international survey of patients with tetrahydrobiopterin deficiencies presenting with hyperphenylalaninaemia. *J Inherit Metab Dis* 2012;35(6):963-73.
- Steinberg D, Blau N, Goriunov D, Bitsch J, Zuker M, Humel S, et al. Heterozygous mutation in 5'-untranslated region of sepiapterin reductase gene (SPR) in a patient with dopa-responsive dystonia. *Neurogenetics* 2004;5:187-90.
- Mena MA, Aguado EG, de Yébenes JG. Monoamine metabolites in human cerebrospinal fluid. HPLC/ED method. *Acta Neurol Scand* 1984;69(4):218-25.
- Ormazábal A, García-Cazorla A, Fernández Y, Fernández-Álvarez E, Campistol J, Artuch R. HPLC with electrochemical and fluorescence detection procedures for the diagnosis of inborn errors of biogenic amines and pterins. *J Neurosci Methods* 2005;142(1):153-8.
- Cox JM, Butler JP, Lutzke BS, Jones BA, Buckholz JE, Biondolillo R, et al. A validated LC-MS/MS method for neurotransmitter metabolite analysis in human cerebrospinal fluid using benzoyl chloride derivatization. *Bioanalysis* 2015;7(19):2461-75.
- Tufi S, Lamoree M, de Boer J, Leonards P. Simultaneous analysis of multiple neurotransmitters by hydrophilic interaction liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry. *J Chromatogr A* 2015;1395:79-87.
- Galla Z, Rajda C, Rácz G, Grecsó N, Baráth Á, Vécsei L, et al. Simultaneous determination of 30 neurologically and metabolically important molecules: A sensitive and selective way to measure tyrosine and tryptophan pathway metabolites and other biomarkers in human serum and cerebrospinal fluid. *J Chromatogr A* 2021;1635:461775.
- Marcos J, Renau N, Valverde O, Aznar-Lain G, Gracia-Rubio I, González-Sepúlveda M, et al. Targeting tryptophan and tyrosine metabolism by liquid chromatography tandem mass spectrometry. *J Chromatogr A* 2016;1434:91-101.
- Fuertig R, Ceci A, Camus SM, Bezard E, Luippold AH, Hengerer B. LC-MS/MS-based quantification of kynurenine metabolites, tryptophan, monoamines and neopterin in plasma, cerebrospinal fluid and brain. *Bioanalysis* 2016;8(18):1903-17.
- Fukushima T, Nixon JC. Analysis of reduced forms of biopterin in biological tissues and fluids. *Anal Biochem* 1980;102(1):176-88.
- Hyland K. Estimation of tetrahydro, dihydro and fully oxidised pterins by high-performance liquid chromatography using sequential electrochemical and fluorometric detection. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl* 1985;343(1):35-41.

30. Arning E, Bottiglieri T. LC-MS/MS Analysis of Cerebrospinal Fluid Metabolites in the Pterin Biosynthetic Pathway. *JIMD Rep* 2016;29:1-9.
31. Parviz M, Vogel K, Gibson K, Pearl P. Disorders of GABA metabolism: SSADH and GABA-transaminase deficiencies. *J Pediatr Epilepsy* 2014;3(4):217-27.
32. Kennedy AD, Pappan KL, Donti T, Delgado MR, Shinawi M, Pearson TS, et al. 2-Pyrrolidinone and succinimide as clinical screening biomarkers for gaba-transaminase deficiency: Anti-seizure medications impact accurate diagnosis. *Front Neurosci* 2019;13:394.
33. Jaeken J, Casaer P, de Cock P, Corbeel L, Eeckels R, Eggermont E. Gamma-aminobutyric acid-transaminase deficiency: a newly recognized inborn error of neurotransmitter metabolism. *Neuropediatrics* 1984;15(3):165-9.
34. Pearl PL, Shukla L, Theodore WH, Jakobs C, Gibson KM. Epilepsy in succinic semialdehyde dehydrogenase deficiency, a disorder of GABA metabolism. *Brain Dev* 2011;33(9):796-805.
35. Goldsmith RF, Earl JW, Cunningham AM. Determination of gamma-aminobutyric acid and other amino acids in cerebrospinal fluid of pediatric patients by reversed-phase liquid chromatography. *Clin Chem* 1987;33(10):1736-40.
36. Naini AB, Vontzalidou E, Côté LJ. Isocratic HPLC Assay with Electrochemical Detection of Free gamma-aminobutyric Acid in Cerebrospinal Fluid. *Clin Chem* 1993;39(2):247-50.
37. Arning E, Bottiglieri T. Quantification of γ -aminobutyric acid in cerebrospinal fluid using liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry. *Methods Mol Biol* 2016;1378:109-18.
38. Dunnett M, Harris RC. High-performance liquid chromatographic determination of imidazole dipeptides, histidine, 1-methylhistidine and 3-methylhistidine in equine and camel muscle and individual muscle fibres. *J Chromatogr B Biomed Appl* 1997;688(1):47-55.
39. Yokoyama Y, Horikoshi S, Takahashi T, Sato H. Low-capacity cation-exchange chromatography of ultraviolet-absorbing urinary basic metabolites using a reversed-phase column coated with hexadecylsulfonate. *J Chromatogr A* 2000;886(1-2):297-302.
40. Jansen EEW, Gibson KM, Shigematsu Y, Jakobs C, Verhoeven NM. A novel, quantitative assay for homocarnosine in cerebrospinal fluid using stable-isotope dilution liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J Chromatogr B Anal Technol Biomed Life Sci* 2006;830(2):196-200.
41. Ramaekers VT, Paediatric D. Cerebral folate deficiency. *Neurology* 2004;46(12):843-51.
42. Chládek J, Šišpera L, Martínková J. High-performance liquid chromatographic assay for the determination of 5-methyltetrahydrofolate in human plasma. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl* 2000;744(2):307-13.
43. Arning E, Bottiglieri T. Quantitation of 5-methyltetrahydrofolate in cerebrospinal fluid using liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry. *Methods Mol Biol* 2016;1378:175-82.
44. Ormazábal A, García-Cazorla A, Pérez-Dueñas B, González V, Fernández-Álvarez E, Pineda M, et al. Determination of 5-methyltetrahydrofolate in cerebrospinal fluid of paediatric patients: Reference values for a paediatric population. *Clin Chim Acta* 2006;371(1-2):159-62.
45. Akiyama T, Tada H, Shiokawa T, Kobayashi K, Yoshinaga H. Total folate and 5-methyltetrahydrofolate in the cerebrospinal fluid of children: correlation and reference values. *Clin Chem Lab Med* 2015;53(12):2009-14.
46. Albersen M, Bosma M, Jans JJM, Hofstede FC, van Hasselt PM, de Sain-van der Velden MGM, et al. Vitamin B6 in plasma and cerebrospinal fluid of children. *PLoS One*. 2015;10(3):e0120972.
47. Wilson MP, Plecko B, Mills PB, Clayton PT. Disorders affecting vitamin B6 metabolism. *J Inher Metab Dis* 2019;42(4):629-46.
48. Clayton PT. B6-responsive disorders: A model of vitamin dependency. *J Inher Metab Dis* 2006;29(2-3):317-26.
49. Mills PB, Surtees RAH, Champion MP, Beesley CE, Dalton N, Scamber PJ, et al. Neonatal epileptic encephalopathy caused by mutations in the PNPO gene encoding pyridox(am)line 5'-phosphate oxidase. *Hum Mol Genet* 2005;14(8):1077-86.
50. Rahman S, Footitt EJ, Varadkar S, Clayton PT. Inborn errors of metabolism causing epilepsy. *Dev Med Child Neurol* 2013;55(1):23-36.
51. Mills PB, Struys E, Jakobs C, Plecko B, Baxter P, Baumgartner M, et al. Mutations in antiquitin in individuals with pyridoxine-dependent seizures. *Nat Med* 2006;12(3):307-9.
52. Sharma S, Prasad AN. Inborn errors of metabolism and epilepsy: Current understanding, diagnosis, and treatment approaches. *Int J Mol Sci* 2017;18(7):1384.
53. Bates CJ, Pentieva KD, Matthews N, Macdonald A. A simple, sensitive and reproducible assay for pyridoxal 5'-phosphate and 4-pyridoxic acid in human plasma. *Clin Chim Acta* 1999;280(1-2):101-11.
54. Ormazábal A, Oppenheim M, Serrano M, García-Cazorla A, Campistol J, Ribes A, et al. Pyridoxal 5'-phosphate values in cerebrospinal fluid: Reference values and diagnosis of PNPO deficiency in paediatric patients. *Mol Genet Metab* 2008;94(2):173-7.
55. Van der Ham M, Albersen M, de Koning TJ, Visser G, Middendorp A, Bosma M, et al. Quantification of vitamin B6 vitamers in human cerebrospinal fluid by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Anal Chim Acta* 2012;712:108-14.
56. Hyland K, Surtees RAH, Heales SJR, Bowron A, Howells DW, Smith I. Cerebrospinal fluid concentrations of pterins and metabolites of serotonin and dopamine in a pediatric reference population. *Pediatr Res* 1993;34(1):10-4.
57. Assmann B, Surtees R, Hoffmann GF. Approach to the diagnosis of neurotransmitter diseases exemplified by the differential diagnosis of childhood-onset dystonia. *Ann Neurol* 2003;54(Suppl.6):S18-24.
58. Yan J, Han V, Heng B, Guillemin G, Bandodkar S, Dale R. Development of a translational inflammation panel for the quantification of cerebrospinal fluid Pterin, Tryptophan-Kynurenine and Nitric oxide pathway metabolites. *eBioMedicine* 2022;77:103917.



