



# ByPC

Vol. 89 - Nº2

May.-Ago. de 2025

Ciudad de Bs. As. Argentina

ISSN 1515-6761 Ed. Impresa

ISSN 2684-0359 Ed. electrónica

# Bioquímica y Patología Clínica

Revista de la Asociación Bioquímica Argentina

*M. Skłodowska Curie*

Marie Curie (1867-1934)

Nació el 7 de noviembre en Varsovia, Polonia, fue una pionera en el campo de la radiactividad y se convirtió en la primera mujer en ganar un Premio Nobel, además de ser la única persona en recibir el Nobel en dos disciplinas científicas diferentes: Física y Química. Su vida y trabajo no solo marcaron un hito en la ciencia, sino que también abrieron puertas para futuras generaciones de mujeres en la investigación científica.



## EDITORIAL

- Pág. 13 **Gemelos digitales: transformando la investigación clínica.**

*Digital Twins: Transforming Clinical Research.*

Verona, Julián.

## ARTÍCULOS ORIGINALES

- Pág. 15 **Influencia de la anticoncepción sobre la microbiota vaginal.**

*Influence of contraception on the vaginal microbiota.*

Perazzi, Beatriz Elizabeth; Reyes, Ana Paula; Ledinic, Antonella; Payalef, Sandra Noemi; Losada, Mirta Olga; Alonso, Carolina; Blanco, Analía; Puñal, Agustina; Salamanca, Carolina; Fleider, Laura Alicia; Maldonado, Verónica Andrea; Vay, Carlos; Famiglietti, Angela; Gómez Cherey, Facundo; Ortiz, Javier.

- Pág. 24 **Validación de la cuantificación de interleucina 6 en líquido amniótico con utilidad predictiva en el parto pretérmino espontáneo.**

*Validation of interleukin 6 quantification in amniotic fluid with predictive utility in spontaneous preterm delivery.*

Rolando, Jessica Yanel; Denaday, Lisandro Roberto; Solari Ligo, Maria Florencia; Giustino Villar, Juan Patricio; Nardi, Maria Amelia; Meller, Cesar Hernán.

- Pág. 31 **Citoquímico del líquido cefalorraquídeo y proteína C reactiva sérica en la distinción de las meningitis en pediatría.**

*Cytochemistry of cerebrospinal fluid and serum C-reactive protein to discriminate pediatric meningitis.*

Urruty, Ayelén; Castillo, Griselda Elizabeth; Capece, Fabrina; Svartz, Alejandra Valeria; Urteneche, M. Inés; Cassanelli, Martín.

- Pág. 38 **Anticuerpos antitiroglobulina en pacientes obesas tiroidectomizadas con cáncer diferenciado de tiroides.**

*Anti-thyroglobulin antibodies as predictors of recurrence in thyroidectomized obese patients with differentiated thyroid cancer.*

López, Sonia Beatriz1; Gutiérrez, Florencia; Lenz, Claudia Natalia; Mahmud Salum, Verónica Liz.

- Pág. 46 **Prevalencia de anticuerpos anti - Bartonella henselae en pacientes con sospecha clínica y epidemiológica de enfermedad por arañazo de gato.**

*Serological evaluation of patients with clinical and epidemiological suspicion of cat scratch disease.*

Magdaleno, María Alejandra; Cosentino, Tamara; Iruña, María Cecilia; Rampulla, Santiago; Montenegro, Graciela; Pomerantz, Bettina Rosana; Gadda, Natalia.

- Pág. 52 **Autoanticuerpos contra dianas neuronales en epilepsia.**

*Autoantibodies against neuronal targets in epilepsy.*

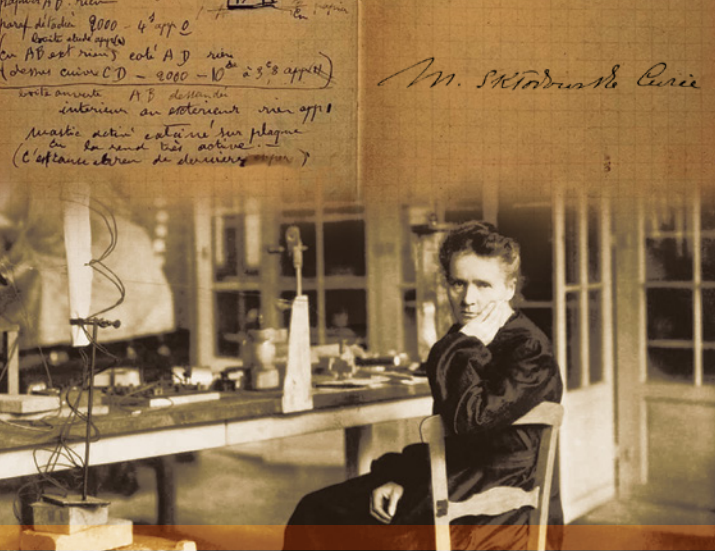
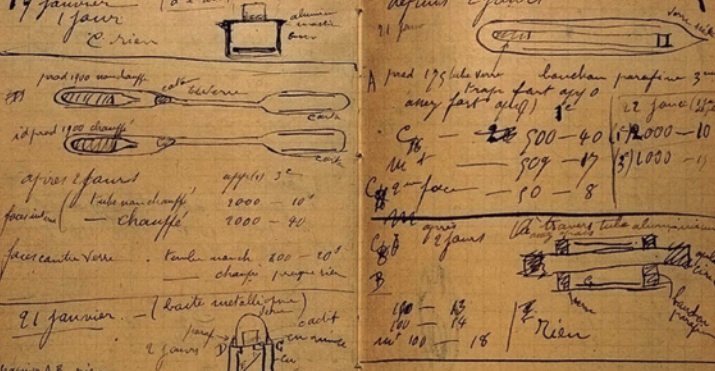
Ramos, Sivia Graciela Novoa, Viviana; Aranda, Claudio.

## ARTÍCULO DE REVISIÓN

- Pág. 60 **Fundamentos inmunológicos en la enfermedad celíaca: etiología y alternativas terapéuticas.**

*Immunological foundations in celiac disease: etiology and therapeutic alternatives.*

Acuña, Jeshua; Arrieta, Marcel; Robles, Norman; Vilchez, Nicole; Villegas, Britany.



M. Skłodowska Curie

## TAPA

**Marie Curie (1867-1934)**  
Pionera en el campo de la radioactividad

María Salomea Skłodowska-Curie, más conocida como Marie Curie o Madame Curie Skłodowska, nació el 7 de noviembre de 1867 en Varsovia, Polonia, fue una pionera en el campo de la radiactividad y se convirtió en la primera mujer en ganar un Premio Nobel, además de ser la única persona en recibir el Nobel en dos disciplinas científicas diferentes: Física y Química. Su vida y trabajo no solo marcaron un hito en la ciencia, sino que también abrieron puertas para futuras generaciones de mujeres en la investigación científica.

Curie nació en una familia de profesores, lo que fomentó su interés por la educación y el conocimiento. Desde joven demostró un gran talento académico. Sin embargo, debido a las restricciones impuestas a las mujeres en Polonia, no pudo acceder a la universidad en su país natal. En 1891, se trasladó a París, donde se matriculó en la Universidad de la Sorbona. Allí vivió en condiciones precarias, trabajando para mantenerse mientras estudiaba física y matemáticas. Su dedicación y esfuerzo la llevaron a graduarse con honores en 1893.

En la Sorbona, Marie conoció a Pierre Curie, un físico que se convirtió en su esposo en 1895. Juntos trabajaron en investigaciones sobre la radiactividad, un término que ella acuñó. En 1896, Henri Becquerel descubrió que ciertos materiales emitían radiación, lo que despertó el interés de Marie. Decidida a explorar este fenómeno, comenzó a estudiar minerales de uranio, lo que la llevó a descubrir que el mineral de pechblenda emitía radiación en niveles mucho más altos que el uranio.

Marie y Pierre Curie lograron aislar dos nuevos elementos radiactivos: el polonio (nombre en honor a Polonia) y el radio. En 1903, los Curies compartieron el Premio Nobel de Física con Becquerel por sus investigaciones sobre la radiactividad.

Este reconocimiento fue un gran logro, especialmente considerando que en ese tiempo las mujeres enfrentaban muchos obstáculos en el ámbito académico y científico.

Después de la muerte de Pierre en 1906, Marie asumió su puesto como profesora en la Sorbona, convirtiéndose en la primera mujer en ocupar ese cargo. Durante este periodo, amplió sus investigaciones y estableció el Instituto Curie en París en 1920, donde continuó su trabajo sobre la radiactividad y sus aplicaciones en la medicina.

El Instituto Curie se convirtió en un centro de investigación de renombre, y Marie se dedicó a la investigación sobre el uso de la radiación en el tratamiento del cáncer. Su trabajo fue fundamental en el desarrollo de la radioterapia, que ha salvado innumerables vidas. En 1911, nuevamente fue galardonada, esta vez con el Premio Nobel de Química, por su investigación sobre el radio y el polonio.

Marie Curie no solo dejó un legado científico, sino que también rompió barreras de género en la ciencia. Su vida y logros inspiraron a muchas mujeres a seguir carreras en la investigación y la ciencia. Fundó la Cruz Roja Francesa, donde utilizó su conocimiento para ayudar a los soldados heridos en la Primera Guerra Mundial, creando unidades móviles de rayos X.

Falleció el 4 de julio de 1934, debido a una anemia aplásica, probablemente causada por su exposición a la radiación durante sus investigaciones. Su legado perdura y su trabajo sentó las bases para la investigación en radiactividad y su aplicación en la medicina, y su vida sigue siendo un ejemplo de perseverancia y dedicación en la búsqueda del conocimiento. No solo avanzó el conocimiento científico, sino que también cambió la percepción del papel de las mujeres en la ciencia.

## COMISIÓN DE LA REVISTA

### DIRECTOR

#### Dr. Fernando D. Brites

- Facultad de Farmacia y Bioquímica.  
Universidad de Buenos Aires.
- Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas.  
Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

### SECRETARÍA CIENTÍFICA

#### Dra. Fabrina Capece

- Hospital General de Niños Pedro Elizalde.  
Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

### COMITÉ EDITORIAL

#### Dr. Orlando Gabriel Carballo

- Laboratorio Rossi.  
Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina
- Universidades del Hospital Italiano de Buenos Aires.  
Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

#### Dr. Isabel Desimone

- Hospital Interzonal General de Agudos Evita.  
Lanús, provincia de Buenos Aires.
- Universidad Kennedy.  
Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

#### Dr. Jaime Kovensky

- Hospital Dr. Arturo Umberto Illia.  
Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.
- Medicina, Universidad Nacional de la Matanza.  
Provincia de Buenos Aires, Argentina.

#### Dr. Julián Verona

- Hospital Municipal Subzonal Dr. Felipe Fossati.  
Balarce, provincia de Buenos Aires, Argentina.

### CORRECCIÓN DE ESTILO

Lic. Débora Schmer Miranda (Español)

Lic. María Victoria González Eusevi (Inglés)

### SECRETARIOS ADMINISTRATIVOS

Sr. Gastón Goldberg

Sr. Jorge Signorelli

### ASESORES\*

\*Las personas integrantes de este cuerpo no forman parte del Comité Editor y por lo tanto no participan en las decisiones editoriales respecto a la aceptación o rechazo de publicación de artículos presentados a la revista. No obstante, eventualmente son consultados por los editores respecto a temas específicos de su campo disciplinar de conocimiento.

**Aresio Plaza Lopez.** Hospital Universitario Puerta de Hierro, Majadahonda, Madrid, España.

**Carlos Alberto von Mühlen.** Hospital Molinos de Viento, Porto Alegre, Brasil.

**Carlos Calvo Monfil.** Universidad de Concepción, Concepción, Chile.

**Dora Ruchanzky.** Universidad de la República del Uruguay, Uruguay.

**Fernando Antúnez.** Hospital Maciel, Administración de Servicios de Salud del Estado, Montevideo, Uruguay.

**Ignacio García de la Torre.** Hospital General de Occidente y Universidad de Guadalajara, Guadalajara, México.

**Luis García de Guadiana Romualdo.** Hospital Universitario Santa Lucía, Cartagena, España.

**María Montserrat Blanes González.** Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Nacional de Asunción, Paraguay.

**Pablo Daniel Lapunzina Badi.** Hospital Universitario La Paz, Madrid, España.

**Adriana Factorovich.** Hospital de Niños Ricardo Gutiérrez, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

**Alejandra Scaziotta.** Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

**Alejandra Ginaca.** Hospital de Niños Dr. Ricardo Gutiérrez, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

**Alberto Lazarowski.** Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

**Alberto Villagra.** Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

**Alicia Arechabala.** Hospital Francisco J. Muñiz, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

**Alicia Blanco.** Academia Nacional de Medicina, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

**Angela Famiglietti.** Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

**Belén Bouzas.** Hospital Francisco J. Muñiz, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

**Carlos Vay.** Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

**Cesar Collino.** Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina.

**Claudia Ayuso.** Hospital de Niños Dr. Ricardo Gutiérrez, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

**Claudia Menghi.** Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

**Daniel Bustos.** Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

**Eduardo Mormandi.** Hospital Carlos Durand, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

**Fernando Goldbaum.** Instituto Leloir, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

**Gabriel Migliarino.** Universidad de Morón, Morón, Argentina.

**Gabriela Mendeluk.** Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

**Gabriela Santiso.** Hospital Francisco J. Muñiz, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

**Gloria Cerrone.** Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

**Graciela Ponce.** Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco, Comodoro Rivadavia, Chubut, Argentina.

**Graciela Ramos.** Hospital Carlos G Durand, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

**Jorge Quarleri.** Instituto de Investigaciones Biomédicas en Retrovirus y Sida, Universidad de Buenos Aires, CABA, Argentina.

**Jorge Rey.** Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

**José Margariños.** Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

**Laura Boero.** Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

**Leticia Madalena.** Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

**Luis Cuniberti.** Universidad Favaloro, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

**María José Rial.** Hospital de Niños Pedro de Elizalde, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

**María Laura D' Ambrosio.** Hospital Interzonal General de Agudos Evita de Lanús, Lanús, Provincia de Buenos Aires, Argentina.

**Marta Martinuzzi.** Hospital Italiano de Buenos Aires, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

**Monica Aixalá.** Academia Nacional de Medicina, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

**Nestor Litwin.** Universidad Nacional de Mar del Plata, Mar del Plata, Argentina.

**Nilda Fink.** Fundación Bioquímica Argentina, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

**Nora Slobodianik.** Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

**Patricia Otero.** Hospital Carlos Durand, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

**Patricia Sorroche.** Instituto Universitario, Hospital Italiano de Buenos Aires, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

**Sara Kauffman.** Hospital General de Agudos Dr. Juan A. Fernández, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

**Silvia González.** Hospital de Rehabilitación Respiratoria María Ferrer, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

**Stella Carchio.** Hospital Prof. Juan P. Garrahan, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

**Viviana Osta.** Hospital de Niños Dr. Ricardo Gutiérrez, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

**ASOCIACIÓN BIOQUÍMICA ARGENTINA**

Fundada el 3 de septiembre de 1934

**COMISIÓN DIRECTIVA**

**PRESIDENTE**

**Dra. Silvia B. González**

**VICEPRESIDENTE**

**Dra. Patricia Otero**

**SECRETARIA**

**Dra. Viviana Osta**

**TESORERA**

**Dra. Isabel Desimone**

**VOCALES**

**1° Vocal Titular**

**Dra. María José Rial**

**2° Vocal Titular**

**Dr. Eduardo Mormandi**

**3° Vocal Titular**

**Dra. María Rugiero**

**1° Vocal Suplente**

**Dr. Alberto Villagra**

**2° Vocal Suplente**

**Dra. M. de la Paz Domínguez**

**3° Vocal Suplente**

**Dra. Alejandra Svartz**

**COMISIÓN REVISORA DE CUENTAS**

**Titular 1°**

**Dra. Silvia Morilla**

**Titular 2°**

**Dra. Estella Meyer**

**Titular 3°**

**Dra. Silvia Cajiao**

**1° Vocal Suplente**

**Dra. Florencia Minotti**

**2° Vocal Suplente**

**Dra. Laura Colitto**

**COMISIONES INTERNAS**

**PRENSA Y DIFUSIÓN**

**Presidente: Dra. Rocío Romero**

**Secretaria: Dra. Florencia Minotti**

**Vocales: Dr. Eduardo Mormandi**

**Dra. Fabrina Capece**

**Dra. Nuria Cañellas**

**CERTIFICACIÓN**

**Presidente: Dr. Alberto Villagra**

**Secretaria: Dra. Viviana Osta**

**Vocal: Dra. María José Rial**

**COMISIÓN CULTURA**

**Presidente: Dra. Silvia Morilla**

**Secretario: Dr. Alberto Villagra**

**CURSOS**

**Presidente: Dra. Silvia González**

**Secretaria: Dra. María Soledad**

**Caldirola**

**Vocales: Dra. María José Rial**

**Dra. María de la Paz**

**Domínguez**

**Dra. Alejandra Svartz**

**Dra. Rocío Romero**

**Dra. Laura Colitto**

**COMITÉ CIENTÍFICO ASESOR**

**Dra. Mónica Aixalá**

**Dr. Gloria Alvarez**

**Dra. Liliana Arias**

**Dra. Alicia Blanco**

**Dr. Orlando Gabriel Carballo**

**Dra. Silvia González**

**Dr. César Colino**

**Dr. Eduardo Mormandi**

**Dr. Jorge Rey**

**Dra. María José Rial**

**Dra. Sandra Rozental**

**Dra. Gabriela Santiso**

**Dra. Nora Slobodianik**

**PREMIOS Y DISTINCIONES**

**Dra. Alicia Blanco**

**Dr. Fernando Brites**

**Dra. Nilda Fink**

**Dr. Néstor Litwin**

**Dr. Miguel Angel De Cristóforo**



# REGLAMENTO DE PUBLICACIONES

## Instrucciones para los autores

Los trabajos enviados a la Revista ByPC deben ser originales y no deben haber sido publicados o estar postulados simultáneamente en otras revistas u órgano de difusión científica nacional o extranjero, tanto en forma impresa como electrónica.

Para la preparación de manuscritos, se siguen los requerimientos de las Recomendaciones para la preparación, presentación, edición y publicación de trabajos académicos en revistas médicas (ICMJE, según su sigla en inglés) disponible en <http://www.icmje.org/icmjerecommendations.pdf>. Asimismo, se recomienda consultar las guías para publicación de distintos tipos de trabajos en:

<http://www.espanol.equator-network.org>.

La recepción de trabajos se realizará mediante el sistema OJS en la web oficial de la Revista ByPC:

<http://www.revistabypc.org.ar/>

Cualquier duda podrá despejarse ingresando al instructivo o solicitar asistencia a [revistabypc.aba@gmail.com](mailto:revistabypc.aba@gmail.com)

Para incluir material de otras fuentes con derechos de autor en artículos a publicar en la revista, se debe obtener el correspondiente permiso, y adjuntar copia del mismo al artículo propuesto para publicación.

## 1. Requisitos para el envío de manuscritos

- Doble espacio en todas las partes del manuscrito.
- Empezar cada sección o componente en una nueva página.
- Revisar la secuencia: título; autores; lugares de trabajo; número de ORCID; datos del autor de correspondencia; resumen y palabras clave en castellano; título, resumen y palabras clave en inglés americano; introducción; materiales y métodos; resultados; discusión; agradecimientos, referencias bibliográficas, leyendas de las figuras; tablas; y figuras (cada una en página separada).
- Las ilustraciones no deben ser más grandes que 203 x 254 mm
- Incluir los permisos para reproducir material publicado previamente o usar imágenes que pueden identificar a las personas.

## 2. Carta al Director

Carta dirigida al Director de la Revista en la cual se solicita la publicación del artículo. Debe contener el título del trabajo, categoría a la cual pertenece (ver ítem 3), nombre y apellido de todos los autores, número de ORCID, dirección, teléfonos y dirección de e-mail del autor de contacto, una dirección de e-mail alternativa, una frase con valor de declaración jurada en la que se manifieste que el artículo cumple con todos los requisitos de publicación en ByPC, y que la última versión del manuscrito ha sido leída y aprobada por todos los autores.

## 3. Secciones de la revista

Secciones	Extensión máxima palabras	Resumen extensión palabras	Referencias bibliográficas máx.	Nº máx. tablas y figuras	Nº máx. fotos
Artículo original	2500	250	40	6	2
Comunicación breve y Casos clínicos	1400	150	15	4	-
Actualización o Revisión*, o Artículos especiales	2000 4000	150	20 40		
Comentarios	1300	-	10		
Consensos y guías*	sin especificar	150			
Cartas al editor*	1500	-	5		
Comentarios a libros	800				

\* Revisiones, Cartas al Editor, guías y consensos

Las revisiones, cartas al editor, guías y consensos serán usualmente solicitados por el Comité Editorial de la Revista a autores considerados expertos en el campo, la disciplina o la especialidad en cuestión. Sin embargo, serán consideradas para su publicación las que fueran enviadas espontáneamente. Deberán seguir los lineamientos expuestos para la publicación de artículos originales, con la diferencia de que su texto no necesitará contar con resultados y discusión.

## 4. Preparación de los manuscritos

### 4.1. Generalidades:

El archivo deberá ser nombrado solamente con el apellido del primer autor y la leyenda "y col." si correspondiese (Ej.: Pérez y col.).

El texto debe estar dividido en secciones con los títulos de Introducción, Materiales y Métodos, Resultados y Discusión. Los artículos extensos pueden requerir subtítulos dentro de algunas secciones (especialmente en las secciones de Resultados y Discusión) para aclarar sus contenidos.

Debe estar escrito en procesador de texto Word, en tamaño de página A4, con márgenes de al menos 25 mm, empleando letra Arial tamaño 12. Usar doble espacio, incluyendo la página del título, resumen, texto, agradecimientos, referencias bibliográficas, tablas individuales y leyendas.

Numerar las páginas consecutivamente empezando con la página del título. Poner el número de la página en la esquina inferior derecha de cada página.

### 4.2 La primera página debe contener:

- a) El título, que debe ser conciso pero informativo.
- b) El apellido y luego, separado por coma, los nombres completos de los autores, lo cual debe ir seguido de punto y coma, y los datos del siguiente autor. A continuación del nombre de cada autor, se debe colocar, a modo de superíndice, el número que haga referencia al lugar de trabajo al que pertenece dicho autor; y el número de ORCID. El autor al cual debe ir dirigida la correspondencia debe ser destacado con un asterisco también a modo de superíndice (Ej.: Ramírez, Juan Carlos<sup>1\*</sup>; Benítez, Laura<sup>2</sup>; Romero, Mario<sup>3</sup>).

c) Cada lugar de trabajo con el número asignado al autor correspondiente. No se deben emplear abreviaturas. Debe constar primero el nombre del servicio o laboratorio, luego el correspondiente al departamento y por último el de la institución, todo separado por comas y seguido de punto. A continuación, se debe incluir el nombre de la ciudad, la provincia y el país, también separados por comas y con punto final [Ej.: Laboratorio de Lípidos y Aterosclerosis, Departamento de Bioquímica Clínica, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina].

d) Nombre completo del autor responsable de recibir la correspondencia, su lugar de trabajo, la dirección postal, y la dirección de e-mail.

#### **4.3 La segunda página debe contener:**

a) El resumen en castellano de no más de 250 palabras. Debe estar estructurado de la siguiente manera: introducción, objetivos, materiales y métodos, resultados y conclusiones. Se deben incluir dichos subtítulos de manera explícita. El resumen debe establecer los propósitos del estudio o investigación, procedimientos básicos (selección de los sujetos de estudio o animales de laboratorio; métodos de observación y analíticos), los hallazgos principales y las conclusiones más relevantes. Debería enfatizarse en los aspectos nuevos e importantes del estudio u observaciones. Se recomienda incluir los valores correspondientes a los hallazgos más relevantes acompañados de la forma de expresión de los mismos [Ej.: Media  $\pm$  D.E.] y el tratamiento estadístico, si correspondiese. En el resumen no se deben utilizar abreviaturas.

b) Palabras clave. Los autores deben colocar, e identificar como tales, tres a diez palabras clave o frases cortas que servirán para la indización cruzada del artículo y deben ser publicadas con el artículo.

#### **4.4 La tercera página debe contener:**

a) Título en inglés americano. Debe cumplir los mismos requisitos que el título en castellano.

b) Resumen en inglés americano (Abstract). Debe cumplir los mismos requisitos que el resumen en castellano e incluir los siguientes subtítulos: Introduction, Objectives, Materials and Methods, Results y Conclusions.

c) Palabras clave en inglés americano (Key words). Deben cumplir los mismos requisitos que las palabras clave en castellano.

#### **4.5 Las páginas subsiguientes, comenzando cada sección en página aparte, deben contener:**

a) Introducción. En la introducción, se debe expresar el contexto o los antecedentes del estudio (por ejemplo, la naturaleza del problema y su importancia) y enunciar el propósito específico u objetivo de la investigación o la hipótesis que se pone a prueba en el estudio u observación. A menudo, la investigación se centra con más claridad cuando se plantea como pregunta. Tanto los objetivos principales como los secundarios deberán estar claros, y deberá describirse cualquier análisis de subgru-

pos predefinido. Se deben incluir sólo las referencias que sean estrictamente pertinentes y no añadir datos o conclusiones del trabajo que se presenta.

b) Materiales y Métodos. Debe describir detalladamente los sujetos experimentales (humanos o animales), el equipamiento, los reactivos y los procedimientos utilizados, con la inclusión de las marcas registradas cuando corresponda y referencias al utilizar métodos establecidos.

Indicar las consideraciones éticas que correspondan si han participado en el estudio seres humanos (aprobación por comités de ética y obtención de consentimiento informado). ByPC adhiere a las normas éticas establecidas por el Comité de Ética de las Publicaciones (Committee on Publication Ethics -COPE- <https://publicationethics.org/>). También, indicar las consideraciones éticas que correspondan si se han utilizado en el estudio animales de experimentación (Comité Institucional de Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio, CICUAL).

Se recomienda dividir la sección Materiales y Métodos mediante el empleo de subtítulos en el caso de ser demasiado extenso. Incluir una sección de "Análisis de datos" en la cual se describan las formas de expresión de los resultados y los métodos estadísticos empleados, si correspondiese. Estos deben ser descriptos con suficiente detalle para permitir que un lector experto con acceso a los datos originales pueda comprobar los resultados que se presentan. Cuando sea posible, cuantificar los hallazgos y presentarlos con los indicadores de medida de error o de incertidumbre adecuados (como los intervalos de confianza).

Evitar basarse únicamente en la comprobación de hipótesis estadísticas, como el uso de valores  $p$ , que no dan información sobre la magnitud del efecto. Siempre que sea posible, las referencias sobre el diseño del estudio y los métodos estadísticos deberán corresponder a manuales o artículos habitualmente citados para tal fin (con los números de página incluidos). Definir también los términos estadísticos, abreviaturas y la mayoría de símbolos. Especificar el software utilizado.

En caso que corresponda, se sugiere incluir una sección de "Cálculo del tamaño muestral".

c) Resultados. Presentar los resultados siguiendo una secuencia lógica en el texto, tablas e ilustraciones, y destacando en primer lugar los hallazgos más importantes. No repetir en el texto los datos de las tablas o ilustraciones; resaltar o resumir sólo las observaciones más importantes.

Los materiales extra o suplementarios y los detalles técnicos pueden situarse en un anexo donde se puedan consultar para no interrumpir la secuencia del texto.

Cuando los datos se resuman en este apartado, los resultados numéricos no sólo deben presentar los derivados (por ejemplo, porcentajes) sino también los valores absolutos a partir de los cuales se calcularon, y especificar los métodos estadísticos utilizados para analizarlos.

Limitar el número de tablas y figuras a las estrictamente necesarias para ilustrar el tema del artículo y para evaluar su grado de apoyo. Usar gráficos como alternativa a las tablas con muchas entradas; no duplicar datos en los gráficos y tablas. Evitar usos no técnicos de términos estadísticos, como "azar" (que implica un dispositivo de aleatorización), "normal," "significativo,"

“correlaciones” y “muestra”. Cuando sea científicamente adecuado, incluir análisis en función de variables como edad y sexo. d) **Discusión.** Destacar los aspectos más novedosos e importantes del estudio y las conclusiones que de ellos se deducen, contextualizándolos en el conjunto de las evidencias más accesibles. No repetir en detalle datos u otro material que aparezca en la Introducción o en el apartado Resultados.

En el caso de estudios experimentales, es útil empezar la discusión resumiendo brevemente los principales resultados; a continuación, explorar los posibles mecanismos o explicaciones de dichos hallazgos, comparar y contrastar los resultados con los de otros estudios relevantes, exponer las limitaciones del estudio, y explorar las implicaciones de los resultados para futuras investigaciones y para la práctica clínica.

Relacionar las conclusiones con los objetivos del estudio, evitando hacer afirmaciones rotundas y sacar conclusiones que no estén debidamente respaldadas por los datos. En particular, evitar afirmaciones sobre los costes y beneficios económicos a menos que el manuscrito incluya datos económicos con sus correspondientes análisis. Evitar afirmaciones o alusiones a aspectos de la investigación que no se hayan llevado a término.

Cabe la posibilidad de establecer nuevas hipótesis cuando tengan base, pero calificándolas claramente como tales.

e) **Agradecimientos.** Una o más declaraciones deben especificar: a) Las contribuciones que necesitan agradecerse pero que no justifican una autoría, tales como apoyo general por una jefatura de departamento; b) Agradecimientos al apoyo técnico; c) Agradecimiento al apoyo financiero y material, que debe especificar la naturaleza del apoyo; y d) Las relaciones que pueden tener un conflicto de intereses.

Las personas que han contribuido intelectualmente al artículo, pero cuyas contribuciones no justifican una autoría, pueden ser mencionadas y sus funciones o contribuciones pueden ser descritas - por ejemplo, “asesor científico”, “revisión crítica de los propósitos del estudio”, “recolección de información” o “participación en el ensayo clínico”; tales personas deben haber dado sus permisos para ser mencionadas. Los autores son responsables de obtener los permisos escritos de las personas a quienes se agradece. La ayuda técnica debe ser agradecida en un párrafo aparte de los agradecimientos de otras contribuciones.

## **5. Aspectos que deben tenerse en cuenta en la redacción del manuscrito (Normas Vancouver actualizadas a 2016)**

### **5.1 Citas bibliográficas:**

Es la presentación textual o resumida, de ideas expresadas por otros autores que sirven de apoyo al investigador, se contraponen a lo que él dice o aportan mayor información sobre un tema determinado. Las citas son un tipo de texto incrustado en otro texto. Las citas en estilo Vancouver por lo general utilizan un sistema de secuencia numérica. Son numeradas consecutivamente en el orden de aparición en el texto. Se identifican con números arábigos entre corchetes, ejemplo [1].

a) Tipo de citas

- Cita directa: La que se transcribe textualmente. Ejemplo:

“La cita textual breve, de menos de cinco renglones, se inserta dentro del texto entre comillas, y el número correspondiente se coloca al final, después de las comillas y antes del signo de puntuación” [3].

- Cita corta: Menos de cinco renglones.
- Cita larga: Más de cinco renglones. Se escribe fuera del texto, dejando doble espacio y sangría, entre comillas y en bastardilla.
- Cita indirecta: Mención de las ideas de un autor con palabras de quien escribe. Se escribe dentro del texto sin comillas, el número de la referencia se escribe inmediatamente después de citar su idea. Ejemplo: La mortalidad infantil conduce a empeorar la calidad de vida de Medellín [5].

b) Tipo de cita según redacción

- Cita integral: Es aquella donde el nombre del autor forma parte de la oración. El nombre se integra dentro del texto. El número de la referencia se escribe después del apellido del autor y antes de citar su idea. Ejemplos: Como dice Londoño [5] la mortalidad infantil conduce a empeorar la calidad de vida de Medellín. Cita Indirecta Según Sanz Pinyol [1] “Desde el punto de vista de la caracterización de los discursos, en el aula suelen producirse diferentes géneros” Cita directa
- Cita no integral: No se menciona el nombre del autor dentro del texto. Ejemplos:   
É la mortalidad infantil conduce a empeorar la calidad de vida de Medellín [5]. Cita Indirecta  
“Desde el punto de vista de la caracterización de los discursos, en el aula suelen producirse diferentes géneros” [1]. Cita directa

### **5.2 Referencias bibliográficas:**

- Conjunto de datos suficientemente detallados que permite identificar un documento. En el caso de que la referencia citada disponga de un identificador de objeto digital (DOI) u otro homologable (ARK, Handle, etc) esta información deberá formar parte de la referencia de acuerdo a las normas de Vancouver. Deben ser numeradas consecutivamente en el orden en que son mencionadas en el texto. Identificar las referencias en el texto, cuadros y leyendas con números arábigos entre corchetes. Las referencias citadas sólo en los cuadros o en las leyendas de las figuras deben ser numeradas de acuerdo con la secuencia establecida por la primera identificación en el texto del cuadro o figura particular.
- Usar el estilo basado en los formatos utilizados por la US National Library of Medicine (NLM) en el Index Medicus. Los títulos de las revistas deben ser abreviados de acuerdo al estilo que utiliza el Index Medicus. Consultar la lista de revistas indexadas en el Index Medicus, publicado anualmente como una separata por la NLM y como una relación en el volumen del mes de enero del Index Medicus.
- Evitar el uso de los resúmenes como referencias. Las referencias a artículos aceptados pero no publicados deben ser designadas como “en prensa” o “en avance”; los autores deben obtener permiso por escrito para citar tales artículos así como

la verificación de que ellos han sido aceptados para publicación. La información de los manuscritos remitidos pero no aceptados debe ser citada en el texto como “observaciones no publicadas” con el consentimiento escrito de los autores.

- No citar una “comunicación personal” a menos que proporcione información esencial no disponible de una fuente pública, en cuyo caso el nombre de la persona y la fecha de la comunicación deben ser citados entre paréntesis en el texto. Para los artículos científicos, los autores deben obtener permiso por escrito y confirmación de exactitud de la fuente de la comunicación personal.
- Las referencias deben ser verificadas por el autor o autores en los documentos originales.
- El estilo de Requisitos Uniformes (de Vancouver) se basa principalmente en el estilo estándar ANSI adaptado por la NLM para su base de datos.

#### a) Artículos de revistas

- Si una revista lleva paginación continua a través de un volumen (como muchas revistas médicas lo hacen), el mes y el número del volumen deben ser omitidos: Vega KJ, Pina I, Krevsky B. Heart transplantation is associated with an increased risk for pancreatobiliary disease. *Ann Intern Med* 1996; 124: 980-3.
- Más de seis autores: Parkin DM, Clayton D, Black RJ, Masuyer E, Friedl HP, Ivanov E, et al. Childhood leukaemia in Europe after Chernobyl: 5 year follow-up. *Br J Cancer* 1996; 73: 1006-12.
- La organización como autor: The Cardiac Society of Australia and New Zealand. Clinical exercise stress testing. Safety and performance guidelines. *Med J Aust* 1996; 164:2824.
- Sin autor mencionado: Cancer in South Africa (editorial). *S Afr Med J* 1994; 84: 14.
- Artículo no escrito en inglés: Ryder TE, Haukeland EA, Solhaug JH. Bilateral inftapatellar seneruptur hos tidligere frisk kv-vinne. *Tdsskr Nor Laegeforen* 1996; 116: 412.
- Volumen con suplemento: Shen M Zhang QF. Risk assesement of nikel carcinogenicity and occupational lung cancer *Environ Health Perspect* 1994; 102 Suppl 1: 275-82.
- Número con suplemento: Paybe DK, Sullivan ME, Massie MJ. Women's psychological reactions to breast cancer. *Semin Oncol* 1996; 23 [1 Suppl 2. 89-97].
- Volumen con parte: Ozben T, Nacirarhan S, Tuncer N. Plasma and urine sialic acid in noninsulin dependent diabetes mellitus. *Ann Clin Biochem* 1995; 32 (Pt 3): 303-6.
- Número con parte: People GH, Mills SM. One Hundred consecutive cases offlap lacerations of the leg in ageing patients. *N Z Med J* 1994,107 [986 PH]: 377-8.
- Número sin volumen: Turan I, Wredmark T, Fellander-Tsai L. Arthroscopic ankle arthrodesis in rheumatoid arthritis. *Clin Orthop* 1995; [320]:

110-4.

- Sin número, ni volumen: Browell DA, Lennard TW. Immunologic status of the cancer patient and the effects of blood transfusion on antitumor responses. *Curr Opin Gen Surg* 1993; 325-33.
- Compaginación en números romanos: Fisher GA, Sikie BI. Drug in clinical oncology and hematology. Introduction. *Hematol Oncol Clin North Am* 1995 Apr 9(2): xi xii.
- Tipo de artículo indizado tal como es requerido: Enzensberger W, Fischer PA. Metronome in Parkinson's disease [carta]. *Lancet* 1996; 347 1337. Clement J, De Bock R. Hematological complications of hantavirus nephropathy (HVN) [resumen] *Kidney Int* 1992; 42: 1285.
- Artículo conteniendo una retractación: Garcy CE, Schwarzman AL, Rise ML. Ceruloplasmin gene defect associated with epilepsy in EL mice [retraction de Garey CE, Schwarzman AL, Rise ML. In: *Nat Genet* 1994; 6.: 426-31]. *Nat Genet* 1995,11: 104.
- Artículo retractado: Liou GI, Wang M, Matragoon S. Precocious IRBPgene expression during mouse development [retractado en *Invest Ophtholmo Vis Sci* 1994; 35: 31271. *Invest Ophtholmol Vis Sci* 1994; 35: 1083-8.
- Artículo con errata publicada: Hamlim JA, Kahn AM. Herniorraphy in symptomatic patients following inguinal hernia repair [publicado con errata en *West J Med* 1995; 162.2781]. *West J Med* 1995; 162 28-31.