Caso Clínico

Pseudohiperpotasemia por trombocitosis: una entidad a veces olvidada

Pseudohyperkalaemia due to thrombocytosis: an entity sometimes forgotten

Sergio Salguero Fernández¹, Juan Manuel Acedo Sanz¹, María del Pilar Ricard Andrés²

Unidades de ¹Análisis Clínicos y ²Hematología y Hemoterapia. Hospital Universitario Fundación Alcorcón. Alcorcón, Madrid

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

Correspondencia: Sergio Salguero Fernández. Unidad de Análisis Clínicos. Hospital Universitario Fundación Alcorcón. C/ Budapest, 1. 28922 Alcorcón, Madrid. e-mail: ssalguerof@hotmail.com

CASO CLÍNICO

Paciente varón de 76 años con deterioro cognitivo importante, anemia en estudio y antecedentes de linfoma difuso de célula grande B en remisión completa que fue derivado a Urgencias desde Atención Primaria (AP), ya que en la analítica del día anterior (19-12-2021) presentaba una hiperpotasemia de 7,4 mEq/L, sin hemólisis ni sintomatología aparente. La analítica urgente (20-12-2021) descartó la hiperpotasemia (4,4 mEq/L), pero reveló la presencia de leucocitosis ($16,37 \times 10^3/\mu\text{l}$) y trombocitosis ($2059 \times 10^3/\mu\text{L}$) muy significativas, por lo que el paciente se derivó a consultas de hematología para descartar la existencia de una patología hematológica subyacente.

La analítica solicitada desde la consulta (27-12-2022), de rutina y extraída en el hospital, confirmó la trombocitosis ($2395 \times 10^3/\mu\text{L}$) con anisotrombia y frecuentes formas grandes o displásicas. Asimismo, se detectó la mutación pVal617Phe(V617F) del gen *JAK2*, comúnmente asociada con las neoplasias mieloproliferativas crónicas, como la trombocitemia esencial. Por ello, la trombocitosis se consideró como posiblemente secundaria a una neoplasia

mieloproliferativa crónica, aunque la biopsia medular no se realizó ni el paciente se consideró candidato a medidas agresivas dado su grado de deterioro cognitivo. Además, dada la hiperpotasemia moderada (6,2 mEq/L) detectada en la analítica, se le pautó poliestireno sulfonato cálcico. El paciente acudió a Urgencias para un control analítico posterior (31-12-2021), en el que presentó normopotasemia (3,9 mEq/L), por lo que fue dado de alta para control por AP o cuidados paliativos.

Transcurrida otra semana (7-1-2022), un nuevo análisis solicitado desde AP reveló una hiperpotasemia severa (6,9 mEq/L), por lo que el paciente, ya encamado, fue tratado otra vez con poliestireno sulfonato cálcico. En un nuevo control desde AP a los tres días (10-1-2022), se detectó un nivel de potasio ligeramente inferior (6,1 mEq/L).

A la semana siguiente (18-1-2022), el paciente fue atendido en Urgencias por un episodio de rigidez, con niveles normales de potasio (4,1 mEq/L). Fue dado de alta con la recomendación de una dieta baja en potasio dados sus antecedentes y se hizo hincapié en el escaso beneficio en trasladar el paciente al Servicio de Urgen-

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

DOI: 10.20960/revmedlab.000119

Salguero Fernández S, Acedo Sanz JM, Ricard Andrés MP. Pseudohiperpotasemia por trombocitosis: una entidad a veces olvidada. Rev Med Lab 2022;3(3):111-113

Tabla I.
Hallazgos analíticos relevantes para el caso dependiendo del ámbito de solicitud

| Ámbito | Fechas | | | | | | | | |
|--|------------|------------|------------|------------|----------|-----------|-----------|----------|-----------|
| | 19-12-2021 | 20-12-2021 | 27-12-2021 | 31-12-2021 | 7-1-2022 | 10-1-2022 | 18-1-2022 | 5-2-2022 | 12-2-2022 |
| | Rutina | Urgencias | Rutina | Urgencias | Rutina | Rutina | Urgencias | Rutina | Rutina |
| Leucocitos ($\times 10^3/\mu\text{L}$) | 12,50 | 16,37 | 21,72 | 21,50 | 13,24 | NA | 18,20 | 14,27 | 18,22 |
| Plaquetas ($\times 10^3/\mu\text{L}$) | 1802 | 2059 | 2395 | 2886 | 1845 | NA | 2102 | 2179 | 2245 |
| Potasio (mEq/L) | 7,4 | 4,4 | 6,2 | 3,9 | 6,9 | 6,1 | 4,1 | 7,0 | 7,2 |

Las muestras de rutina (Atención Primaria y Consultas Externas) fueron de suero y las de Urgencias, de plasma anticoagulado con heparina de litio. Se descartó la presencia de hemólisis en todas las muestras.

cias debido a su condición. En controles posteriores solicitados desde AP (5-2-2022 y 12-2-2022) volvieron a reaparecer elevaciones importantes de potasio (7,0 mEq/L y 7,2 mEq/L, respectivamente).

En la tabla I se resumen los principales hallazgos analíticos anteriormente expuestos.

Ante estos hallazgos, el laboratorio sospechó de la existencia de una pseudohiperpotasemia por trombocitosis, por lo que se enviaron tubos con heparina de litio como anticoagulante al Centro de Salud para su estudio. Se recibieron tanto muestras de plasma con heparina de litio como muestras de suero (20-2-2022). Se midieron los niveles de potasio mediante potenciometría indirecta (suero y plasma en heparina de litio en analizador de bioquímica) y directa (sangre total anticoagulada con heparina de litio en gasómetro). La concentración obtenida en suero (7,0 mEq/L), mucho más elevada que la obtenida en plasma (3,8-3,9 mEq/L), confirmó la pseudohiperpotasemia por trombocitosis (Tabla II).

Se suministraron tubos con heparina de litio al centro para controles analíticos sucesivos. En todos ellos, el potasio se encontró dentro del intervalo de referencia, hasta el *exitus* del paciente debido a su patología de base.

DISCUSIÓN

La pseudohiperpotasemia se ha definido históricamente como una elevación del potasio sérico superior al menos 0,4 mEq/L a la de plasma (1), aunque se ha llegado a considerar práctico una diferencia de hasta 1,0 mEq/L (2,3).

Las elevaciones ficticias de potasio pueden estar causadas por numerosos condicionantes, tanto durante como después de la extracción de la muestra. Asimismo, existen distintas condiciones médicas subyacentes que pueden causarlas, como la leucocitosis y la trombocitosis extremas o la pseudohiperpotasemia familiar (4). Estos casos, aunque minoritarios, no deben olvidarse en la práctica clínica, ya que las consecuencias para el paciente pueden ser muy importantes.

En este trabajo se muestra un caso de pseudohiperpotasemia asociada a la trombocitosis del paciente, como refleja que la concentración del potasio en suero era mucho mayor que en plasma y en sangre total. El retraso en el reconocimiento de esta entidad puede suponer importantes inconvenientes para el paciente, así como un gasto sanitario innecesario.

La muestra de plasma para determinaciones bioquímicas se recoge habitualmente en tubos heparinizados, que inhiben el proceso de coagulación, mientras que las muestras de suero se recogen en tubos sin aditivos o con activadores de la coagulación. Los tubos de plasma son los que se emplean habitualmente para las determinaciones bioquímicas en el laboratorio de urgencias, ya que reducen el tiempo de espera, se obtiene más cantidad de plasma que de suero y el resultado es más representativo del estado biológico que el suero. Sin embargo, en los análisis de rutina suelen emplearse muestras de suero, ya que se considera que la muestra es más estable y está validada para la mayoría de las determinaciones (5). En este caso se aprecia que los niveles de potasio obtenidos en el ámbito de rutina (Consultas Externas y Atención Primaria) difieren de los obtenidos en Urgencias.

Tabla II.
Confirmación analítica de la pseudohiperpotasemia por trombocitosis

| Potasio (mEq/L) | Tipo de muestra | Método empleado |
|-----------------|----------------------------------|--------------------------|
| 3,9 | Plasma (heparina de litio) | Potenciometría indirecta |
| 3,8 | Sangre total (heparina de litio) | Potenciometría directa |
| 7,0 | Suero | Potenciometría indirecta |

La pseudohiperpotasemia se describió en la década de los cincuenta en pacientes con trombocitosis y se asoció a la liberación *in vitro* de potasio procedente de las plaquetas durante el proceso de coagulación (6). Tanto un incremento en la producción de plaquetas (por ejemplo, asociado a un síndrome mieloproliferativo crónico) como un descenso en su eliminación (por ejemplo, en pacientes esplenectomizados) pueden causar pseudohiperpotasemia (7). Además, la presencia de plaquetas activadas, incluso con recuentos normales, puede liberar más potasio durante la coagulación (1).

Se ha descrito la contribución a la pseudohiperpotasemia de otros componentes de la sangre, como los eritrocitos y los leucocitos.

En relación a los eritrocitos, se ha especulado que la eritrocitosis, independientemente de la hemólisis, podría contribuir a los niveles de potasio al estar disuelto el potasio liberado por las plaquetas en un menor volumen de suero, lo que se traduce en una mayor concentración [1]. Por otro lado, la pseudohiperpotasemia familiar es una forma leve de estomatocitosis sin hemólisis que aumenta la permeabilidad de la membrana del eritrocito al potasio, especialmente a bajas temperaturas (8).

En el caso de los leucocitos, un incremento de su número podría asociarse a su mayor fragilidad (por ejemplo, en casos de pacientes con leucemia linfocítica crónica), lo que aumentaría la salida de potasio del interior celular, particularmente tras la centrifugación (7). Sin embargo, también se ha descrito un fenómeno denominado pseudohiperpotasemia reversa, en el que el nivel del potasio en plasma es el que está falsamente elevado respecto a la concentración sérica, que es normal. Este hecho se ha descrito en pacientes con leucocitosis extremas, en las que se ha hipotetizado que la formación del coágulo de fibrina capturaría y estabilizaría las células durante la centrifugación, mientras que la heparina podría causar daño a la membrana celular, lo que favorecería la permeabilidad del potasio (4,9).

En nuestro caso, la muestra de plasma centrifugado presentaba una concentración similar a la de la sangre total, por lo que no parece que haya mucha contribución a la pseudohiperpotasemia por parte de la leucocitosis del paciente, como se ha demostrado en otros casos (2,3), probablemente debido al grado moderado de leucocitosis que presentaba nuestro paciente.

La detección de la existencia de pseudohiperpotasemia es fundamental, ya que, si esta condición no se identifica adecuadamente y se aplica tratamiento, este puede llegar a provocar hipopotasemias severas. Del mismo modo, las hipopotasemias enmascaradas causan que los pacientes no reciban el suplemento de potasio que deberían. En el caso presentado, una detección más precoz podría haber prevenido cambios de medicación y traslados innecesarios. Afortunadamente, un seguimiento estrecho de este paciente permitió no experimentar ninguna hipopotasemia de interés.

El laboratorio clínico puede ayudar a evitar el manejo inadecuado del paciente analizando el nivel de plaquetas antes de informar de valores de potasio elevados, es-

pecialmente en ausencia de fallo renal (urea y creatinina normal). Para ello, puede hacerse uso de la capacidad de gestión de los sistemas informáticos disponibles, que pueden establecer algoritmos automatizados que retengan los valores de potasio o añadan comentarios informativos según los valores del hemograma. El nivel de plaquetas que se ha sugerido en la bibliografía para retener el valor del potasio y solicitar muestra de plasma oscila entre $> 500 \times 10^3/\mu\text{L}$ (2) y $> 800 \times 10^3/\mu\text{L}$ (10).

La interacción fluida entre los distintos profesionales que asisten al paciente (laboratorio, Consulta Especializada y Atención Primaria) es el elemento integrador que favorece la detección precoz de los errores en aras del mismo objetivo: garantizar la seguridad del paciente.

PUNTOS A RECORDAR

- Ante un resultado elevado de potasio, es importante descartar todas las causas posibles de pseudohiperpotasemia. Estas incluyen desde las más frecuentes, como la hemólisis de la muestra, hasta las más inusuales, como la existencia de leucocitosis o trombocitosis extrema.
- Las alteraciones en el hemograma pueden afectar a los niveles de potasio de forma muy significativa.
- La implantación de algoritmos automatizados que retengan la emisión de los resultados de potasio ante valores muy aberrantes de plaquetas o de leucocitos puede ayudar a identificar estos casos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Sevastos N, Theodossiades G, Archimandritis AJ. Pseudohyperkalemia in serum: A new insight into an old phenomenon. *Clin Med Res* 2008;6(1):30-2.
2. Ranjitrkar 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
3. Šálek T. Pseudohyperkalemia-potassium released from cells due to clotting and centrifugation-a case report. *Biochem Medica* 2018;28(1).
4. Meng QH, Wagar EA. Pseudohyperkalemia: A new twist on an old phenomenon. *Crit Rev Clin Lab Sci* 2015;52(2):45-55.
5. Plebani M, Banfi G, Bernardini S, Bondanini F, Conti L, Dorizzi R, et al. Serum or plasma? An old question looking for new answers. *Clin Chem Lab Med* 2020;58(2):178-87.
6. Hartmann R, Auditore J, Jackson D. Studies on thrombocytosis. I. Hyperkalemia due to release of potassium from platelets during coagulation. *J Clin Invest* 1958;37(5):699-707.
7. Cotten S. What Is Pseudohyperkalemia and What Should Labs Do About It? *Scientific Shorts-AACC* 2019. Available from: <https://www.aacc.org/community/aacc-academy/publications/scientific-shorts/2019/pseudohyperkalemia>
8. Andolfo I, Russo R, Gambale A, Iolascon A. New insights on hereditary erythrocyte membrane defects. *Haematologica* 2016;101(11):1284-94. DOI: 10.3324/haematol.2016.142463.
9. Mansoor S, Holtzman NG, Emadi A. Reverse Pseudohyperkalemia: An Important Clinical Entity in Chronic Lymphocytic Leukemia. *Case Rep Hematol* 2015;2015:930379. DOI: 10.1155/2015/930379
10. Ong YL, Deore R, Al-Agnaf M. Pseudohyperkalaemia is a common finding in myeloproliferative disorders that may lead to inappropriate management of patients. *Int J Lab Hematol* 2010;32:e151-7.



Caso Clínico

Reinfección por SARS-CoV-2: infección por las variantes delta y ómicron en un periodo de 20 días

SARS-CoV-2 reinfection: delta and omicron variant infection within 20 days

Gemma Recio Comí¹, Clara Benavent Bofill¹, Cristina Andrés², Andrés Antón²,
Cristina Gutiérrez Fornés¹

¹Laboratori Clínic ICS Camp de Tarragona. Terres de l'Ebre. Hospital Universitari Joan XXIII. Tarragona. ²Departamento de Microbiología. Unidad de Virus Respiratorios. Vall d'Hebron Institut de Recerca (VHIR). Hospital Universitari Vall d'Hebron. Barcelona

Recibido: 17/07/2022
Aceptado: 21/11/2022

Correspondencia: Gemma Recio Comí. Hospital Universitari Joan XXIII. Edificio E. Av. Dr Mallafre Guasch, s/n. 43005 Tarragona
e-mail: grecio.hj23.ics@gencat.cat

CASO CLÍNICO

El 21 de diciembre de 2021 una trabajadora sanitaria de 31 años manifestó febrícula, tos y congestión durante su turno de trabajo. Se le realizó un test de antígeno en muestra nasofaríngea que dio positivo. La RT-PCR en frotis nasofaríngeo posterior confirmó la infección por SARS-CoV-2, con un Ct de 26. La trabajadora tenía la pauta completa de vacunación (Pfizer/BioNTech, BNT162b2) y había recibido una dosis de refuerzo (Moderna, mRNA-1273) doce días antes. No presentaba comorbilidades ni recibía ningún tipo de medicación.