#### b) Libros y otras monografías

- Autor (o autores) personal: Ringsven MK, Bond D. Gerontology and leadership skills for nurses. 2nd ed. Albany (NY): Delmar Publisher; 1996.
- El editor (es), compilador (es) como autor: Norman IJ, Redfern SJ, editors. Mental health care for elderly people. New York; Churchill Livingstone; 1996.
- Una organización como autor y editor: Institute of Medicine (US). Looking at the future of the Medical program. Washington (DC): The Institute; 1992].
- Un capítulo en un libro: Phillips SJ, Whisnant JP Hypertension and stroke. In: Laragh JH, Brenner BM, editors. Hypertension: pathophysiology, diagnosis, and management. 2nd ed. New York: Kaven Press; 1995. p. 465-78.
- Libro de congreso: Kimura J, Shibasaki H, editors. Recent advances in clinical neurophysiology. Proceedings of the 10th International Congress of EMG and Clinical Neurophysiology; 199 Oct 1519; Kyoto, Japan. Amsterdam: Elsevier; 1996.
- Ponencia de un congreso: Bengtsson S, Solheim BG. Enforcement of data protection, privacy and security in medical informatics. In: Lun KC, Degouler P, Piemme TE, Rienhoff O, editors MEDINFO 92 m Proceedings of the 7th World Congress on Medical Informatics; 1992 Sep 6-10, Geneva, Switzerland. Amsterdam: North-Holland; 1992. p. 1561-5.

#### c) Informe científico o técnico

- Emitido por la agencia financiante o auspiciadora:  
Smith P, Golladay K Payment for durable medical equipment billed during skilled nursing facility stays. Final report Dallas (TX): Dept. of Health and Human Services (US), Office of Evaluation and Inspections; 1994 Oct. Report N° HHSI-GOEI69200860.
- Emitido por la agencia ejecutante:  
Field MJ, Tranquada RE, Feasley JC, editors. Health services research: work force and educational issues. Washington: National Academy Press; 1995. Contract N° AHCP R282942008. Sponsored by the Agency for Health Care Policy and Research.

#### d) Disertación

Kaplan SJ. Post-hospital home health care; the elderly's access and utilization [dissertation]. St Louis (MO): Washington Univ; 1995.

#### e) Patente

Larsen CE, Trip R, Johnson CR, inventors; Novoste Corporation, assignance. Methods for procedures related to the electrophysiology of the heart. US patent 5.529,067, 1995 Jun Material publicado.

#### f) Artículo de periódico

Lee G. Hospitalizations tied to ozone pollution: study estimates 5000 admissions annually. The Washington Post 1996; jun 21; Sect. A:3 [col5].

#### g) Material audiovisual

HIV+/AIDS: the facts and the future [videocassette]. St Louis (MO): Mosby-Year Book 1995.

#### h) Material legal

Ley Pública

Preventive Health Amendments of 1993, PubL. N° 103-183, 107 Stat, 2226 [Dec. 14, 1993].

Dispositivo no decretado

Medical Records Confidentiality Act of 1995, S. 1360, 104th Cong. 1st Sess [1995].

Código de regulaciones federales

Informed Consent, 42 C.F.R. Sect. 441. 257 [1995].

#### i) Material inédito

- En prensa o "en avance":  
Leshner AI. Molecular mechanisms of cocaine addiction. N Eng J Med. En prensa 1997

#### j) Material electrónico

- Artículo de una revista en formato electrónico:  
Morse SS. Factors in the emergence of infectious diseases. Emerg Infect Dis [serial on line] 1995 Jan-Mar [cited 1996 Jun 5], 1(1): [24 screens]. Available from: VRL: <http://www.cdc.gov/ncidod/EID/eid.htm>.
- Monografía en formato electrónico:  
CDI, clinical dermatology illustrated [monograph on CD-ROM]. Reeves JRT, Malbach H, CMEA Multimedia Group, producers. 2nd ed. Version 20. San Diego: CMEA; 1995.
- Archivo computarizado:  
Hemodynamics 111: the ups and downs of hemodynamics [computer program]. Version 2.2 Orlando (FL): Computerized Educational Systems; 1993.

## 6. Tablas

Todas las tablas deben agruparse a continuación de las leyendas de las figuras, cada una en página separada. Deberán estar numeradas secuencialmente con números romanos, contener un título antes de la tabla y aclaraciones al pie, si fuese necesario. Al pie de cada tabla debe figurar la aclaración de las abreviaturas empleadas, así como toda la información relacionada con la forma de expresión de los resultados y el tratamiento estadístico que los autores consideren necesaria. Las tablas deben ser comprensibles por sí mismas. Para la elaboración de las tablas, se recomienda utilizar el procesador de texto Word y seleccionar el Estilo de Tabla "Tabla básica 1".

## 7. Figuras

Todas las figuras deben agruparse a continuación de las tablas, cada una en página separada. Deberán estar numeradas secuencialmente con números arábigos. Las fotografías y las figuras podrán tener colores, aunque, en el caso de las figuras, el fondo debe ser blanco. El título de las figuras no debe incluirse junto a las mismas sino en la sección "Leyendas de Figuras". En dicha leyenda, debe incluirse el título de la figura, la aclaración de las abreviaturas empleadas y toda la información relacionada con la forma de expresión de los resultados y el tratamiento estadístico que los autores consideren necesaria. En caso de figuras, fotografías o tablas tomadas de otra publicación, se debe citar la fuente y además enviar el permiso escrito otorgado por el propietario intelectual de dicho material para que el mismo sea publicado en ByPC.

## 8. Ortografía y formas de expresión

- Se debe evitar la utilización de palabras en otros idiomas y, cuando ello sea indispensable, deberán ser colocadas en itálica [Ej.: in vitro].
- El estadístico "p" debe ser escrito en minúscula.
- En la expresión de los resultados, se debe dejar espacio entre la cifras y los símbolos o las unidades [Ej.:  $p < 0,05$ ;  $32 \pm 2$  g/L].
- Unidades: se deben emplear las unidades utilizadas más frecuentemente en nuestro medio para cada analito [Ej.: glucosa, urea, ácido úrico, lípidos, lipoproteínas, apoproteínas en mg/dL].
- Las abreviaturas deben ser aclaradas la primera vez que aparecen en el texto ubicándolas entre paréntesis, a pesar de que se trate de abreviaturas ampliamente conocidas [Ej. hemoglobina (Hb)].
- En la expresión de los resultados, tanto la media como la mediana deben contener la misma cantidad de decimales que sus respectivos desvíos estándar, errores, percentilos o rangos [Ej.  $9,25 \pm 0,78$ ].
- En la expresión de los resultados, la separación entre el entero y los decimales se debe hacer mediante comas y no con puntos, lo cual es propio del idioma inglés (3,25), excepto para el resumen en inglés (Abstract), en el cual se deben emplear puntos (3.25).
- En el texto, cuando un número aparece al principio de la oración, deberá ser escrito en letras [Ej. Veinte pacientes].

## Gemelos digitales: transformando la investigación clínica

Los gemelos digitales son representaciones virtuales, dinámicas de objetos o sistemas físicos o biológicos, que están emergiendo como una fuerza transformadora en la investigación clínica. Estos modelos, actualizados en tiempo real con datos precisos, permiten simular y analizar el comportamiento de sistemas biológicos complejos abriendo nuevas vías para comprender y tratar enfermedades.

Un gemelo digital se compone de tres elementos fundamentales: el objeto físico real, su réplica virtual en un entorno digital y el flujo bidireccional de datos que sincroniza ambos. Esta conexión constante permite monitorear, simular y analizar el desempeño del objeto físico con una precisión sin precedentes.

Pueden concebirse aplicaciones de gemelos digitales en las más diversas áreas. De nuestro particular interés, es su uso en la investigación clínica, que abarca: ensayos clínicos virtuales, modelado de enfermedades complejas, diseño y desarrollo de dispositivos médicos, etc.. Si bien todavía su uso no se ha extendido, no falta mucho para que esto ocurra y, simplemente, no podrá concebirse la investigación clínica sin su empleo.

Los gemelos digitales permitirán simular ensayos clínicos en poblaciones virtuales reduciendo la dependencia de pruebas en humanos y acelerando el desarrollo de nuevos medicamentos. Además, facilitarán las pruebas de diferentes protocolos y dosis de medicamentos identificando las estrategias de administración/dosificación más efectivas y seguras. Serán útiles para el estudio de enfermedades raras o de baja frecuencia o para realizar ensayos sobre poblaciones de difícil acceso. Los gemelos digitales podrán ser usados para comprender la patogénesis y la evolución de enfermedades complejas en los niveles molecular y celular, predecir la respuesta al tratamiento personalizando la terapia e identificar biomarcadores que permitan mejorar el diagnóstico y seguimiento de la enfermedad. También, serán útiles para optimizar el diseño y desarrollo de dispositivos médicos y personalizarlos según las características individuales del paciente.

En relación con los aspectos bioquímicos de la investigación clínica, los gemelos digitales también ofrecen herramientas poderosas para profundizar en este campo, permitiendo el modelado de vías metabólicas individuales, la simulación de procesos bioquímicos, el análisis y la interpretación de los flujos de metabolitos y la regulación enzimática. Todas estas cuestiones son clave para comprender cómo las variaciones genéticas, las condiciones ambientales o los fármacos afectan el metabolismo de cada individuo.

Al integrar datos genómicos, proteómicos y metabolómicos de un paciente, se podrán crear gemelos digitales que representen el metabolismo individual de ese paciente en particular, apuntando directamente a la medicina personalizada. Esto permitirá predecir la respuesta de cada individuo a diferentes dietas, fármacos o intervenciones optimizando la terapia y previniendo efectos adversos.

Los gemelos digitales permitirán modelar la progresión de enfermedades metabólicas como la diabetes, la obesidad o las enfermedades hepáticas. Esto facilitará la identificación de los mecanismos bioquímicos subyacentes a estas enfermedades y el desarrollo de nuevas estrategias de intervención. Al simular cómo responden los pacientes individuales a diferentes tratamientos, los gemelos digitales podrán ayudar a desarrollar terapias más eficaces y personalizadas.

Es crucial validar experimentalmente los modelos de gemelos digitales para garantizar su fiabilidad y precisión. Además, se deberán establecer marcos éticos

y legales sólidos para proteger la privacidad de los datos del paciente.

La investigación bioquímica clínica con gemelos digitales requerirá la colaboración entre bioquímicos, bioinformáticos, ingenieros y clínicos. También, cada una de las especialidades de la medicina deberá abordar las cuestiones informáticas necesarias para optimizar el uso de las tecnologías emergentes.

La integración de gemelos digitales a la investigación clínica redefinirá el rol del investigador transformando sus responsabilidades. El investigador se centrará en el análisis e interpretación de grandes volúmenes de datos simulados, participará en el diseño y validación de modelos virtuales precisos, supervisará y validará los resultados de ensayos clínicos virtuales, utilizará gemelos digitales para personalizar tratamientos según las características del paciente, trabajará en equipos multidisciplinarios para integrar conocimientos diversos y, finalmente, participará en la evaluación de las implicancias éticas y regulatorias.

La implementación de gemelos digitales en la investigación clínica claramente vendrá acompañada de problemas éticos y legales y, probablemente, haya que desarrollar una legislación particular que se anexará al bagaje existente sobre inteligencia artificial. Por otra parte, al tratarse de un “gemelo”, hay mucha información de pacientes individuales que está en juego (y en riesgo), y esto atenta contra el principio de autonomía. Además, todavía hay que demostrar que su uso redundará en un real beneficio para los pacientes y no causa daño. Finalmente, la falta de acceso podría generar inequidades.

También es cierto que el uso de gemelos digitales constituirá una forma segura de evaluar tratamientos o intervenciones que implicarían un riesgo o no podrían realizarse en sujetos humanos. Por ejemplo, podría someterse al gemelo digital a una dosis tóxica de un medicamento sin ningún riesgo sobre el paciente. Esto permitiría hacer extrapolaciones imposibles de reproducir con sujetos reales.

En un principio, la incorporación de gemelos digitales podría representar un costo adicional, pero pronto las ventajas serían notorias, al reducirse de manera significativa tanto los costos como las complejidades de realizar ensayos clínicos de campo con personas de carne y hueso.

Los gemelos digitales representan una revolución en la investigación clínica, ya que aceleran el descubrimiento científico y personalizan la medicina. Su implementación exitosa requerirá una colaboración interdisciplinaria y una atención rigurosa a las consideraciones éticas y regulatorias. En el futuro, habrá muchos debates y contrapuntos, y más dudas que certezas, pero lo cierto es que esto ya es una realidad y, como investigadores clínicos, deberemos adaptarnos para seguir adelante.

**Dr. Julian Verona**<sup>ID</sup>

Universidad de Buenos Aires (UBA)

Miembro del Comité Editorial ByPC

Miembro de la IFCC TF-E



Esta obra está bajo la licencia Creative Commons Atribución - No Comercial - Compartir Igual 4.0 Internacional. Permite compartir (copiar y redistribuir el material en cualquier medio o formato) y adaptar (remezclar, transformar y crear, a partir del material, otra obra) siempre que se cite la autoría y la fuente original de su publicación (revista, editorial y URL de la obra), no sean utilizados para fines comerciales y que se respeten los mismos términos de la licencia.

## ARTÍCULO ORIGINAL

## Influencia de la anticoncepción sobre la microbiota vaginal

*Influence of contraception on the vaginal microbiota*

Perazzi, Beatriz Elizabeth<sup>1,2</sup>; Reyes, Ana Paula<sup>1,2</sup>; Ledinic, Antonella<sup>3</sup>; Payalef, Sandra Noemi<sup>1,2</sup>; Losada, Mirta Olga<sup>1,2</sup>; Alonso, Carolina<sup>3</sup>; Blanco, Analía<sup>3</sup>; Puñal, Agustina<sup>3</sup>; Salamanca, Carolina<sup>3</sup>; Fleider, Laura Alicia<sup>3</sup>; Maldonado, Verónica Andrea<sup>3</sup>; Vay, Carlos<sup>1,2</sup>; Famiglietti, Angela<sup>1,2</sup>; Gómez Cherey, Facundo<sup>3</sup>; Ortiz, Javier<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Bacteriología Clínica, Departamento de Bioquímica Clínica, Hospital de Clínicas "José de San Martín", Universidad de Buenos Aires. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

<sup>2</sup>Instituto de Fisiopatología y Bioquímica Clínica (INFIBIOC), Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

<sup>3</sup>División Ginecología y Obstetricia, Hospital de Clínicas "José de San Martín", Universidad de Buenos Aires. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

\*Contacto: Perazzi, Beatriz Elizabeth, Lavalleja 2726 (1824), Lanús Oeste, Buenos Aires, Argentina; beatrizperazzi@gmail.com.

## Resumen

**Objetivos:** Evaluar el desbalance de la microbiota vaginal, la prevalencia de vaginosis bacteriana (VB), levaduras, trichomoniasis y reacción inflamatoria vaginal (RIV). Caracterizar las especies de lactobacilos en pacientes usuarias de distintos métodos anticonceptivos (preservativos, anticonceptivos orales [ACO], dispositivo intrauterino de cobre [DIU-Cu], ligadura tubaria [LT]). **Métodos:** Se llevó a cabo un estudio consecutivo, prospectivo y transversal. Se examinaron pacientes de 18 - 50 años. Se realizó examen clínico, estudio de balance del contenido vaginal (BACOVA) y cultivo. La identificación de lactobacilos se hizo por MALDI-TOF. **Resultados:** Se analizaron 1303 pacientes divididas en grupos: Grupo 1 (G1): ACO (n=314); Grupo 2 (G2): preservativo (n=385); Grupo 3 (G3): DIU-Cu (n=92); Grupo 4 (G4): LT (n=26) y Grupo 5 (G5): control (n=486). La prevalencia de estados vaginales básicos (EVV) de desbalance fue: G1: 34,4% (p=0,18); G2: 42,1% (p=0,12); G3: 48,9% (p=0,05); G4: 53,8% (p=0,14); G5: 37,9%. Los grupos con mayor prevalencia de VB fueron G3: 41,3% (p=0,03) y G4: 50% (p=0,05). Los grupos con mayor prevalencia de levaduras fueron G3: 31,5% (p=0,01) y G4: 38,5% (p=0,02). El 82,8% (p=0,01) del G3 con levaduras presentó estados inflamatorios (II/V). G3 presentó mayor prevalencia de RIV: 58,7% (p=0,01). *L. crispatus* tuvo una prevalencia en G1 de 31,6%; en G2 de 25,4%; en G3 de 39,4%; en G4 de 22,2% y en G5 de 29,9%. **Conclusión:** Se observó mayor desbalance de microbiota, prevalencia de VB y levaduras en usuarias de DIU-Cu. En las usuarias de ACO, predominó el balance de la microbiota y la prevalencia de *L. crispatus* respecto de las usuarias de barrera y similar al control. Las usuarias de DIU-Cu presentaron mayor RIV por ser un cuerpo extraño.

**Palabras claves:** anticoncepción, desbalance vaginal, vaginosis bacteriana, levaduras, trichomoniasis, *Lactobacillus*, reacción inflamatoria.

## Abstract

**Objectives:** To evaluate vaginal dysbiosis, prevalence of bacterial vaginosis (BV), yeasts, trichomoniasis and vaginal inflammatory reaction (VIR), and characterize the lactobacillus species present in patients using different contraceptive methods (oral contraceptive pills (OCPs), condom, Cu-intrauterine device (Cu-IUD) and tubal ligation (TL)). **Methods:** A cross-sectional, prospective and consecutive study. Patients aged 18-50 years were examined. Clinical examination, balance of vaginal content (BAVACO) study and culture were performed. Lactobacilli were identified by MALDI-TOF. **Results:** A total of 1303 patients were divided into: Group 1 (G1): OCPs (n=314), Group 2 (G2): Condom (n=385), Group 3 (G3): Cu-IUD (n=92), Group 4 (G4): TL (n=26), and Group 5 (G5): Control (n=486). The prevalence of vaginal dysbiosis was: 34.4% in G1 (p=0.18), 42.1% in G2 (p=0.12), 48.9% in G3 (p=0.05), 53.8% in G4 (p=0.14), and 37.9% in G5. The groups with higher prevalence of BV were G3 [41.3%] (p=0.03) and G4 [50%] (p=0.05). The groups with higher prevalence of yeasts were G3 [31.5%] (p=0.01) and G4 [38.5%] (p=0.02). About 82.8% (p=0.01) of G3 patients with yeasts presented inflammatory states (II/V). G3 had higher prevalence of VIR [58.7%] (p=0.01). *L. crispatus* prevalence was: 31.6% in G1, 25.4% in G2, 39.4% in G3, 22.2% in G4, and 29.9% in G5. **Conclusions:** Cu-IUD users presented greater vaginal dysbiosis and greater prevalence of BV and yeasts. The microbiota balance and prevalence of *L. crispatus* predominated in OCP users compared to condom users and were similar to the controls. Cu-IUD users had higher VIR due to the Cu-IUD being a foreign body.

**Keywords:** Contraception, Vaginal Unbalance, Bacterial Vaginosis, Vaginal Yeasts, Trichomoniasis, *Lactobacillus*, Vaginal Inflammatory Reaction.

## Introducción

La microbiota vaginal es un complejo sistema de microorganismos relacionados y en permanente equilibrio, que varía a lo largo de la vida. En la pubertad, por el estímulo estrogénico, aumenta el predominio de lactobacilos y, en menor proporción, una gran variedad de especies de bacterias aeróbicas, anaeróbicas y levaduras. Es entonces admisible reconocer la influencia de los estrógenos en la colonización vaginal por lactobacilos<sup>1</sup>. De esta forma, bajo su acción, el epitelio estratificado aumenta su espesor y los lactobacilos producen ácido láctico como metabolito final de la glucosa<sup>2</sup>.

Los métodos moleculares demostraron que *Lactobacillus crispatus*, *L. gasseri*, *L. jensenii* y *L. iners* son los géneros más comunes. Sin embargo, el ecosistema vaginal puede ser desequilibrado por una amplia variedad de factores, algunos endógenos y otros exógenos (como la anticoncepción o la terapia de reemplazo hormonal)<sup>3</sup>.

En la población argentina, de acuerdo con la Encuesta Nacional de Salud Sexual y Reproductiva (ENSSyR), los métodos más utilizados son los hormonales (50,5%) y el preservativo (29,6%). Sin embargo, en el Área Metropolitana de Buenos Aires (AMBA), el 40,2 % de las pacientes utiliza métodos hormonales y el 40%, preservativo<sup>4</sup>.

El uso de anticonceptivos orales (ACO) se ha asociado con aumento en la abundancia relativa de lactobacilos. Hay datos contradictorios sobre si las especies de lactobacilos que aumentan son protectoras o permisivas con respecto a la vaginosis bacteriana (VB)<sup>5</sup>. Respecto de los demás métodos anticonceptivos (MAC) -preservativo, dispositivo intrauterino de cobre-DIU-Cu, ligadura tubaria [LT]-, la evidencia es discordante y limitada.

Teniendo en cuenta lo expresado, los objetivos planteados fueron: 1) Evaluar el desbalance de la microbiota

vaginal mediante los estados vaginales básicos (EVB) por metodología del balance del contenido vaginal (BACOVA) en usuarias de MAC (preservativos, ACO, DIU-Cu, LT) en comparación con pacientes no usuarias de MAC (control); 2) Evaluar la presencia de patógenos vaginales en usuarias de MAC respecto del control; 3) Evaluar la presencia de reacción inflamatoria vaginal (RIV) en usuarias de MAC respecto del control; 4) Caracterizar las especies de lactobacilos asociadas a usuarias de distintos MAC.

## Materiales y métodos

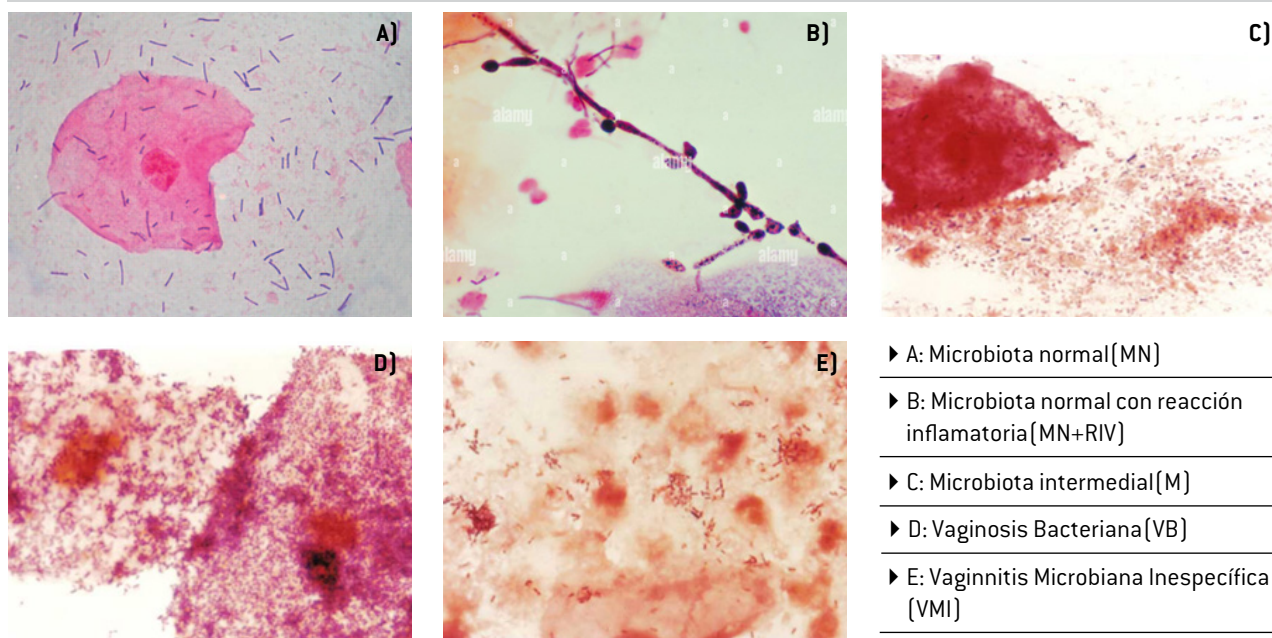
Se realizó un estudio observacional, analítico, consecutivo, prospectivo, de corte transversal. Se examinaron pacientes entre 18 y 50 años, con inicio de relaciones sexuales y ciclos menstruales conservados, atendidas entre enero del 2013 y diciembre del 2022. Este trabajo fue aprobado por el Comité de Ética del hospital, y todas las pacientes dieron su consentimiento informado.

## Población

Criterios de inclusión: pacientes entre 18 y 50 años, con inicio de relaciones sexuales, ciclos menstruales conservados, usuarias de MAC (preservativo, ACO, anticonceptivos inyectables, implante subdérmico, SIU-LNG (levonorgestrel), DIU-Cu, *coitus interruptus*, anillo vaginal, LT. Grupo control: no usuarias de MAC.

Criterios de exclusión: uso de antibióticos (ATB) locales o sistémicos, embarazadas, malformaciones genitales, pacientes en tratamiento con corticoides o quimioterapia, pacientes que no tuvieran abstinencia sexual dentro de las 48 h previas al estudio. Criterios de eliminación: grupo de estudio cuyo número muestral fuera menor de 10.

**Figura 1.** Estados vaginales básicos (EVB): observación en la coloración de Gram (1000X) del contenido vaginal.



## Metodología

Luego de la firma del consentimiento informado, se procedió a la recolección de datos para completar la ficha ginecológica. Además, se recogieron datos médicos y epidemiológicos de interés. A todas las pacientes se les realizó examen clínico y toma de fondo de saco vaginal para el estudio microbiológico por metodología convencional y estudio de los EVB mediante BACOVA.

El estudio microbiológico del contenido vaginal incluyó los siguientes exámenes:

1. Extendidos para coloración de Gram y May-Grünwald Giemsa prolongado;
2. Observación en fresco con 1 ml de solución fisiológica (SF);
3. Determinación de pH de la secreción vaginal;
4. Observación en fresco con 1 ml de KOH al 10% y prueba de aminas;
5. Cultivo en medio líquido (tioglicolato modificado) para *Trichomonas vaginalis*, con incubación de 7 días a 37°C en atmósfera de 5% de CO<sub>2</sub>;
6. Cultivo en agar base Columbia con 5% de sangre humana y en agar Man-Rogosa-Sharpe con incubación de 48 h a 37°C en atmósfera de 5% de CO<sub>2</sub>, conservando la muestra en medio de Stuart.

La detección de levaduras se realizó a través de la observación en fresco con SF y con KOH al 10% y por cultivo en agar Sabouraud y agar sangre.

La investigación de *T. vaginalis* se llevó a cabo a través de la observación microscópica directa con SF, la coloración de May-Grünwald, Giemsa prolongado y el cultivo en tioglicolato modificado<sup>6,7</sup>. El diagnóstico de VB se realizó utilizando el criterio de Nugent<sup>8</sup>.

El estudio del BACOVA incluyó el análisis morfológico del contenido vaginal en función de la relación del valor numérico (VN) y RIV, y se identificaron 5 EVB: microbiota normal (I), microbiota normal más reacción inflamatoria (II), microbiota intermedia (III), VB (IV) y vaginitis microbiana inespecífica (V) (Figura 1)<sup>9</sup>.

Para el aislamiento de las distintas especies de lactobacilos, se utilizaron el agar sangre y el agar Man-Rogosa, y la identificación se realizó mediante espectrometría de masa

BDTM Bruker MALDI-TOF (desorción/ionización láser asistida por matriz, con detector de iones por tiempo de vuelo), utilizando una base de datos que incluyó más de 90 especies de lactobacilos y considerando un *score*  $\geq 1,7$  para nivel de especie, método validado contra la secuenciación del gen ADNr 16S (método de referencia) (Figura 2)<sup>10-12</sup>.

## Análisis de datos

Para comparar las prevalencias de los EVB, de levaduras, VB, trichomoniasis y de las especies de lactobacilos, en los distintos grupos de MAC respecto del control, se utilizaron el test de Chi cuadrado ( $\chi^2$ ) y el test de Fisher. Se consideró significativo un valor de p menor de 0,05.

## Resultados

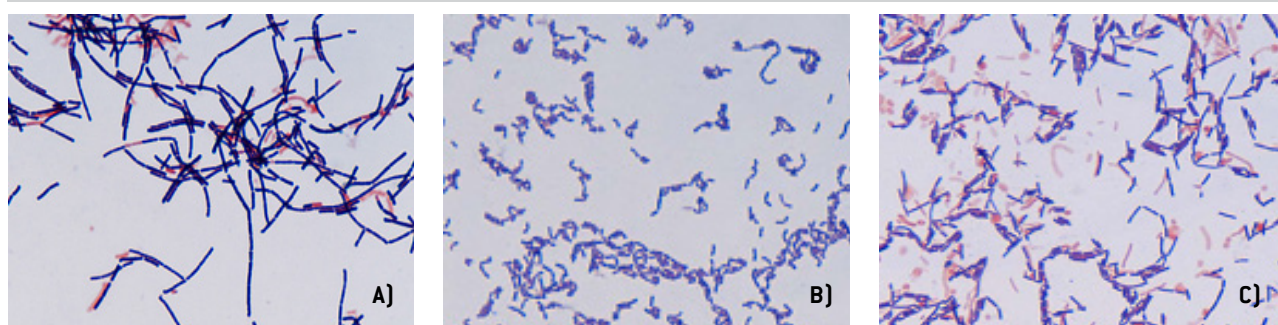
De las 1326 pacientes, se excluyeron 23 por el bajo número muestral, que utilizaban: anticoncepción inyectable (9), SIU-LNG (6), implante hormonal (6), *coitus interruptus* (1) y anillo vaginal (1). Se analizaron las restantes 1303 pacientes, divididas en 4 grupos: Grupo 1, ACO, (n=314); Grupo 2, preservativo, (n=385); Grupo 3, DIU-Cu, (n=92); Grupo 4, LT, (n=26), Grupo 5, control, (n=486).

En la Tabla I, se observan los MAC utilizados en nuestra población. Lo más frecuente fue la no utilización de MAC: 36,6% [486/1326], seguida de preservativo: 29,1% [385/1326] y ACO: 23,7% [314/1326].

La prevalencia de EVB de desbalance vaginal (III, IV y V) fue: Grupo 1: 34,4% (OR: 0,86 IC95% 0,64-1,16 p=0,18); Grupo 2: 42,1% (OR 1,19 IC95% 0,91-1,57 p=0,12); Grupo 3: 48,9% (OR 1,57 IC95% 1,00-2,46 p=0,05); Grupo 4: 53,8% (OR 1,91 IC95% 0,87-4,22 p=0,14); Grupo 5: 37,9% (Tabla II).

La prevalencia de VB en los distintos MAC respecto del control fue la siguiente: Grupo 1: 29% (OR: 0,9 IC95% 0,66-1,23 p=0,52); Grupo 2: 37,4% (OR 1,32 IC95% 1,0-1,75 p=0,06); Grupo 3: 41,3% (OR 1,56 IC95% 0,98-2,46 p=0,03); Grupo 4: 50% (OR 2,21 IC95% 1,0-4,88 p=0,05); Grupo 5: 31,1%. El análisis de prevalencia de levaduras en los distintos MAC respecto del control fue: Grupo 1: 21,3% (OR: 1,11 IC95% 0,78-1,58 p=0,3); Grupo 2: 21,8% (OR 0,82 IC95% 0,82-1,6 p=0,23); Grupo 3: 31,5% (OR 1,89 IC95% 1,15-3,1 p=0,01); Grupo 4: 38,46% (OR 2,56 IC95% 1,13-5,83 p=0,02); Grupo 5: 19,6%. El análisis

**Figura 2.** Morfología de *Lactobacillus* spp.: observación en la coloración de Gram (1000X).



► A: *L. crispatus*, B: *L. jenseni*, C: *L. gasseri*.

**Tabla I.** Métodos anticonceptivos usados en la población estudiada.

Métodos anticonceptivos	N	%
ACI <sup>1</sup>	9	0,7
ACO <sup>2</sup>	314	23,7
Anillo vaginal	1	0,1
Barrera	385	29,1
<i>Coitus interruptus</i>	1	0,1
DIU <sup>3</sup>	92	6,9
Implante subdérmico	6	0,4
Ligadura tubaria	26	2,0
No refiere	486	36,6
SIU <sup>4</sup>	6	0,4
TOTAL	1326	100

► <sup>1</sup>ACI, Anticonceptivo Inyectable; <sup>2</sup>ACO, Anticonceptivo Oral; <sup>3</sup>DIU, Dispositivo Intrauterino; <sup>4</sup>SIU, Sistema Intrauterino.

de prevalencia de trichomoniasis en los distintos MAC respecto del control fue: Grupo 1: 3,5% [OR: 0,76 IC95% 0,36-1,6 p=0,3]; Grupo 2: 4,4% [OR 0,97 IC95% 0,51-1,86 p=0,53]; Grupo 3: 2,2% [OR 0,47 IC95% 0,11-2,02 p=0,23]; Grupo 4: 7,7% [OR 1,75 IC95% 0,39-7,9 p=0,34]; Grupo 5: 4,5%. (Tabla III).

El análisis de prevalencia de RIV (Estados II/IV) en los distintos grupos de MAC respecto del control fue: Grupo 1: 44,9% [OR 0,98 IC95% 0,74-1,31 p=0,48]; Grupo 2: 46,5% [OR 1,05 IC95% 0,87-1,37 p=0,38]; Grupo 3: 58,7% [OR 1,71 IC95% 1,09-2,7 p=0,01]; Grupo 4: 42,3% [OR 0,88 IC95% 0,4-1,97 p=0,46]; Grupo 5: 45,4%. (Tabla IV).

En la Tabla V, se observa la prevalencia de EBV con RIV (II/IV) en pacientes con levaduras; según el MAC, respecto del control, fue la siguiente: Grupo 1: 64,2% [OR 1,41 IC95% 0,75-2,7 p=0,18]; Grupo 2: 54,8% [OR 0,95 IC95% 0,53-1,73 p=0,5]; Grupo 3: 82,8% [OR 3,8 IC95% 1,34-10,82 p=0,01]; Grupo 4: 70% [OR 1,85 IC95% 0,45-7,59 p=0,3]; Grupo 5: 55,8%.

Se detectó microbiota lactobacilar en 790 pacientes [Grupo 1: 206; Grupo 2: 223; Grupo 3: 48; Grupo 4: 12; Grupo 5: 301], y se caracterizaron 440 lactobacilos cultivables. *L. crispatus* tuvo una prevalencia en Grupo 1 del 31,6%, en Grupo 2: 25,4%, en Grupo 3: 39,4%, en Grupo 4: 22,2% y en Grupo 5: 29,9% (Tabla VI). Se detectó asociación positiva de este germen en el Grupo 1 respecto del Grupo 2; OR 1,36 [IC95% 0,78-2,37] y similar prevalencia respecto del control: OR 1,08 [IC95% 0,64-1,83].

## Discusión

Según nuestro estudio, el 36,6% de las pacientes no utilizó MAC. Según la ENSSyR, las mujeres informan que las prin-

cipales razones para no usar MAC son el embarazo actual o el deseo de quedar embarazada<sup>4</sup>.

En nuestra casuística, el MAC más frecuente fue el preservativo [29,1%], seguido del ACO [23,7%]. En la población argentina, los métodos más utilizados son los hormonales [50,5%] y el preservativo, que le sigue en frecuencia [29,6%]. Sin embargo, en el AMBA, el 40,2% de las pacientes utiliza métodos hormonales y el 40%, preservativo<sup>4</sup>.

Acorde con esta investigación, en las usuarias de ACO, predominó el balance de la microbiota (EVB I: 36,3% y EVB II: 29,3%). Estos resultados coinciden con otros estudios que hacen referencia a la relación estable entre el uso de ACO y la reducción en la prevalencia de VB (EVB IV)<sup>13</sup>. Vodstrcil *et al.*<sup>14</sup> demostraron un riesgo significativamente reducido de prevalencia, incidencia y recurrencia de VB en usuarias de ACO. Esto puede deberse a que el estrógeno induce la acumulación de glucógeno en el epitelio vaginal, lo que influye en la colonización por lactobacilos que protegen contra la disbiosis (EVB IV y V)<sup>15</sup>.

En nuestra casuística, la prevalencia de levaduras en usuarias de ACO fue de 21,3%, 64,2% en EVB con RIV (II-V) y 35,8% en EVB sin RIV (I-III-IV). Esto concuerda con los resultados de la Red Nacional BACOVA, que describe un aumento en la frecuencia de levaduras en usuarias de ACO, asociadas a EVB con RIV (II-V) 69,7%<sup>16</sup>.