El 1 de enero de 2022 se reincorporó al trabajo después de 10 días de aislamiento. No se le realizó RT-PCR previa a la reincorporación porque había estado asintomática durante al menos las 24 horas anteriores, tal y como marcaba el protocolo vigente en aquel momento. El 10 de enero, en el contexto de un brote de COVID-19 en el ámbito laboral, presentó malestar general y fiebre. Se le realizó nuevamente un test de antígeno

en muestra nasofaríngea con resultado positivo. Una RT-PCR en frotis nasofaríngeo confirmó la infección con Ct 25. En los días siguientes manifestó tos seca, fatiga, congestión, taquipnea, vómitos y diarrea. Al sexto día de este nuevo cuadro clínico le apareció una erupción en la cara y en el cuello, con el paladar inflamado. Acudió a urgencias en dos ocasiones, donde se le realizaron auscultaciones y exámenes de laboratorio, sin hallazgos anormales. La tos y la fatiga persistieron durante semanas después de la infección. Cuatro meses después del inicio de los síntomas se encuentra totalmente recuperada.

Se realizó WGS (del inglés, *Whole Genome Sequencing*) del primer y del segundo episodio clínico por tecnología Illumina, siguiendo el enfoque ARTIC v4 (1). La secuenciación mostró que la primera secuencia viral pertenecía al clado 21A (delta) de Nextstrain (Pango Lineage AY.42), mientras que la segunda, al clado 21K (ómicron) (Linaje BA.1), con lo que se confirmaba así un caso de reinfección en tan solo 20 días.

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

DOI: 10.20960/revmedlab.00141

Los datos de secuenciación se han depositado en la plataforma GISAID: ID. EPI_ISL_9316722 and EPI_ISL_9316721.

Recio Comí G, Benavent Bofill C, Andrés C, Antón A, Gutiérrez Fornés C. Reinfección por SARS-CoV-2: infección por las variantes delta y ómicron en un periodo de 20 días. Rev Med Lab 2022;3(3):114-116

DISCUSIÓN

La pandemia por la COVID-19 comenzó en diciembre de 2019 en Wuhan (China). Desde entonces, el SARS-CoV-2 se ha extendido rápidamente por todo el mundo y ha afectado a varios países. Desde el primer caso de variante delta notificado en Cataluña a finales de abril de 2021, esta aumentó significativamente hasta la semana 51 del 2021, cuando fue rápidamente desplazada por la variante ómicron. Esta nueva variante, clasificada como VOC (*Variants of Concern* o Variantes de Preocupación) por la OMS el 26 de noviembre de 2021, destaca por tener más de 30 mutaciones en la espícula, la proteína responsable de la entrada del virus en las células humanas. Comparada con las VOC anteriores, el número de mutaciones en la espícula es 3-4 veces mayor, lo que influye en la transmisibilidad del virus y en la neutralización por anticuerpos. Distinta filogenética y antigénicamente de las variantes circulantes anteriores, ómicron tiene una tasa de infectividad mucho más alta, además de importantes mecanismos para la evasión del sistema inmunológico (2).

Desde la primera notificación de un caso relacionado con ómicron, el número de personas que se han reinfectado ha ido aumentando considerablemente, lo que sugiere que el riesgo de reinfección también ha aumentado sustancialmente con esta variante, como evidencian numerosos estudios y revisiones (3,4). En el metaanálisis realizado por Flacco ME *et al.* (5) se estima una tasa de reinfecciones del 3,31 % en los tres primeros meses de la ola ómicron, mientras que en el estudio realizado por Eythorsson E *et al.* (6) se habla de hasta un 15,1 %. En la revisión llevada a cabo por Özüdoğru O *et al.* (7) se concluye que los casos de reinfección observados con ómicron son 30 veces más frecuentes que los observados con alfa y 10 veces más frecuentes que los observados con delta, probablemente debido a su mayor transmisibilidad y a la menor protección que confiere la inmunidad (tanto natural como por vacunación) frente a esta variante.

De acuerdo con este último aspecto, estudios realizados tanto *in vitro* como *in vivo* sugieren que la protección que confiere la vacunación frente a esta variante es sustancialmente menor comparada con la variante delta (8,9). Este caso de reinfección destaca el potencial de la variante ómicron para evadir la inmunidad previa adquirida, ya que la trabajadora tenía la pauta completa de vacunación (incluida la dosis de refuerzo), y, además, había pasado la infección de forma natural en los días previos a la reinfección. Desafortunadamente y como limitación al caso, no se disponen de datos serológicos de la trabajadora que nos permitan corroborar este hecho con certeza.

Cabe destacar que, aunque el número de reinfecciones ha aumentado con ómicron, el riesgo de comorbilidades o muertes ha permanecido en un ratio muy bajo (5). Se ha descrito que las infecciones por esta variante cursan generalmente con una sintomatología más leve y que tanto las infecciones previas con otras variantes

como la vacunación, aunque no neutralizan el riesgo de reinfección, parecen proteger parcialmente contra la enfermedad grave y la hospitalización (10).

El ECDC (European Centre for Disease Prevention) establece como criterio de reinfección una RT-PCR o prueba de antígeno positiva 60 días después de una primera prueba positiva, ya sea test de antígeno, RT-PCR o serología (11). Desde el primer caso de reinfección documentado en agosto de 2020 en Hong Kong, se han reportado numerosos casos. El aspecto diferencial en este caso es el corto periodo de tiempo entre los dos episodios, de solo 20 días. Según la bibliografía consultada, esta es una de las brechas de tiempo más cortas conocidas, pero este hecho es difícil de determinar con certeza, ya que la tasa de reinfecciones puede verse subestimada por varios motivos y ser mayor a la descrita.

En primer lugar, parte de este hecho se vería explicado porque los sistemas actuales de monitorización de la pandemia no incluyen la detección de asintomáticos. En segundo lugar, se estima que una gran parte de los infectados no acuden a los Servicios de Salud porque sus síntomas generalmente son leves y no requieren de atención médica (5). Por último, el criterio de confirmación de una reinfección requiere un proceso de secuenciación genómica, tal y como se hizo en nuestro caso, y en este proceso solo entran un número restringido de muestras estudiadas por los Servicios de Salud pública y, además, está supeditado a que la muestra tenga una carga viral suficiente para obtener una secuencia de calidad.

Este caso de reinfección destaca el papel clave que juega la secuenciación genómica en la vigilancia epidemiológica del SARS-CoV-2. Este proceso debe intensificarse aún más en la vigilancia, no solo para confirmar reinfecciones, sino también para monitorizar sistemáticamente las variantes en circulación e identificar precozmente nuevos linajes de interés, así como para comprender la evolución viral en el tiempo y el posible impacto en la salud humana. El seguimiento continuo de las mutaciones relacionadas con el SARS-CoV-2 no solo en la espícula, sino también en todo el genoma, es de vital importancia para para reconocer cambios en el epítipo viral que podrían requerir actuaciones en materia de salud pública, como nuevas vacunas reformuladas, cambios en tratamientos o nuevas medidas higiénico-sanitarias de control de la pandemia.

PUNTOS A RECORDAR

- La variante ómicron, con sus más de 30 mutaciones en la espícula, tiene una alta transmisibilidad y un alto potencial para evadir la inmunidad previa adquirida (ya sea por una infección natural o por vacunas), lo que explicaría el aumento de reinfecciones descritas.
- La tasa de reinfección por la variante ómicron es superior a las descritas para las variantes alfa y delta.

- Aunque el número de reinfecciones ha aumentado con la variante ómicron, el riesgo de comorbilidad, de hospitalización o de muerte ha permanecido en un ratio muy bajo debido a que la infección generalmente cursa con una sintomatología más leve que las variantes anteriores.
- Aunque la protección que confiere la vacunación frente a la variante ómicron es sustancialmente menor comparada con las anteriores variantes, parece proteger parcialmente contra la enfermedad grave y la hospitalización.
- Debe fortalecerse la vigilancia viral para monitorizar las variantes circulantes del SARS-CoV-2 y así disponer de datos actualizados para orientar en las decisiones de salud pública.