La exposición a ACO produce aumento del glucógeno epitelial, reduce la infiltración por leucocitos y la actividad antifúngica del epitelio. Estos cambios garantizan una buena concentración de lactobacilos, pero podrían explicar la presencia de levaduras en cultivos de mujeres usuarias

**Tabla II.** Prevalencia de los estados vaginales básicos (EVB) de desbalance del contenido vaginal según método anticonceptivo.

	ACO <sup>1</sup>		Barrera		DIU <sup>2</sup>		LT <sup>3</sup>		No refiere	
	n	%	N	%	n	%	n	%	n	%
Desbalance del contenido vaginal (III-IV-V)	108	34,4	162	42,1	45	48,9	14	53,8	184	37,9
Microbiota normal (I-II)	206	65,6	223	57,9	47	51,1	12	46,2	302	62,1
Total	314	100	385	100	92	100	26	100	486	100

► <sup>1</sup>ACO, Anticonceptivo Oral; <sup>2</sup>DIU, Dispositivo Intrauterino; <sup>3</sup>LT, Ligadura Tubaria.

de ACO<sup>17,18</sup>. Además de estos efectos sobre el huésped, el estrógeno promueve respuestas adaptativas en *Candida* spp. que inducen la evasión del sistema inmunitario innato a través de la inhibición de opsonización mediada por complemento dependiente de Gpd2. Además, los estrógenos inician la metaplasia del epitelio columnar a epitelio escamoso estratificado favoreciendo la adherencia y promoviendo el crecimiento de *C. albicans*<sup>19</sup>.

Conforme con este estudio, el 3,5% de usuarias de ACO presentó trichomoniasis. Resultados similares fueron observados por Brahmhatt *et al.*<sup>20</sup>, quienes reportan una prevalencia del 4,0%.

Asimismo, se encontró en nuestro estudio 31,6% de *L. crispatus* en las pacientes usuarias de ACO en comparación con las usuarias de barrera y similar prevalencia respecto del control, en consonancia con Brooks *et al.*<sup>21</sup>, quienes refieren que las mujeres usuarias de ACO incrementan la colonización por especies de lactobacilos productoras de agua oxigenada, como *L. crispatus*.

En nuestra cohorte, se observó un 42,1% de desbalance de la microbiota vaginal en las usuarias de preservativo. Belchior *et al.*<sup>16</sup> relatan que el preservativo masculino se asoció positivamente con VB (OR 1,34; IC95% 1,12-1,60), mientras que Bradshaw *et al.*<sup>22</sup> observaron que el preser-

**Tabla III.** Prevalencia de vaginosis bacteriana, levaduras y trichomoniasis según el método anticonceptivo.

	ACO <sup>1</sup>		Barrera		DIU <sup>2</sup>		LT <sup>3</sup>		No refiere	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Vaginosis bacteriana	91	29,0	144	37,4	38	41,3	13	50,0	151	31,1
Levaduras	67	21,3	84	21,8	29	31,5	10	38,5	95	19,5
Trichomoniasis	11	3,5	17	4,4	2	2,2	2	7,7	22	4,5
Total	169	53,8	245	63,6	69	75	25	96,2	268	55,1

► <sup>1</sup>ACO, Anticonceptivo oral; <sup>2</sup>DIU, Dispositivo intrauterino; <sup>3</sup>LT, Ligadura tubaria.

**Tabla IV.** Prevalencia de los estados vaginales básicos (EVB) con reacción inflamatoria vaginal (RIV) según método anticonceptivo.

	ACO <sup>1</sup>		Barrera		DIU <sup>2</sup>		LT <sup>3</sup>		No refiere	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
EVB con RIV (II-V)	141	44,9	179	46,5	179	58,7	11	42,3	220	45,3
EVB sin RIV (I-III-IV)	173	55,1	206	53,5	206	41,3	15	57,7	266	54,7
Total	314	100	385	100	385	100	26	100	486	100

►<sup>1</sup>ACO, Anticonceptivo oral; <sup>2</sup>DIU, Dispositivo intrauterino; <sup>3</sup>LT, Ligadura tubaria.

vativo tiene un comportamiento dual sobre la presencia de VB dependiendo de la utilización correcta (previo a que toque la boca o la zona genital de la pareja sexual). Según este estudio, el uso correcto presentó una asociación negativa con VB de 0,96 [IC95% 0,64-1,43], mientras que el uso incorrecto mostró una asociación positiva con VB de 1,96 [IC95% 1,29-2,99]. Resultados similares fueron obtenidos en nuestro estudio, que evidenció una asociación con VB de 1,32 [IC95% 1,0-1,75], sin embargo, no se tomó en cuenta la utilización correcta o incorrecta del mismo. En contraposición, el estudio transversal de Hitchcock *et al.*<sup>23</sup> demostró que el uso de preservativo se asociaba con una disminución en el riesgo de VB.

Un estudio que analizó la distribución de levaduras en usuarias de distintos MAC encontró que las pacientes que utilizaban preservativo tuvieron una asociación menor con infección sintomática por *Candida* spp. respecto de ACO<sup>24</sup>. En este mismo sentido, nuestros datos reportan que las pacientes que utilizaban el preservativo como MAC tuvieron un OR de 1,14 [IC95% 0,82-1,6].

Está bien documentado el efecto protector del preservativo frente a trichomoniasis, al evitar el contacto de secreciones<sup>23</sup>. En una revisión sistemática, se observó una baja tasa de infección por trichomoniasis entre las usuarias de preservativo, mientras que, en otros estudios, no se vio la asociación<sup>25</sup>.

Ma *et al.*<sup>5</sup> relacionaron el uso constante de preservativos con el aumento de la colonización por *L. crispatus* y la protección contra la VB y HIV. En nuestra casuística, el 25,4% de las pacientes que utilizaron método de barrera tuvieron colonización por *L. crispatus*.

El 48,9% de las usuarias de DIU-Cu tuvieron desbalance de la microbiota. Belchior *et al.*<sup>16</sup> refieren su asociación con el desbalance de la microbiota vaginal tanto en el EVB IV (OR 1,32 IC95% 0,98-1,76) como en el EVB V (OR 2,34 IC95%

1,74-3,12]. Este desbalance podría explicarse porque, al representar un cuerpo extraño que permanece largos períodos de tiempo, se modifica el ecosistema vaginal. Asimismo, nuestro estudio detectó 41,3% de VB en usuarias de DIU-Cu. Un estudio longitudinal estimó la prevalencia asintomática de VB demostrando un aumento en mujeres que iniciaron el DIU-Cu del 27 % al inicio al 35 % a los 30 días, al 40 % a los 90 días y al 49 % a los 180 días<sup>13</sup>. También reportaron mayor colonización por *G. vaginalis* y *A. vaginae*<sup>13</sup>.

Este estudio describió, además, un aumento de la prevalencia de levaduras en usuarias de DIU-Cu de 31,5%, con un predominio de estados inflamatorios (82,8%). En coincidencia con estos resultados, algunos estudios encontraron que la incidencia de colonización y vulvovaginitis por *Candida* spp. es mayor entre las usuarias de DIU-Cu<sup>26-28</sup>. Se ha sugerido que la asociación del uso del DIU-Cu con episodios de vulvovaginitis se debe a la adhesión de las levaduras y la formación de biopelícula. Una biopelícula es una comunidad de microorganismos asociados a la superficie, inmersos en una matriz extracelular de producción que confiere resistencia a los antifúngicos, la inmunidad del huésped y el estrés. Las levaduras pueden formar biopelículas en las superficies inertes de varios dispositivos implantados, incluidos catéteres, válvulas cardíacas protésicas y DIU-Cu<sup>29,30</sup>.

La prevalencia de trichomoniasis en nuestra serie fue de 2,2% en usuarias de DIU-Cu. Estas cifras son menores que las referidas en un estudio de Uganda en donde se comunicaron tasas más altas de *T. vaginalis* entre las usuarias de DIU-Cu<sup>30</sup>. Existe poca evidencia sobre esta asociación, aunque probablemente pueda deberse al aumento del sangrado menstrual asociado al DIU-Cu de cobre, que favorecería la supervivencia del parásito. Otro posible mecanismo causal son los cambios de desbalance de la microbiota que genera el DIU-Cu<sup>31,32</sup>.

Nuestros resultados describen en las pacientes usuarias

**Tabla V.** Prevalencia de los estados vaginales básicos (EVB) con reacción inflamatoria vaginal (RIV) en pacientes con levaduras según método anticonceptivo.

	ACO <sup>1</sup>		Barrera		DIU <sup>2</sup>		LT <sup>3</sup>		No refiere	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
EVB con RIV (II-V)	43	64,2	46	54,8	24	82,8	7	70,0	53	55,8
EVB sin RIV (I-III-IV)	24	35,8	38	45,2	5	17,2	3	30,0	42	44,2
Total	67	100	84	100	29	100	10	100	95	100

► <sup>1</sup>ACO, Anticonceptivo oral; <sup>2</sup>DIU, Dispositivo intrauterino; <sup>3</sup>LT, Ligadura tubaria.

de DIU-Cu un incremento significativo de los EVB con RIV (58,7%). Hallazgos similares fueron referidos por un estudio que evaluó los resultados citológicos de usuarias de DIU-Cu y constató que la infiltración inflamatoria fue significativamente más frecuente en los grupos SIU-LNG (54,9 %) y DIU (57,2 %) que en el grupo control (50,2 %) <sup>33</sup>.

En nuestra casuística, se reportó una prevalencia de *L. crispatus* de 39,4% en usuarias de DIU-Cu. Bassis *et al.* <sup>34</sup> han llevado a cabo una comparación de los efectos de la anticoncepción intrauterina en la microbiota vaginal describiendo que la microbiota vaginal estaba agrupada en tres comunidades bacterianas vaginales principales: una, dominada por *L. iners*; otra, por *L. crispatus* y una no dominada por ningún lactobacilo. Cuando se examinó la microbiota a los 6 meses de utilización de DIU-Cu, se advirtieron 2 extremos en la estabilidad: las comunidades altamente estables, dominadas por *L. iners* en las pacientes usuarias de SIU-LNG, y las comunidades no dominadas por lactobacilos en las pacientes usuarias de DIU-Cu, relacionadas con disbiosis.

La LT es un método de anticoncepción quirúrgico permanente para mujeres. No existen prácticamente datos sobre su influencia en el desbalance de la microbiota vaginal. En nuestra investigación, se detectó un incremento en la prevalencia de VB (50%) y de levaduras (38,5%) en las pacientes con LT. De manera similar, el estudio realizado por Riggs *et al.* <sup>35</sup> en pacientes con LT mostró VB en la mayoría de sus casos (66%).

Nuestro estudio detectó una prevalencia de 7,7% de infección por *T. vaginalis* en las pacientes con LT. Sin embargo, según los datos proporcionados por Nikpay *et al.* <sup>36</sup>, las pacientes que utilizaron la LT como método anticonceptivo tuvieron prevalencias mayores de trichomoniasis.

En nuestra casuística, relatamos una prevalencia de 42,3% de estados con RIV (Estados II/V) en las pacientes con LT. Resultados similares fueron descriptos por Garg *et al.* <sup>37</sup> en India, quienes describieron que la RIV de las pacientes sometidas a LT estuvo presente en el 41%.

En conclusión, se observó mayor desbalance de la micro-

**Tabla VI.** Prevalencia de las diferentes especies de lactobacilos halladas en los pacientes de acuerdo con el método anticonceptivo.

	ACO <sup>1</sup>		Preservativo		DIU <sup>2</sup>		LT <sup>3</sup>		Control	
	n	%	n	%	n	%	n	%	N	%
<i>L. crispatus</i>	36	31,6	33	25,4	13	39,4	2	22,2	46	29,9
<i>L. gasseri</i>	36	31,6	51	39,2	10	30,3	3	33,3	61	39,6
<i>L. jensenii</i>	32	28,1	34	26,2	9	27,3	4	44,4	38	24,7
<i>L. iners</i>	10	8,7	12	9,2	1	3,0	0	-	9	5,8
Total	114	100	130	100	33	100	9	100	154	100

► <sup>1</sup>ACO, Anticonceptivo oral; <sup>2</sup>DIU, Dispositivo intrauterino; <sup>3</sup>LT, Ligadura tubaria.

biota vaginal en las pacientes usuarias de DIU-Cu respecto del control. En cambio, en las usuarias de ACO, predominó el balance de la microbiota por el aporte hormonal. Se observó también mayor prevalencia de VB en las pacientes usuarias de DIU-Cu y tendencia en las usuarias de preservativo y LT respecto del control. Se detectó mayor prevalencia de levaduras en el grupo de DIU-Cu y de LT, sin embargo, el DIU-Cu fue el único método en donde este microorganismo se asoció a RIV. No se observaron diferencias significativas en las prevalencias de trichomoniasis en los distintos grupos de estudio. También se observó que las usuarias de DIU-Cu presentaron una mayor RIV que el control, por ser un cuerpo extraño. Las usuarias de ACO tuvieron mayor prevalencia de *L. crispatus* (especie protectora), cuando se las comparó con las usuarias de barrera, y similar prevalencia con el grupo control.

### Agradecimientos

El presente trabajo ha sido financiado por el Proyecto UBACYT-20020150200194BA de la Universidad de Buenos Aires [UBA].

### Conflictos de interés

Los autores declaran no poseer conflictos de interés.

### Referencias bibliográficas

- Petricevic L, Domig KJ, Nierscher FJ, Krondorfer I, Janitschek C, Kneifel W, et al. Characterization of the oral, vaginal and rectal *Lactobacillus* flora in healthy pregnant and postmenopausal women. *Europ J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2012;160(1):93-9, <https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2011.10.002>
- Cauci S, Driussi S, De Santo D, Penacchioni P, Iannicelli T, Lanzafame P, et al. Prevalence of bacterial vaginosis and vaginal flora changes in peri- and postmenopausal women. *J Clin Microbiol* 2002; 40(6):2147-2, <https://doi.org/10.1128/JCM.40.6.2147-2152.2002>
- Behbakht K, Friedman J, Heimler I, Aroutcheva A, Simoes J, Faro S. Role of the vaginal microbiological ecosystem and cytokine profile in the promotion of cervical dysplasia: a case-control study. *Infect Dis Obstet Gynecol* 2002;10(4):181-6, <https://doi.org/10.1155/S1064744902000200>
- Ministerio de Salud de la Nación Argentina [2013]. Encuesta Nacional sobre Salud Sexual y Reproductiva. Documento de Trabajo N° 1: Acceso y uso de métodos anticonceptivos. Mujeres de 14 a 49 años.
- Ma L, Lv Z, Su J, Wang J, Yan D, Wei J, et al. Consistent condom use increases the colonization of *Lactobacillus crispatus* in the vagina. *PloS one* 2013; 8(7): e70716, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0070716>
- Poch F, Levin D, Levin S, Dan M. Modified thioglycolate medium: a simple and reliable means for detection of *Trichomonas vaginalis*. *J Clin Microbiol* 1996; 34(10): 2630-1, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0070716>
- Perazzi BE, Menghi CI, Coppilillo EF, Gatta C, Eliseth MC, de Torres RA, et al. Prevalence and comparison of diagnostic methods for *Trichomonas vaginalis* infection in pregnant women in Argentina. *Korean J Parasitol* 2010; 48(1):61-5, <https://doi.org/10.3347/kjp.2010.48.1.61>
- Nugent RP, Krohn MA, Hillier SL. Reliability of diagnosing bacterial vaginosis is improved by a standardized method of gram stain interpretation. *J Clin Microbiol*. 1991;29(2):297-301, <https://doi.org/10.1128/jcm.29.2.297-301.1991>
- Proyecto BACOVA, Programa PROSAR, Fundación Bioquímica Argentina. Manual de Procedimientos BACOVA 2018. Disponible en: [http://www.fba.org.ar/PROSAR\\_Discusión\\_LTB\\_file:///C:/Users/Usuario/Downloads/Longitudinal\\_Association\\_Between\\_Hormonal.4.pdf](http://www.fba.org.ar/PROSAR_Discusión_LTB_file:///C:/Users/Usuario/Downloads/Longitudinal_Association_Between_Hormonal.4.pdf)
- Jorgensen JH, Pfaller MA, Carroll KC, Funke G, Landry ML, Richter SS, Warrnack DW, editors. *Manual of Clinical Microbiology*. 11th edition. Washington DC, ASM Press, 2015.
- Karas M, Krger R. Ion Formation in MALDI: The Cluster Ionization Mechanism. *Chemical Reviews* 2003; 103: 427440, <https://doi.org/10.1021/cr010376a>
- Pavlova SI, Kilic AO, Kilic SS, SO JS, Nader-Macias ME, Simoes JA, et al. Genetic diversity of vaginal lactobacilli from women in different countries on 16S rRNA gene sequences. *J Appl Microbiol* 2002; 92:451-9, <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2002.01547.x>
- Achilles SL., Austin MN., Meyn LA., Mhlanga F., Chirenje ZM, Hillier SL. Impact of contraceptive initiation on vaginal microbiota. *Am J Obstet Gynecol* 2018;218(6):622.e1-622.e10, <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2018.02.017>
- Vodstrcil LA, Hocking JS, Law M, Walker S, Tabrizi SN, Fairley CK, et al. Hormonal contraception is associated with a reduced risk of bacterial vaginosis: a systematic review and meta-analysis. *PloS one* 2013; 8(9):e73055, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0073055>
- Fosch SE, Ficooseco CA, Marchesi A, Cocucci S, Nader-Macias MEF, Perazzi BE. Contraception: Influence on Vaginal Microbiota and Identification of Vaginal Lactobacilli Using MALDI-TOF MS and 16S rDNA Sequencing. *Open Microbiol J* 2018;12:218-29, <https://doi.org/10.2174/1874285801812010218>
- Belchior S Fosch S, Yones C, de Torres R, Palaoro L, Micucci H, et al. Estudio multicéntrico de disfunción vaginal de la Red Nacional de Laboratorios BACOVA de la República Argentina: prevalencia, influencia de factores seleccionados, evaluación clínica y distribución de casos por región. *Acta Bioq Clin Latin* 2021; 55(Supl. 1):49-50.
- van de Wijgert JH, Verwijs MC, Turner AN, Morrison CS. Hormonal contraception decreases bacterial vaginosis but oral contraception may increase candidiasis: implications for HIV transmission. *AIDS* (London, England), 2013; 27(13):2141-53.
- Mishell DR, Jr, el-Habashy MA, Good RG, Moyer DL. Contraception with an injectable progestin. A study of its use in postpartum women. *Am J Obstet Gynecol* 1968;101(8):1046-53, <https://doi.org/10.1097/QAD.0b013e32836290b6>
- Kumwenda P, Cottier F, Hendry AC, Kneafsey D, Keevan B, Gallagher H, et al. Estrogen promotes innate immune evasion of *Candida albicans* through inactivation of the alternative complement system. *Cell Rep* 2022;38(1):110183, <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2021.110183>
- Brahmbhatt H, Musoke R, Makumbi F, Kigozi G, Serwadda D, Wawer M, et al. *Trichomonas vaginalis* Incidence Associated with Hormonal Contraceptive Use and HIV Infection among Women in Rakai, Uganda. *J Sex Trans Dis*, 2014; 916597, <https://doi.org/10.1155/2014/916597>
- Brooks JP, Edwards DJ, Blithe DL, Fettweis JM, Serrano MG, Sheth NU, et al. Effects of combined oral contraceptives, depot medroxyprogesterone acetate and the levonorgestrel-releasing intrauterine system on the vaginal microbiome. *Contraception* 2017;95(4):405-13, <https://doi.org/10.1016/j.contraception.2016.11.006>
- Bradshaw CS, Vodstrcil LA, Hocking JS, Law M, Pirota M, Garland S M., et al. Recurrence of bacterial vaginosis is significantly associated with posttreatment sexual activities and hormonal contraceptive use. *Clin Infect Dis* 2013;56(6):777-86, <https://doi.org/10.1093/cid/cis1030>
- Hitchcock P. Scientific evidence on condom effectiveness for sexually transmitted disease (STD) prevention: workshop summary. Herndon [Va]: Diane Publishing, 2001, p.12-3.
- Cetin M, Ocak S, Gungoren A, Hakverdi AU. Distribution of *Candida* species in women with vulvovaginal symptoms and their association with different ages and contraceptive methods. *Scand J Infect Dis* 2007;39(6-7):584-8, <https://doi.org/10.1080/00365540601148491>
- Arbabi M, Delavari M, Fakhrieh-Kashan Z, Hooshyar H. Review of *Trichomonas vaginalis* in Iran, Based on Epidemiological Situation. *J Reprod Infert* 2018; 19(2):82-8.
- Apalata T, Longo-Mbenza B, Sturm A, Carr W, Moodley P. Factors Associated with Symptomatic Vulvovaginal Candidiasis: A Study among

- Women Attending a Primary Healthcare Clinic in Kwazulu-Natal, South Africa. *Ann Med Health Sci Res* 2014;4(3):410-6, <https://doi.org/10.4103/2141-9248.133470>
27. Borges KRA, Pimentel IV, Lucena LCLDS, Silva MACND, Monteiro SG, Monteiro CA, et al. Adhesion and biofilm formation of *Candida parapsilosis* isolated from vaginal secretions to copper intrauterine devices. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 2018;60:e59, <https://doi.org/10.1590/S1678-9946201860059>
28. Demirezen S, Dirlik OO, Beksaç MS. The association of *Candida* infection with intrauterine contraceptive device. *Cent Eur J Public Health* 2005;13(1):32-4.
29. Gonçalves B, Ferreira C, Alves CT, Henriques M, Azeredo J, Silva S. Vulvovaginal candidiasis: Epidemiology, microbiology and risk factors. *Crit Rev Microbiol* 2016;42(6):905-27, <https://doi.org/10.3109/1040841X.2015.1091805>
30. Lohse MB, Gulati M, Johnson AD, Nobile CJ. Development and regulation of single- and multi-species *Candida albicans* biofilms. *Nat Rev Microbiol* 2018; 16(1):19-31, <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2017.107>
31. Kiweewa FM, Brown E, Mishra A, Nair G, Palanee-Phillips T, Mgodini N, et al. MTN-020/ASPIRE Study Team. Acquisition of Sexually Transmitted Infections among Women Using a Variety of Contraceptive Options: A prospective Study among High-risk African Women. *J Int AIDS Soc* 2019; 22(2):e25257, <https://doi.org/10.1002/jia2.25257>
32. Ryu JS, Choi HK, Min DY, Ha SE, Ahn MH. Effect of iron on the virulence of *Trichomoniasis vaginalis*. *J Parasitol* 2001; 87(2):457-60, [https://doi.org/10.1645/0022-3395\(2001\)087\[0457:E010TV\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1645/0022-3395(2001)087[0457:E010TV]2.0.CO;2)
33. Eleuterio J, Junior Giraldo PC, Silveira Gonçalves AK, Nunes Eleuterio RM. Liquid-based cervical cytology and microbiological analyses in women using copper intrauterine device and levonorgestrel-releasing intrauterine system. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2020; 255:20-4, <https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2020.09.051>
34. Bassis CM, Allsworth JE, Wahl HN, Sack DE, Young VB, Bell JD. Effects of intrauterine contraception on the vaginal microbiota. *Contraception* 2017; 96(3):189-95, <https://doi.org/10.1016/j.contraception.2017.05.017>
35. Riggs M, Klebanoff M, Nansel T, Zhang J, Schwebke J, Andrews W. Longitudinal association between hormonal contraceptives and bacterial vaginosis in women of reproductive age. *Sex Trans Dis* 2007; 34(12):954-9.
36. Nikpay S, Otaghi M, Azami M, Karimi M, Abdi J. *Trichomonas vaginalis* Infection Among Women Attending Laboratory Centers in Ilam, Iran. *Infect Disord Drug Targets* 2020; 20(1):98-101, <https://doi.org/10.2174/1871526519666190117120705>
37. Garg K, Khare A, Bansal R, Sharma S, Chaudhary N. Effects of Different Contraceptive Methods on Cervico-Vaginal Cytology. *J Clin Diagn Res* 2017; 11(7): EC09-EC11, <https://doi.org/10.7860/JCDR/2017/28213.10219>



Esta obra está bajo la licencia Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International. Permite compartir, copiar y redistribuir el material en cualquier medio o formato y adaptar (remezclar, transformar y crear, a partir del material, otra obra) siempre que: se cite la autoría y la fuente original de su publicación (revista, editorial y URL de la obra), no sean utilizados para fines comerciales y que se respeten los mismos términos de la licencia.

## ARTÍCULO ORIGINAL

## Validación de la cuantificación de interleucina 6 en líquido amniótico con utilidad predictiva en el parto pretérmino espontáneo

*Validation of interleukin 6 quantification in amniotic fluid with predictive utility in spontaneous preterm delivery*Rolando, Jesica Yanel<sup>1,2\*</sup>; Denaday, Lisandro Roberto<sup>1,2</sup>; Solari Ligo, Maria Florencia<sup>1,2</sup>; Giustino Villar, Juan Patri-  
cio<sup>2</sup>; Nardi, Maria Amelia<sup>1,2</sup>; Meller, Cesar Hernán<sup>3</sup><sup>1</sup>Laboratorio Central, Departamento de Patología Clínica, Hospital Italiano de Buenos Aires. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.<sup>2</sup>Instituto Universitario del Hospital Italiano de Buenos Aires. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.<sup>3</sup>Servicio de Obstetricia, Departamento de Cirugía, Hospital Italiano de Buenos Aires. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

\*Contacto: Rolando, Jesica Yanel. Laboratorio Central, Departamento de Patología Clínica, Hospital Italiano de Buenos Aires, T. Perón 4190, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina; jesica.rolando@hiba.org.ar.

## Resumen

**Introducción:** La inflamación intraamniótica se evidencia en la elevación de citocinas y quimiocinas proinflamatorias, entre ellas, la interleucina 6, aun en ausencia de infección de la placenta. Ambas situaciones generan una disminución de la latencia del parto, con altas tasas de morbimortalidad perinatal. Debido a las consecuencias deletéreas inherentes al parto pretérmino, se han propuesto marcadores bioquímicos para evaluar su riesgo, como es la determinación de interleucina 6 en líquido amniótico. **Objetivos:** Validar la cuantificación de interleucina 6 en líquido amniótico de mujeres embarazadas sanas a las que se les practicó una cesárea en un hospital universitario de comunidad durante los meses de mayo a octubre de 2021. **Materiales y métodos:** Se realizó un estudio prospectivo a partir de un análisis de precisión y veracidad (EP15-A3), linealidad (EP6-A) e intervalos de referencia (EP28-A3C). Las muestras utilizadas se obtuvieron a partir de la reconstitución de controles comerciales con líquido amniótico. **Resultados:** La interleucina 6 en líquido amniótico tuvo una performance intra e interensayo  $\leq 2,5\%$ . La veracidad fue validada desde el punto de vista clínico con un sesgo máximo obtenido de 5%. El método es estadísticamente lineal en el rango de 1,5 a 4052 pg/ml. Y, por último, se obtuvo un intervalo de referencia de 81 a 1714 pg/ml. **Conclusiones:** Se logró realizar una validación en una matriz distinta a la ensayada por el fabricante, en este caso, la interleucina 6 en líquido amniótico, con el fin de ser utilizada en un modelo de predicción multivariable.

**Palabras clave:** interleucina 6, líquido amniótico, trabajo de parto prematuro, estudio de validación, matriz alternativa, validación analítica alternativa.

## Abstract

**Introduction:** Intra-amniotic inflammation is evidenced by the increase in proinflammatory cytokines and chemokines, including interleukin 6, even in the absence of infection of the placenta. Both situations generate a decrease in the time between the onset of contractions and delivery, with high rates of perinatal morbidity and mortality. Due to the inherent deleterious consequences of preterm delivery, biochemical markers, such as the determination of interleukin 6 in amniotic fluid, have been proposed to assess its risk. **Aims:** To validate the quantification of interleukin 6 in amniotic fluid of healthy pregnant women who underwent a Cesarean section in a Community University Hospital between May and October 2021. **Materials and methods:** The study was a prospective study based on the analysis of precision and trueness (EP15-A3), linearity (EP6-A) and reference intervals (EP28-A3C). The samples used were obtained from the reconstitution of commercial controls with amniotic fluid. **Results:** Interleukin 6 in amniotic fluid had an intra- and inter-assay performance  $\leq 2.5\%$ . Trueness was validated from the clinical point of view and a maximum bias of 5% was obtained. The method was statistically linear in the range from 1.5 to 4052 pg/mL. Finally, a reference interval of 81 to 1714 pg/mL was obtained. **Conclusions:** It was possible to carry out a validation in a matrix other than the one tested by the manufacturer, in this case, interleukin 6 in amniotic fluid, to be used in a multivariable prediction model.

**Key Words:** Interleukin 6; Amniotic Fluid; Obstetric Labor, Premature, Validation Study, alternative matrix, Alternative analytical validation.

## Introducción

Según el Colegio Americano de Obstetras y Ginecólogos, el parto pretérmino se define como aquel que ocurre antes de la semana 37<sup>1,2</sup>. Esta condición se constituye como la principal causa de muerte perinatal y de secuelas a corto y largo plazo del sobreviviente debido a la inmadurez de los diferentes órganos, especialmente los pulmones y el sistema nervioso central<sup>3</sup>.

Entre el 70 y el 80 % de los partos pretérmino ocurren de manera espontánea y resultan del trabajo de parto pretérmino con membranas intactas (40 - 50 %) o de la ruptura pretérmino de las membranas fetales (20 - 30 %)<sup>4</sup>. Aproximadamente el 25 % restante corresponde al parto médicamente indicado y es resultado de la inducción del parto o la ejecución de una cesárea porque, en el caso de que el embarazo continuara, los trastornos obstétricos que desencadenaron dicha situación exacerbarían el riesgo de vida para la madre, el feto o ambos<sup>3</sup>.

La inflamación solía asociarse con complicaciones durante el embarazo, como aborto, parto pretérmino y preeclampsia. Sin embargo, actualmente, se considera que el estado proinflamatorio juega un rol fundamental en los embarazos saludables, dado que permite la implantación del blastocisto en el útero y el desencadenamiento del trabajo de parto para el posterior nacimiento del neonato. Por consiguiente, la gestación consiste en una alternancia entre el estado proinflamatorio y antiinflamatorio (o de intolerancia) que favorece el adecuado desarrollo fetal<sup>5</sup>. Si bien la transición proinflamatoria hacia el final de la gestación ocurre de manera fisiológica, ciertos estímulos pueden ocasionar una transición prematura favoreciendo el trabajo de parto pretérmino y desencadenando, finalmente, el parto en pacientes con las membranas fetales intactas<sup>6</sup>. Entre estos estímulos, se destacan la invasión microbiana de la cavidad amniótica y/o la inflamación intraamniótica<sup>2</sup>. Esta última se evidencia en la elevación de citocinas y quimioquinas proinflamatorias, entre ellas, la interleucina 6 (IL-6), las cuales se pueden observar aun en ausencia de infección de la placenta<sup>7-10</sup>.

Actualmente, existe un modelo propuesto por Cobo y col.<sup>8</sup>, que sirve para clasificar a las pacientes embarazadas con amenaza de parto prematuro antes de las 34 semanas, de acuerdo con el riesgo de nacimiento dentro de los 7 días

desde la admisión. Esta clasificación permite que quienes pertenezcan al grupo de alto riesgo sean trasladadas a unidades con capacidad de cuidados intensivos neonatales y reciban los tratamientos farmacológicos necesarios para mitigar las consecuencias deletéreas del parto pretérmino. Asimismo, el manejo de las pacientes con bajo riesgo podría modificarse debido al descenso en la intensidad de la intervención farmacológica. Este modelo incluye los siguientes parámetros: edad gestacional de la paciente al momento de la admisión, medición de la longitud cervical y concentración de glucosa e IL-6 en líquido amniótico<sup>8,11</sup>.

Múltiples marcadores bioquímicos y sus combinaciones orientan sobre el riesgo de parto pretérmino o alertan sobre la presencia de una infección o un estado inflamatorio. Entre los marcadores que evalúan el estado inflamatorio, se destaca la proteína C reactiva y su cuantificación en sangre materna. Si bien valora la vía inflamatoria, este marcador es notoriamente inespecífico y podría verse alterado por otras condiciones<sup>12-14</sup>. Por otro lado, el recuento de glóbulos blancos y la concentración de glucosa en el líquido amniótico dan indicio de infección intrauterina, la cual desencadenaría el parto prematuramente<sup>15,16</sup>. Cuando la paciente embarazada manifiesta una infección intrauterina, la concentración de IL-6 aumenta rápida y notablemente en el líquido amniótico y se asocia de manera notoria con el riesgo de parto pretérmino espontáneo en pacientes embarazadas asintomáticas<sup>15</sup>. Esto se debe a la activación de múltiples vías de señalización de la inmunidad innata que estimulan la liberación de ciertas citoquinas, como la IL-6<sup>17</sup>. Su aumento significativo se observa entre 24 y 48 horas antes que se manifiesten los síntomas de una corioamnionitis, infección de la placenta y el líquido amniótico, y dentro de las 72 horas que preceden el nacimiento espontáneo<sup>13</sup>. Si bien es un marcador extremadamente sensible para detectar la presencia de una infección intraamniótica, la IL-6 también se eleva en casos de inflamación intraamniótica con ausencia de aislamiento de microorganismos en medios de cultivo. Por consiguiente, la determinación de este analito podría revelar la presencia de microorganismos resistentes al aislamiento en medios de cultivo, infecciones en tejidos diferentes del líquido amniótico e incluso, verdaderos estímulos no infecciosos, como un trauma o el desprendimiento de la placenta<sup>7</sup>.

**Tabla I.** Resultados de repetibilidad y de precisión intermedia.

Nivel	Repetibilidad			Precisión intermedia		
	CVR	CVea	UCLR	CVWL	CVea	UCLWL
1	1,0	2,0	2,7	1,1	2,0	2,6
2	1,1	2,0	2,7	1,2	2,0	2,6
3	2,5	2,0	2,7	2,5	2,0	2,6

► CVR, coeficiente de variación intracorrida; CVea, coeficiente de variación obtenido por el estado del arte; UCLR, expansión del valor aceptado. CVWL, coeficiente de variación intermedia; UCLWL, expansión del valor aceptado.

**Tabla II.** Resultados de veracidad estadística.

	Nivel		
	1	2	3
Valor evaluado [pg/ml]	246,0	454,5	867,4
Media [pg/ml]	237,2	431,7	830,9
Valor Inferior [pg/ml]	243,7	450,1	850,8
Valor superior [pg/ml]	248,3	458,9	883,9

Por consiguiente, teniendo en cuenta la utilidad de implementar este modelo de predicción y la necesidad de contar con el valor de IL-6, es el objetivo de este trabajo validar la cuantificación de IL-6 en líquido amniótico de mujeres embarazadas sanas, sin ningún factor de riesgo según revisión del equipo médico, a las que se le practicó una cesárea en un hospital universitario de comunidad durante los meses de mayo a octubre de 2021.

## Materiales y métodos

### Metodología

Se llevó a cabo un eEstudio de validación del ensayo de electroquimioluminiscencia (ECLIA) de tipo sándwich para Elecsys IL-6 en el inmunoanalizador Cobas e601, desarrollado por la empresa Roche Diagnostics. Esta prueba inmunológica detecta de forma cuantitativa la IL-6 en muestras de suero y plasma con un intervalo de medición que va de 1,50 a 5000 pg/ml, por lo cual se debe llevar a cabo una validación, dado que su medición en líquido amniótico supone una modificación de las instrucciones del fabricante, según la norma ISO 15189.

### Materiales utilizados

Las muestras empleadas para la evaluación de precisión y veracidad se obtuvieron a partir de los dos niveles de control PreciControl Multimarker y del nivel más alto del calibrador IL-6 CalSet, reconstituídos con muestras de líquido amniótico extraídas por punción del saco amniótico de pacientes embarazadas sanas a las que se les practicó una cesárea. Como criterio de inclusión, se utilizaron muestras de mujeres mayores de 18 años con parto a término y sin ningún factor de riesgo, según revisión del equipo médico.

## Ensayos realizados

### a) Precisión y veracidad

Con el objeto de verificar la precisión y veracidad del método, se utilizó la guía EP15-A3 *User Verification of Precision and Estimation of Bias* del *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI). Los datos fueron analizados con el programa GMonitor v8.2.

### Repetibilidad

El ensayo se realizó mediante comparación del CVR (coeficiente de variación intracorrida) propio del ensayo con el CVea (coeficiente de variación obtenido por el estado del arte) y UVLR (expansión del valor aceptado). Se utilizó como criterio de aceptación CVR menor que CVea o, de no cumplirse, CVR menor que UVLR.

### Precisión intermedia

El ensayo se realizó mediante comparación del CVWL (coeficiente de variación intermedia) con el CVea y UVLWL (expansión del valor aceptado). Se utilizó como criterio de aceptación CVWL menor que CVea o, de no cumplirse, CVWL menor que UVLWL.

### Veracidad estadística

Durante 5 días, se realizaron las determinaciones del analito por quintuplicado y se obtuvo su media. Los valores extremos, superior e inferior, se obtuvieron aplicando el test de Student (t). Se utilizó como criterio de aceptación que la media obtenida estuviera comprendida dentro del rango definido por los valores inferior y superior.