BIBLIOGRAFÍA

1. Lambisia AW, Mohammed KS, Makori TO, Ndwiga L, Mburu MW, Morobe JM, et al. Optimization of the SARS-CoV-2 ARTIC Network V4 Primers and Whole Genome Sequencing Protocol. *Front Med (Lausanne)* 2022;9:836728. DOI: 10.3389/fmed.2022.836728
2. Viana R, Moyo S, Amoako DG, Tegally H, Scheepers C, Althaus CL, et al. Rapid epidemic expansion of the SARS-CoV-2 ómicron variant in southern Africa. *Nature* 2022;603(7902):679-86. DOI: 10.1038/s41586-022-04411-y
3. Nyberg T, Ferguson NM, Nash SG, Webster HH, Flaxman S, Andrews N, et al. Comparative analysis of the risks of hospitalisation and death associated with SARS-CoV-2 omicron (B.1.1.529) and delta (B.1.617.2) variants in England: a cohort study. *The Lancet* 2022;399(10332):1303-12. DOI: 10.1016/s0140-6736(22)00462-7
4. Pulliam JRC, van Schalkwyk C, Govender N, von Gottberg A, Cohen C, Groome MJ, et al. Increased risk of SARS-CoV-2 reinfection associated with emergence of ómicron in South Africa. *Science* 2022;376(6593):eabn4947. DOI: 10.1126/science.abn4947
5. Flacco ME, Acuti Martellucci C, Baccolini V, De Vito C, Renzi E, Villari P, et al. Risk of reinfection and disease after SARS-CoV-2 primary infection: Meta-analysis. *Eur J Clin Invest*. 2022 Oct;52(10):e13845. DOI: 10.1111/eci.13845.
6. Eythorsson E, Runolfsdottir HL, Ingvarsson RF, Sigurdsson MI, Palsson R. Rate of SARS-CoV-2 Reinfection During an ómicron Wave in Iceland. *JAMA Netw Open*. 2022 Aug 1;5(8):e2225320. DOI: 10.1001/jamanetworkopen.2022.25320.
7. Özüdođru O, Bahçe YG, Acer Ö. SARS CoV-2 reinfection rate is higher in the ómicron variant than in the Alpha and Delta variants. *Ir J Med Sci* 2022:1-6. DOI: 10.1007/s11845-022-03060-4
8. Eggink D, Andeweg SP, Vennema H, van Maarseveen N, Vermaas K, Vlaemynck B, Schepers R, et al. Increased risk of infection with SARS-CoV-2 ómicron BA.1 compared with Delta in vaccinated and previously infected individuals, the Netherlands, 22 November 2021 to 19 January 2022. *Euro Surveill* 2022;27(4):2101196. DOI: 10.2807/1560-7917.ES.2022.27.4.2101196
9. Cele S, Jackson L, Khoury DS, Khan K, Moyo-Gwete T, Tegally H, et al. ómicron extensively but incompletely escapes Pfizer BNT162b2 neutralization. *Nature* 2022;602(7898):654-6. DOI: 10.1038/s41586-021-04387-1
10. Ou J, Lan W, Wu X, Zhao T, Duan B, Yang P, et al. Tracking SARS-CoV-2 ómicron diverse spike gene mutations identifies multiple inter-variant recombination events. *Signal Transduct Target Ther* 2022;7(1):138 DOI: 10.1038/s41392-022-00992-2
11. European Centre for Disease Prevention and Control. Reinfection with SARS-CoV-2: implementation of a surveillance case definition within the EU/EEA. 2021 Apr. Disponible en: <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/reinfection-sars-cov-2-implementation-surveillance-case-definition-within-eueea>

Imagen/Infografía

Cristales de cistina en orina

Cystine crystals in urine

Sofía Castañeda Nieto, Francisco Prada Blanco, Carlos Macías Blanco

UGC de Análisis Clínicos. Hospital Universitario Reina Sofía. Córdoba

Recibido: 23/02/2022
Aceptado: 04/05/2022

Correspondencia: Sofía Castañeda Nieto. UGC de Análisis Clínicos.
Hospital Universitario Reina Sofía. Av. Menéndez Pidal, s/n. 14004 Córdoba
e-mail: scnncs4@gmail.com

Se presenta el caso de una paciente de 16 años que acudió a urgencias por dolor de espalda, molestias en el flanco renal izquierdo y fiebre alta (~39 °C). Se solicitó una analítica de orina en la que se visualizaron en el sedimento 20 leucocitos y 10 eritrocitos/campo. Destacaba la presencia de cristales de forma hexagonal compatibles con cistina (Fig. 1). Los resultados del sistemático fueron: pH, 6,5; densidad, 1,015, y leucocitos++. En consecuencia, se realizó una ecografía renal en la que se observó litiasis en todos los grupos calicales del riñón izquierdo. En el análisis posterior de aminoácidos dibásicos se determinó la cistina en orina. Se obtuvo un valor de 248 mg cistina/g creatinina (valores de referencia: < 38 mg/g) (1,2). Fue diagnosticada de cistinuria.

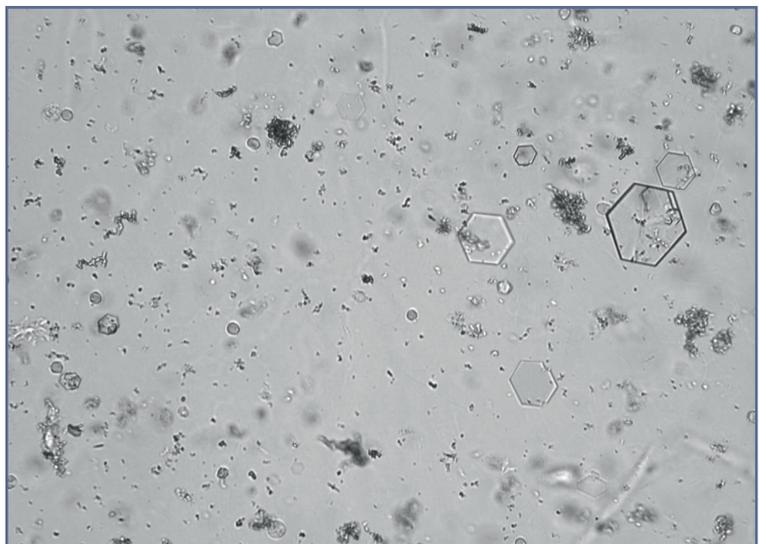


Figura 1 – Estudio de sedimento urinario con microscopio óptico de campo claro (400x). Se observan cristales con forma hexagonal compatibles con cistina.

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

DOI: 10.20960/revmedlab.00121

Castañeda Nieto S, Prada Blanco F, Macías Blanco C. Cristales de cistina en orina. Rev Med Lab 2022;3(3):117-118

La cistinuria es una enfermedad hereditaria autosómica recesiva (3) producida por un defecto en la reabsorción tubular renal e intestinal de la cistina y de los aminoácidos dibásicos (lisina, arginina y ornitina) (4). El aumento de la excreción urinaria de cistina junto a su insolubilidad en orinas ácidas favorece la formación de litiasis. Los cristales presentan forma hexagonal, birrefringencia a la luz polarizada y se diferencian de los del ácido úrico anhidro por su solubilidad en amonio (4,5).

Se trata de una enfermedad litiásica compleja. Es fundamental el diagnóstico precoz, el seguimiento y el tratamiento de las complicaciones debido al alto riesgo de recurrencias y de desarrollo de enfermedad renal crónica (5). El laboratorio desempeña un papel clave por medio de la observación microscópica de los cristales en el sedimento urinario. En este caso, gracias al urianálisis realizado y a los resultados aportados pudo hacerse un diagnóstico etiológico de la enfermedad.