### Veracidad clínica

El ensayo se realizó comparando el ESa(c) (error sistemático aceptable en unidades de concentración) con el sesgo (también en unidades de concentración). Se utilizó como criterio de aceptación que el sesgo fuera menor que el ESa, que se define como el 50 % del ETa (error total aceptable).

**Tabla III.** Resultados de veracidad clínica.

	Nivel		
	1	2	3
ESa (c) [pg/ml]	18,5	34,1	65,1
Sesgo (c) [pg/ml]	-8,8	-22,8	-36,5
Sesgo%	3,6	5,0	4,2

► ESa, error sistemático aceptable.

**Tabla IV.** Resultados de las diluciones equidistantes para análisis de linealidad.

Muestra	Valor asignado (pg/ml)	Replicado 1 (pg/ml)	Replicado 2 (pg/ml)
1	1,5	23,6	24,2
2	1014,1	1045,0	1046,0
3	2026,7	2053,0	2076,0
4	3039,4	3079,0	3141,0
5	4052,0	3939,0	4119,0

**b) Linealidad**

Para el ensayo de linealidad se utilizó una muestra de líquido amniótico con concentración elevada de IL-6, proveniente de una paciente con parto pretérmino, a partir de la cual se realizaron 5 diluciones equidistantes con el diluyente universal del laboratorio Roche. Se procesaron las muestras por duplicado.

La guía *Evaluation of the Linearity of Quantitative Analytical Methods* (EP6-A) propuesta por el CLSI fue empleada para la validación del requisito de linealidad. El procesamiento de los datos se efectuó con el *software* LinChecker.

**c) Intervalo de referencia**

Para realizar este estudio, se requirieron 120 muestras de líquido amniótico extraídas por punción del saco amniótico de pacientes embarazadas sanas a las que se les practicó una cesárea.

Se procedió de acuerdo con la guía del CLSI EP28-A3C *Defining, Establishing, and Verifying Reference Intervals in the Clinical Laboratory* con el objeto de evaluar los límites de referencia. Los datos obtenidos fueron analizados con el *software* EP Evaluator 12.3.0.2.

**Requerimientos de calidad**

Los coeficientes de variación utilizados no corresponden a los parámetros estadísticos provistos por el fabricante, sino a valores determinados que se asignan, ya que se trata de una técnica sin controles comerciales. Se definió como criterio de aceptabilidad el CV<sub>ea</sub> de 2 % para los tres niveles ensayados. Dicho valor corresponde al menor coeficiente de variación obtenido de los controles comerciales utilizados para IL-6 en suero durante el mes que se llevó a cabo el procesamiento del ensayo de precisión. Incluso este valor es menor que los brindados por el fabricante para los controles comerciales de IL-6 en suero.

El ETa utilizado es 15 %, el cual se determinó mediante el método del estado del arte<sup>18</sup>. El valor se obtuvo mediante el cálculo  $ETa\% = CVp * 3$ , donde CVp es el coeficiente de variación ponderado, obtenido a partir de los controles de IL-6 en suero durante el año 2021, calculado de acuerdo con la siguiente

fórmula:  $CVp = \frac{\sum(Nm \cdot CVm)}{\sum Nm}$ , donde Nm es la cantidad de controles que se corrieron durante un mes y CVm es el coeficiente de variación mensual correspondiente a dicho mes.

**Resultados****a) Precisión y veracidad****Repetibilidad**

De los tres niveles evaluados, los dos primeros se aceptaron, ya que los valores obtenidos de CVR propios son menores que el requisito objetivo (CV<sub>ea</sub>) de 2 %, en cambio, el nivel 3 se acepta utilizando la expansión del nivel permitido (UVLR). Ver Tabla I.

**Precisión Intermedia**

De los tres niveles evaluados, los dos primeros se aceptan, ya que los valores obtenidos de CVWL propios son menores que el requisito planteado (CV<sub>ea</sub>) de 2 %, en cambio, el nivel 3 se acepta utilizando la expansión del nivel permitido (UVLWL). Ver Tabla I.

**Veracidad estadística**

A partir de los datos obtenidos de los distintos niveles ensayados, se calcula la media de las 25 repeticiones para cada uno de los 3 niveles.

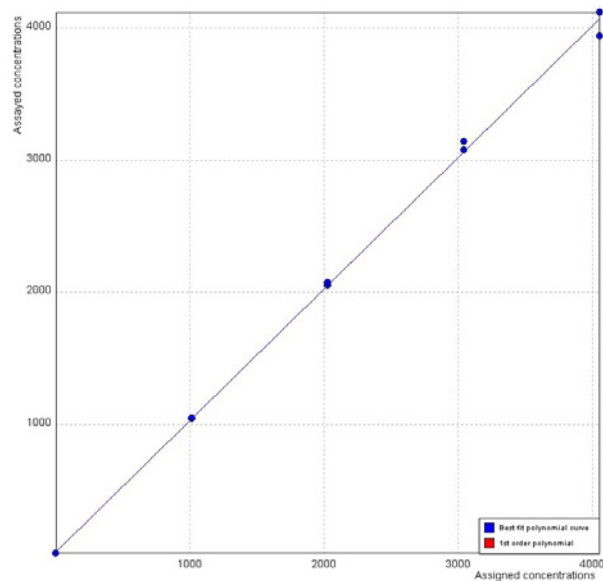
Como las medias de los tres niveles se hallan por fuera de los intervalos de medición calculados, la validación es rechazada desde un punto de vista estadístico. Ver Tabla II.

**Veracidad clínica**

Se evalúa la veracidad clínica por medio de la estimación del sesgo para luego compararlo con el error sistemático permitido. La veracidad es verificada desde el punto de vista clínico, puesto que el sesgo es inferior al 50 % del ETa. Ver Tabla III.

**b) Linealidad**

El análisis de los datos y la consiguiente obtención de la ecuación de la recta permiten establecer la ausencia del error de no linealidad; por tanto, se verifica que el método es estadísticamente lineal en el rango de concentraciones evaluado, siendo el mismo de 1,5 a 4052 pg/ml. Ver Tabla IV y Figura 1.

**Figura 1.** Rango lineal de IL-6 en líquido amniótico

### c) Intervalo de referencia

Se obtuvo un rango de referencia de 81 a 1714 pg/ml (expresado en log<sub>10</sub>: de 1,9 a 3,2). Ver Tabla V.

### Discusión

Con el avance de las investigaciones científicas y la rápida difusión de los resultados, es cada vez más frecuente que se solicite a los laboratorios de análisis clínicos la determinación de analitos en matrices diferentes de las evaluadas inicialmente. Esto implica el desafío de validar marcadores bioquímicos en una nueva matriz para la cual no suele haber controles y calibradores comerciales<sup>19</sup>. En este sentido, se llevó a cabo la validación de IL-6 en LA a fin de garantizar la calidad de los resultados dando respuesta a una necesidad médica.

La utilidad de esta validación reside en la inclusión de la determinación de IL-6 en LA como parte de un modelo de predicción multivariable que ha demostrado una tasa de detección de parto espontáneo dentro de los 7 días del 87 %, una tasa de falsos positivos del 33 % y un valor predictivo negativo del 80 %, poniendo de manifiesto la eficiencia diagnóstica de este modelo<sup>8</sup>. Resulta así la IL-6 el analito con la mejor sensibilidad y especificidad en la detección del parto espontáneo en comparación con otros mediadores inflamatorios, y su asociación con la longitud cervical contribuye a la predicción del parto pretérmino espontáneo<sup>13</sup>.

Una de las ventajas del modelo de predicción desarrollado y validado por Cobo y col. es que comprende variables mensurables inmediatamente luego de la admisión o al cabo de unas horas, incluyendo parámetros clínicos (longitud cervical medida por ultrasonido), epidemiológicos (edad gestacional al momento de la admisión) y bioquímicos (glucosa e IL-6 en el líquido amniótico)<sup>8</sup>. La validación

de la determinación de IL-6 en LA permite completar las variables y, de este modo, aplicar el modelo de predicción a las pacientes de nuestro hospital.

En cuanto a las limitaciones de este trabajo, en primer lugar, los valores de IL-6 en LA esperados en la población objetivo (mujeres con embarazos únicos de menos de 34 semanas, ingresadas con diagnóstico de trabajo de parto prematuro y membranas intactas) se encuentran en el rango de 1020 a 20800 pg/ml, según Cobo y col.<sup>8</sup>. Sin embargo, para los estudios de precisión y veracidad, en nuestro trabajo, se utilizaron muestras con niveles de IL-6 muy inferiores, determinados por la concentración en los materiales comerciales disponibles. En este mismo sentido, no se consideró necesaria la determinación del límite de cuantificación debido a que los valores esperables en pacientes con riesgo de parto pretérmino son muy superiores al límite inferior del rango analítico (1,5 pg/ml). Asimismo, tampoco se realizó el estudio de estabilidad, ya que esta práctica es considerada de urgencia en nuestro medio, y la relevancia de la información que arroja supone el procesamiento de la muestra de manera inmediata.

Por otro lado, en el presente trabajo, el rango de referencia fue determinado en muestras de pacientes con embarazos a término, mientras que Cobo y col.<sup>8</sup> utilizan el modelo de predicción en una población de embarazadas pretérmino. Sin embargo, hay autores que evidenciaron que los niveles de interleucina 6 en el líquido amniótico permanecen relativamente estables durante el embarazo y no se ven afectados por la edad gestacional ni por factores maternos como el origen étnico, edad, índice de masa corporal (IMC), tabaquismo, paridad o método de concepción. Los valores de referencia que se obtuvieron en el presente trabajo, expresados en log<sub>10</sub>, son semejantes a los obtenidos por Del Barco y col., a pesar de que el análisis haya sido efectuado en semanas de gestación diferentes<sup>20,21</sup>. Cabe destacar la limitación que representa el tipo de muestra y el modo de obtención, teniendo en cuenta la dificultad de realizar una amniocentesis a pacientes embarazadas de menos de 34 semanas sin trabajo de parto prematuro. Este es justamente un obstáculo importante para la aplicación del modelo aun en pacientes candidatas al mismo. En muchos de los trabajos hasta el momento publicados, se ha dosado IL-6 en muestras que fueron obtenidas con otros objetivos como, por ejemplo, estudios genéticos<sup>20,21</sup>.

Otro aspecto a considerar es que, al ser una práctica realizada en una matriz no validada por el fabricante, no se cuenta con requisitos de calidad tabulados en las fuentes habitualmente consultadas<sup>22</sup>, lo que genera la necesidad de utilizar como objetivos de calidad aquellos establecidos según el estado del arte en nuestro laboratorio. De todos modos, si bien corresponden a otra matriz (suero), en todos los casos, se utilizaron aquellos datos más desafiantes para ganar en rigurosidad.

Finalmente, se logró la puesta a punto de la determinación de IL-6 en LA sorteando la dificultad de una validación

**Tabla V.** Resultados de IL-6 en LA de mujeres embarazadas sanas.

Muestra	Resultado (pg/mL)	Muestra	Resultado (pg/mL)	Muestra	Resultado (pg/mL)	Muestra	Resultado (pg/mL)
1	311,7	31	222,9	61	359,7	91	540,6
2	1425,0	32	345,5	62	151,7	92	1716,0
3	271,1	33	517,7	63	611,3	93	256,5
4	1185,0	34	208,5	64	618,8	94	350,8
5	286,4	35	179,5	65	616,6	95	340,8
6	595,7	36	986,9	66	532,1	96	580,8
7	1183,0	37	92,9	67	471,0	97	345,8
8	94,8	38	80,2	68	377,1	98	124,2
9	1276,0	39	123,0	69	1866,0	99	396,7
10	1403,0	40	1376,0	70	738,6	100	690,2
11	199,3	41	456,9	71	283,3	101	661,1
12	1544,0	42	462,1	72	126,5	102	194,5
13	182,1	43	276,5	73	1238,0	103	453,3
14	148,7	44	697,3	74	234,7	104	327,5
15	571,8	45	188,8	75	939,4	105	985,8
16	1854,0	46	197,9	76	193,0	106	515,5
17	1044,0	47	377,9	77	196,1	107	328,6
18	537,8	48	479,7	78	387,0	108	189,9
19	652,2	49	878,7	79	588,3	109	220,2
20	270,0	50	319,3	80	72,2	110	71,8
21	502,0	51	1002,0	81	228,5	111	218,4
22	539,8	52	477,0	82	627,8	112	308,4
23	347,4	53	258,7	83	241,2	113	1159,0
24	439,1	54	724,1	84	694,1	114	646,3
25	1650,0	55	612,4	85	817,7	115	305,5
26	453,1	56	158,9	86	375,1	116	697,3
27	307,7	57	238,0	87	338,1	117	151,9
28	265,4	58	275,4	88	209,0	118	197,0
29	229,9	59	270,0	89	441,4	119	312,5
30	1304,0	60	770,3	90	1435,0	120	1040,0

sin materiales comerciales ni requerimientos de calidad propios para dicha matriz. No obstante, en el mismo sentido que exponen Loyola y col.<sup>19</sup>, esto genera a futuro la necesidad de contar con controles de calidad internos y externos con el objetivo de mantener la calidad de los resultados informados.

## Referencias bibliográficas

- American College of Obstetricians and Gynecologists' Committee on Practice Bulletins-Obstetrics. Practice Bulletin No. 171: Management of Preterm Labor. *Obstet Gynecol.* 2016;128(4):e155-64, <https://doi.org/10.1097/aog.0000000000001711>
- Resnik R, Lockwood CJ, Moore T, Greene MF, Copel J, Silver RM. *Creasy & Resnik. Medicina materno-fetal: Principios y práctica.* Elsevier Health Sciences; 2019. 1408 p.
- Rodríguez M, González Ramírez VE. Relación de las citoquinas proinflamatorias con la corioamnionitis subclínica y el parto pretérmino. *Rev Cubana Adm Salud.* 2011; 37(4):562-76.
- Pasquier JC, Doret M. Les complications et la surveillance pendant la période de latence après une rupture prématurée des membranes avant terme: mise au point. *J Gynecol Obstet Biol Reprod.* 2008;37(6):568-78, <https://doi.org/10.1016/j.jgyn.2007.11.031>
- Mor G, Aldo P, Alvero AB. The unique immunological and microbial aspects of pregnancy. *Nat Rev Immunol.* 2017;17(8):469-82, <https://doi.org/10.1038/nri.2017.64>
- Gomez-Lopez N, StLouis D, Lehr MA, Sanchez-Rodriguez EN, Arenas-Hernandez M. Immune cells in term and preterm labor. *Cell Mol Immunol.* 2014;11(6):571-81, <https://doi.org/10.1038/cmi.2014.46>
- Combs CA, Gravett M, Garite TJ, Hickok DE, Lapidus J, Porreco R, et al. Amniotic fluid infection, inflammation, and colonization in preterm labor with intact membranes. *Am J Obstet Gynecol.* 2014;210(2):125.e1-125.e15, <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2013.11.032>
- Cobo T, Aldecoa V, Figueras F, Herranz A, Ferrero S, Izquierdo M, et al. Development and validation of a multivariable prediction model of spontaneous preterm delivery and microbial invasion of the amniotic cavity in women with preterm labor. *Am J Obstet Gynecol.* 2020;223(3):421.e1-21.e14, <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2020.02.049>
- Goldenberg RL, Culhane JF, Iams JD, Romero R. Epidemiology and causes of preterm birth. *Lancet.* 2008;371(9606):75-84, [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(08\)60074-4](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(08)60074-4)
- Wei SQ, Fraser W, Luo ZC. Inflammatory cytokines and spontaneous preterm birth in asymptomatic women: a systematic review. *Obstet Gynecol.* 2010;116(2 Pt 1):393-401, <https://doi.org/10.1097/aog.0b013e3181e6dbc0>
- Son M, Miller ES. Predicting preterm birth: Cervical length and fetal fibronectin. *Semin Perinatol.* 2017;41(8):445-51, <https://doi.org/10.1053/j.semperi.2017.08.002>
- Tsiartas P, Holst RM, Wennerholm UB, Hagberg H, Hougaard DM, Skogstrand K, et al. Prediction of spontaneous preterm delivery in women with threatened preterm labour: a prospective cohort study of multiple proteins in maternal serum. *BJOG.* 2012;119(7):866-73, <https://doi.org/10.1111/j.1471-0528.2012.03328.x>
- Holst RM, Hagberg H, Wennerholm UB, Skogstrand K, Thorsen P, Jacobsson B. Prediction of spontaneous preterm delivery in women with preterm labor: analysis of multiple proteins in amniotic and cervical fluids. *Obstet Gynecol.* 2009;114(2Pt 1):268-77, <https://doi.org/10.1097/aog.0b013e3181ae6a08>
- Glover AV, Manuck TA. Screening for spontaneous preterm birth and resultant therapies to reduce neonatal morbidity and mortality: A review. *Semin Fetal Neonatal Med.* 2018;23(2):126-32, <https://doi.org/10.1016/j.siny.2017.11.007>
- Melekoglu R, Yilmaz E, Ciftci O, Kafadar YT, Celik E. Associations between second-trimester amniotic fluid levels of ADAMTS4, ADAMTS5, IL-6, and TNF- $\alpha$  and spontaneous preterm delivery in singleton pregnancies. *J Perinat Med.* 2019;47(3):304-10, <https://doi.org/10.1515/jpm-2018-0297>
- Tarim E, Bağış T, Kiliçdağ EB, Sezgin N, Yanik F. Are amniotic fluid C-reactive protein and glucose levels, and white blood cell counts at the time of genetic amniocentesis related with preterm delivery? *J Perinat Med.* 2005;33(6):524-9, <https://doi.org/10.1515/jpm.2005.093>
- Prairie E, Côté F, Tsakpinoglou M, Mina M, Quiniou C, Leimert K, et al. The determinant role of IL-6 in the establishment of inflammation leading to spontaneous preterm birth. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2021;59:118-30, <https://doi.org/10.1016/j.cytogfr.2020.12.004>
- Westgard JO, Barry PL. *Prácticas Básicas de Control de Calidad: Capacitación en Control de Calidad Estadístico para Laboratorios Clínicos.* Westgard Quality Corporation; 2010.
- Loyola L, Colimodio M J, Furci A, Giménez MI, Nardi MA. Validación de un método analítico para cuantificación de ferritina en líquido cefalorraquídeo. *Acta bioquím clín latinoam.* 2022;56(2):139-48.
- Del Barco E, Franco-Jarava C, Vargas M, Maíz N, Arevalo S, Sánchez MÁ, et al. Reference values for interleukin-6 in the amniotic fluid of asymptomatic pregnant women. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2023;102(4):480-5, <https://doi.org/10.1111/aogs.14524>
- Gervasi MT, Romero R, Bracalente G, Erez O, Dong Z, Hassan SS, et al. Midtrimester amniotic fluid concentrations of interleukin-6 and interferon-gamma-inducible protein-10: evidence for heterogeneity of intra-amniotic inflammation and associations with spontaneous early (32 weeks) preterm delivery. *J Perinat Med.* 2012;40(4):329-43, <https://doi.org/10.1515/jpm-2012-0034>
- McDaniel L. Total Allowable Error Table [Internet]. Data Innovations. Disponible en: <https://www.datainnovations.com/allowable-total-error-table/>



Esta obra está bajo la licencia Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International. Permite compartir (copiar y redistribuir el material en cualquier medio o formato) y adaptar (remezclar, transformar y crear, a partir del material, otra obra) siempre que: se cite la autoría y la fuente original de su publicación (revista, editorial y URL de la obra), no sean utilizados para fines comerciales y que se respeten los mismos términos de la licencia.

## ARTÍCULO ORIGINAL

# Citoquímico del líquido cefalorraquídeo y proteína C reactiva sérica en la distinción de las meningitis en pediatría

## *Cytochemistry of cerebrospinal fluid and serum C-reactive protein to discriminate pediatric meningitis*

Urruty, Ayelén<sup>1\*</sup>; Castillo, Griselda Elizabeth<sup>1</sup>; Capecce, Fabrina<sup>1</sup>; Svartz, Alejandra Valeria<sup>1</sup>; Urteneche, M Inés<sup>1</sup>; Cassanelli, Martín<sup>1</sup>

<sup>1</sup>División Laboratorio Central, Hospital General de Niños Pedro de Elizalde. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

\*Contacto: Urruty, Ayelén. División Laboratorio Central, Hospital General de Niños Pedro de Elizalde, Montes de Oca 40, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina; ayerruty@hotmail.com.

### Resumen

**Introducción:** La meningitis es una infección del sistema nervioso central. El 80% de los casos ocurre en la infancia. Está asociada a alta morbilidad, lo que la convierte en una urgencia infectológica. Las principales etiologías son viral y bacteriana. El análisis citoquímico del líquido cefalorraquídeo es fundamental para orientar el diagnóstico etiológico e instaurar el tratamiento adecuado. Existe evidencia de que la proteína C reactiva sérica también podría contribuir a lograrlo. **Objetivo:** Analizar la utilidad de los parámetros citoquímicos del líquido cefalorraquídeo y la proteína C reactiva sérica para discriminar entre etiología bacteriana y viral en la meningitis pediátrica. **Materiales y métodos:** Se realizó un estudio observacional, retrospectivo, analítico y transversal. Se revisaron historias clínicas de niños con etiología confirmada de meningitis entre enero del 2016 y diciembre del 2019 en el Hospital General de Niños Pedro de Elizalde. **Resultados:** Se analizaron 101 historias clínicas. La proteinorraquia, el recuento de leucocitos en LCR y la proteína C reactiva sérica fueron significativamente mayores en las meningitis bacterianas respecto de las virales, mientras que la glucorraquia fue menor. No hubo diferencia en el lactato. Para establecer la etiología bacteriana, valores de proteína C reactiva mayores de 34,77 mg/L mostraron sensibilidad de 100 %, especificidad de 92 % y valor predictivo negativo de 100 %; la proteinorraquia de 0,52 g/L mostró la mejor sensibilidad, mientras que una glucorraquia de 55 mg/dL, la mayor especificidad. **Conclusión:** La proteinorraquia y la glucorraquia discriminaron mejor la etiología de la meningitis. La proteína C reactiva mostró muy buen desempeño, aunque es necesario profundizar su estudio en pediatría.

**Palabras clave:** líquido cefalorraquídeo, proteína C reactiva, meningitis, pediatría.

### Abstract

**Introduction:** Meningitis is an infection of the central nervous system, which, in 80% of the cases, occurs in childhood. Due to its association with high morbidity, it is considered an infectological emergency. The main etiologies are viral and bacterial. The chemical and cytological analysis of cerebrospinal fluid is key to orient the etiological diagnosis and provide proper treatment. There is evidence that serum C-reactive protein could contribute. **Objective:** To analyze the utility of cerebrospinal fluid parameters and C-reactive protein in the discrimination of viral and bacterial meningitis in pediatric patients. **Materials and methods:** The study was observational, analytical, cross-sectional and retrospective. Clinical records of children with diagnosis of meningitis with confirmed etiological agent assessed from January 2016 to December 2019 in the General de Niños Pedro de Elizalde Hospital (Buenos Aires, Argentina) were revised. **Results:** A total of 101 records were included. Total proteins, cell counts and C-reactive protein were significantly higher in patients with bacterial meningitis, whereas glucose was lower. No difference was found in lactate level. In establishing bacterial etiology, serum C-reactive protein level above 34.77 mg/L showed a sensitivity of 100%, a specificity of 92% and a negative predictive value of 100%; for total proteins, a cut-off point of 0.52 g/L showed the best sensitivity, while for glucose a cut-off point of 55 mg/dL had the highest specificity. **Conclusion:** Cerebrospinal fluid protein and glucose levels were the best parameters to discriminate between these etiologies. Serum C-reactive protein showed very good performance, although further studies in pediatric patients are needed to establish its utility.

**Key words:** cerebrospinal fluid, C-reactive protein, meningitis, pediatrics

## Introducción

La meningitis es un proceso inflamatorio agudo del sistema nervioso central (SNC), causado por distintos microorganismos que afectan las leptomeninges (aracnoides y piamadre).<sup>1</sup> Un 80 % de los casos ocurre en la infancia, especialmente en los menores de 10 años.<sup>2</sup> Tanto en bebés como en niños resulta una urgencia infectológica, ya que está asociada a una alta morbilidad.<sup>3</sup> A diferencia de los adultos, en pediatría, los signos y síntomas de la meningitis suelen ser inespecíficos, por lo que su diagnóstico representa un desafío.<sup>4</sup> El cuadro clínico puede variar en función de la edad del paciente y del agente causal. Sus síntomas son: fiebre, cefalea y alteración del nivel de conciencia, entre otros.<sup>1</sup>

La etiología viral es la más frecuente, seguida de la bacteriana y, en menor medida, la protozoaria. El principal agente etiológico de la meningitis viral (MV) es *Enterovirus*.<sup>2</sup> En el caso de la meningitis bacteriana (MB), el agente etiológico varía según la edad. Los más frecuentes son: *Streptococcus agalactiae*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Klebsiella spp*, *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae* y *Neisseria meningitidis*.<sup>1</sup>

De acuerdo con el Boletín Integrado de Vigilancia, durante el año 2019, se notificaron en Argentina 2000 casos de meningitis, con una mayor cantidad en la región del centro, y se reportó igual número de casos de MB y MV, a diferencia del año 2018 en el cual se notificaron 489 y 816 casos de MB y MV, respectivamente.<sup>5</sup> En el Hospital General de Niños Pedro de Elizalde (HGNPE), se notifican por año aproximadamente 40 casos confirmados de meningitis, con mayor frecuencia, de etiología viral.

El diagnóstico diferencial entre MB y MV, en las primeras horas, es crucial para el pronóstico y tratamiento oportuno. Sin embargo, en algunos casos, es difícil distinguir clínicamente ambas entidades por la superposición de síntomas, y la identificación del agente etiológico puede demorarse o no llegar a determinarse.

Según la Organización Mundial de la Salud, el análisis del líquido cefalorraquídeo (LCR) es de suma importancia para establecer el diagnóstico precoz de meningitis.<sup>6</sup> La interpretación de los parámetros bioquímicos del LCR, como el recuento de leucocitos, la concentración de lactato, de proteínas totales y de glucosa, resulta esencial para poder iniciar un tratamiento adecuado.<sup>7</sup> A su vez, existen biomarcadores séricos que podrían contribuir en el diagnóstico de meningitis, como la proteína C reactiva (PCR). Esta se utiliza principalmente como un marcador de inflamación, pero distintos estudios sugieren su utilidad para diferenciar infecciones bacterianas de virales.<sup>8</sup>

En Argentina, son escasas las publicaciones que analizan los valores de los parámetros estudiados en el LCR y la PCR sérica en pediatría. La mayoría de la bibliografía disponible proviene de otros países con características muy diferentes de nuestra población. En nuestro país, estos parámetros se encuentran disponibles en la mayor parte de los laborato-

rios de urgencias, dentro de las dos horas de ingresado el paciente a la institución de salud.

En este contexto, se propuso como objetivo analizar la utilidad de la proteinorraquia, glucorraquia, lactorraquia y proteína C reactiva sérica, para discriminar entre meningitis bacteriana y viral en pacientes pediátricos atendidos en el HGNPE.

## Materiales y métodos

### Población y muestra

Se evaluaron todas las historias clínicas de pacientes con diagnóstico de meningitis atendidos en el HGNPE de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires durante el período de enero de 2016 a diciembre de 2019. Se eligió este período de tiempo para evitar sesgos que pudieran presentarse debido a la pandemia por SARS-CoV-2.

Los criterios de inclusión fueron: historias clínicas de pacientes de 0 a 18 años, con diagnóstico etiológico confirmado de meningitis bacteriana o viral, que disponían de la información de los parámetros del citoquímico del LCR correspondiente a la primera punción lumbar desde el ingreso. Se excluyeron las historias clínicas de pacientes con válvulas de derivación de LCR, con patologías crónicas del sistema nervioso y de pacientes inmunocomprometidos.

Se registraron los datos de: edad, sexo, glucorraquia, proteinorraquia, lactorraquia, recuento de leucocitos en LCR, y PCR sérica, en los casos en los cuales fue determinada. Se definió como criterio de eliminación: historias clínicas con datos incompletos del LCR.

### Diseño experimental

Se realizó un estudio observacional, retrospectivo, analítico, de corte transversal. Se definieron las variables de estudio como concentración de lactato en LCR [mg/dL], concentración de proteínas totales en LCR [g/L], concentración de glucosa en LCR [mg/dL], recuento total o absoluto de leucocitos en LCR [cantidad/mm<sup>3</sup>], recuento de leucocitos polimorfonucleares o monomorfonucleares en LCR en relación con el recuento absoluto [%], concentración de proteí-

**Tabla I.** Etiologías de las meningitis.

Agentes etiológicos	Porcentaje de casos (%)
<i>Enterovirus</i>	80
<i>H. influenzae</i>	6
<i>E. coli</i>	3
Herpes virus	2
Adenovirus	2
<i>Neisseriameningitidis</i>	2
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	2
<i>Streptococcusagalactiae</i>	2
<i>Listeria monocytogenes</i>	1

**Tabla II.** Parámetros bioquímicos según tipo de meningitis.

	Meningitis bacteriana n=16 mediana (IC95%)	Meningitis viral n=85 mediana (IC95%)	P
Glucorraquia (mg/dL)	34 (18-61)	66 (62-68)	0,0004
Proteinorraquia (g/L)	1,49 (0,54-1,88)	0,40 (0,34-0,44)	<0,001
Recuento leucocitos LCR (/mm <sup>3</sup> )	585 (42-3300)	74 (40-147)	0,0142
Lactato LCR (mmol/L)	2,32 (1,5-7,1)	2,10 (2,00-2,20)	0,1099
PCR sérica (mg/L)	76,8 (35,7-301,1)	11,0 (2,5-14,0)	0,0018

► LCR, líquido cefalorraquídeo; PCR, proteína C reactiva.

na C reactiva en suero (mg/L). La variable de resultado fue la etiología de meningitis: bacteriana o viral, confirmadas en LCR por cultivo bacteriano o reacción en cadena de la polimerasa, respectivamente.

#### Determinación de parámetros bioquímicos

Los parámetros bioquímicos fueron analizados en el autoanalizador Cobas c501 (Roche, Basilea, Suiza).

La medición de lactato en LCR se realizó mediante método colorimétrico (Roche), la de proteinorraquia (Roche) y PCR sérica, a través de turbidimetría (Roche) y la de glucorraquia, por método de referencia enzimático, empleando hexoquinasa (Roche).

El recuento de leucocitos en LCR se realizó a través de cámara de Neubauer en el microscopio óptico de campo claro.

#### Análisis de datos

Se construyó una base de datos en la que se volcaron los obtenidos de las historias clínicas de los pacientes. Se procuró la anonimización de los datos, de modo de resguardar la información personal.

Para el análisis estadístico, los resultados se expresaron como *mediana* +/-, con intervalo de confianza del 95% (IC<sub>95%</sub>). Las medianas se compararon mediante la prueba no paramétrica de Mann-Whitney. Se utilizó el modelo de regresión logística con el fin de evaluar la asociación entre las variables de predicción y la etiología de la meningitis. Se realizó, en primer lugar, un ajuste univariado y, en caso de ser estadísticamente significativo, se realizó un ajuste multivariado incluyendo las variables de control edad y sexo. La bondad de ajuste de la regresión se evaluó utilizando la prueba de Hosmer-Lemeshow. El poder discriminativo de los distintos parámetros estudiados se determinó mediante curvas de características operativas del receptor (ROC). El punto de corte diagnóstico para diferenciar MB de MV se definió de acuerdo con el valor máximo del índice de Youden, y se calcularon la sensibilidad (S), especificidad (E),

valor predictivo positivo (VPP) y valor predictivo negativo (VPN) para cada parámetro. Para definir operativamente la variable *resultado*, se tomó como positiva la meningitis bacteriana para los distintos análisis. Se consideró un nivel de significación de 0,05.

#### Consideraciones éticas

El proyecto de investigación fue aprobado por el Comité de Docencia e Investigación y el Comité de Ética en Investigación del HGNPE considerando lo establecido en las Normativas de Investigación en Salud de los establecimientos dependientes del Gobierno de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires.

#### Resultados

Se revisaron 370 historias clínicas de niños diagnosticados con meningitis, atendidos en el HGNPE. Se excluyeron 269: 145 no poseían identificación del agente etiológico, 3 tenían etiología tuberculosa y 121, datos incompletos de laboratorio. Finalmente, se incluyeron en el análisis 101 historias clínicas (Figura 1).

La mediana de edad de los niños fue de 5 años (IC<sub>95%</sub>: 3 - 6 años). En la Figura 2, se muestra la distribución de edades de los pacientes con MV y MB. Para las MV, se obtuvo una mediana de 5 años (IC<sub>95%</sub>: 4 - 6 años) y de 5,5 meses (IC<sub>95%</sub>: 3,0 - 13,0 meses) para MB. El 63,4% de los niños fueron varones, predominancia que se mantiene en ambas etiologías.

En la Tabla 1, se observa la frecuencia de los distintos agentes etiológicos detectados. El agente viral más frecuente fue *Enterovirus*, mientras que el bacteriano fue *Haemophilus influenzae*.

En la Tabla 2, se muestran las medianas de los distintos parámetros del citoquímico del LCR y la PCR sérica según la etiología. Las medianas de proteinorraquia, recuento de leucocitos y PCR sérica fueron significativamente mayores en las MB respecto de las MV. Por el contrario, la glucorra-

**Tabla III.** Resultados del análisis de regresión.

	Univariado OR (IC95%)	Multivariado OR (IC95%)
Recuento leucocitos LCR (para el cambio de 100 elementos/mm <sup>3</sup> )	1,10 (1,04 - 1,18)	1,10 (1,03 - 1,16)
Glucorraquia (para el cambio de 10 mg/dL)	*	0,57 (0,37 - 0,82)
Proteinorraquia (para el cambio de 0,1 g/L)	1,39 (1,19 - 1,69)	1,28 (1,11 - 1,56)
Láctico LCR (para el cambio de 1 mmol/L)	*	1,85 (1,27 - 3,70)
PCR sérica (para el cambio de 10 mg/L)	1,67 (1,19 - 2,78)	1,64 (1,16 - 3,23)

► LCR, líquido cefalorraquídeo; PCR, proteína C reactiva; OR, Odds ratio. \*La regresión logística no es válida porque presentó un mal ajuste a los datos experimentales según la prueba de Hosmer-Lemeshow.

quia fue menor. No se observaron diferencias significativas entre las medianas de la concentración de lactato en LCR ( $p=0,1099$ ).

El análisis de la regresión logística se observa en la Tabla 3. El modelo univariado mostró una asociación significativa entre el diagnóstico etiológico y la concentración de PCR sérica, el recuento de leucocitos en LCR y la proteinorraquia. En el caso del modelo multivariado, incluyendo las variables de control *edad* y *sexo*, la asociación fue significativa para todos los parámetros.

Se analizaron las curvas ROC de las distintas variables (Figura 3). Se observó que, excepto el lactato, todos los parámetros estudiados arrojaron áreas bajo la curva (AUC) estadísticamente significativas, lo que demuestra que son útiles para discriminar las etiologías de meningitis. La PCR sérica mostró la mayor área bajo la curva.

A partir del análisis de las curvas ROC, se definieron los valores de corte de los parámetros de laboratorio y se estimaron S, E VPP y VPN (Tabla 4).

En cuanto a su capacidad para establecer la etiología bacteriana, la PCR sérica mostró una S de 100 % (IC95%: 68-100 %), E de 92 % (IC95%: 78-99 %) y VPN de 100 % (IC95%:

92-100) para valores superiores a 34,77 mg/L.

Respecto de los parámetros del LCR, valores de proteinorraquia superiores a 0,52 g/L mostraron la mejor S para detectar MB, mientras que una glucorraquia por debajo de 55 mg/dL tuvo la E más alta (80 %, IC95%: 71-88 %). Un punto de corte de 157/mm<sup>3</sup> para el recuento de leucocitos en LCR mostró el peor desempeño en la discriminación de MB y MV en cuanto a S y E, respecto de los demás parámetros. Los VPP resultaron bajos para los tres parámetros y, por el contrario, los VPN estuvieron por encima del 90 %.

No se pudo analizar estadísticamente la asociación del predominio celular con el diagnóstico con los mismos métodos usados para los otros parámetros, porque en esta serie de datos no hubo MB con predominio linfocitario.