BIBLIOGRAFÍA

1. Lumbreras J, Morales LJ. Estudio metabólico urinario para el diagnóstico y seguimiento de la litiasis renal en pacientes pediátricos. *Revista Española de Pediatría* 2020;75(1):5-24.
2. Rodrigo Jiménez MD, Sáez-Torres MC, Lumbreras Fernández J. Litiasis renal y nefrocalcinosis. En: García JJ, Cruz O, Mintegui S, Moreno JM, editores. *Manual de Pediatría*, 4.ª edición. Madrid: Ergon; 2019. p. 1186-90.
3. Orts Costa JA, Zúñiga Cabrera A, Martínez de la Cámara, Salmerón J. Actualización de la cistinuria: aspectos clínicos, bioquímicos y genéticos. *An Med Interna (Madrid)* 2003;20:317-26. DOI: 10.4321/S0212-71992003000600011
4. Pierna M, Abdelgabar M, Fernández-Rivas R, Fernández-Burriel M. Cistinuria: sedimento de orina como herramienta diagnóstica. *Advances in Laboratory Medicine / Avances en Medicina de Laboratorio*. 2020;20190031. DOI: 10.1515/almed-2019-0031
5. Domínguez Grandal C, Álvarez Pérez MS, Docampo Ferreira M, Abal JM, Martínez Docampo A. Cistinuria: la importancia del sedimento. *Rev Lab Clin* 2019;12(4):161-4. DOI: 10.1016/j.labcli.2019.02.002

Imagen/Infografía**Infiltración de médula ósea por *Leishmania spp.* en paciente con mieloma múltiple*****Bone marrow infiltration by Leishmania spp. in a multiple myeloma patient*****Sergio García Muñoz, Antonio García Menchón**

UGC Laboratorios. Hospital La Inmaculada. Huércal-Overa, Almería

Recibido: 18/07/2022
Aceptado: 21/11/2022**Correspondencia:** Sergio García Muñoz. UGC Laboratorios. Hospital La Inmaculada. Avda. Doctora Ana Parra, s/n. 04600 Huércal-Overa, América e-mail: sergio.garcia.munoz.sspa@juntadeandalucia.es

Mujer de 75 años, con antecedentes familiares de cáncer de colon. Se diagnosticó en 2013 de mieloma múltiple (MM) IgG Kappa, y recibió esquema bortezomib, melphalan y prednisona (VMP) como tratamiento de primera línea. Posteriormente comenzó segunda línea de tratamiento, tras presentar datos de progresión, con esquema lenalidomida y dexametasona, el que mantuvo hasta enero de 2022. Tras presentar pancitopenia mantenida de 2 dos meses de evolución se realizó aspirado de médula ósea en marzo de 2022, con hallazgos morfológicos compatibles con infiltración por *Leishmania spp.* por presencia de parásitos tanto intra- como extracelulares con macrófagos cargados de amastigotes (Figura 1). Ante esta sospecha se solicitó detección de ADN de *Leishmania spp.*, con resultado positivo. Como clínica presentó febrícula autolimitada durante los días previos a la realización del estudio medular. Tras los hallazgos se decidió ingreso hospitalario y se inició tratamiento con anfotericina B liposomal durante cinco días. Ante

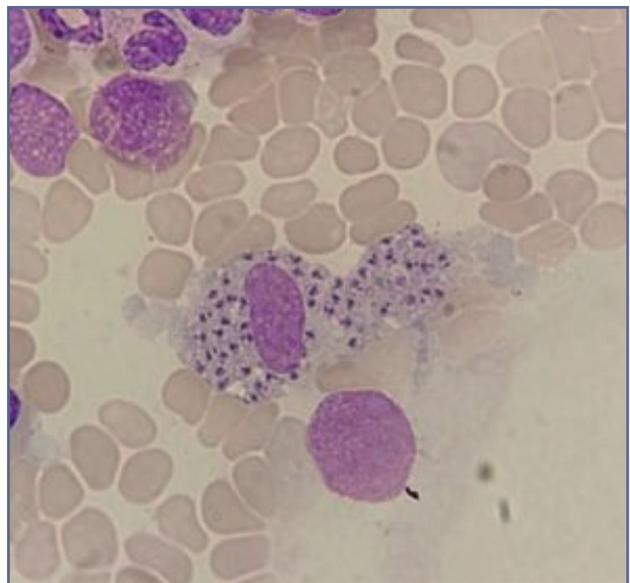


Figura 1 – Amastigotes intracelulares fagocitados por un macrófago en médula ósea.

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

DOI: 10.20960/revmedlab.00142

García Muñoz S, García Menchón A. Infiltración de médula ósea por *Leishmania spp.* en paciente con mieloma múltiple. Rev Med Lab 2022;3(3):119-120

la buena evolución observada, se finalizó el tratamiento de forma ambulatoria con 5 dosis más, administradas 1 vez por semana. Actualmente la paciente presenta cifras de hemograma normales y se encuentra asintomática.

Leishmania spp. es una familia de parásitos intracelulares que causan enfermedad en animales y humanos. La infección se adquiere normalmente por la picadura de mosquitos jején o culicoides, que actúan como vectores de diseminación desde sus reservorios animales (1). Puede manifestarse como síndrome cutáneo, mucoso o visceral (kala-azar). Los pacientes inmunodeprimidos son especialmente vulnerables (2). En la leishmaniosis visceral, producida por *L. donovani* o *L. infantum*, se produce fiebre irregular, hepatoespleno-

megalia, pancitopenia e hipergammaglobulinemia, y está asociada a alta mortalidad (3).

BIBLIOGRAFÍA

1. Durán-Pla E, Causa R, Martín Romero DT. Enfermedades transmitidas por vectores en Andalucía. Monografía Vol. 26, N.º 3. Sevilla: Consejería de Salud y Familias; 2021.
2. Herrador Z, Gherasim A, Jiménez BC, Granados M, San Martín JV, Aparicio P. Epidemiological changes in leishmaniasis in Spain according to hospitalization-based records, 1997-2011: raising awareness towards leishmaniasis in non-HIV patients. PLoS Negl Trop Dis 2015;9(3):e0003594.
3. Burza S, Croft SL, Boelaert M. Leishmaniasis. The Lancet 2018;392(10151):951-70. DOI: 10.1016/S0140-6736(18)31204-2



Test prenatal no invasivo: preguntas emergentes desde el laboratorio clínico

Non invasive prenatal testing: emerging questions from the clinical laboratory

Moderadora: Adela Pozo Giráldez¹

Expertas: Laia Pedrola Vida², Mónica Viejo Díaz³, Rosa María Lobo Valentín⁴

¹Laboratorio de Bioquímica Clínica y Patología Molecular. Hospital Clínico Universitario de Valencia. Valencia. ²Unidad de Genética. Hospital Universitari i Politècnic La Fe. Valencia. ³Unidad de Genética. Hospital Universitario Central de Asturias. Instituto de Investigación Sanitaria del Principado de Asturias (ISPA). Oviedo. ⁴Servicio de Análisis Clínicos. Hospital Universitario Río Hortega. Valladolid

INTRODUCCIÓN

El test prenatal no invasivo (TPNI) ha supuesto una revolución en el abordaje del diagnóstico de aneuploidias prenatales y, hasta la fecha, ha sido clínicamente adoptado como una potente herramienta de cribado para las aneuploidias cromosómicas más frecuentes, como son la trisomía 21 (síndrome de Down), 18 síndrome de Edwards) o 13 (síndrome de Patau).

Este análisis presenta una serie de ventajas respecto a otras pruebas prenatales existentes. En primer lugar, requiere de un procedimiento menos invasivo para la gestante, ya que está basado en el análisis de ADN fetal libre de células circulantes en el plasma materno, por lo que no lleva asociado ningún riesgo de pérdida fetal. Por otra parte, puede realizarse a partir de la semana diez de gestación y es más preciso para detectar las trisomías comunes que otras pruebas prenatales, como las ecografías o el cribado combinado (bioquímico y ecográfico) del primer trimestre.

En los últimos años, las tecnologías genómicas emergentes, basadas principalmente en la secuenciación masiva de nueva generación, están teniendo un impacto significativo en el ámbito reproductivo, ampliando los análisis a detección de aneuploidias subcromosómicas (deleciones y duplicaciones) y disminuyendo considerablemente el porcentaje de prue-

bas invasivas realizadas (amniocentesis o biopsias coriales).

A pesar de las ventajas de este cribado, también se plantean cuestiones acerca del aumento de hallazgos incidentales, de la aparición de resultados con incertidumbre o de limitaciones para la detección de poliploidías (triploidía y tetraploidía), translocaciones y trisomías parciales o en mosaico.

La metodología empleada en el TPNI puede estar basada en la secuenciación del genoma completo a baja resolución, en la secuenciación de regiones específicas o en el análisis de polimorfismos de nucleótido único (SNP).

Por otro lado, dependiendo de cada Comunidad Autónoma los criterios de acceso de las gestantes al TPNI son variables, así como la metodología empleada en cada laboratorio, lo que hace que la notificación de los resultados del TPNI no esté completamente estandarizada. A ello hay que sumar que la gran mayoría de las Comunidades Autónomas (CC. AA.) no tienen internalizada ni centralizada la prestación en sus sistemas sanitarios, lo que obliga a la externalización de la prueba a diferentes laboratorios privados, con los inconvenientes que ello supone. Ante la revolución que ha supuesto el TPNI, numerosas Sociedades Científicas han publicado recomendaciones sobre la aplicación adecuada de esta técnica para el diagnóstico prenatal de anomalías genéticas congénitas.