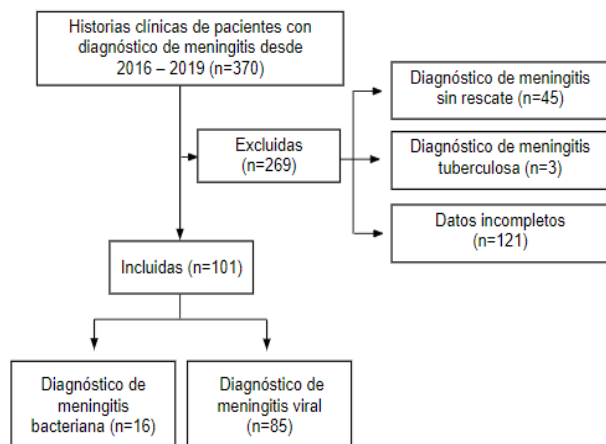
### Discusión

En la actualidad, hay consenso respecto de que es esencial un diagnóstico diferencial precoz de las meningitis y su etiología para aplicar un tratamiento oportuno y evitar sus complicaciones. En este estudio, se propuso obtener información acerca del comportamiento de los parámetros del citoquímico del LCR y la PCR sérica en niños con meningitis,

**Tabla IV.** Resultados obtenidos a partir de las curvas ROC.

	Punto de corte	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)	VPP (%)*	VPN (%)**
Recuento leucocitos LCR	157 (/mm <sup>3</sup> )	68 (45 - 88)	61 (52 - 72)	26 (14 - 40)	91 (82 - 97)
Proteinorraquia	0,52 (g/L)	80 (58 - 95)	73 (63 - 82)	36 (22 - 52)	95 (89 - 99)
Glucorraquia	55 (mg/dL)	69 (45 - 88)	80 (71 - 88)	39 (23 - 58)	93 (86 - 98)
PCR sérica	34,77 (mg/L)	100 (68 - 100)	92 (78 - 99)	71 (35 - 95)	100 (92 - 100)

► LCR, líquido cefalorraquídeo; PCR, proteína C reactiva; VPP, valor predictivo positivo; VPN, valor predictivo negativo.

**Figura 1.** Flujograma de selección de historias clínicas.

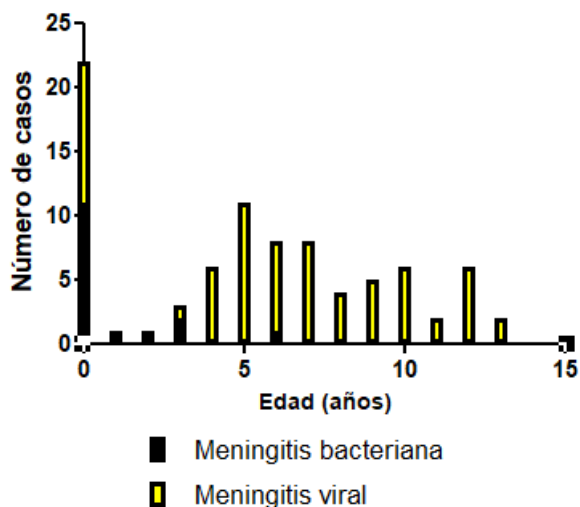
► n: número de historias clínicas de pacientes incluidos en cada grupo.

y se evidenció que la proteinorraquia, el recuento de leucocitos en LCR y la PCR sérica tuvieron valores más elevados, y la glucorraquia, valores disminuidos en las MB respecto de las MV. No hubo diferencia significativa en la concentración de lactato en LCR según etiología, sin embargo, este parámetro mostró asociación con el diagnóstico etiológico en la regresión logística.

Está descrito que la glucorraquia disminuye en situaciones donde hay consumo de ella, por ejemplo, en el aumento de leucocitos en LCR, la presencia de células neoplásicas, de microorganismos o por alteraciones en la barrera hematoencefálica, por lo tanto, se encuentra disminuida en la mayoría de las MB<sup>9</sup>. Esto coincide con lo obtenido en este estudio.

El modelo de regresión logística multivariado presentó un buen ajuste a los datos experimentales: se observó que los niveles de glucorraquia evidenciaron una asociación significativa con el diagnóstico etiológico. Al analizar la performance diagnóstica de los parámetros, se vio que una glucorraquia de 55 mg/dL presentó elevada S y VPN para diagnosticar etiología bacteriana, valor similar al obtenido en un estudio prospectivo en neonatos realizado por Reshi Z. y col. donde se obtuvo una E de 85 % y un VPN de 96 % para una glucorraquia de 45 mg/dL<sup>10</sup>.

Respecto de la proteinorraquia, está aumentada en el 80 % de las MB, aunque debe tenerse en cuenta que, al inicio de la infección, puede ser normal y que solo un pequeño porcentaje de las MV cursan con proteínas aumentadas.<sup>9</sup> En este estudio, se observó que la proteinorraquia en las MB fue significativamente mayor que en las MV y, en la regresión logística, mostró una fuerte asociación con el diagnóstico etiológico. Además, la proteinorraquia fue la que mejor AUC arrojó de los parámetros del LCR (0,82) y, para un valor de corte de 0,52 g/L, se obtuvo una S de 80%, la más alta de los parámetros del LCR. Este resultado coincide con un

**Figura 2.** Histogramas de distribución: etiología de la meningitis según la edad de los pacientes.

estudio de cohorte retrospectivo, realizado por Dubos F y col.<sup>11</sup>, donde se demostró que la proteinorraquia, al igual que la procalcitonina, tuvieron el mejor valor predictivo para distinguir entre MB de meningitis aséptica en niños. Un valor de proteinorraquia mayor de 0,5 g/L presentó una S de 86 %, una E de 78 %, un OR igual a 34 (IC95%: 5-217) y el AUC de 0,93.

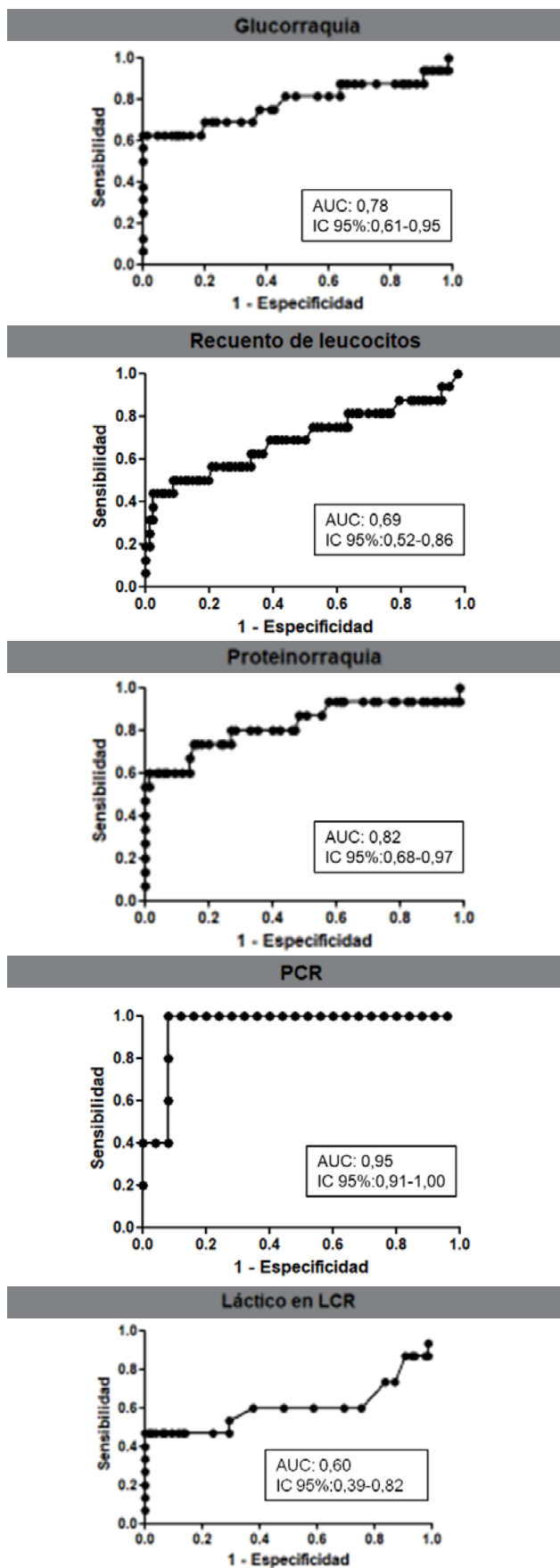
Por otra parte, los valores de referencia del recuento de leucocitos en LCR están relacionados con la edad. En la mayoría de las MB, se observa pleocitosis con un valor superior a 1000/mm<sup>3</sup>, con predominio polimorfonuclear.<sup>9,12</sup> Los pacientes con pleocitosis se tratan frecuentemente con antibióticos, pero se debería tener en cuenta que esta no solo sugiere MB.<sup>13</sup> En este estudio, la diferencia entre las medianas del recuento de leucocitos de las MB y MV fue estadísticamente significativa, y el modelo de regresión mostró que hay asociación entre dicha variable y el diagnóstico etiológico.

Para un valor de corte de recuento de leucocitos en LCR de 157 /mm<sup>3</sup>, se obtuvo una S del 68 % y una E del 61 %. Otro estudio realizado por Anahita Sanaei Dashti y col., para un punto de corte de 390 /mm<sup>3</sup>, presentó un VPN de 91,3 % y un VPP de 37 %, además de evidenciar alta sensibilidad y baja especificidad para discriminar meningitis.<sup>14</sup> Las bajas E y S observadas podrían deberse al método manual utilizado para realizar el recuento, ya que es altamente dependiente del operador, y a la calidad de la toma de muestra, aspecto fundamental en pediatría.

La proteinorraquia, glucorraquia y el recuento de leucocitos en LCR mostraron bajos VPP. Esto podría deberse a que la frecuencia de MB es baja en la muestra estudiada y, al haber un mayor número de MV, se incrementa la cantidad de falsos positivos, lo que da como consecuencia un valor predictivo positivo bajo.

El mecanismo del aumento de la concentración de lactato en el LCR de pacientes con meningitis no está claro, pero

**Figura 3.** Curvas ROC de los distintos parámetros analizados para la distinción de meningitis bacterianas y virales.



se ha relacionado con la glucólisis anaeróbica del tejido cerebral debido a una disminución del flujo sanguíneo y del consumo de oxígeno.<sup>15</sup> Este proceso no se ve afectado por los niveles de lactato en sangre, por lo tanto, el lactato en LCR refleja la infección intracraneal con precisión.<sup>15</sup> En un estudio prospectivo realizado por Mudasar Nazir y col<sup>15</sup>, se estudiaron niños con hallazgos clínicos concordantes con meningitis, para evaluar el rendimiento del lactato en LCR como biomarcador, y se determinó un valor de corte óptimo para diferenciar entre MB y MV. Se observó un aumento estadísticamente significativo en el lactato del LCR en pacientes con MB en comparación con aquellos de etiología viral.

En otro estudio realizado por Anahita Sanaei Dashti y col.<sup>14</sup>, se evaluaron los niveles de lactato y de otros biomarcadores en LCR. El lactato obtuvo la mejor S= 6,2 % y VPN= 97,1 %, por lo que representa el segundo marcador en descartar la MB, seguido del recuento absoluto de neutrófilos en LCR. Estos trabajos aportan evidencia de que el lactato en LCR sería un biomarcador de gran utilidad en el diagnóstico de MB.

En este estudio, no se pudo demostrar una diferencia significativa en las medianas de concentración de lactato en LCR entre ambas etiologías, aunque sí se observó asociación con el diagnóstico etiológico en la regresión logística. Esta inconsistencia podría atribuirse a la falta de precisión de la estimación tanto debido a la gran dispersión de los datos como a la menor cantidad de datos experimentales recolectados de las MB en comparación con las virales. Con respecto a la baja frecuencia de MB en esta serie, se podría especular cierta relación con el cumplimiento del esquema de vacunación.

La PCR sérica se utiliza principalmente como un marcador de inflamación, pero durante varios años se ha utilizado también para diferenciar infecciones bacterianas de virales. Si bien varios trabajos describen la utilidad de este biomarcador en LCR<sup>16</sup>, en este estudio, solo se disponía de los datos de PCR sérica.

Anahita Sanaei Dashti y col.<sup>14</sup> evaluaron en un estudio transversal prospectivo los niveles de PCR y otros biomarcadores en suero útiles en la diferenciación de la MB y MV en niños. Observaron que la PCR sérica con un punto de corte igual a 57 mg/l tuvo la E más alta (100 %) y VPN, VPP y S de 90,3 %, 100 % y 85,9 % respectivamente, lo que indicó que sería un biomarcador útil.

En el presente estudio, se observó que las medianas de PCR sérica fueron significativamente diferentes entre las MB y MV. En concordancia con lo anterior, mediante el modelo de regresión logística univariado y multivariado, se demostró que la PCR sérica tuvo asociación con el diagnóstico de meningitis.

Además, se evidenció que la PCR sérica tuvo la mejor AUC (0,95) de los parámetros del LCR, lo que indica que es un buen biomarcador para discriminar entre ambas etiologías. El valor de corte de 34,77 mg/L arrojó la mejor S, E, VPP y VPN.

Este estudio demostró un buen rendimiento de la PCR sérica en la discriminación entre las etiologías de las MB y MV en pediatría, pero es importante destacar que fue el parámetro con la menor cantidad de datos recolectados.

Una de las limitaciones de este estudio fue que no se estableció como criterio de exclusión la existencia de otro foco al momento de presentarse el cuadro de meningitis. Debido a la naturaleza retrospectiva de los datos, se generaron dificultades para interpretar dicho parámetro. Es por esto por lo que es necesario realizar estudios prospectivos que tengan en cuenta este marcador, como así también, realizar estudios multicéntricos para aportar mayor evidencia.

## Conclusión

Se concluye que este estudio aporta información importante acerca de la utilidad de los parámetros del LCR (glucorraquia, proteinorraquia y recuento leucocitario) en pediatría, puesto que proporciona evidencia sobre la utilidad de la PCR sérica y su relevancia en la discriminación de las meningitis bacterianas y virales.

## Agradecimientos

Agradecemos a la Bioq. Macarena Llanos y a la Méd. María Eugenia Sevilla por su apoyo y colaboración en la corrección de este artículo.

## Conflictos de interés

Los autores declaran no poseer conflictos de interés.

## Referencias bibliográficas

- Dondoglio P, García-Pítaro L, Potasznik J, Saenz C, Vinelli N. Meningitis. Rev Pediatr Elizalde. 2018;9(1):51-54, [https://www.apelizalde.org/revistas/2018-1-ARTICULOS/RE\\_2018\\_1\\_PP\\_6.pdf](https://www.apelizalde.org/revistas/2018-1-ARTICULOS/RE_2018_1_PP_6.pdf)
- Baquero F, Vecino R, Del Castillo F. Meningitis bacteriana. An Esp Pediatr. 2011;(6):47-57.
- Chaudhary S, Bhatta NK, Lamsal M, Chaudhari RK, Khanal B. Serum Procalcitonin in bacterial & non-bacterial meningitis in children. BMC Pediatr. 2018;18(1):10-14, <https://doi.org/10.1186/s12887-018-1314-5>
- Srinivasan L, Kilpatrick L, Shah SS, Abbasi S, Harris MC. Elevations of novel cytokines in bacterial meningitis in infants. PLoSOne. 2018;13(2):1-11, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0181449>
- Boletín Integrado de Vigilancia. Dirección Nacional de Epidemiología Ampliado N°477 SE 50/2019. Ministerio de Salud Presidencia de la Nación. [Internet]. 2019. [Consultado 01 dic 2021]. Disponible en: [https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/201912-biv\\_477.pdf](https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/201912-biv_477.pdf)
- Kandil M, Khalil G, El-Attar E, Shehata G, Hassan S. Accuracy of heparin binding protein: as a new marker in prediction of acute bacterial meningitis. Braz J Microbiol. 2018;49 Suppl 1(Suppl 1): 213-219, <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2018.05.007>
- Muñoz AB, Hadley S, Sanz MI, Quijano TA, Camprubí MC. Role of beta-2-microglobulin as a biomarker in very preterm and extremely preterm infants with CNS inflammation. PLoSOne. 2019;14(5): e0216498, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0216498>
- Javadinia S, Tabasi M, Naghdalipour M, Atefi N, Asgarian R, Khezerloo J et al. C-reactive protein of cerebrospinal fluid, as a sensitive approach for diagnosis of neonatal meningitis. Afr Health Sci. 2019;19(3):2372-2377, <https://doi.org/10.4314/ahs.v19i3.10>
- D'Ísa G, Iñiguez M, Fernández S, López A, Quattrocchi G. Recomendaciones sobre el análisis y procesamiento de LCR. Sociedad Argentina de Terapia Intensiva. [Internet]. 2019. [Consultado 10 ene 2023]. Disponible en: [https://www.sati.org.ar/images/capitulo/CapituloBioquimico/Recomendaciones\\_LCR\\_SATI.pdf](https://www.sati.org.ar/images/capitulo/CapituloBioquimico/Recomendaciones_LCR_SATI.pdf)
- Reshi Z, Nazir M, Wani W, Malik M, Iqbad J, Wajud S. Cerebrospinal fluid procalcitonin as a biomarker of bacterial meningitis in neonates. J. Perinatol. 2017;37(8):927-931, <https://doi.org/10.1038/jp.2017.73>
- Dubos F, Moulin F, Gajdos V, et al. Serum procalcitonin and other biologic markers to distinguish between bacterial and aseptic meningitis. J Pediatr. 2006;149(1):72-76, <https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2006.02.034>
- Montero-Reguera R. Interpretación del líquido cefalorraquídeo. An Pediatr Contin. 2014;12(1):30-33, <https://www.elsevier.es/es-revista-anales-pediatria-continuada-51-articulo-interpretacion-del-liquido-cefalorraquideo-S1696281814701647>
- Águeda S, Campos T, Maia A. Prediction of bacterial meningitis based on cerebrospinal fluid pleocytosis in children. Braz J Infect Dis. 2013;17(4):401-404, <https://doi.org/10.1016/j.bjid.2012.12.002>
- Sanaei-Dashti A, Alizadeh S, Karimi A, Khalifeh M, Shoja S. A. Diagnostic value of lactate, procalcitonin, ferritin, serum-C-reactive protein, and other biomarkers in bacterial and viral meningitis. Medicine Baltimore. 2017;96(35):e7637, <https://doi.org/10.1097/md.0000000000007637>
- Nazir M, Wani WA, Malik MA, Mir MR, Ashraf Y, Kawoosa K, et al. Cerebrospinal fluid lactate: a differential biomarker for bacterial and viral meningitis in children. J Pediatr (Rio J). 2018;94(1):88-92, <https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2017.03.007>
- Javadinia, S. et al. C-reactive protein of cerebrospinal fluid, as a sensitive approach for diagnosis of neonatal meningitis. Afr Health Sci. 2019;19(3):2372-2377, <https://doi.org/10.4314/ahs.v19i3.10>



Esta obra está bajo la licencia Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International. Permite compartir (copiar y redistribuir el material en cualquier medio o formato) y adaptar (remezclar, transformar y crear, a partir del material, otra obra) siempre que se cite la autoría y la fuente original de su publicación (revista, editorial y URL de la obra), no sean utilizados para fines comerciales y que se respeten los mismos términos de la licencia.

## ARTÍCULO ORIGINAL

## Anticuerpos antitiroglobulina en pacientes obesas tiroidectomizadas con cáncer diferenciado de tiroides

*Anti-thyroglobulin antibodies as predictors of recurrence in thyroidectomized obese patients with differentiated thyroid cancer*López, Sonia Beatriz<sup>1\*</sup>; Gutiérrez, Florencia<sup>1</sup>; Lenz, Claudia Natalia<sup>1</sup>; Mahmud Salum, Verónica Liz<sup>1</sup><sup>1</sup>Instituto de Bioquímica Aplicada, Facultad de Bioquímica, Química y Farmacia, Universidad Nacional de Tucumán. San Miguel de Tucumán, Tucumán, Argentina.

\*Contacto: López, Sonia Beatriz; Instituto de Bioquímica Aplicada. Balcarce 747, C.P. 4000, San Miguel de Tucumán, Tucumán, Argentina; sonia.lopez@fbqf.unt.edu.ar

**Resumen** Introducción: Los anticuerpos antitiroglobulina (ATG) son considerados predictores de enfermedad recurrente en el cáncer diferenciado de tiroides (CDT). Objetivos: a) Determinar concentraciones de anticuerpos en pacientes tiroidectomizadas por CDT con y sin obesidad y b) Evaluar si las concentraciones de ATG en estas pacientes con sobrepeso u obesidad se comportan como un indicador de riesgo de recidiva o persistencia de la enfermedad teniendo presente que la obesidad está fuertemente vinculada con el desarrollo de cáncer. Materiales y métodos. Se realizó un estudio observacional, descriptivo, de corte transversal en el que se incluyeron mujeres de 19 a 74 años, tiroidectomizadas, con y sin tratamiento con levotiroxina. Se les efectuaron las siguientes mediciones antropométricas: peso (K), talla (m), CC (cm); IMC (K/m<sup>2</sup>). Se dividieron por IMC (según criterios de la OMS) en tres grupos: a- normopeso, b- con sobrepeso y c- con obesidad, y por contorno de cintura (CC, según NCEP-ATPIII): a- Sin obesidad abdominal (S/O) b- Con obesidad abdominal (C/O). Se realizaron análisis bioquímicos: ATG y tiroglobulina. Se analizaron diferencias de ATG y edad por Kruskal-Wallis y Mann-Whitney, según categorías derivadas del IMC y CC, p<0,05. Resultados. Se estudiaron 172 mujeres, que fueron divididas en: pacientes tratadas (PT) y pacientes con suspensión de la terapia (PNT). Los valores de ATG (UI/mL) en PT (según IMC) fueron para: a- Normopeso: 12,8(0,8; 334); b- con sobrepeso: 13,6(0,5; 376,2); c- con obesidad: 16,0(0,9; 475,1), NS. Los subgrupos con sobrepeso y obesidad presentaron niveles de ATG más elevados con respecto al normopeso. Según CC, las C/O mostraron niveles significativamente mayores respecto de S/O, {S/O: 12,6(0,5; 244); C/O: 15,2(19; 65); p<0,004}. En PNT: Normopeso: 21,8(14,6; 74,2); con sobrepeso: 49,4(1,4; 286) y con obesidad: 13,0(0,4; 221,4); NS. En los subgrupos con sobrepeso y obesidad, se observaron pacientes con niveles más altos de anticuerpos. Según el CC, no se evidenció diferencia significativa entre pacientes C/O y S/O; el grupo C/O mostró valores más elevados. Conclusiones. Según el CC, se evidenció diferencia significativa en niveles de ATG en pacientes tratadas C/O; no así en PNT. De acuerdo al IMC (en PT y PNT), si bien no hubo diferencia significativa entre los grupos, los valores de ATG fueron más elevados en pacientes con sobrepeso y obesidad respecto a los normopeso. Conclusiones. Estos resultados y la estrecha relación del cáncer con la obesidad, sugieren que en pacientes tiroidectomizadas con CDT, los niveles elevados de ATG, podrían ser un predictor de riesgo de recidiva en estas pacientes.

**Palabras clave:** ATG, cáncer de tiroides, CDT, obesidad.

**Abstract** Introduction. Anti-thyroglobulin antibodies (ATG) are considered predictors of recurrent disease in differentiated thyroid cancer (DTC). Objectives. To determine antibody concentrations in patients undergoing thyroidectomy for DTC with and without obesity and evaluate whether ATG concentrations in these overweight or obese patients behave as an indicator of risk of recurrence or persistence of the disease, keeping in mind that obesity is strongly linked to the development of cancer. Materials and methods. Observational, descriptive cross-sectional study. Thyroidectomized women aged 19 to 74 years, with and without levothyroxine treatment, were included. Anthropometric measurements considered included: Weight (K), Height (m), CC (cm) and BMI (K/m<sup>2</sup>). Patients were divided by BMI (according to WHO criteria) as: normoweight, overweight and obese, and by Waist Contour (WC, according to NCEP-ATPIII): a-Without Abdominal Obesity (S/O≤88cm) b-With Abdominal Obesity (C/O>88cm). -Biochemical Analysis: ATG and Thyroglobulin. Differences in ATG and age were analyzed by Kruskal-Wallis and Mann-Whitney, according to categories derived from BMI and CC, p<0.05. Results. 172 women were studied and divided into: -Treated patients (PT) and -Patients with suspension of therapy (PNT). ATG(UI/mL) in PT (according to BMI) were: a-Normoweight: 12.8(0.8; 334); b-Overweight: 13.6(0.5; 376.2); c-Obese: 16.0(0.9; 475.1), NS. Patients with overweight and obesity presented higher ATG levels than normoweight ones. According to CC, C/O patients showed significantly higher levels than S/O: {S/O: 12.6(0.5; 244); C/O: 15.2(19; 65); p< 0.004}. In PNT: normoweight: 21.8(14.6; 74.2), Overweight: 49.4(1.4; 286) and Obese: 13.0(0.4; 221.4), NS. Overweight and obese patients showed higher levels of antibodies. According to the CC, a significant difference in ATG levels was observed in patients treated C/O; this was not the case in PNT. According to BMI (in PT and PNT), although there was no significant difference between the groups, ATG values were higher in overweight and obese patients compared to normal weight patients. Conclusions. These results, and the close relationship between cancer and obesity, suggest that in thyroidectomized patients with DTC, elevated ATG levels could be a predictor of recurrence risk.

**Key words:** ATG, Thyroid Cancer, DTC, Obesity.

## Introducción

El carcinoma de tiroides (CT) es la neoplasia maligna endocrina más común y, dentro de este, el carcinoma diferenciado de tiroides (CDT) representa más del 90% de los carcinomas que surgen de las células foliculares<sup>1</sup>. El carcinoma de tiroides ocurre de dos a cuatro veces más frecuentemente en mujeres que en hombres. Es raro en niños y adolescentes<sup>2</sup>.

La mayor incidencia de CT se ha atribuido a procedimientos de diagnóstico más intensivos y sensibles, sin embargo, se ha sugerido que las tecnologías de diagnóstico mejoradas pueden no explicar completamente la mayor frecuencia de CT. Por lo tanto, se ha propuesto que los factores ambientales, como el estilo de vida y las comorbilidades, podrían contribuir a este fenómeno<sup>3</sup>.

La exposición a la radiación representa el factor de riesgo más aceptado para el CDT, sin embargo, se han investigado varios factores adicionales, incluyendo el tabaquismo<sup>4</sup>, los estrógenos<sup>5</sup>, la obesidad<sup>6,7</sup> y la diabetes<sup>8</sup>.

El tejido adiposo es un órgano endocrino activo que puede generar y liberar varias hormonas, adipocinas y factores de crecimiento que son capaces de desregular el crecimiento y la supervivencia de las células naturales y luego participar en el desarrollo del cáncer. La obesidad es la segunda causa más común prevenible de carcinogénesis, después del tabaco. El por-

centaje de CDT, determinado en un estudio a través de punción con aguja fina (PAF), atribuible a obesidad fue de un 13,1% en mujeres<sup>9</sup>.

La obesidad tiene un significativo impacto en la incidencia de cáncer de tiroides, particularmente en el CDT<sup>10</sup>.

El comportamiento de los anticuerpos antitiroglobulina (ATG), usando un mismo inmunoensayo para el seguimiento del paciente, es considerado un predictor de enfermedad persistente o recurrente tras el tratamiento del cáncer de tiroides<sup>11-13</sup>.

La aparición transitoria de ATG no es rara y ocurre con mayor frecuencia después del daño al tejido tiroideo normal o tumoral, o durante el tratamiento con inmunomoduladores, sin embargo, también puede no tener una causa aparente<sup>11-13</sup>.

Los ATG son comúnmente identificados en pacientes con CDT. Su presencia interfiere con la determinación de TG, lo que limita su uso como marcador bioquímico, a fin de detectar recurrencia o recidiva de la enfermedad.

La mayoría de los inmunoensayos (IE) utilizados actualmente en la determinación de ATG son de tipo inmunométrico. Un resultado negativo para TG en presencia de ATG puede no correlacionar con ausencia de enfermedad.

Los objetivos generales del presente trabajo fueron: a) Determinar concentraciones de anticuerpos en pacientes tiroi-

**Tabla I.** Estudios en pacientes con cáncer diferenciado de tiroides bajo tratamiento con levotiroxina (TSH suprimida).

		PT (pacientes con tratamiento con levotiroxina)	
		Variables	
Clasificación por IMC	n	ATG (UI/mL) mediana (mín.; máx.)	Edad (años) mediana (mín.; máx.)
Normopeso	28	12,85 (0,8; 334)	52 (24; 65)
Sobrepeso	48	13,65 (0,5; 376,2)	44 (19; 66)
Obesidad	62	16,05 (0,9; 475,1)	49 (22; 71)
Significancia		p global = 0,14	p global = 0,014
Clasificación por CC			
S/O	60	12,65 (0,5; 244)	50 (0,9; 401)
C/O	70	15,2 (19; 65)	48 (22; 71)
Significancia		p = 0,004	p = 0,89

► IMC: índice de masa corporal; CC: contorno de cintura; S/O: sin obesidad abdominal; C/O: con obesidad abdominal; ATG: anticuerpos antitiroglobulina. Los datos se expresan como la mediana (mínimo; máximo). Se consideraron diferencias significativas con  $p < 0,05$ .

**Tabla II.** Estudios en pacientes con cáncer diferenciado de tiroides, con suspensión del tratamiento con levotiroxina o tratados con TSH recombinante.

		PNT (pacientes no tratados con levotiroxina)	
Clasificación por IMC	n	Variables	
		ATG (UI/mL) mediana (mín.; máx.)	Edad (años) mediana (mín.; máx.)
Normopeso	6	21,85 (14,6; 74,2)	27 (20; 44)
Sobrepeso	12	49,35 (1,4; 286)	48 (28; 74)
Obesidad	16	13,00 (0,4; 221,4)	44 (30; 62)
Significancia		p global = 0,175	p global = 0,004
Clasificación por CC			
S/O	11	24,1 (2,8; 124)	45 (20; 74)
C/O	21	13,4 (0,4; 286)	48 (30; 62)
Significancia		p = 0,28	p = 0,018

► IMC: índice de masa corporal; CC: contorno de cintura; S/O: sin obesidad abdominal; C/O: con obesidad abdominal; ATG: anticuerpos antitiroglobulina. Los datos se presentan como la mediana (mínimo; máximo). Se consideraron diferencias significativas con  $p < 0,05$ .

dectomizadas por CDT con y sin obesidad, y b) Evaluar si las concentraciones de ATG en estas pacientes con sobrepeso u obesidad se comportan como un indicador de riesgo de recidiva o persistencia de la enfermedad teniendo presente que la obesidad está fuertemente vinculada con el desarrollo de cáncer.

Los objetivos específicos fueron: a) Seleccionar pacientes tiroidectomizadas, con diagnóstico de CDT que concurrieron al Laboratorio de Endocrinología, derivadas de centros asistenciales médicos para el control de su enfermedad, a las cuales se les realizaron las determinaciones bioquímicas de TG y ATG; b) Clasificar a las pacientes de acuerdo con el grado de obesidad utilizando como medidas antropométricas el IMC y CC; c) Determinar en los diferentes subgrupos obtenidos con y sin obesidad, según la mediciones antropométricas mencionadas anteriormente, el nivel de ATG; d) Estudiar una posible relación o asociación entre niveles de ATG y sobrepeso u obesidad.

### Materiales y métodos

Se realizó un estudio observacional, descriptivo, de corte transversal. Se enrolaron 186 pacientes que concurrieron al Laboratorio de Endocrinología de la Cátedra de Bioquímica Clínica II, FBQF-UNT, en el período comprendido entre los años 2016 y 2023, para el control bioquímico de cáncer de tiroides.

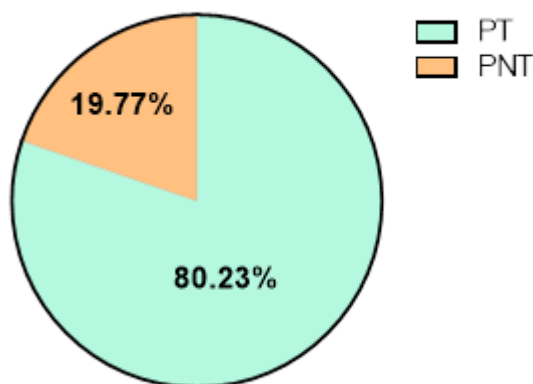
Del total de pacientes, hubo 172 mujeres y 14 varones; estos últimos, por representar un número bajo de pacientes y a fin de eliminar las variaciones por sexo (diferencias hormonales, variabilidad en los valores de referencia para determinar obesidad abdominal), fueron excluidos del estudio, y se constituyó un grupo de 172 mujeres de 19 a 74 años.

Criterios de inclusión: pacientes diagnosticadas con CDT que cumplieron con los siguientes requisitos: tiroidectomía total de la glándula tiroides con fecha de cirugía mayor o anterior a 3 meses de la fecha del análisis bioquímico; niveles de ATG menores de 500 U/mL; tratamiento con levotiroxina; pacientes con suspensión temporal de esta medicación con indicación médica.

Criterios de exclusión: pacientes diagnosticadas con CDT que presentaran las siguientes características: serpacientes prequirúrgicas; con extirpación reciente de la glándula tiroides con menos de tres meses al momento del análisis; con niveles de ATG mayores de 500 U/mL (ya que con este límite de corte se considera que se excluyen los pacientes con recidiva o metástasis).

Las pacientes fueron seleccionadas cumpliendo los criterios antes mencionados, a través de una encuesta clínica. Debido a que se trabajó con resultados bioquímicos disponibles de registros previos, no fue necesario un consentimiento informado.

**Figura 1.** Porcentaje de pacientes con cáncer diferenciado de tiroides bajo tratamiento con levotiroxina (PT) y con suspensión del tratamiento o tratados con TSH recombinante (PNT).



► PT, pacientes bajo tratamiento con levotiroxina y TSH suprimida; PNT, pacientes con estimulación de la glándula tiroides por suspensión de la terapia con levotiroxina.

### Consideraciones éticas

Para garantizar la confidencialidad y anonimato de las pacientes, se cargaron los datos en un archivo Microsoft Excel 2010, donde la identificación correspondió a un número igual al que figuraba en la encuesta clínica.

Las pacientes fueron divididas en dos grupos de acuerdo con las condiciones en que fue realizado el control bioquímico: 1) Pacientes bajo tratamiento con levotiroxina y TSH suprimida (PT) 2) Pacientes con estimulación de la glándula tiroides por suspensión de la terapia con levotiroxina (PNT).

En los grupos anteriores, se realizaron mediciones antropométricas siguiendo las recomendaciones internacionales para las mediciones de las variables *peso* (K), *altura* (m) y *CC* (cm), empleando instrumentos estandarizados, calibrados y de fácil manejo, con la finalidad de obtener datos precisos y homologados. A continuación, se detallan el procedimiento y los instrumentos utilizados:

- Talla o estatura: para su determinación, se utilizó un tallímetro, el cual consiste en una escala métrica apoyada sobre un plano vertical y una tabla o plano horizontal con un cursor deslizante para contactar con la parte superior de la cabeza o vértex, con una precisión de 1 mm. Fue calibrado utilizando una cinta métrica inextensible, tomando la distancia entre la horizontal y diferentes niveles del cursor deslizante.
- Peso: se usó una báscula de palanca, la cual consiste en una balanza para pesar personas con precisión de 100 gramos. Para su calibración, se utilizaron pesas de diferentes kilos abarcando la escala de la muestra que mediría los valores bajo, medio y alto.
- Contorno de cintura: se usó una cinta antropométrica inextensible, flexible, de un ancho inferior a 7 mm, con un espacio sin graduar antes del cero y con escala de fácil

lectura. El muelle o sistema de recogida y extensión de la cinta mantiene una tensión constante para permitir su fácil manejo. La unidad de lectura es el centímetro (cm), con una precisión de 1 mm. La medición fue realizada a la altura de la línea media axilar, en el punto medio entre el reborde costal y la cresta ilíaca, manteniendo un contacto no apretado con la piel. Se realizó con la paciente en posición de pie y al final de una respiración normal manteniendo el abdomen relajado.

Se calculó el IMC, definido como el peso/talla<sup>2</sup> expresado en K/m<sup>2</sup> (OMS, 2021). Las pacientes fueron divididas según el IMC en tres subgrupos: a- normopeso (18,5 a 24,9 K/m<sup>2</sup>), b- con sobrepeso (25 a 29,9 K/m<sup>2</sup>), c- con obesidad (≥30 K/m<sup>2</sup>) y, de acuerdo con el CC [NCEP-ATPIII, 2001], fueron clasificadas en dos subgrupos: a- Sin obesidad abdominal (S/O ≤ 88 cm) y b- Con obesidad abdominal (C/O > 88 cm).

### Análisis bioquímicos

Condiciones preanalíticas y toma de muestra: las pacientes concurren al laboratorio con un ayuno de 8 horas, sin medicación previa. Se extrajo una muestra de sangre entera por punción venosa de las venas del pliegue del brazo. Se separó el suero por centrifugación, previa exudación a 37°C, y se almacenó en alícuotas en freezer a -20°C hasta la realización de los análisis bioquímicos.

Determinaciones bioquímicas: Se cuantificaron ATG y tiroglobulina (antígeno) por inmunoensayos quimioluminiscentes (con autoanalizador Maglumi 600, Snibe).

### Análisis de datos

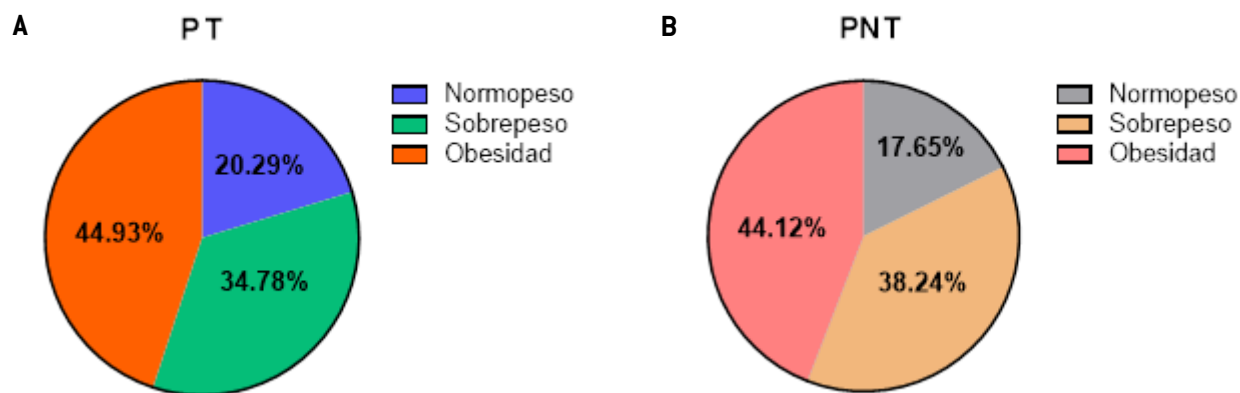
Se hizo un análisis descriptivo indicando medidas de posición y variabilidad de las variables involucradas. Se analizaron las diferencias de ATG y edad mediante la prueba de Kruskal-Wallis, según las categorías derivadas del IMC (normopeso, con sobrepeso y con obesidad), y la prueba de Mann-Whitney para comparar medianas de ATG según CC (S/O y C/O). Las diferencias se consideraron significativas con  $p < 0,05$ . El *software* utilizado fue GraphPadPrism 7.0.

### Resultados

Del grupo de mujeres en estudio (n: 172), la mayoría (n: 138) correspondió a las PT, mientras las PNT representaron solo un 20% (n: 34) del total, Figura 1.

De acuerdo con las medidas antropométricas (IMC y CC), las poblaciones de mujeres pertenecientes a PT y PNT fueron divididas en subgrupos. Según el IMC, se clasificaron en pacientes con normopeso, sobrepeso y obesidad. Los porcentajes de pacientes en estos subgrupos fueron similares tanto para PT como PNT. Las pacientes con sobrepeso y obesidad representaron un 80% (mayoría) en ambos grupos, Figuras 2 A-B. Con respecto al CC, las pacientes C/O representaron la mayoría en los grupos de PT y PNT, sin embargo, los porcentajes de mujeres C/O fueron superiores al de las mujeres S/O en PNT con respecto a las PT. Dado que el CC es un mejor indicador de obesidad que el IMC (debido

**Figura 2.** Clasificación de PT y PNT según IMC .



▶ A, porcentaje de pacientes con normopeso, sobrepeso y obesidad de PT.

▶ B, porcentaje de pacientes con normopeso, sobrepeso y obesidad de PNT; PT, pacientes bajo tratamiento con levotiroxina y TSH suprimida; PNT, pacientes con estimulación de la glándula tiroides por suspensión de la terapia con levotiroxina.

a que no resulta influenciado por la masa muscular del individuo), esto puede deberse a la falta de tratamiento con levotiroxina en PNT, Figura 3 A-B.

Se evaluó la edad de las mujeres en todos los subgrupos de PT y PNT. La comparación de las medianas para edad en los diferentes subgrupos de PT reveló diferencias significativas solo cuando se clasificaron por IMC,  $p:0,014$ . A pesar de esta diferencia, la edad de las pacientes en estos subgrupos superó los 42 años, es decir, la mayoría se encontraba en etapa de perimenopausia, Tabla I.

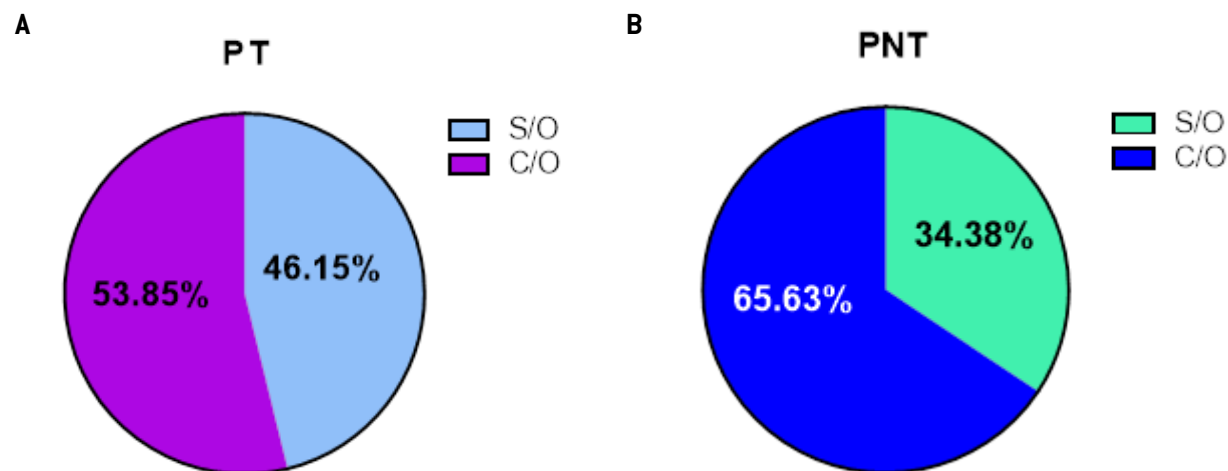
Cuando las PT fueron subdivididas según el CC (C/O y S/O), no hubo diferencia significativa en la edad de las pacientes, ya que ambos subgrupos fueron homogéneos en

cuanto a este parámetro (perimenopáusicas), Tabla I.

Por otra parte, en PNT se observaron diferencias significativas en la edad entre los subgrupos obtenidos por el IMC,  $p:0,004$ ; y también, entre las categorías según el CC,  $p:0,018$ ; Tabla II. Las pacientes de las categorías *Normopeso* (según IMC) y *S/O* (según CC) fueron más jóvenes que en el resto de los subgrupos (edad media de  $30\pm3$  años y  $37\pm4$  años, respectivamente), correspondiendo su edad a mujeres en etapa fértil, Tabla II, mientras que, en las pacientes de los subgrupos *Con sobrepeso* y *Con obesidad* (IMC) y *C/O* (CC), correspondió a mujeres en etapa de perimenopausia, Tabla II.

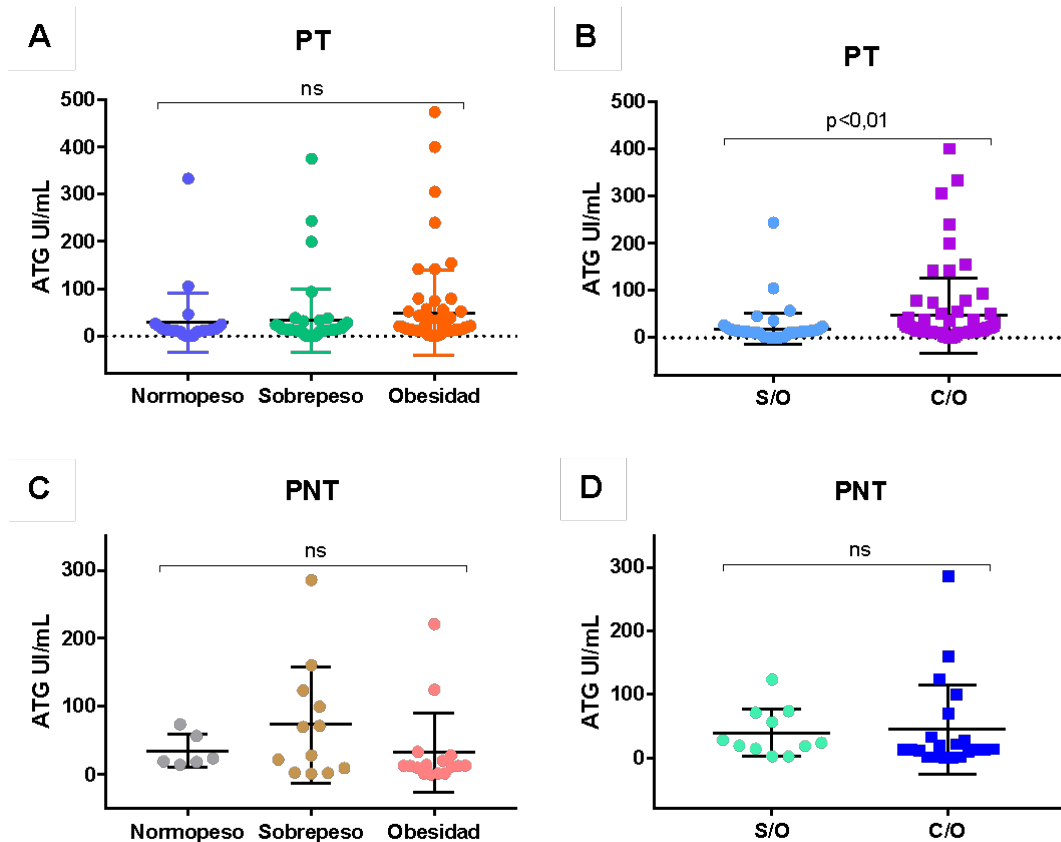
En relación con la determinación de ATG (UI/mL), para

**Figura 3.** Clasificación de PT y PNT según CC .



▶ A, porcentaje de pacientes sin obesidad abdominal (S/O) y con obesidad abdominal (C/O) de PT.

▶ B, porcentaje de pacientes sin obesidad abdominal (S/O) y con obesidad abdominal (C/O) de PNT; PT, pacientes bajo tratamiento con levotiroxina y TSH suprimida; PNT, pacientes con estimulación de la glándula tiroides por suspensión de la terapia con levotiroxina.

**Figura 4.** Estudio de los niveles de ATG en PT y PNT, de acuerdo con el IMC y el CC.

► A, concentración de ATG en PT según normopeso, sobrepeso y obesidad.

► B, concentración de ATG en PT sin obesidad abdominal (S/O) y con obesidad abdominal (C/O) según CC.

► C, concentración de ATG en PNT según normopeso, sobrepeso y obesidad.

► D, concentración de ATG en PNT sin obesidad abdominal (S/O) y con obesidad abdominal (C/O) de acuerdo con el CC. Los valores expresaron como medida de posición la mediana; se consideraron diferencias significativas con  $p < 0,05$ ; PT, pacientes bajo tratamiento con levotiroxina y TSH suprimida; PNT, pacientes con estimulación de la glándula tiroides por suspensión de la terapia con levotiroxina.

realizar la comparación entre los diferentes subgrupos, se utilizó como medida de posición la mediana debido a que los datos no mostraron una distribución normal. El estudio en las PT clasificadas según el IMC reveló para: a- normopeso: 12,85 [0,8; 334]; b- con sobrepeso: 13,65 [0,5; 376,2]; c- obesidad: 16,05 [0,9; 475,1], Tabla I. No se observó diferencia significativa entre los grupos estudiados, sin embargo, los grupos con sobrepeso y obesidad (mayoría) presentaron concentraciones de ATG más elevadas respecto del grupo con normopeso, Figura 4-A.

Cuando se estudió el nivel de ATG en función del CC en PT, las mujeres C/O mostraron niveles significativamente mayores en comparación con las pacientes S/O, (S/O: 12,6 [0,5; 244]; C/O: 15,2 [19; 65];  $p < 0,004$ , Tabla I, Figura 4-B.

En el grupo de PNT, la concentración de ATG (UI/mL) según IMC fue: Normopeso: 21,8 [14,6; 74,2]; Con sobrepeso: 49,4 [1,4; 286] y Con obesidad: 13,0 [0,4; 221,4]. No se obtuvo diferencia significativa entre los subgrupos, Tabla II,

Figura 4-C. Sin embargo, al igual que en el grupo de PT, mostró en los subgrupos con sobrepeso y obesidad pacientes con niveles más altos de anticuerpos respecto de las con normopeso.

Al evaluar anticuerpos en las PNT clasificadas según el CC, no se evidenció diferencia significativa entre mujeres con y sin obesidad abdominal: S/O: 24,1 [2,8; 124]; C/O: 13,4 [0,4; 286];  $p = 0,28$ , Tabla II, Figura 4-D. No obstante, el grupo C/O mostró mujeres con valores más elevados de ATG.

## Discusión

La prevalencia de ATG en CDT parece ser más alta que la frecuencia reportada en la población general (10%). Su persistencia, especialmente con concentraciones en aumento, puede indicar enfermedad activa o recurrencia<sup>14</sup>.

En este estudio, en el grupo de PT (mujeres bajo tratamiento con levotiroxina y TSH suprimida), cuando se utilizó el IMC como medida antropométrica de clasificación, las ca-

tegorías Con sobrepeso y obesidad presentaron un 3 y 5%, respectivamente, de niveles de ATG elevados (100 a 500 UI/mL) en relación con la categoría normopeso (1,4%), en tanto que, cuando fueron divididas de acuerdo con el CC, el nivel medio de ATG, en el subgrupo C/O (obesidad abdominal o central), resultó significativamente más elevado respecto de las S/O.

En el grupo de PNT (mujeres bajo estímulo con TSH elevada por supresión de la terapia hormonal), no se observó diferencia significativa en las concentraciones de ATG, cuando fueron subcategorizadas tanto por IMC como por CC. Sin embargo, los subgrupos con sobrepeso y obesidad (según IMC) presentaron un 13 y 6 % de pacientes, respectivamente, con valores más altos, comparados con un 0% para las mujeres con normopeso. El subgrupo C/O (según CC) mostró un 12% de sujetos con niveles más elevados de ATG, contra un 3% para el subgrupo S/O.

Según lo mencionado anteriormente, una concentración más alta de ATG (superior a 100UI/mL) en pacientes tiroidectomizadas sugiere una relación entre niveles de ATG y la presencia de sobrepeso u obesidad. Si consideramos que la obesidad es un factor de riesgo para cáncer, esto podría indicar la existencia de una relación entre concentraciones elevadas de anticuerpos y la persistencia de enfermedad en este tipo de pacientes.

Estudios previos evidenciaron que la persistencia de positividad o un aumento en las concentraciones de estos anticuerpos coinciden con cambios ecográficos indicadores de enfermedad presente<sup>14</sup>.

Rosario *et al.* (2021) concluyeron que realizar la comparación de las concentraciones de ATG obtenidas antes y después del tratamiento es útil para estimar el riesgo de enfermedad persistente/recurrente y orientar la investigación. Si la evaluación inicial no revela enfermedad persistente, se recomienda la repetición periódica de ecografías, mientras persistan los ATG positivos. El comportamiento de estos anticuerpos es considerado un predictor de recurrencia tumoral<sup>14</sup>.

Rosario *et al.* (2016), estudiaron 116 pacientes con TG sérica negativa y sin tumor aparente, con ecografía de cuello sin anomalías, en los cuales persistían niveles elevados de ATG. Ocho a doce meses después del tratamiento con yodo radiactivo, una reducción mayor del 50% en la concentración de anticuerpos, en comparación con la obtenida antes del tratamiento con I<sup>131</sup>, se asoció con un riesgo de enfermedad estructural de solo 1,8%, en tanto, una reducción menor de ATG resultó en un riesgo de 14,3%. Se observó metástasis en el 24% de los pacientes que presentaron incrementos en los niveles de ATG<sup>15</sup>.

El aumento simultáneo de CDT y obesidad ha llevado a la exploración de una potencial relación entre la incidencia y/o agresión de CDT y el exceso de peso corporal, sin embargo, se han encontrado hallazgos inconsistentes. En la mayoría de los casos, las controversias se deben a los diferentes métodos empleados para evaluar el estado de obesidad (te-

jido adiposo visceral, contorno de cintura, IMC, proporción cintura/cadera, tejido adiposo subcutáneo).

Dos estudios combinados de casos y controles confirmaron asociación entre cáncer de tiroides y obesidad<sup>16-17</sup>.

Un metaanálisis de 141 estudios prospectivos reveló que un aumento en 5 k/m<sup>2</sup> en el IMC se asoció fuertemente con cáncer de tiroides tanto en mujeres como en varones<sup>18</sup>.

Ayse Arduc *et al.* (2015) mostraron que el riesgo de malignidad fue de 3,8 veces mayor en pacientes obesos (IMC  $\geq 30$  k/m<sup>2</sup>) en comparación con los no obesos, después de ajustar por edad y TSH, lo que respalda aún más la existencia de un vínculo entre la obesidad y el cáncer de tiroides<sup>18</sup>.

El IMC puede ser inexacto debido a la incapacidad de diferenciar entre tejido adiposo y masa magra en algunos pacientes, por lo que es más confiable el contorno de cintura, dada su capacidad para determinar obesidad abdominal. Esto podría explicar los resultados obtenidos en nuestro trabajo, donde se halló diferencia significativa en las concentraciones de ATG, cuando se evaluó la presencia de obesidad según el CC en PT, pero no, cuando se utilizó el IMC.

En las PNT, no hubo diferencia significativa en los niveles de ATG cuando se utilizó el CC para determinar obesidad. Quizás, esta falta de coincidencia con las PT se deba a que el grupo S/O estuvo constituido por mujeres más jóvenes (fértil) en comparación con las mujeres C/O (perimenopáusicas), en quienes podría estar influyendo el nivel hormonal (concentración de estrógenos) y, por otra parte, este grupo de pacientes (PNT) estaba bajo estímulo con TSH, variable que también podría estar influyendo en los resultados.

En el estudio de Women's Health Initiative, el CC y la relación cintura - cadera no se asociaron con el riesgo de cáncer de tiroides en mujeres posmenopáusicas<sup>20</sup>. En contraste, en el estudio NIH-AARP, un CC elevado se asoció con un mayor riesgo de cáncer de tiroides tanto en mujeres como en varones<sup>17</sup>.

Ayse Arduc *et al.* (2015), obtuvieron un CC mayor en pacientes con diagnóstico maligno. Una proporción significativamente mayor de casos con CDT (84%) tenía un CC elevado ( $\geq 88$  cm) en comparación con aquellos que presentaron diagnóstico benigno (48%). En el análisis de regresión, incluidas las variables (edad, TSH, características de nódulos sospechosos) que podrían estar relacionadas con malignidad, el CC y el IMC se asociaron significativamente con diagnóstico de malignidad<sup>19</sup>.

Se sabe poco acerca de la asociación entre obesidad y niveles de ATG en pacientes con CDT como predictores de un mayor riesgo de recidiva en el seguimiento de pacientes tiroidectomizados.

## Conclusiones

De acuerdo con los resultados del presente estudio, se concluye que el sobrepeso y la obesidad, medidos a través del IMC y CC, se relacionaron con niveles superiores de anticuerpos ATG respecto del normopeso y/o ausencia de obesidad, en pacientes tiroidectomizadas con CDT.

Considerando que la positividad de ATG o un aumento en su concentración sanguínea, tras tiroidectomía o tratamiento con yodo radioactivo, se ha relacionado con la presencia de recidiva, persistencia de la enfermedad y/o metástasis, se vislumbra la posibilidad de que la determinación de ATG, en este tipo de pacientes, pueda ser utilizada como un parámetro bioquímico predictor de riesgo de recidiva o recurrencia de cáncer de tiroides en pacientes obesos.

Se requiere ampliar estos estudios a fin de validar la relación entre niveles de anticuerpos ATG y obesidad en pacientes con cáncer de tiroides. Sería conveniente ampliar el número de pacientes y ajustar las variables por edad, nivel de TSH, terapia administrada y etapa de la vida sexual en la mujer, e incorporar un análisis ecográfico en los pacientes bajo estudio, a fin de confirmar nuestra hipótesis.

### Conflictos de interés

Los autores declaran no poseer conflictos de interés.

### Referencias bibliográficas

- Xu B, Ghossein R. Evolution of the histological classification of thyroid neoplasms and its impact on clinical management. *EUR. J. Surg Oncol* 2018;44(3):338-347, <https://doi.org/10.1016/j.ejso.2017.05.002>
- Haugen BR, Alexander EK, Bible KC, Doherty GM, Mandel SJ, Nikiforov YE et al. American Thyroid Association Management Guidelines for Adult Patients with Thyroid Nodules and Differentiated Thyroid Cancer: American Thyroid Association Guidelines Task Force on Thyroid Nodules and Differentiated Thyroid Cancer. *Thyroid*. 2016;26:1-133, <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26462967/>
- Kent WD, Hall SF, Isotalo PA, Houlden RL, George RL, Groome PA. Increased incidence of differentiated thyroid carcinoma and detection of subclinical disease. *CMAJ*. 2007; 177(11):1357-1361, <https://doi.org/10.1503/cmaj.061730>
- Cho YA, Kim J. Thyroid cancer risk and smoking status: a meta-analysis. *Cancer Causes Control* 2014; 25:1187-1195, <https://doi.org/10.1007/s10552-014-0422-2>
- Derwahl M. and Nicula D. Estrogen and its role in thyroid cancer. *Endocr Relat Cancer* 2014; 21(5): T273-T283, <https://doi.org/10.1530/erc-14-0053>
- Ma J, Huang M, Wang L, Ye W, Tong Y, Wang H. Obesity and risk of thyroid cancer: Evidence from a meta-analysis of 21 observational studies. *Medicine. Science Monitor*. 2015; 21:283-291, <https://doi.org/10.12659/msm.892035>
- Pappa T, Alevizaki M. Obesity and Thyroid Cancer: A Clinical Update. *Thyroid* 2014; 24:190-199, <https://doi.org/10.1089/thy.2013.0232>
- Yeo Y, Ma SH, Hwang Y, Horn-Ross PL, Hsing A, Lee KE, et al. Diabetes mellitus and risk of thyroid cancer: a meta-analysis. *PLoS ONE* 2014;9(6): e98135, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0098135>
- Arnold M, Pandeya N, Byrnes G, Renehan AG, Stevens GA, Ezzati M et al. Global burden of cancer attributable to high body-mass index in 2012: a population-based study. *The Lancet Oncology* 2015;16(1):36-46, [https://doi.org/10.1016/s1470-2045\(14\)71123-4](https://doi.org/10.1016/s1470-2045(14)71123-4)
- Clavel-Chapelon F, Guillas G, Tondeur L, Kernaleguen C, Boutron-Ruault MC. Risk of differentiated thyroid cancer in relation to adult weight, height and body shape over life: The French E3N cohort. *Int J Cancer* 2010;126(12): 2984-90, <https://doi.org/10.1002/ijc.25066>
- Carvalho MS, Rosario PW, Mourão GF, Calsolari MR. Chronic lymphocytic thyroiditis does not influence the risk of recurrence in patients with papillary thyroid carcinoma and excellent response to initial therapy. *Endocrine* 2016;55(3):954-958, <https://doi.org/10.1007/s12020-016-1185-1>
- Côrtes MCS, Rosario PW, Oliveira LFF, Calsolari MR. Clinical impact of detectable antithyroglobulin antibodies Below the reference limit (borderline) in patients with papillary thyroid carcinoma with undetectable serum thyroglobulin and normal neck ultrasonography after ablation: A prospective study. *Thyroid*. 2018; 28(2):229-235, <https://doi.org/10.1089/thy.2017.0350>
- Scappaticcio L, Trimboli P, Verburg FA, Giovanella L. Significance of «de novo» appearance of thyroglobulin antibodies in patients with differentiated thyroid cancer. *Int J Biol Markers*, 2020;35(3):41-49, <https://doi.org/10.1177/1724600820931517>
- Pedro-Wesley R, Carvalho-Souza-Côrtes M, Franco-Mourão G. Follow-up of patients with thyroid cancer and antithyroglobulin antibodies: a review for clinicians. *Endocr Relat Cancer*. 2021;28(4):111-119, <https://doi.org/10.1530/erc-21-0012>
- Pedro-Wesley R, Carvalho M, Mourão GF, Calsolari MR. Comparison of antithyroglobulin antibody concentrations before and after ablation with 131I as a predictor of structural disease in differentiated thyroid carcinoma patients with undetectable basal thyroglobulin and negative neck ultrasonography. *Thyroid*. 2016; 26(4):525-531, <https://doi.org/10.1089/thy.2015.0445>
- Cléro É, Leux C, Brindel P, Truong T, Anger A, Vathaire F et al. Pooled Analysis of Two Case-Control Studies in New Caledonia and French Polynesia of Body Mass Index and Differentiated Thyroid Cancer: The Importance of Body Surface Area. *Thyroid* 2010; 20(11):1285-93, <https://doi.org/10.1089/thy.2009.0456>
- Kitahara CM, Platz EA, Park Y, Hollenbeck AR, Schatzkin A, Berrington de González A. Body fat distribution, weight change during adulthood, and thyroid cancer risk in the NIH-AARP Diet and Health Study. *International Journal of Cancer* 2011;130(6):1411-19, <https://doi.org/10.1002/ijc.26161>
- Renehan AG, Tyson M, Egger M, Heller RF, Zwahlen M. Body-mass index and incidence of cancer: a systematic review and metaanalysis of prospective observational studies. *Lancet* 2008;371(9612):569-578, [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(08\)60269-x](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(08)60269-x)
- Arduc A, Dogan BA, Tuna MM, Tutuncu Y, Isik S, Berker D, et al. Higher body mass index and larger waist circumference may be predictors of thyroid carcinoma in patients with Hürthle-cell lesion/neoplasm fine-needle aspiration diagnosis. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2015;83(3):405-411, <https://doi.org/10.1111/cen.12628>
- Kabat GC, Kim MY, Thomson CA, Luo J, Wactawski-Wende J, Rohan TE. Anthropometric factors and physical activity and risk of thyroid cancer in postmenopausal women. *Cancer Causes Control* 2012;23(3):421-430, <https://doi.org/10.1007/s10552-011-9890-9>



Esta obra está bajo la licencia Creative Commons Atribución-NoComercia- Compartir Igual 4.0 Internacional. Permite compartir (copiar y redistribuir el material en cualquier medio o formato) y adaptar (remezclar, transformar y crear, a partir del material, otra obra) siempre que se cite la autoría y la fuente original de su publicación (revista, editorial y URL de la obra), no sean utilizados para fines comerciales y que se respeten los mismos términos de la licencia.

## ARTÍCULO ORIGINAL

Prevalencia de anticuerpos anti - *Bartonella henselae* en pacientes con sospecha clínica y epidemiológica de enfermedad por arañazo de gato*Prevalence of anti-Bartonella henselae antibodies in patients with clinical and epidemiological suspicion of cat scratch disease*Magdaleno, María Alejandra<sup>1\*</sup>; Cosentino, Tamara<sup>1</sup>; Irurtia, María Cecilia<sup>1</sup>; Rampulla, Santiago<sup>1</sup>; Montenegro, Graciela<sup>1</sup>; Pomerantz, Bettina Rosana<sup>2</sup>; Gadda, Natalia<sup>2</sup><sup>1</sup>Laboratorio de Microbiología, Servicio de Bioquímica, Departamento de Diagnóstico y Tratamiento, Hospital Nacional "Profesor Alejandro Posadas". Morón, Provincia de Buenos Aires, Argentina.<sup>2</sup>Consultorio de Moderado Riesgo, Servicio de Pediatría Ambulatorio, Departamento de Pediatría, Hospital Nacional Profesor Alejandro Posadas. Morón, Provincia de Buenos Aires, Argentina.

\*Contacto: Magdaleno, María Alejandra. Hospital Nacional Profesor Alejandro Posadas. Bogotá 869 1°D [C.P.1405], Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina; amagda66@yahoo.com.ar

## Resumen

**Introducción:** La enfermedad por arañazo de gato es causada por la bacteria *Bartonella henselae*. Afecta principalmente a niños y suele manifestarse con adenopatías regionales autolimitadas. El método de diagnóstico consiste en la detección de inmunoglobulinas específicas por inmunofluorescencia indirecta. Quienes cursan la enfermedad habitualmente tienen títulos de IgG iguales o mayores de 1/256. **Objetivos:** Determinar la prevalencia de anticuerpos IgG e IgM anti - *Bartonella henselae* en pacientes que reúnen criterios epidemiológicos y/o clínicos, y correlacionar los datos epidemiológicos con los resultados de serología y estudiar diagnósticos diferenciales. **Materiales y métodos:** Se realizó un estudio retrospectivo, descriptivo y observacional de pacientes con sospecha de enfermedad por arañazo de gato en el período de marzo de 2016 a febrero de 2022. Se utilizó un kit comercial de inmunofluorescencia. Se analizaron las siguientes variables: edad, sexo, presencia de fiebre, contacto con gatos, edad de las mascotas, comienzo de los síntomas, presencia de adenopatías y su localización, tratamiento antibiótico al inicio y luego del resultado, otras pruebas serológicas. **Resultados:** Se procesaron 424 muestras de suero. Cursaba infección reciente el 43,8 %, con predominio masculino (58,2 %) y mediana de edad 7 años. El 94,6 % tenía adenopatías, la mayoría cervicales; 98,9 % tuvo contacto con gatos; 81,2 % recibió tratamiento empírico, principalmente, trimetoprima-sulfametoxazol. Se ajustó el esquema antibiótico a azitromicina en 76,4 %. **Conclusiones:** Debido a la elevada prevalencia en nuestra población, es importante realizar la medición de anticuerpos específicos para *Bartonella henselae* a fin de efectuar un diagnóstico diferencial oportuno en pacientes con adenopatías.

**Palabras clave:** enfermedad por arañazo de gato, *Bartonella henselae*, inmunofluorescencia indirecta, adenopatías.

## Abstract

**Introduction:** Cat scratch disease is caused by the bacteria *Bartonella henselae*. It mainly affects children and usually manifests itself with self-limited regional lymphadenopathy. The diagnostic method consists of the detection of specific immunoglobulins by indirect immunofluorescence. Those with the disease usually have IgG titers equal to or greater than 1/256. **Objectives:** To determine the prevalence of anti-*Bartonella henselae* IgG and IgM antibodies in patients who meet epidemiological and/or clinical criteria, to correlate epidemiological data with serology results, and to study differential diagnoses. **Materials and methods:** A retrospective, descriptive and observational study was carried out in patients with suspected cat scratch disease from March 2016 to February 2022. A commercial immunofluorescence kit was used. The variables age, sex, presence of fever, contact with cats, age of the pets, onset of symptoms, presence and location of lymphadenopathy, antibiotic treatment at the beginning and after the result, and other serological tests were analyzed. **Results:** A total of 424 serum samples were processed. About 43.8% of patients had recent infection, there was male predominance (58.2%) and the median age was 7 years. In addition, 94.6% had lymphadenopathy, mostly cervical, 98.9% had contact with cats, and 81.2% received empirical treatment, mainly trimethoprim-sulfamethoxazole. The antibiotic regimen was adjusted to azithromycin in 76.4% of them. **Conclusions:** The population studied showed a high prevalence of cat scratch disease, so it is important to measure specific antibodies for *Bartonella henselae* to make a timely differential diagnosis in children with lymphadenopathy.

**Key words:** cat scratch disease, *Bartonella henselae*, indirect immunofluorescence, lymphadenopathy.

## Introducción

*Bartonella henselae* es el agente etiológico de la enfermedad por arañazo de gato (EAG). Se trata de un bacilo Gram negativo, pequeño, pleomórfico, del género *Bartonella*, con tropismo por glóbulos rojos. La enfermedad, en general, se presenta como una linfadenopatía regional autolimitada y afecta principalmente a los niños.

El reservorio natural de la bacteria es animal, principalmente, el gato, pero también se ha encontrado en el perro doméstico. La transmisión entre los gatos es a través de las pulgas (*Ctenocephalides felis*) y, en humanos, probablemente, a través de las heces de las pulgas luego del contacto con las mascotas<sup>1,2</sup>. Más del 90 % de los casos clínicos ocurre en personas que han estado en contacto con gatos, más a menudo gatos menores de un año, y la mayoría refiere haber sido arañada, mordida o lamida.

La presentación clínica típica comienza con la aparición de una pápula de color rojizo en el sitio de la lesión (arañazo o mordedura) que precede una a dos semanas la aparición de la adenitis regional. En pacientes inmunocompetentes, se trata de un cuadro de evolución subaguda, acompañado de otros síntomas inespecíficos, como fiebre, malestar, fatiga, sudores nocturnos y compromiso del estado general. Con menos frecuencia, puede acompañarse de dolor abdominal y hallazgos ecográficos como microabscesos hepatoesplénicos<sup>3-5</sup>. Las linfadenopatías cervical y axilar son las formas más comunes. Se han descrito presentaciones atípicas de la EAG; la más frecuente es el síndrome oculo-glandular de Parinaud. En una minoría de casos, incluidos los huéspedes inmunodeprimidos, *B. henselae* puede causar infecciones sistémicas graves, como osteomielitis, endocarditis, angiomas bacilar o peliosis hepática. La linfadenopatía indolora prolongada puede simular neoplasias malignas y tuberculosis<sup>6-8</sup>.

Como *B. henselae* es una bacteria de difícil cultivo, se requiere el uso de exámenes serológicos para la detección de inmunoglobulinas específicas. El método más recomendado es la inmunofluorescencia indirecta (IFI), que permite dosar anticuerpos IgG e IgM con buena sensibilidad y especificidad. Los pacientes con la enfermedad, tanto adultos como niños y adolescentes, habitualmente tienen títulos de IgG iguales o mayores de 1:256. Títulos menores de 1:256 podrían representar una infección antigua o hallarse en el comienzo o final de la enfermedad<sup>9,10</sup>. En caso de sospecha de infección reciente, se recomienda repetir la prueba de 10 a 14 días después en busca de seroconversión o un aumento de los títulos. Una IgM positiva es indicativa de infección aguda, pero si es negativa, no descarta la enfermedad. En los casos en que no pueda estudiarse una segunda muestra, resulta de utilidad el dosaje de IgM<sup>11</sup>.

Existen otros métodos basados en tinciones específicas, como es la tinción de Warthin-Starry, o también, métodos moleculares, como la identificación del genoma de la *B. henselae* mediante PCR en muestras de biopsias de ganglios o piel. La principal desventaja de estos métodos es que se

utilizan muestras invasivas<sup>12,13</sup>. La mayoría de los pacientes inmunocompetentes con un cuadro clínico de EAG experimenta resolución gradual de los síntomas y no suele ser necesario, según la mayoría de los autores, el empleo de antimicrobianos. En los casos en que se requiera tratamiento antibiótico, se recomienda azitromicina 500 mg por vía oral una vez al día durante 5 días<sup>14</sup>. En caso de pacientes intolerantes o alérgicos a azitromicina, se recomienda el uso de claritromicina, rifampicina o ciprofloxacina.

La bacteria *B. henselae* se encuentra ampliamente distribuida en todo el mundo, pero los estudios seroepidemiológicos en poblaciones humanas han mostrado resultados diversos. En Argentina, existen pocos trabajos publicados que estudian la enfermedad por arañazo de gato<sup>15,16</sup>.

El laboratorio participa de un programa de control de calidad externo, organizado por el Hospital Garrahan, que se inició en el año 2020 en busca de mejorar la calidad del diagnóstico y evaluar el nivel de concordancia entre los resultados de los distintos laboratorios participantes.

El objetivo de este trabajo fue determinar la prevalencia de anticuerpos IgG y/o IgM anti-*Bartonella henselae* en muestras de pacientes atendidos en el Hospital Nacional Profesor Alejandro Posadas que reunían criterios epidemiológicos y/o clínicos de enfermedad por arañazo de gato, a la vez que correlacionar datos epidemiológicos con los resultados serológicos y estudiar diagnósticos diferenciales.

## Materiales y métodos

Se realizó un estudio retrospectivo, descriptivo, observacional de pacientes que consultaron por sospecha de EAG en el período de marzo de 2016 a febrero de 2022 en el Hospital Nacional Profesor Alejandro Posadas. Se incluyeron pacientes pediátricos y adultos, tanto de servicios externos como de internación, con edades entre 2 meses y 71 años. A cada paciente, se le tomó una muestra de sangre que fue remitida al laboratorio de Microbiología Molecular junto con la planilla epidemiológica completada por el médico. Se recolectaron los datos clínicos y epidemiológicos de las respectivas planillas y de las historias clínicas. Los pacientes fueron seleccionados según los siguientes criterios: 1- presencia de adenopatías regionales, 2- contactos con gatos y/o perros, 3- fiebre de origen desconocido.