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



Grupo de trabajo de test prenatal no invasivo. Unidad de Genética. Hospital Universitari i Politècnic La Fe. Valencia.

Para abordar estos avances y consideraciones emergentes, invitamos a un grupo de expertas del Sistema Nacional de Salud para que compartan sus puntos de vista sobre el tema y expliquen sus experiencias respecto a la centralización del cribado en cada una de las CC. AA. en las que trabajan.

¿Qué criterios deben cumplirse para que una gestante pueda acceder a pruebas de TPNI en su Comunidad Autónoma dentro del sistema público de salud? ¿Qué técnica emplea en su laboratorio y a cuánta población cubre?

Laia Pedrola: en la Comunidad Valenciana se ofrece TPNI en el Sistema Público de Salud como un cribado contingente, es decir, en función del resultado del cribado combinado (bioquímico y ecográfico) del primer trimestre. Se trata de un programa promovido por la Dirección General de Salud Pública y que se ofrece a todas aquellas gestantes de las veintiuna maternidades de la Comunidad Valenciana que tienen un riesgo intermedio (entre 1/50 y 1/1000). Además, se ofrece también a aquellas gestantes con un embarazo previo con aneuploidias en los cromosomas 21, 13 o 18 y gestantes portadoras de una enfermedad recesiva ligada al cromosoma X para la determinación del sexo fetal. En las mujeres embarazadas que comiencen su seguimiento más allá de la semana veinte de gestación se valora la indicación del TPNI en función de los tiempos para poder realizar la confirmación en caso necesario.

Para la realización de la técnica de TPNI empleamos una tecnología de secuenciación de genoma completo (secuenciación por síntesis de Illumina, Inc.), que se lleva a cabo en el laboratorio de la unidad de genética del Hospital Universitari i Politècnic La Fe.



Mónica Viejo: en el Principado de Asturias la estrategia diseñada para la incorporación del TPNI ha sido de contingencia o de segundo nivel, es decir, para aquellas gestantes con un riesgo en el cribado combinado de entre 1/50 y 1/250. También se ha dado cabida a aquellas gestantes que no han podido entrar en el cribado combinado por desconocer su embarazo a tiempo o por algún error de fechas, es decir, como cribado de rescate, además de aquellas gestantes con antecedentes de aneuploidias de los cromosomas 13, 18 y 21, siempre que hayan sido trisomías libres.

La población diana son todas las gestantes de la comunidad (alrededor de unas 6000 anuales).

La técnica que empleamos es la secuenciación masiva, que se encuentra externalizada, y uno de los requisitos para su adjudicación es que el laboratorio externo la tenga acreditada bajo la NORMA ISO 15189.



Rosa María Lobo: en Castilla y León los criterios de selección incluyen principalmente a gestantes con riesgo intermedio en el cribado combinado (comprendido entre 1/50 y 1/1000). Asimismo, se incluyen a gestantes con enfermedades víricas (VIH, VHB y VHC) susceptibles de transmisión vertical con técnicas invasivas, a gestantes con múltiplos de la mediana (MoM) para β -hCG libre y

PAPP-A < 0,4 simultáneamente, gestaciones conseguidas por técnicas de reproducción asistida con cribado combinado entre 1/1 y 1/1000 y por último, a gestantes con antecedentes previos de cromosomopatías.

Empleamos una tecnología de secuenciación de genoma completo (secuenciación por síntesis de Illumina, Inc.). El estudio se realiza en el Hospital Universitario Río Hortega (HURH) para todas las gestantes de la Comunidad Autónoma que cumplen los criterios descritos en el documento consenso elaborado por la Sociedad Regional de Ginecología y Obstetricia y el Laboratorio de Genética del HURH.

En países como Inglaterra, Francia o Alemania se ofrece el TPNI como prueba de segundo nivel (tras una evaluación inicial del riesgo) para todas las gestantes dentro del sistema público de salud, mientras que en otros países europeos, como Bélgica o Países Bajos, su uso está indicado como prueba de primer nivel en su programa nacional prenatal. ¿A qué estándar europeo consideras que debería converger el Sistema Nacional de Salud español? ¿Crees que el TPNI debería estar disponible de forma generalizada para todas las gestantes que así lo soliciten?

Laia Pedrola: La indicación para realizar un estudio de TPNI debe estar siempre basada en criterios científicos y de efectividad. En este momento no existen evidencias de que un cribado universal aporte beneficios sobre un cribado contingente. Paradójicamente, una estrategia de este tipo podría llevar a un aumento del número de pruebas invasivas innecesarias. Es evidente que esto redundaría en un aumento muy notable del coste sin que reportara ningún beneficio claro.

En general, solo países con poblaciones relativamente pequeñas han adoptado este tipo de estrategia en la que, seguramente, también influyen otras consideraciones no estrictamente científicas.

En el sistema de salud de nuestro país debería ofrecerse a todas las gestantes, al menos como prueba de segundo nivel. Nuestros esfuerzos deben encaminarse

a la unificación de criterios entre las distintas CC. AA. para garantizar un acceso equitativo a esta prestación para todas las mujeres gestantes que lo precisen.

Mónica Viejo: el TPNI presenta una sensibilidad y una especificidad más elevada que el cribado combinado. Es muy importante recalcar que también nos permite detectar la trisomía 13 (síndrome de Patau), una malformación que, aunque detectable en la ecografía, pasa desapercibida en el cribado combinado. Debería dirigirse a una sustitución gradual del cribado combinado por el TPNI, siempre que sistema sanitario público pueda asumir el coste del TPNI y permita el cribado poblacional en todas las gestantes.

Rosa María Lobo: en mi opinión el TPNI está llamado a convertirse en la prueba de elección en cribado prenatal con carácter totalmente universal para las trisomías comunes, siempre y cuando la disminución de costes de la prueba así lo permita.

Una reciente declaración del American College of Medical Genetics and Genomics recomienda informar del rendimiento clínico de aquellos laboratorios que realizan TPNI en términos de tasa de la tasa de detección, especificidad clínica y valor predictivo positivo (VPP) para los síndromes de Down, Patau y Edwards. ¿Qué desafíos crees puede imponer esto a los laboratorios que realizan la prueba TPNI y qué rendimiento estimas que puede tener tu laboratorio o también el número de pruebas invasivas evitadas?

Laia Pedrola: los laboratorios tenemos la obligación de recoger bien todos estos datos para poder ofrecer estadísticas y tener una estimación del rendimiento. Nuestra tasa de detección para estas tres aneuploidias es del 100 % y la especificidad es del 99,95 %. El VPP es más elevado para la trisomía 21 (95,92 %), en segundo lugar para la trisomía 18 (80 %) y en tercer lugar para la trisomía 13 (60 %).

Mónica Viejo: considero que es muy importante poder evaluar los resultados y así permitirnos conocer los datos reales de su rendimiento. En nuestro laboratorio evaluamos anualmente el rendimiento de la prueba calculando la tasa de detección y su correlación con las pruebas invasivas realizadas.

Desde la implantación del cribado en junio de 2019, la tasa de detección para las tres aneuploidias ha sido del 100 %. En este periodo no hemos tenido ningún falso negativo. Asimismo, hemos observado desde 2013 una reducción de pruebas invasivas de forma gradual. Entre las causas que podrían explicar esta disminución está la incorporación del TPNI en el ámbito privado.

La implementación del TPNI en la sanidad pública asturiana ha permitido una mayor equidad entre todas

las gestantes y una reducción de un 23 % del número de pruebas invasivas realizadas.

Rosa María Lobo: considero que todos los laboratorios que realizan la técnica deben conocer e informar sobre el rendimiento diagnóstico obtenido. Para ello es necesario recopilar los resultados de la prueba invasiva en todos los informados de alto riesgo, en aquellos casos falsos negativos informados de bajo riesgo y en los que al nacimiento se demuestre cromosomopatía en los cromosomas 13, 18 o 21.

El descenso de pruebas invasivas en nuestra Comunidad Autónoma fue del 40 % (2018), del 52 % (2019) y del 61 % (2020), consiguiendo una sensibilidad del 100 % para nuestro valor de corte superior a 1/1000.

Nuestra tasa de detección para estas tres aneuploidias es del 100 %, con una especificidad del 86,3 % y una tasa de falsos negativos del 0 %. El VPP para la trisomía 21 es del 81 %, para la trisomía 18, del 80 % y para la trisomía 13, del 50 %.

¿Con qué frecuencia y en qué condiciones estimas que pueden encontrarse hallazgos incidentales asociados al TPNI? ¿Consideras esto como una ventaja o una limitación de la prueba? ¿Crees que los laboratorios deben informar sobre ellos?