Se determinó la presencia de anticuerpos séricos IgM e IgG específicos anti-*Bartonella henselae* por técnica de inmunofluorescencia indirecta (IFI), utilizando un kit comercial de Focus Diagnostic (Cypress, CA, USA) y siguiendo las instrucciones del fabricante (Figura 1). La sensibilidad esperada del ensayo es de 88 - 95 %. La unión del anticuerpo del paciente con el antígeno bacteriano se visualizó bajo microscopio de fluorescencia (Leica TM 750) con la aparición de fluorescencia verde manzana brillante sobre los bacilos fijados en el portaobjetos (Figura 2). Para dosaje de anticuerpos IgG, los sueros se procesaron en dilución basal de 1:64 y, a los sueros positivos, se les realizaron diluciones al medio hasta determinar sus títulos. En cada ensayo, se

**Tabla I.** Resultados obtenidos en los grupos serológicos.

	Grupo EAG n (%)	Grupo No-EAG n (%)	p
Pacientes	184 (43,8)	236 (56,2)	
Edad			
Pediátricos (menos 15 años)*	7 (4-11)	5 (2-8)	<0,0001 <sup>2</sup>
Adultos*	22 (17-30)	30 (19-38)	0,086 <sup>2</sup>
Sexo masculino	107 (58,2)	127 (53,8)	0,374 <sup>1</sup>
Contacto con gatos y perros	111 (62)	135 (59,5)	0,610 <sup>1</sup>
Contacto solo con gatos	66 (36,9)	61 (26,9)	0,029 <sup>1</sup>
Contacto solo con perros	2 (1,1)	16 (7,2)	0,004 <sup>1</sup>
Sin contacto con mascota	0 (0)	15 (6,5)	0,001 <sup>1</sup>
gatos < de 1 año	141 (83)	133 (70)	0,004 <sup>1</sup>
Fiebre	93 (51,1)	115 (50,2)	0,859 <sup>1</sup>
Tiempo de enfermedad en días*	14 (7-20)	15 (7-30)	0,109 <sup>2</sup>
<= 30 días	13 (7-15)	10 (7-20)	0,182 <sup>2</sup>
> 30 días	60 (45-60)	90 (60-120)	0,001 <sup>2</sup>
Localización de la adenopatía			
Cervical	108 (62,8)	163 (77,3)	0,002 <sup>1</sup>
Axilar	30 (17,4)	19 (9)	0,014 <sup>1</sup>
Inguinal	41 (23,8)	38 (18)	0,161 <sup>1</sup>
Hallazgos ecográficos**	30 (19)	8 (4,1)	<0,0001 <sup>1</sup>
Tratamiento antibiótico final	120 (85,7)	42 (21,4)	<0,0001 <sup>1</sup>
Azitromicina	107 (76,4)	9 (4,6)	<0,0001 <sup>1</sup>

► Grupo EAG: pacientes con IgM  $\geq 1:20$  y/o IgG  $\geq 1:256$ , o IgM negativa con IgG  $< 1/256$  con criterio médico; Grupo No-EAG: pacientes con serologías negativas para IgM y títulos de IgG  $< 1/256$ . \*Mediana [rango intercuartílico], \*\*microabscesos, abscesos, microcalcificaciones, hepatomegalia. <sup>1</sup>Chi Cuadrado Pearson; <sup>2</sup>U de Mann Whitney.

usó un control negativo y uno positivo. Se consideró infección reciente la detección de títulos IgM  $\geq 1:20$  y/o IgG  $\geq 1:256$ <sup>9,10</sup>, y los pacientes que cumplían esa condición fueron incluidos en el grupo EAG. Los pacientes con serologías negativas para IgM y títulos de IgG menores de 1/256 se incluyeron en el grupo No-EAG. Algunos pacientes con serologías negativas para IgM y títulos de IgG menores de 1/256 también fueron incluidos en el grupo EAG por criterio médico. Los sueros con interferencias que dificultaban la observación del patrón específico de *B. henselae* se excluyeron del análisis de los resultados.

Se analizaron las siguientes variables: edad, sexo, presencia de fiebre, contacto con mascotas (gato/perro), edad de las mascotas (considerando *cachorro* al animal con edad menor de 1 año), comienzo de los síntomas, presencia de adenopatías y su localización, tratamiento antibiótico en el momento de la toma de muestra, rotación en el esquema antibiótico posterior al resultado serológico. Se registraron, además, pruebas serológicas para CMV, EBV y toxoplasmosis.

Análisis estadístico: se realizó un análisis según tipo de variables; con las variables continuas, se usaron medidas de tendencia central como la mediana y rango intercuartílico, y con las variables discretas, medidas de frecuencia. Se aplicó un análisis estadístico comparativo mediante la U de Mann - Whitney con las variables continuas y chi cuadrado con las variables discretas, usando el programa InfoStat. Se consideró una diferencia estadísticamente significativa con  $p < 0.05$ .

El protocolo del estudio fue aprobado por el Comité de Ética del Hospital Profesor Alejandro Posadas.

## Resultados

Se procesaron 420 muestras de suero de pacientes, 75 de adultos y 345 de pacientes pediátricos. Se detectaron anticuerpos anti-*Bartonella henselae* (títulos  $\geq 1/64$ ) en 232 pacientes (55,2 %). Dentro del grupo EAG, se agruparon 184 pacientes; el 43,8 % incluía 12 pacientes que tenían criterio médico y títulos de IgG entre 1/64 y 1/128. Dentro

**Tabla II.** Estudios serológicos diferenciales.

	Grupo EAG n (%)	Grupo No-EAG n (%)	p
<i>Toxoplasma gondii</i>	3 (2,4)	11 (7,4)	0,06 <sup>1</sup>
Citomegalovirus	18 (16,2)	11 (7,4)	0,03 <sup>1</sup>
Virus Epstein Barr	12 (14,4)	24 (19,5)	0,43 <sup>1</sup>

► Grupo EAG pacientes con IgM  $\geq 1:20$  y/o IgG  $\geq 1:256$ , o IgM negativa con IgG  $< 1/256$  con criterio médico; Grupo No-EAG: pacientes con serologías negativas para IgM y títulos de IgG  $< 1/256$ . <sup>1</sup>Chi Cuadrado Pearson.

del grupo *No - EAG*, se agruparon 236 pacientes (56,2 %). En el grupo *EAG*, el 38,7 % (29/75) eran adultos y 44,6% (154/345), niños. Ninguna muestra tuvo IgG negativa e IgM positiva; 3 pacientes presentaron títulos de IgG  $< 1/256$  e IgM positiva (Figura 3).

### Variables

El sexo mostró predominio masculino en ambas poblaciones. La distribución del sexo y edad en los dos grupos se detalla en la Tabla I.

Presencia de adenopatías y su localización: El 91,2 % (383/420) de las solicitudes registraron la presencia de adenopatías en una o más localizaciones, el 7,4 % no tenía adenopatías y, en el 1,4 % de los casos, no se registró el dato. En el grupo *EAG*, 174 (94,6 %) pacientes presentaron adenopatías cuya localización más frecuente fue la cervical y, en 7 pacientes, estaba comprometido más de un sitio anatómico. La localización de estas se muestra en la Tabla I. No presentaron adenopatías 10 pacientes del grupo *EAG*; los mismos presentaron microabscesos hepáticos/esplénicos (3), síndrome febril prolongado (1), eritema nodoso (1), edema de papila (1), dolor abdominal (1), sin datos (3).

Tiempo transcurrido desde el inicio de los síntomas hasta la toma de muestra: En el grupo *EAG*, el 91,1 % (163/179) de los pacientes tenía un tiempo de evolución menor o igual a 30 días con una mediana de 13 días y, en el grupo *No-EAG*, el 77,2% (179/232) y la mediana fueron de 10 días. Por otro lado, aquellos pacientes que presentaron tiempo de evolución mayor de 30 días fueron 16 (8,9 %) del grupo *EAG* con

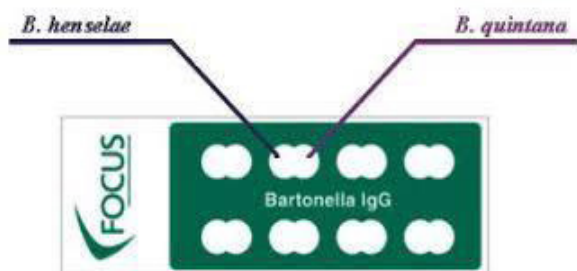
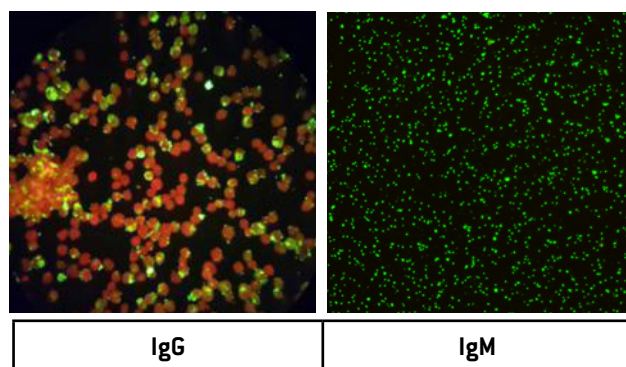
una mediana de 60 días y 53 (22,8 %) en el grupo *No-EAG* con una mediana de 90 días.

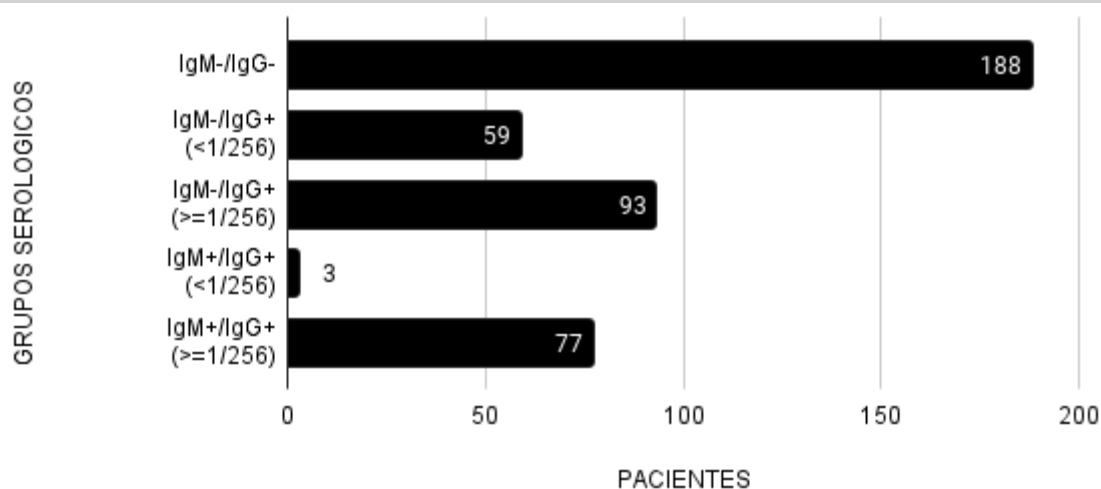
Nexo Epidemiológico: El 96,3 % (393/408) de los pacientes estudiados manifestó haber tenido contacto con gatos y/o perros: 91,9 % (375/408), con gatos y 66,2 % (264/399), con perros. Se documentaron lesiones causadas por los gatos en 7 casos (6 del grupo *EAG*). Tuvieron contacto solo con perros 18 pacientes. En el 79,5 % (291/366) de los casos, se trataba de mascotas menores de 1 año (Tabla I).

Tratamiento antibiótico previo al diagnóstico: El 75,8 % (311/410) de los pacientes estudiados había recibido un esquema de tratamiento empírico previo a la toma de la muestra que incluía uno o más antibióticos. Los más utilizados fueron: trimetoprima-sulfametoxazol (57 %), betalactámico orales (46 %), clindamicina (16 %) y azitromicina (5 %). Del grupo de pacientes con *EAG*, el 81 % (145/179) tenía registro de haber recibido tratamiento antibiótico previo, y los esquemas reportados fueron similares en la población total.

Tratamiento antibiótico pos diagnóstico: En 120 pacientes del grupo *EAG*, se registró la utilización de algún antibiótico; en 25 de ellos, se indicó inicio de tratamiento antibiótico, en 82 se indicó una rotación del esquema antibiótico inicial y en 13 no hubo modificaciones. La azitromicina fue el principal antibiótico de elección (Tabla I).

Otros estudios serológicos registrados: En 71 % del total de los pacientes, se registraron estudios serológicos para otras infecciones, de las cuales las más destacadas fueron el virus de Epstein-Barr (EBV), el citomegalovirus (CMV) y la

**Figura 1.** Improntas comerciales de inmunofluorescencia indirecta (FOCUS Diagnostics).**Figura 2.** Imagen en microscopio de fluorescencia de anticuerpos anti- *Bartonella henselae*.

**Figura 3.** Resultados según grupos serológicos.

toxoplasmosis (Tabla II). Además, un 25 % tuvo registros de estudios serológicos para sífilis y virus de inmunodeficiencia humana (HIV), de los cuales se obtuvieron 1 resultado positivo para HIV y 1 resultado positivo para sífilis, ambos, en pacientes adultos.

Otros diagnósticos registrados: En el 18,1 % de los pacientes, hubo registro de diagnósticos diferenciales distintos a la EAG. Entre las más frecuentes, destacamos: 12 faringitis estreptocócicas (una en el grupo EAG), 6 linfomas, 6 tuberculosis (una en el grupo EAG), 5 infecciones estafilocócicas, 2 toxocarosis, 1 brucelosis, 1 infección por COVID.

### Discusión

Se detectó una alta prevalencia de anticuerpos anti- *Bartonella henselae*, tanto en niños como en adultos, en los pacientes estudiados por sospecha de enfermedad por arañazo de gato. En nuestro país, Armitano y col., en un estudio publicado en 2017 y utilizando el mismo kit diagnóstico, detectaron una seroprevalencia muy similar a la nuestra en pacientes pediátricos con sospecha clínica de la enfermedad (52 %). La mediana de edad de su población estudiada fue de 5 años, con predominio del sexo femenino de 54 %<sup>15</sup>. Nuestra población pediátrica tenía una mediana de 6 años y predominio del sexo masculino (54 %).

En relación con trabajos de otros países, en Perú, se reportó una muy elevada prevalencia en niños con adenitis regional (81,1 %) y una mediana de edad de 7 años<sup>17</sup>. En Croacia, se dio una seroprevalencia de 35,8 % tanto en niños como adultos con linfadenopatías<sup>18</sup>. En Polonia, un estudio mostró una seropositividad de *B. henselae* de 57 % en pacientes con linfadenopatías<sup>19</sup>.

Si bien las adenopatías cervicales fueron las más frecuentes, son las de localización axilar las que tienen una diferencia significativa con el grupo No-EAG. También presenta diferencia significativa el hallazgo ecográfico de microabscesos en hígado y bazo. Es importante tener en cuenta que no siempre la manifestación de esta enfermedad es

con aparición de adenopatías, sino que puede manifestarse con dolor abdominal, síndrome febril prolongado, eritema nodoso y edema de papila.

Se documentó fiebre en la mitad de los casos de EAG, sin una diferencia con el grupo No-EAG, por lo que se considera un signo inespecífico.

En escasas oportunidades, pudo documentarse la presencia de arañazo u otras lesiones en los pacientes que acudieron a la consulta, no obstante, el contacto con gatos cachorros es el nexo epidemiológico fundamental y mostró una diferencia estadísticamente significativa con respecto al contacto con perros y gatos adultos.

En el grupo EAG, es más frecuente la consulta temprana con lo cual las presentaciones de más de 30 días dan indicio de otras patologías, como en el caso del grupo No-EAG, que, en su mayoría, son patologías de origen no infeccioso y sin una presentación aguda.

La detección de anticuerpos IgM es indicio de infección reciente y, en nuestro trabajo, aportó al diagnóstico de EAG en los casos en que el título de la IgG era menor de 1/256, sin embargo, hay reportes en los que sólo es positiva la IgM<sup>15</sup>. Además, todos los casos con títulos menores que el punto de corte e IgM negativa no fueron estudiados con una segunda muestra, como es indicado para detectar aumento de título, lo cual es una debilidad de nuestro estudio. En esos casos, el criterio clínico definió el diagnóstico.

Se pudo constatar un uso importante de antibioticoterapia. Esto se debe a la recomendación de cubrir con betalactámicos las infecciones bacterianas ante adenomegalias sin foco primario. En el grupo EAG, donde se constató un ajuste terapéutico posterior al resultado de la serología, se pudo observar que el antibiótico más usado fue la azitromicina y luego, la trimetoprima-sulfametoxazol. En este sentido, el tratamiento recomendado para la EAG, si bien está discutido y basado en una evidencia no conclusiva, es azitromicina como antibiótico principal (vía oral por 5 días en linfadenitis) y como alternativa, azitromicina más rifampi-

cina en caso de EAG atípica o trimetoprima sulfametoxazol, coincidiendo con lo hallado en nuestro trabajo.

Con base en los resultados encontrados, se concluye que las adenopatías regionales de comienzo agudo, especialmente en la población de niños que presenten además el antecedente epidemiológico de contactos con gatos pequeños, deben ser estudiadas para la búsqueda de EAG. La confirmación rápida y confiable de EAG puede evitar procedimientos de diagnóstico innecesarios, costosos e invasivos. Por lo tanto, es importante un diagnóstico preciso y oportuno<sup>20</sup> para ajustar el tratamiento, realizar un diagnóstico diferencial y para determinar presencia de coinfecciones<sup>21</sup>.

### Conflicto de intereses

Los autores declaran no poseer conflictos de interés.

### Referencias bibliográficas

- Reynolds MG, Holman RC, Curns AT, O'Reilly M, McQuiston JH, Steiner CA. Epidemiology of cat-scratch disease hospitalizations among children in the United States. *Pediatr Infect Dis J* 2005;24(8):700-4, <https://doi.org/10.1097/01.inf.0000172185.01939.fc>
- Cheslock ME, Embers ME. Human Bartonellosis: An Underappreciated Public Health Problem? *Trop Med Infect Dis* 2019;4(2):69, <https://doi.org/10.3390/tropicalmed4020069>
- Dunn MW, Berkowitz FE, Miller JJ, Snitzer JA. Hepatosplenic cat-scratch disease and abdominal pain. *Pediatr Infect Dis J*. 1997;16(3):269-72, <https://doi.org/10.1097/00006454-199703000-00003>
- Del Pozo AA, Angulo-Cruzado M, Amenero-Vega R, Álvarez-Lulichac A, Fernández-Cosavalente H, Barboza-Meca J, et al. Hepatosplenic abscesses in an immunocompetent child with cat-scratch disease from Peru. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*. 2019;18(1):23, <https://doi.org/10.1186/s12941-019-0322-0>
- Luciano A, Rossi F, Bolognani M, Trabucchi C. Microascessi epatici e splenici nella malattia da graffio di gatto. Caso clinico [Hepatic and splenic micro-abscess in cat scratch disease. Report of a case]. *Pediatr Med Chir*. 1999;21(2):89-91. PMID: 10570789
- Carithers HA. Cat-scratch disease. An overview based on a study of 1,200 patients. *Am J Dis Child* 1985;139:1124-33, <https://doi.org/10.1001/archpedi.1985.02140130062031>
- Margileth AM. Cat scratch disease. *Adv Pediatr Infect Dis* 1993; 8:1-21.
- Spickler, AR. 2012. Cat Scratch Disease and Other Zoonotic Bartonella Infections. Disponible en: <https://www.cfsph.iastate.edu/diseaseinfo/factsheets/>
- Eymin LG, Zapata PA, Andrade AM, Aizman SA, Rojas O, Rabagliati BR. Enfermedad por arañazo de gato: Características clínicas y de laboratorio en pacientes adultos hospitalizados por fiebre o adenopatías. *Rev. méd. Chile* 2006;134(10):1243-1248. Disponible en: [https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0034-98872006001000005](https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-98872006001000005)
- Ferrés M, Abarca K, Prado P, Montecinos L, Navarrete M, Vial P. Prevalencia de anticuerpos contra *Bartonella henselae* en niños, en adolescentes y en una población de riesgo ocupacional en Chile. *Rev. méd. Chile* 2006;134(7):863-867. Disponible en: [https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0034-98872006000700009](https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-98872006000700009)
- Abarca K, Winter M, Marsac D, Palma C, Contreras AM, Ferrés M. Exacititud y utilidad diagnóstica de la IgM en infecciones por *Bartonella henselae*. *Rev. chil. infectol*. 2013; 30(2):125-128, <https://doi.org/10.4067/s0716-10182013000200001>
- Lamps LW, Scott MA. Cat-scratch disease: historic, clinical, and pathologic perspectives. *Am J Clin Pathol* 2004;121 Suppl: S71-80, <https://doi.org/10.1309/jc8ym5314e016pt5>
- Sulaiman ZI, Samra H, Askar G. Cat Scratch Disease: An Unusual Case of Right Inguinal Lymphadenitis Due to *Bartonella henselae*. *Cureus*. 2023 Aug 28;15(8):e44280, <https://doi.org/10.7759/cureus.44280>
- David H Spach, MD; Sheldon L Kaplan, MD. Treatment of cat scratch disease. Uptodate 2011.
- Armitano R, Lisa A, Martínez C, Cipolla L, Lachini R, Prieto M. Bartonella henselae: evidencia serológica en pacientes pediátricos con sospecha clínica de enfermedad por arañazo de gato. *Rev Argent Microbiol*. 2018; 50(4):365-368, <https://doi.org/10.1016/j.ram.2017.10.004>
- Deregibus MI, Bagnara EI, Buchovsky A. Enfermedad por arañazo de gato: experiencia en un hospital pediátrico de tercer nivel. *Arch Argent Pediatr*. 2023;121(1):e202202592, <https://doi.org/10.5546/aap.2022-02592.eng>
- Miranda-Choque E, Candela-Herrera J, Díaz-Pereda J, Fernández-Vega A, Kolevic-Roca L, Patiño-Gabriel L, et al. Bartonella henselae en niños con adenitis regional atendidos en un hospital nacional del Perú, 2012. *Rev Peru Med Exp Salud Publica* 2014; 31(2):274-7, [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1726-46342014000200012](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-46342014000200012)
- Vilibic-Cavlek T, Karlovic-Martinkovic D, Ljubin-Sternak S, Tabain I, Persic Z, Mlinaric-Galinovic G. High prevalence of *Bartonella henselae* and *Bartonella quintana* antibodies in Croatian patients presenting with lymphadenopathy. *Pol J Microbiol*. 2012; 61(4):315-7. PMID: 23484416
- Podsiadły E, Sokołowska E, Tylewska-Wierzbianańska S. Seroprevalence of Bartonella henselae and Bartonella quintana infections in Poland in 1998-2001. *Przegl Epidemiol* 2002;56 (3): 399-407. PMID: 12608089
- Metzkor-Cotter E, Kletter Y, Avidor B, Varon M, Golan Y, Ephros M, et al. Long-Term Serological Analysis and Clinical Follow-Up of Patients with Cat Scratch Disease. *Clin Infect Dis* 2003; 37: 1149-54, <https://doi.org/10.1086/378738>
- Baranowski K, Huang B. Cat Scratch Disease. [Updated 2020 Jun 23]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island [FL]: StatPearls Publishing; 2020. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK482139/>



Esta obra está bajo la licencia Creative Commons Atribución - No Comercial - Compartir Igual 4.0 Internacional - Permite compartir, copiar y redistribuir el material en cualquier medio o formato) y adaptar (remezclar, transformar y crear, a partir del material, otra obra) siempre que se cite la autoría y la fuente original de su publicación (revista, editorial y URL de la obra), no sean utilizados para fines comerciales y que se respeten los mismos términos de la licencia.

## ARTÍCULO ORIGINAL

## Autoanticuerpos contra dianas neuronales en epilepsia

*Autoantibodies against neuronal targets in epilepsy*Ramos, Silvia Graciela<sup>1\*</sup>; Novoa, Viviana<sup>1</sup>; Aranda, Claudio<sup>1</sup><sup>1</sup>Sección Laboratorio de Inmunología, División Laboratorio Central del Hospital General de Agudos "Carlos G. Durand". Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

\*Contacto: Ramos, Silvia Graciela. Sección Laboratorio de Inmunología, División Laboratorio Central del Hospital General de Agudos "Carlos G. Durand". Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina. Juan B. Ambrosetti 920 (CP 1405) CABA; sgramos58@hotmail.com

## Resumen

**Introducción:** La epilepsia autoinmune es poco reconocida y se desconoce su incidencia. **Objetivo:** Determinar la incidencia de autoanticuerpos neuronales en pacientes con epilepsia de etiología desconocida. **Materiales y métodos:** Se realizó un estudio observacional, longitudinal, prospectivo y analítico evaluando la presencia de autoanticuerpos para encefalitis autoinmune, ácido glutámico descarboxilasa-65 y onconeuronales en suero y líquido cefalorraquídeo, en pacientes consecutivos con epilepsia de etiología desconocida. **Resultados:** Se incluyeron 60 pacientes y 80 controles (30 sanos, 30 con esclerosis múltiple, 10 con lupus eritematoso sistémico, 10 con síndrome de Sjögren) para detectar anticuerpos neuronales. Un total de 28/60 (47%) pacientes con epilepsia tenía anticuerpos contra: receptor de N-metil-D-aspartato, proteína 2 asociada a contactina, proteína 1 inactivada de glioma rica en leucina y descarboxilasa del ácido glutámico, una incidencia que fue significativamente mayor ( $p < 0,001$ ) que en la cohorte de control combinada. Pacientes y controles fueron negativos para anticuerpos onconeuronales, excepto 6 casos de epilepsia, 1 de esclerosis múltiple y 3 de lupus con a- descarboxilasa del ácido glutámico positivo por IIF-TBA e inmunotransferencia. No se encontró diferencia en la incidencia de los autoanticuerpos estudiados entre hombres y mujeres con epilepsia. La aparición de autoanticuerpos positivos en pacientes con epilepsias focales fue significativamente mayor en comparación con pacientes con epilepsia generalizada ( $p < 0,01$ ). **Conclusiones:** Se han encontrado anticuerpos contra receptores (NMDAR), proteínas asociadas con VGKC (LGI1, CASPR2) y anticuerpos dirigidos a antígenos intracelulares (GAD65) en el suero y líquido cefalorraquídeo de pacientes con epilepsia, lo que sugiere una etiología autoinmune.

**Palabras clave:** epilepsia establecida, epilepsia de nuevo diagnóstico, autoanticuerpos neuronales, complejo de canales de potasio dependientes de voltaje, ácido glutámico descarboxilasa, receptor NMDA.

## Abstract

**Introduction:** Autoimmune epilepsy is poorly recognized, and its incidence is unknown. **Objective:** To determine the incidence of neuronal autoantibodies in patients with epilepsy of unknown etiology. **Materials and methods:** An observational, longitudinal, prospective and analytical study was carried out to evaluate the presence of autoantibodies for autoimmune encephalitis, glutamic acid decarboxylase-65 and onconeuronal antibodies in serum and cerebrospinal fluid in consecutive patients with epilepsy of unknown etiology. **Results:** A total of 60 patients and 80 controls (30 healthy ones, 30 with multiple sclerosis, 10 with systemic lupus erythematosus, and 10 with Sjögren's syndrome) were included to detect neuronal antibodies. A total of 28/60 (47%) epilepsy patients had antibodies against N-methyl-D-aspartate receptor, contactin-associated protein 2, leucine-rich glioma-inactivated protein 1 and glutamic acid decarboxylase, an incidence that was significantly ( $p < 0.001$ ) higher than that in the combined control cohort. Patients and controls were negative for onconeuronal antibodies, except six cases of epilepsy, one case of multiple sclerosis and three cases of Lupus with positive a-glutamic acid decarboxylase by indirect immunofluorescence tissue-based assay and immunoblotting. No difference was found in the incidence of the autoantibodies studied between male and female patients with epilepsy. The incidence of positive autoantibodies in patients with focal epilepsies was significantly higher than that in patients with generalized epilepsy ( $p < 0.01$ ). **Conclusions:** Antibodies against receptors (NMDA receptor), proteins associated with VGKC (LGI1, CASPR2) and antibodies directed at intracellular antigens (GAD65) were found in the serum and cerebrospinal fluid of patients with epilepsy, suggesting an autoimmune etiology.

**Key words:** established epilepsy, newly diagnosed epilepsy, neuronal autoantibodies, voltage-gated potassium channel complex, glutamic acid decarboxylase, NMDA receptor.

## Introducción

Las crisis epilépticas son una de las presentaciones clínicas más frecuentes de la encefalitis autoinmune y, en algunos casos, puede ser el único síntoma. La incidencia de autoanticuerpos neuronales en la epilepsia de etiología desconocida varía entre los estudios. Se han identificado anticuerpos en pacientes con encefalitis límbica (EL)<sup>1</sup> y más recientemente, en pacientes con convulsiones distónicas faciobraquiales (CDFB)<sup>2</sup>. Estas encefalopatías a menudo muestran un curso monofásico con títulos de anticuerpos que disminuyen sustancialmente en 1 a 2 años<sup>3</sup>. Dado que estos anticuerpos contra antígenos neuronales juegan un papel directo o indirecto en la transducción de señales sinápticas, la autoinmunidad asociada se manifiesta con convulsiones y síntomas neuropsiquiátricos. Las condiciones resultantes incluyen formas especiales de encefalitis límbica autoinmune, neuromiotonía o síndrome de Morvan. Estos síndromes graves y potencialmente letales pueden tener una etiología no paraneoplásica o paraneoplásica. Los síndromes neurológicos paraneoplásicos (SNP) son un conjunto de manifestaciones del sistema nervioso (SN), de etiopatogenia desconocida, que están relacionadas con la presencia de una neoplasia maligna y que no obedecen a invasión directa por el tumor, metástasis de este, trastornos metabólicos ni nutricionales, infecciones oportunistas ni son consecuencias de la radioterapia o quimioterapia para el tratamiento del cáncer. Los SNP son efectos indirectos del cáncer, en el que median mecanismos inmunológicos que permiten el diagnóstico mediante la detección de anticuerpos específicos, denominados *anticuerpos onconeuronales* (AON). Graus y col. definen los AON frente a antígenos intracelulares “como anticuerpos paraneoplásicos bien

caracterizados que incluyen al anti-Hu o anticuerpos anti-núcleo de las neuronas (ANNA-1), anti-Ri (ANNA-2), anti-Yo, anti-CV2/CRMP5, anti-Ma2, antianfifisina y anti-Tr (PCATr); y anticuerpos neurológicos paraneoplásicos parcialmente caracterizados, donde se encuentran los anti-Zic4, anti-SOX y también, los anti-ANNA-3 y PCA-2”.

La frecuencia de tumores subyacentes oscila entre el 10 y el 70 %, según el tipo de anticuerpo. Lo más probable es que estos anticuerpos desempeñen un papel causal en la patogenia. Dado que la terapia apropiada (intervención inmunomoduladora, resección del tumor) da como resultado una regresión considerable de los síntomas en la mayoría de los pacientes, el diagnóstico temprano es importante para un pronóstico favorable.

Los anticuerpos contra proteínas neuronales son comunes en pacientes que presentan convulsiones agudas de origen autoinmune sospechoso, según lo determinado por cambios inflamatorios en el líquido cefalorraquídeo o en neuroimágenes<sup>4</sup>. También se han informado anticuerpos contra las proteínas del complejo de canales de potasio dependientes de voltaje (VGKC) y la descarboxilasa del ácido glutámico (GAD) en una pequeña proporción de pacientes que presentaban convulsiones como síntoma principal o único y sin una implicación autoinmune manifiesta<sup>5</sup>. La mayoría de dichos informes han sido de naturaleza transversal, a menudo, reclutando pacientes de centros de referencia terciarios y, por lo tanto, sesgando a la población del estudio a favor de aquellos con una historia prolongada de epilepsia predominantemente refractaria. Por lo tanto, no está claro si la frecuencia elevada de autoanticuerpos contra antígenos neuronales observados en estos estudios es la causa subyacente de la epilepsia o simplemente una con-

**Tabla I.** Presencia de autoanticuerpos neuronales en casos y controles.

	n	a-NMDAR (CBA)	a-AMPA (CBA)	a-CASPR2 (CBA)	a-LGI1 (CBA)	a-DPPX (CBA)	a-GABAb (CBA)	a-GAD (IIF-TBA-IT)	Total, Ac +	p
Casos										
Epilepsia	60	15	0	2	5	0	0	6	28	
Controles										
Sanos	30	0	0	0	0	0	0	0	0	<0,001*
EM	30	1	0	0	0	0	0	1	2	<0,001*
Autoinmunes	20	3	0	0	0	0	0	3	6	<0,01*

► Los resultados se expresan como el número de muestras que muestran un título positivo. Las comparaciones estadísticas [\*total de anticuerpos positivos en los casos frente a los controles] se realizaron mediante la prueba de chi-cuadrado o la prueba de Fisher, según correspondiera. Los autoanticuerpos detectados fueron: NMDAR, receptor de N-metil-D-aspartato; AMPAR, receptor del ácido amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolpropiónico; CASPR2, proteína asociada a contactina-2; LGI1, proteína inactivada-1 de glioma rica en leucina; DPPX, dipeptidyl-peptidase-like protein 6; GABAb, receptores acoplados a proteínas G para el ácido gamma-aminobutírico; GAD, ácido glutámico descarboxilasa. Los métodos de determinación de anticuerpos fueron CBA: ensayo basado en células; IIF-TBA: inmunofluorescencia- ensayo basado en tejido de primate e IT: inmunotransferencia; EM, esclerosis múltiple; p, valor; -n, número de casos y controles; Total; número de autoanticuerpos positivos; -Autoinmunes: controles de otras enfermedades autoinmunes (lupus eritematoso sistémico y síndrome de Sjögren).

**Tabla II.** Incidencia de autoanticuerpos neuronales por características demográficas y clínicas.

	n	a-NMDAR (CBA)	a-AMPA (CBA)	a-CASPR2 (CBA)	a-LGI1 (CBA)	a-DPPX (CBA)	a-GABA (CBA)	a-GAD (IIF-TBA-IT)	Total Ac +	p
<b>Sexo</b>										
Masculino	33	8 [24%]	0 [0%]	1 [3%]	3 [9%]	0 [0%]	0 [0%]	3 [9%]	15 [45%]	ns
Femenino	27	7 [26%]	0 [0%]	1 [4%]	2 [7%]	0 [0%]	0 [0%]	3 [11%]	13 [48%]	
<b>Tipo epilepsia</b>										
Generalizada	20	5 [25%]	0 [0%]	0 [0%]	1 [5%]	0 [0%]	0 [0%]	1 [5%]	7 [35%]	<0,01*
Focal	40	10 [25%]	0 [0%]	2 [5%]	4 [10%]	0 [0%]	0 [0%]	5 [12%]	21 [52%]	

► Los resultados se expresan como el número de muestras que evidencian un título positivo en cohortes clínicas. Las comparaciones estadísticas se realizaron mediante la prueba de chi-cuadrado o la prueba exacta de Fisher, según correspondiera; -ns, no significativo; \*, estadísticamente significativo. Los autoanticuerpos detectados fueron: NMDAR, receptor de N-metil-D-aspartato; AMPAR, receptor del ácido amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolpropiónico; CASPR2, proteína asociada a contactina-2; LGI1, proteína inactivada-1 de glioma rico en leucina; DPPX, dipeptidyl-peptidase-like protein 6; GABA, receptores acoplados a proteínas G para el ácido gamma-aminobutírico; GAD, ácido glutámico descarboxilasa. Los métodos de determinación de anticuerpos fueron CBA: ensayo basado en células. IIF-TBA: inmunofluorescencia ensayo basado en tejido de primate; e IT: inmunotransferencia; EM, esclerosis múltiple; p, valor; -n, número de casos. -Total: número de autoanticuerpos positivos.

secuencia de las convulsiones no controladas y cualquier daño neurológico asociado.

Recientemente, los anticuerpos contra otras proteínas expresadas en el cerebro, incluido el receptor de N-metil-D-aspartato (NMDAR), el receptor del ácido a-amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolpropiónico (AMPA), el receptor B del ácido  $\alpha$ -aminobutírico (GABA<sub>B</sub>) y los receptores de glicina (GLY-Rs), también se han informado en pacientes con encefalopatías<sup>6</sup>, pero la incidencia de estos nuevos anticuerpos sigue siendo relativamente desconocida en cohortes más grandes de epilepsia esporádica. Tampoco está claro si coexisten con anticuerpos informados más ampliamente, como VGKC y GAD, en un trastorno convulsivo con autoinmunidad amplia.

El objetivo de este estudio fue determinar la incidencia de varios autoanticuerpos neuronales nuevos y establecidos en una cohorte de pacientes con epilepsia.

### Materiales y métodos

Se realizó un estudio observacional, longitudinal, prospectivo y analítico evaluando la presencia de autoanticuerpos para encefalitis autoinmune, ácido glutámico descarboxilasa-65 y onconeuronales en suero y líquido cefalorraquídeo en pacientes consecutivos con epilepsia establecida o epilepsia de inicio reciente de etiología desconocida.

Se excluyeron específicamente los sujetos con antecedentes de abuso de alcohol o drogas recreativas, sospecha de convulsiones no epilépticas o de un trastorno neurológico progresivo. Los análisis de laboratorio se realizaron por indicación del neurólogo de los pacientes como parte de las pruebas complementarias para realizar el diagnóstico diferencial ante sospecha de enfermedades neuroinmunológicas autoinmunes.

El suero y el líquido cefalorraquídeo (LCR) de los pacientes se analizaron mediante ensayo basado en tejido (IIF-TBA), ensayo basado en células transfectadas (CBA) e inmunotransferencia.

El IIF-TBA se realizó en un sustrato compuesto de cerebelo de primate. Se aplicaron las muestras de los pacientes (dilución de suero 1:10 y 1:100, dilución de LCR 1:1 y 1:5). Después de 30 minutos de incubación y lavado con *buffer* fosfato (PBS), el sustrato se incubó con anti-IgG-fluoresceína durante otros 30 minutos. Después de lavar con PBS, los portaobjetos fueron visualizados mediante microscopía de fluorescencia con aumento de 400x por dos operadores independientes.