Laia Pedrola: en nuestra casuística, los hallazgos incidentales (aneuploidias raras y segmentales) se detectan con una elevada frecuencia (por delante de la trisomía 18 y de la trisomía 13); sin embargo, el VPP en ellos es bajo (5,56 % y 23,53 %, respectivamente).

Pensamos que es una ventaja y que deben publicarse, ya que, aunque muchos de ellos podrían estar confinados a placenta, también pueden, de distintos modos, afectar a la gestación.

Mónica Viejo: el hallazgo de resultados incidentales asociados al TPNI creo que viene asociado de una forma inherente al tipo de estrategia seguida. En nuestro caso, con un cribado de contingencia y utilizando el TPNI básico estos hallazgos son mínimos. Si se extendiera a toda la población gestante, podríamos encontrar monosomías X no confirmables en el feto por mosaicismos confinados a placenta o riesgos altos tanto de trisomía 13 como de trisomía 18 asociadas a procesos malignos en la gestante y no en el feto.

No hemos encontrado hallazgos incidentales informativos, pero sí que realizamos estudios por técnica invasiva en aquellas gestaciones en las que, en clínicas privadas, ha salido un riesgo alto para aneuploidias cromosómicas pocas frecuentes o deleciones de gran tamaño. Hasta el momento, ninguno de estos casos ha tenido confirmación diagnóstica (cariotipo/array CGH/DUP).

Considero, por tanto, que informar de los hallazgos incidentales puede considerarse como una desventaja técnica, pero al mismo tiempo podría conseguirse una sensibilidad-especificidad muchísimo mayor para las aneuploidias más frecuentes, lo que permite que todas las parejas pudieran decidir de forma prenatal si seguir o no con el embarazo.

Rosa María Lobo: entiendo como hallazgo incidental el resultado no buscado de manera específica, tendríamos todas aquellas aneuploidias de cromosomas distintos al 13, 18 y 21 y sexuales y las anomalías segmentales superiores a 7 Mb.

Su conocimiento es una ventaja si resultan ser ciertos y una limitación si reflejan mosaicos confinados a placenta, ya que en estos casos se habría ofertado una técnica invasiva innecesaria.

En un estudio previo realizado en nuestro laboratorio estimamos un 10 % adicional de este tipo de hallazgos. Su incorporación o no en el informe debe hacerse por consenso y es así como se hace en la Comunidad Autónoma de Castilla y León.

La frecuencia observada en los dos años tras su implantación ha sido del 3,5 % y su VPP ha sido del 12 %.

Las Sociedades Científicas nacionales aún no han avalado su introducción en la práctica clínica habitual, por lo que creo que debemos esperar a que lo hagan. Todos deberíamos trabajar en la misma dirección, aunque conocemos países de la Unión Europea que ya están informando de estos hallazgos.

En nuestro centro se informan en caso de feto no viable y siempre que los progenitores soliciten conocer estos hallazgos en el consentimiento informado.

¿Qué información consideras que es fundamental incluir en el consentimiento informado para el TPNI?

Laia Pedrola: considero que debe incluir una breve descripción de la técnica, su objetivo, los beneficios esperados, su tasa de sensibilidad y de especificidad, el tipo de resultados que pueden obtenerse y sus limitaciones técnicas. Además, es imprescindible conocer el deseo de la gestante de ser informada o no sobre el sexo fetal o los hallazgos incidentales.

Mónica Viejo: es muy importante insistir en que es un test de cribado y no una prueba diagnóstica definitiva, así como en explicar sus limitaciones, como, por ejemplo, la disminución del ratio de ADN fetal cuando la gestante tiene una elevada masa corporal. El paciente debe saber que pueden existir otro tipo de alteraciones que no pueden detectarse con esta técnica y que, por ejemplo, carece de valor en algunas situaciones, como

en los portadores de una translocación en la que no estén implicados los cromosomas analizados.

Rosa María Lobo: considero que deben aclararse conceptos como su naturaleza no diagnóstica, los cromosomas de los que va a informarse, las tasas de detección de patología y de falsos negativos, la necesidad de repetición de la prueba o la obtención de una nueva muestra y las limitaciones de la prueba según el método elegido, así como especificar aspectos como el uso de muestras sobrantes y la confidencialidad de la información.

¿Qué desafíos o retos crees que existen a la hora de implantar un programa de calidad analítica en un laboratorio que realiza TPNI?

Laia Pedrola: si bien es verdad que en los inicios del TPNI la existencia de diferentes metodologías hacía necesario instaurar programas estrictos de calidad, hoy en día puede considerarse como una técnica robusta que incluye marcado CE-IVD con gran implantación en el laboratorio. En este sentido, los programas de calidad analítica en TPNI no deberían variar de otros programas de cribado que realizan en el laboratorio en los que se aplican normas ISO. Cabe destacar, obviamente, que se trata de una técnica que, además de un resultado, debe llevar implícito un asesoramiento genético, lo que debería recogerse en los programas de calidad que evalúen el TPNI.

Mónica Viejo: contar con un programa de calidad es básico para poder informar de esta prueba y sin él no deberían poder emitirse resultados. A la hora de implantarlo, no encuentro que existan más retos que los que se nos presentan para cualquier otra prueba que se realice en el laboratorio.

Rosa María Lobo: es obligatoria la inscripción y la realización de un control externo de calidad que asegure la adecuada realización de la técnica, en un esquema con un suficiente número de usuarios y la acreditación de la técnica, preferiblemente con la norma UNE-EN-ISO 15189.

Publicaciones recientes de la *European Journal of Human Genetics* hacen referencia a la "rutinización del TPNI". En esta, abundan resultados con incertidumbre (por ejemplo, alteraciones genéticas no catalogadas), especialmente aquellos que proporcionan información limitada sobre el tipo o la gravedad de la alteración genética encontrada. ¿Cree que este problema podría paliarse con un asesoramiento genético postest?

Laia Pedrola: sí. De hecho, nuestra legislación obliga, al igual que en cualquier otra determinación genética, a llevar a cabo un asesoramiento genético pre- y postest adecuado.

Mónica Viejo: El asesoramiento postest es fundamental para explicar el riesgo detectado e insistir que la prueba no es diagnóstica y que se requiere de una prueba invasiva para confirmar o descartar el riesgo resultante. Todo ello recordando a la gestante lo importante que es el seguimiento ecográfico, que este test no sustituye a la ecografía y que el embarazo es un proceso evolutivo continuo en el que puede que en algún otro momento sea necesario realizar una prueba invasiva por alguna otra sospecha ecográfica.

Rosa María Lobo: pienso que las Sociedades Científicas deben avalar la inclusión del asesoramiento y las parejas deben recibir la información necesaria sobre la prueba y los resultados de los que se les va a informar o no en las consultas pre- y posprueba, que considero imprescindibles.

En el futuro, ¿crees probable que en el cribado de TPNI se incluyan más microdeleciones, microduplicaciones y mutaciones para los trastornos mendelianos de un solo gen, como las talasemias o la anemia de células falciformes? ¿Cuáles son las perspectivas de futuro del TPNI?

Laia Pedrola: sí, técnicamente ya es posible incluir buena parte de los síndromes de microdelección. Es probable que con el tiempo y el aumento de la fiabilidad en las determinaciones se amplíe el espectro de alteraciones que pueden detectarse. El cribado de enfermedades monogénicas, sin embargo, supone todavía un reto y puede que sean necesarios nuevos desarrollos tecnológicos para detectarlas. Probablemente, el futuro del TPNI se encuentre en la secuenciación completa y en el análisis de las secuencias en todo el genoma, lo que supondrá un grandísimo reto para los laboratorios.

Mónica Viejo: La perspectiva de que en un futuro seamos capaces de detectar más alteraciones sería positiva. Al existir muchos síndromes que no presentan alteraciones ecográficas fetales o las presentan de forma muy sutil, la perspectiva de que en un futuro seamos capaces de detectar más alteraciones mediante el TPNI es alentadora. Para poder aplicarlo para detectar cualquier otra alteración, el ensayo debería estar correctamente validado para ello y presentar unas elevadas sensibilidad y especificidad.

Rosa María Lobo: Sin lugar a dudas nos encontramos con una prueba de cribado con amplias perspectivas de futuro. Es probable que con el tiempo se introduzcan más aplicaciones, que los pipelines diagnósticos mejoren e incluso que se descubran nuevas propiedades en el ADN fetal libre circulante que lo diferencien del material materno, lo que podría ser la base para nuevas aplicaciones de este test.