Las muestras se analizaron con un kit de inmunotransferencia comercial (EUROLINE Paraneoplastic Neurological Syndromes 12 Ag; Euroimmun, Lübeck, Alemania) siguiendo las instrucciones del fabricante. Las tiras reactivas se escanearon y evaluaron para determinar la intensidad de la banda de Hu (ANNA1), Yo (PCA1), CV2 (CRMP5), Ri (ANNA2), Ma2, Tr (DNER), Zic-4, SOX1, recoverina, GAD, titina y anfibisina utilizando el *software* EUROLineScan (Euroimmun Lübeck, Alemania). Siguiendo las recomendaciones del fabricante, los valores de intensidad de banda de anticuerpos onconeuronales  $\leq 10$  se consideraron negativos.

Los anticuerpos que reconocen antígenos de la superficie neuronal se determinaron por CBA (dilución 1:10 en suero; dilución 1:1 en LCR). Se investigaron los anticuerpos dirigidos contra los receptores de glutamato (tipo NMDA o tipo AMPA), receptores GABA<sub>B</sub>, *dipeptidyl aminopeptidase-like protein 6* (DPPX), canales de potasio dependientes de voltaje (VGKC) o proteínas asociadas a VGKC [*leucine-rich glioma-inactivated protein 1* (LGI1), *contactin-associated protein 2* (CASPR2)], [Autoimmune Encephalitis Mosaic 1 Biochip 6, Euroimmun, Lübeck, Alemania].

### Análisis estadístico

Los resultados de anticuerpos se expresaron como incidencia relativa en todo momento y se analizaron estadísticamente mediante la prueba de chi-cuadrado o la prueba exacta de Fisher, según correspondiera. Las comparaciones estadísticas de datos demográficos y características clínicas se realizaron mediante la prueba de Mann-Whitney (variables continuas) o la prueba de chi-cuadrado (variables categóricas), según correspondiera.

### Consideraciones éticas

La información se obtuvo de una base de datos anonimizada para procurar la protección de los datos personales de los sujetos que participaron de la investigación.

### Resultados

Entre enero de 2017 y marzo de 2023, analizamos 60 pacientes con epilepsia establecida o epilepsia de inicio reciente (suero,  $n = 60$ ; LCR,  $n = 60$ ). La mediana de edad fue de 48 años (rango 15-65), y 27 (45%) eran mujeres.

Los pacientes con epilepsia más 80 controles (30 voluntarios sanos, 30 con esclerosis múltiple [EM], 20 controles autoinmunes, 10 con lupus eritematoso sistémico, 10 con

síndrome de Sjögren] se analizaron para detectar anticuerpos en suero y LCR contra NMDAR, AMPAR, CASPR2, LGI1, DPPX, GABA<sub>B</sub> y GAD. En los controles sanos se analizó solo el suero. En la Tabla I, se resumen los resultados.

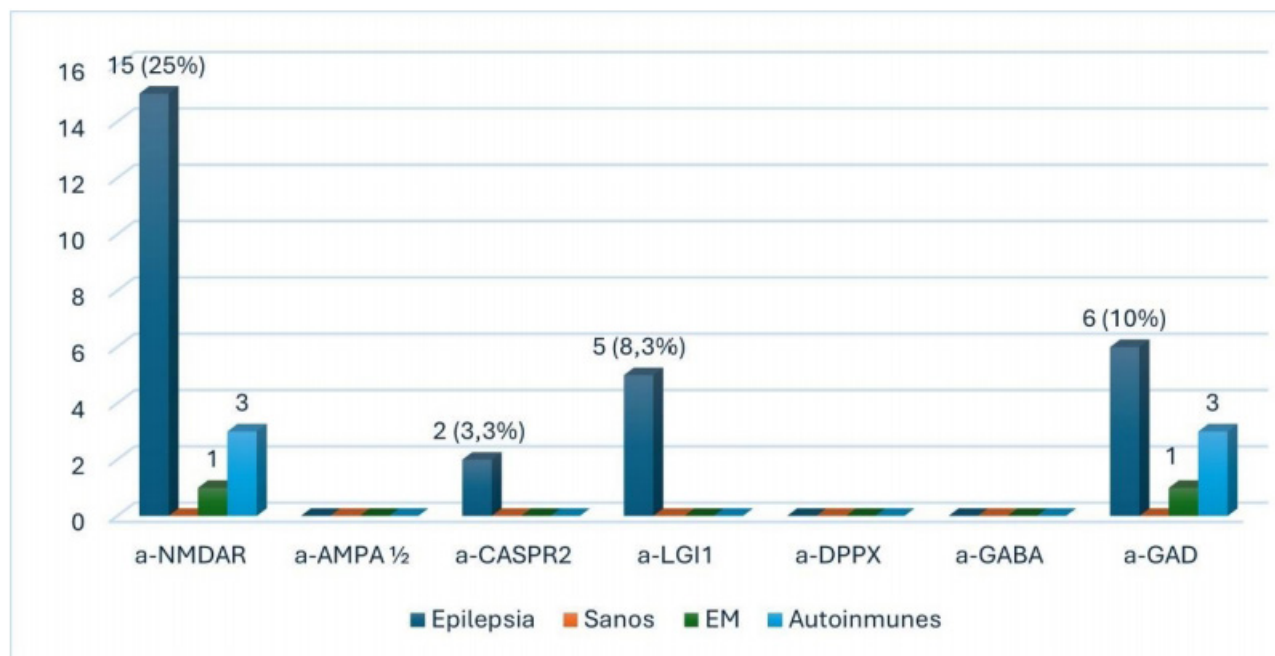
Un total de 28/60 (47%) de pacientes con epilepsia tenía anticuerpos séricos contra NMDAR, CASPR2, LGI1 y GAD, una incidencia que fue significativamente ( $p < 0,001$ ) mayor que en la cohorte de control combinada (Tabla I, Figura 2).

El anticuerpo más común fue a-NMDAR, encontrado en 15 pacientes con epilepsia (25 % del total) y solo en 4 de los controles (5 % del total). También se detectaron anticuerpos contra CASPR2, LGI1 y GAD (3,3 %, 8,3 % y 10 % de los pacientes con epilepsia, respectivamente) (Figura 1).

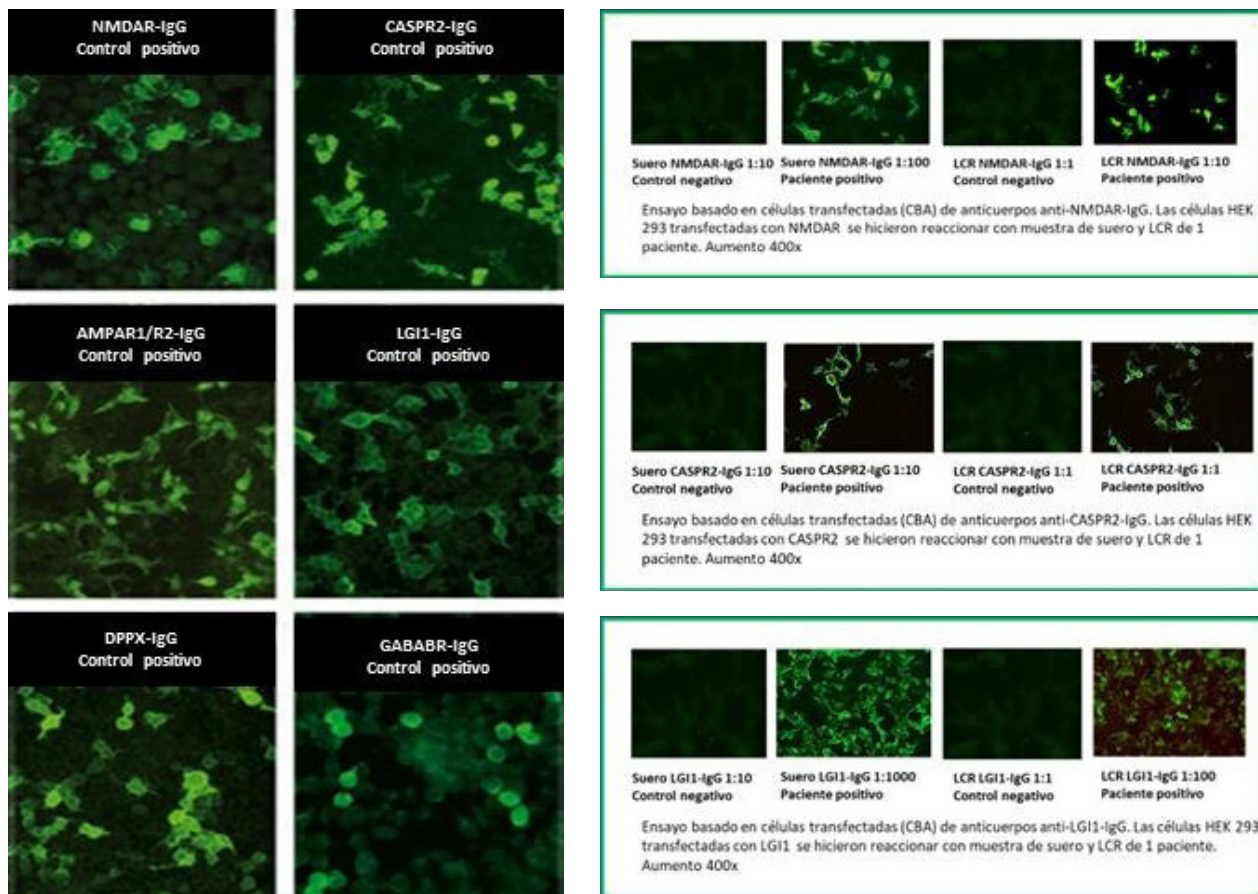
Todos los pacientes con epilepsia y los controles fueron negativos para anticuerpos onconeuronales, excepto 6 casos de epilepsia, 1 de EM y 3 de LES con a-GAD positivo por IIF-TBA e inmunotransferencia, (Figura 3).

No hubo diferencia en la incidencia de los autoanticuerpos estudiados entre hombres y mujeres con epilepsia (Tabla II). Se encontró una incidencia significativamente mayor de autoanticuerpos positivos en pacientes con epilepsias focales en comparación con pacientes con epilepsia generalizada ( $p < 0,01$ ; Tabla II).

**Figura 1.** Autoanticuerpos neuronales en casos y controles.



► Los pacientes con epilepsia ( $n = 60$ ), los controles de enfermedad [esclerosis múltiple [EM]:  $n = 30$ ; enfermedades autoinmunes: lupus eritematoso sistémico [LES] + síndrome de Sjögren [SS]:  $n = 20$  y los controles sanos:  $n = 30$ ] se analizaron buscando autoanticuerpos contra una variedad de proteínas neuronales. La figura muestra los resultados de la detección de anticuerpos anti- NMDAR, receptor de N-metil-D-aspartato; AMPAR, receptor del ácido amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolpropiónico; CASPR2, proteína asociada a contactina-2; LGI1, proteína inactivada-1 de glioma rico en leucina; DPPX, dipeptidyl-peptidase-like protein 6; GABA<sub>B</sub>, receptores acoplados a proteínas G para el ácido gamma-aminobutírico por ensayo basado en células transfectadas (CBA) y GAD, ácido glutámico descarboxilasa por inmunoblot e inmunofluorescencia por ensayo basado en tejido cerebelo de primate (IIF-TBA).

**Figura 2.** Mosaico encefalitis autoinmune. Ensayo basado en células transfectadas.

► Determinación mono-específica de autoanticuerpos dirigidos contra antígenos de la superficie neuronal por ensayo de inmunofluorescencia indirecta basado en células transfectadas que presentan los antígenos relevantes en su forma auténtica o conformacional. Los sustratos celulares transfectados de manera diferente se pueden combinar en multiplex. La figura de la izquierda muestra los controles positivos de la detección de anticuerpos anti-NMDAR, receptor de N-metil-D-aspartato; AMPAR, receptor del ácido amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolpropiónico; CASPR2, proteína asociada a contactina-2; LGI1, proteína inactivada-1 de glioma rico en leucina; DPPX, dipeptidyl-peptidase-like protein 6; GABA<sub>B</sub>, receptores acoplados a proteínas G para el ácido gamma-aminobutírico. A la derecha, se presentan las imágenes de inmunofluorescencia positiva de 3 pacientes.

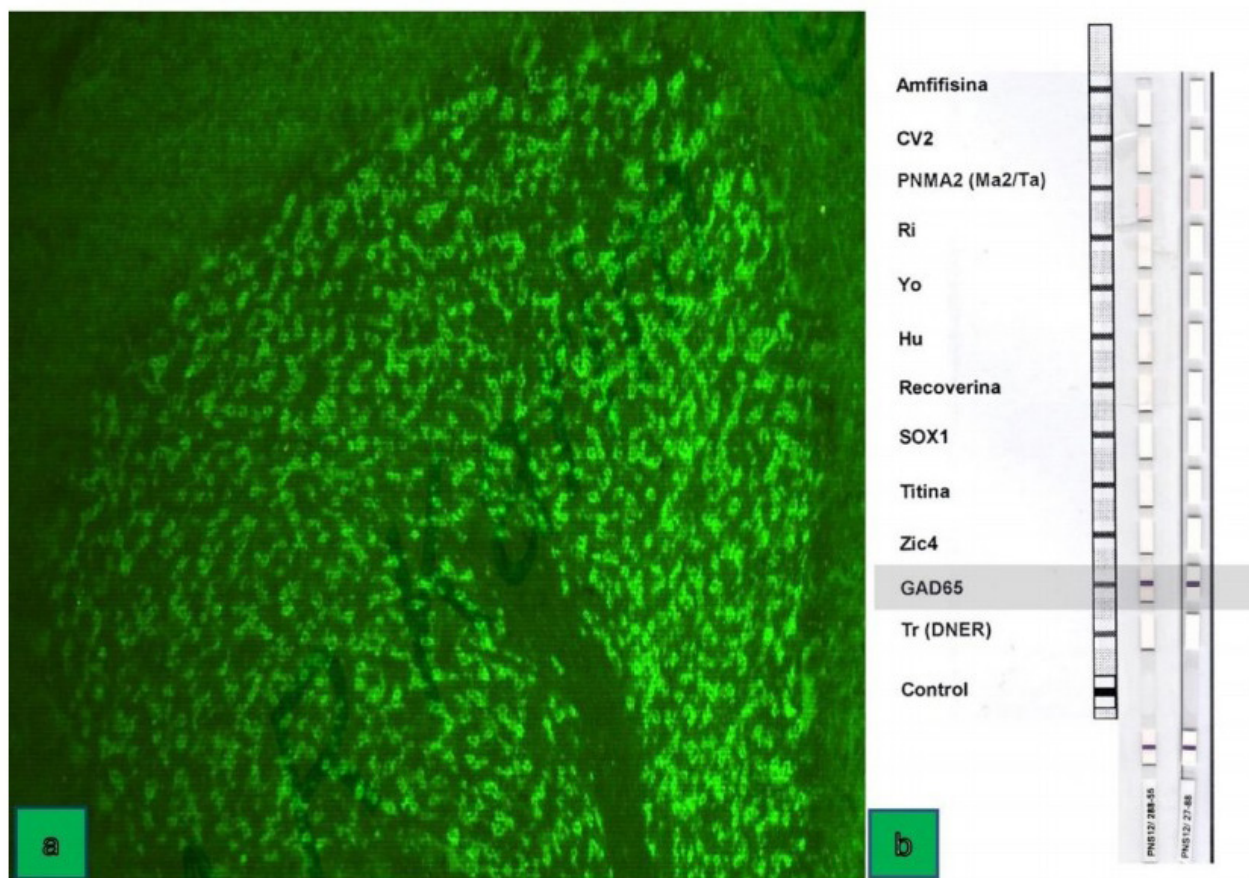
## Discusión

Estudios previos han demostrado la presencia de autoanticuerpos contra NMDAR<sup>7</sup> y GAD<sup>8</sup> en cohortes transversales de pacientes con epilepsia, en síndromes epilépticos bien definidos y en pacientes con autoinmunidad neurológica preexistente conocida o sospechada<sup>4</sup>. Los anticuerpos contra CASPR2<sup>9</sup> y LGI1<sup>10</sup> se han examinado recientemente en una población con epilepsia autoinmune y los anticuerpos contra NMDAR solo se han investigado en pequeños estudios pediátricos, centrados en encefalitis límbica y estado epiléptico<sup>11</sup>.

En este estudio, buscamos anticuerpos en una cohorte de pacientes consecutivos, no seleccionados, con epilepsia. Encontramos anticuerpos positivos para NMDAR, CASPR2, LGI1 y GAD con una incidencia significativamente mayor que en controles sanos o enfermos. En total, 28 (47%) de 60 pacientes con epilepsia, en este análisis, fueron positivos

para anticuerpos contra antígenos neuronales.

Ninguno de los pacientes en este estudio tenía evidencia clínica de EL, encefalitis asociada a a-NMDAR o cualquier otra enfermedad neuroinflamatoria mediada por anticuerpos. De esta manera, nuestros hallazgos sugieren que varios autoanticuerpos neurológicos asociados con encefalopatías de inicio subagudo también pueden dar lugar a epilepsia esporádica, de forma semejante a lo descrito en informes previos en una cohorte de pacientes jóvenes con epilepsia de inicio inexplicable<sup>12</sup>. Los seis pacientes con anticuerpos anti-GAD, 3 mujeres y 3 hombres, tenían epilepsia focal, lo que es consistente con otros estudios<sup>13</sup> e informes más recientes de una relación entre anti-GAD y epilepsias que surgen en el lóbulo temporal<sup>14-15</sup>. De manera similar, los anticuerpos anti-GAD también se informaron recientemente en una forma de EL en mujeres adultas jóvenes con epilepsia del lóbulo temporal y trastornos cognitivos leves<sup>16</sup>.

**Figura 3.** Autoanticuerpos anti-ácido glutámico descarboxilasa.

- (a) Hallazgos de inmunofluorescencia en un caso de epilepsia asociada a anticuerpos anti-GAD (ácido glutámico descarboxilasa). Micrografía que muestra inmunofluorescencia utilizando suero del paciente diluido 1:100 en cerebelo (400x). El patrón de fluorescencia típico de los anticuerpos anti-GAD presenta una fluorescencia prominente en la capa de células granulares; a diferencia de los anti-anfifisina, no se tiñe la capa molecular. (b) Anti-GAD detectado por inmunoblot en suero y líquido cefalorraquídeo del mismo paciente. Dilución de suero 1:100, dilución de líquido cefalorraquídeo 1:2. CV2: CV2/ proteína mediadora de la respuesta a colapsina [CRMP]5; PNMA2/Ma2: familia del antígeno Ma paraneoplásico (PNMA), que está representada por al menos quince miembros de la familia; tres de los miembros de la familia, PNMA1-3, están asociados con el trastorno paraneoplásico; Ri: 2 proteínas con un peso molecular de 55 y 80 kDa, que se denominan Nova-1 y Nova-2. Su función parece estar relacionada con la regulación del preARNm; Yo: proteínas del citoplasma de las células de Purkinje del cerebelo de 34 y 62 kDa; Hu: familia de proteínas de unión al ARN (Hu-D, Hu-C y Hel N1), de tamaño molecular de 35-40 kDa, localizadas en los núcleos y el citoplasma de todas las neuronas y también, en las células tumorales; SOX1: antígeno localizado en los núcleos de las células gliales de Bergmann del cerebelo adulto; Zic4: proteínas de los núcleos de la capa granular, perteneciente a una familia de cinc-proteínas que tienen un papel importante en el desarrollo del sistema nervioso; GAD65: ácido glutámico descarboxilasa, Tr [DNER]: antígeno que se expresa tanto en el citoplasma de células de Purkinje como en axones y dendritas.

Después de a-NMDAR, a-GAD fue el autoanticuerpo más frecuente en nuestro análisis. Esto no es extraño, ya que, a diferencia de la mayoría de los autoanticuerpos neuronales, los anticuerpos a-GAD se han asociado durante muchos años con epilepsias resistentes a los medicamentos sin cumplir los criterios de encefalitis límbica<sup>17</sup>, lo cual es congruente con los criterios de selección de nuestro estudio.

Siete (11,6 %) de 60 pacientes con diagnóstico de epilepsia focal y generalizada, en nuestro estudio, tenían autoanticuerpos a-CASPR2 (2/60 3,3 %) y a-LGI1 (5/60 8,3%), lo cual es consistente con la prevalencia relativa de estos anticuerpos en otros estudios. Los pacientes con epilep-

sias generalizadas, generalmente, tienen una base genética para sus convulsiones, aunque, en la mayoría de los casos, esto no ha sido confirmado formalmente. Este tema se aborda en la revisión de la terminología y los conceptos para la organización de las convulsiones y las epilepsias que realizó la Liga Internacional contra la Epilepsia (ILAE), que se revisó en 2017, la cual identificó como “Inmune” una de las etiologías de la epilepsia por primera vez<sup>18</sup>. Los autoanticuerpos dirigidos contra los mismos canales iónicos y receptores a menudo implicados en las epilepsias genéticas podrían teóricamente dar lugar a un fenotipo idéntico. Otros estudios sobre cohortes más grandes de pacientes

con epilepsia generalizada para explorar esta posibilidad son así justificados, y futuras revisiones a la clasificación de epilepsias deben considerar la autoinmunidad como un contribuyente etiológico.

La encefalitis anti-NMDAR es la enfermedad más frecuente entre los EA con anticuerpos anti-NSA<sup>19</sup>. Un estudio prospectivo, multicéntrico y basado en la población sugiere que los trastornos autoinmunes son la tercera causa más común de encefalitis, después de las infecciones, generalmente virales, y la encefalomiелitis diseminada aguda, que suele ser un trastorno posinfeccioso<sup>20</sup>. El diagnóstico de encefalitis anti-NMDAR se confirma con la detección de anticuerpos en LCR contra la subunidad GluN1 de NMDAR; las pruebas de suero son menos fiables, puesto que dan como resultados falsos negativos hasta en el 14 % de los casos<sup>21</sup>. En pacientes con títulos bajos de anticuerpos, los anticuerpos séricos se vuelven indetectables después de la fase aguda, pero los anticuerpos en el líquido cefalorraquídeo no desaparecen en un corto período de tiempo. Por otro lado, los casos con suero positivo/líquido cefalorraquídeo negativo deben considerarse falsos positivos y deben reevaluarse.

El epítipo antigénico de este anticuerpo es NR1 (GluN1), y uno de los dominios extracelulares de la subunidad de GluN1 es la región N368/G369, que es crucial para la creación de inmunoreactividad; su autoanticuerpo se denomina *anticuerpo anti-GluN1 o anti-NMDAR*. Sin embargo, este anticuerpo no identifica la estructura primaria o epítipo lineal en GluN1, ya que es un autoanticuerpo que reconoce el epítipo conformacional del receptor<sup>22-23</sup>. Este anticuerpo no interfiere con la activación mediada por el complemento, sino que promueve la internalización de NMDAR, lo que reduce la cantidad de NMDAR expresados y la función de NMDAR como una red completa<sup>24</sup>.

El anticuerpo anti-LGI1 fue previamente llamado *anti-VGKC*. El anticuerpo anti-VGKC ha sido medido por el método de radioinmunoanálisis (RIA), sin embargo, el verdadero epítipo antigénico no fue el propio VGKC, sino LGI1 y CASPR2. LGI1 es una proteína intersináptica que se une a los factores de adhesión celular presinápticos y postsinápticos ADAM23 y ADAM22, y estabiliza AMPAR en la membrana postsináptica. Por otro lado, CASPR2 se expresa tanto en nervios centrales como periféricos, y se detectan anticuerpos anti-CASPR2 en el síndrome de Isaacs y el síndrome de Morvan. Con base en estos resultados, los anticuerpos anti-VGKC pasaron a llamarse *anticuerpos del complejo anti-VGKC*, pero existe la opinión de que se debe usar el verdadero nombre del antígeno en lugar del complejo VGKC<sup>25</sup>. Posteriormente, 90 de 162 pacientes (56%) en quienes se detectaron anticuerpos anti-complejo VGKC en suero reconocieron LGI1 o CASPR2, mientras que el 38% restante (27/72) reconoció Kv1; se reportó que el 59% (16/27) de ellos reconoció el componente intracelular de Kv1. Por lo tanto, los anticuerpos del complejo anti-VGKC dobles seronegativos ya no pueden considerarse anticuerpos anti-

antígenos neurales de superficie (anti-NSA) y, en los casos de doble seronegatividad, los resultados de anticuerpos medidos por el método RIA no deben utilizarse como base para iniciar la inmunoterapia por lo que se concluye que los anticuerpos deben medirse mediante CBA<sup>26</sup>.

La incidencia de cada anticuerpo obtenida en nuestro análisis puede guiar la investigación en términos de qué autoanticuerpos se pueden determinar en estudios futuros, como así también, en términos clínicos. La heterogeneidad en el tipo de anticuerpo y en el método para su determinación es alta entre los estudios. Se necesitan más estudios con protocolos homogéneos de pruebas de autoanticuerpos neuronales para obtener un resultado más preciso de la incidencia real de autoanticuerpos neuronales y también para encontrar otros parámetros a fin de mejorar la comprensión actual de la importancia clínica de los autoanticuerpos neuronales en pacientes con epilepsia de origen desconocido.

En esta serie prospectiva, consecutiva de pacientes con epilepsia, un número significativo tenía niveles detectables de anticuerpos neurológicos en suero y LCR, lo que sugiere una etiología autoinmune. Este estudio proporciona una buena estimación de la incidencia de estos anticuerpos y sugiere que la epilepsia autoinmune es poco reconocida y no es infrecuente.

Nuestro estudio tuvo limitaciones debido a que la prueba para anticuerpos anti receptor de glicina ( $\alpha$ -GlyR) no estaba disponible en el laboratorio y porque algunos pacientes con epilepsia autoinmune pueden tener un autoanticuerpo neurológico todavía no reconocido, así que los resultados aún pueden representar una subestimación de la incidencia de la epilepsia autoinmune.

Según nuestros resultados, podemos concluir que anticuerpos contra receptores (NMDAR), proteínas asociadas con VGKC (LGI1, CASPR2) y anticuerpos dirigidos a antígenos intracelulares (GAD65) se encuentran en el suero y líquido cefalorraquídeo de pacientes con epilepsia. Estos pacientes en los que se han detectado anticuerpos frente a proteínas neuronales clínicamente relevantes pueden responder muy bien a la terapia inmunomoduladora.

Los futuros estudios de detección neuroinmunológica deben tratar de incluir preferentemente cohortes prospectivas de pacientes con epilepsia nueva o de inicio reciente para comprender mejor la contribución de los autoanticuerpos a la fisiopatología de la epilepsia, para promover un diagnóstico rápido y preciso y para fomentar la consideración de opciones de tratamiento alternativas, incluyendo el posible uso de inmunoterapias.

### Conflictos de interés

Los autores declaran no poseer conflictos de interés.

### Referencias bibliográficas

1. Vincent A, Buckley C, Schott JM, Baker I, Dewar BK, Detert N, et al. Potassium channel antibody-associated encephalopathy: a potentially immunotherapy-responsive form of limbic encephalitis. *Brain* 2004; 127:701-712, <https://doi.org/10.1093/brain/awh077>

2. Irani SR, Michell AW, Lang B, Pettingill P, Waters P, Johnson MR, et al. Fachiobrachial dystonic seizures precede Lgi1 antibody limbic encephalitis. *Ann Neurol* 2011;69:892-900, <https://doi.org/10.1002/ana.22307>
3. Buckley C, Oger J, Clover L, T€uz€un-E, Carpenter K, Jackson M, et al. Potassium channel antibodies in two patients with reversible limbic encephalitis. *Ann Neurol* 2001;50:73-78, <https://doi.org/10.1002/ana.1097>
4. Quek AML, Britton JW, McKeon A, So E, Lennon VA, Shin C, et al. Autoimmune epilepsy: clinical characteristics and response to immunotherapy. *Arch Neurol* 2012;69:582-593, <https://doi.org/10.1001/archneurol.2011.2985>
5. Kwan P, Sills GJ, Kelly K, Butler E, Brodie MJ. Glutamic acid decarboxylase autoantibodies in controlled and uncontrolled epilepsy: a pilot study. *Epilepsy Res* 2000;42:191-195, [https://doi.org/10.1016/S0920-1211\(00\)00180-7](https://doi.org/10.1016/S0920-1211(00)00180-7)
6. Vincent A, Crino PB. Systemic and neurologic autoimmune disorders associated with seizures or epilepsy. *Epilepsia*. 2011;52:12-17, <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2011.03030.x>
7. Chena Z, Zhoua J, Wu D, Ji C, Luo B, Wang K. Altered executive control network connectivity in anti-NMDA receptor encephalitis. *Ann Clin Trans Neurol*. 2022;9(1):30-40, <https://doi.org/10.1002/acn3.51487>
8. Tr€oscher A, Mair K, Verdú de Juan L, K€ock U, Steinmaurer A, Baier H, et al. Temporal lobe epilepsy with GAD antibodies: neurons killed by T cells not by complement membrane attack complex. *Brain*. 2023;146:1436-1452, <https://doi.org/10.1093/brain/awac404>
9. Garrido-Sanabria E, Zahid A, Britton J, Kraus G, L€opez-Chiriboga AS, Zekeridou A, et al. CASPR2-IgG-associated autoimmune seizures. *Epilepsia*. 2022;63(3):709-722, <https://doi.org/10.1111/epi.17164>
10. Smith KM, Dubey B, Liebo GB, Flanagan EP, Britton J. Clinical Course and Features of Seizures Associated with LGI1-Antibody Encephalitis. *Neurology*. 2021;97(11):e1141-e1149, <https://doi.org/10.1212/WNL.00000000000012465>
11. Haberlandt E, Bast T, Ebner A, Holthausen H, Kluger G, Kravljaniac R, et al. Limbic encephalitis in children and adolescents. *Arch Dis Child*. 2011;96:186-191, <https://doi.org/10.1136/adc.2010.183897>
12. Niehusmann P, Dalmau J, Rudlowski C, Vincent A, Elger CE, Rossi JE, et al. Diagnostic value of N-methyl-D-aspartate receptor antibodies in women with new-onset epilepsy. *Arch Neurol* 2009;66(4):458-464, <https://doi.org/10.1001/archneurol.2009.5>
13. Irani S, Bien C, Lang B. Autoimmune epilepsies. *Curr Opin Neurol* 2011;24:146-153, <https://doi.org/10.1097/WCO.0b013e3283446f05>
14. Liimatainen S, Peltola M, Sabater L, Fallah M, Kharazmi E, Haapala AM, et al. Clinical significance of glutamic acid decarboxylase antibodies in patients with epilepsy. *Epilepsia* 2010;51:760-767, <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2009.02325.x>
15. Lin Nan, Bai Lin, Liu Qing, Chen Jianhua, Ren Haitao, Guan Hongzhi et al. Seizure semiology and predictors of outcomes in Chinese patients with glutamic acid decarboxylase antibody-associated neurological syndrome. *BMC Neurol* 2023;23(1): 149, <https://doi.org/10.1186/s12883-023-03182-x>
16. Balagopal K, Shenoy SG, Dutta D, et al. Autoimmune limbic encephalitis associated with glutamic acid decarboxylase antibodies. *J Evolution Med Dent Sci* 2021;10(28):2131-2133, <https://doi.org/10.14260/jemds/2021/435>
17. Graus F, Saiz A, Dalmau J. GAD antibodies in neurological disorders- Insights and challenges. *Nat Rev Neurol*. 2020;16:353-365, <https://doi.org/10.1038/s41582-020-0359-x>
18. Scheffer IE, Berkovic S, Capovilla G, et al. ILAE classification of the epilepsies: position paper of the ILAE commission for classification and terminology. *Epilepsia* 2017;58(4):512-521, <https://doi.org/10.1111/epi.13709>
19. Dalmau J, Graus F. Antibody-mediated encephalitis. *N Engl J Med* 2018; 378(9):840-851, <https://doi.org/10.1056/nejmra1708712>
20. Granerod J, Ambrose HE, Davies NW, et al. Causes of encephalitis and differences in their clinical presentations in England: a multicentre, population-based prospective study. *Lancet Infect Dis* 2010;10(12):835-44, [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(10\)70222-x](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(10)70222-x)
21. Gresa-Arribas N, Titulaer MJ, Torrents A, et al. Antibody titres at diagnosis and during follow-up of anti-NMDA receptor encephalitis: a retrospective study. *Lancet Neurol* 2014;13(2):167-77, [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(13\)70282-5](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(13)70282-5)
22. Gleichman AJ, Spruce LA, Dalmau J, et al. Anti-NMDA receptor encephalitis antibody binding is dependent on amino acid identity of a small region within the GluN1 amino terminal domain. *J Neurosci* 2012;32(32):11082-94, <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0064-12.2012>
23. Gresa-Arribas N, Titulaer MJ, Torrents A, et al. Antibody titres at diagnosis and during follow-up of anti-NMDA receptor encephalitis: a retrospective study. *Lancet Neurol* 2014;13(2):167-177, [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(13\)70282-5](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(13)70282-5)
24. Dalmau J, Lancaster E, Martinez-Hernandez E, et al. Clinical experience and laboratory investigations in patients with antiNMDAR encephalitis. *Lancet Neurol* 2011;10(1):63-74, [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(10\)70253-2](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(10)70253-2)
25. van Sonderen A, Schreurs MW, Wirtz PW, et al. From VGKC to LGI1 and Caspr2 encephalitis: the evolution of a disease entity over time. *Autoimmun Rev* 2016; 15(10):970-974, <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2016.07.018>
26. Lang B, Makuch M, Moloney T, et al. Intracellular and nonneuronal targets of voltage-gated potassium channel complex antibodies. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2017;88(4):353-361, <https://doi.org/10.1136/jnnp-2016-314758>








Esta obra está bajo la licencia Creative Commons Atribuci3n - No Comercial - Compartir Igual 4.0 Internacional - Permite compartir (copiar y redistribuir el material en cualquier medio o formato) y adaptar (remezclar, transformar y crear, a partir del material, otra obra) siempre que se cite la autoría y la fuente original de su publicaci3n (revista, editorial y URL de la obra), no sean utilizados para fines comerciales y que se respeten los mismos términos de la licencia.

## Revisión

# Fundamentos inmunológicos en la enfermedad celiaca: etiología y alternativas terapéuticas

*Immunological foundations in celiac disease: etiology and therapeutic alternatives*

Acuña, Jeshua<sup>1\*</sup>; Arrieta, Marcel<sup>1</sup>; Robles, Norman<sup>1</sup>; Vílchez, Nicole<sup>1</sup>; Villegas, Britany<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Escuela de Biología, Instituto Tecnológico de Costa Rica. Cartago, Cartago, Costa Rica.

\*Contacto: Acuña, Jeshua, Escuela de Biología, Instituto Tecnológico de Costa Rica. Cartago, Costa Rica, Calle 15 Av 14, 159-7050; jeacuna@estudiantec.cr

## Resumen

El gluten es una glucoproteína resistente a la digestión debido a su composición aminoacídica. La enfermedad celiaca es una respuesta inmunológica al gluten en personas genéticamente predispuestas que afecta al 1% de la población occidental y causa una variedad de síntomas gastrointestinales. El objetivo de esta revisión es proporcionar una visión integral de la enfermedad celiaca abordando su etiología y tratamientos más allá de la dieta sin gluten. La respuesta inmunológica se desencadena cuando las células presentadoras de antígenos (CPA) exhiben péptidos del gluten en el contexto del complejo mayor de histocompatibilidad de clase II (MHC-II). En este proceso, las células T CD4+ desempeñan un rol crucial produciendo citoquinas proinflamatorias. Por lo tanto, se deduce que la genética desempeña un papel importante y que, en las personas que presentan marcadores genéticos como HLA-DQ2 y HLA-DQ8, aumenta la susceptibilidad a la enfermedad. Además, la enzima transglutaminasa tisular (tTG) desempeña una función relevante en la desamidación de la gliadina y favorece el reconocimiento para la posterior producción de autoanticuerpos. Con respecto a las alternativas de tratamiento disponibles, se destaca principalmente la terapia enzimática oral, la cual pretende complementar la eficacia de las dietas libres de gluten mediante la escisión enzimática de fragmentos de gluten. Otras opciones de tratamiento incluyen ARN interferente o CRISPR-Cas9 en búsqueda de reducir la producción de gluten en las plantas para que estas sean más asimilables, y la inhibición de la tTG, en tanto que las vacunas buscan inducir la tolerancia inmunológica al gluten.

**Palabras clave:** gluten, transglutaminasa tisular, enfermedad autoinmune, terapia enzimática, gliadina.

## Abstract

Gluten is a digestion-resistant glycoprotein due to its amino acid composition. Celiac disease is an immunological response to gluten in genetically predisposed individuals, affecting 1% of the Western population and causing a variety of gastrointestinal symptoms. The aim of this review is to supply a comprehensive view of celiac disease, addressing its etiology and treatments beyond a gluten-free diet. The immunological response is triggered when MHC-II presents gluten peptides, with CD4+ T cells playing a crucial role in producing proinflammatory cytokines. Genetics also play a significant role, with genetic markers like HLA-DQ2 and HLA-DQ8 increasing susceptibility to the disease. Furthermore, the enzyme tissue transglutaminase (tTG) plays a relevant role in gliadin deamidation and autoantibody production. Regarding available treatment alternatives, oral enzymatic therapy stands out, aiming to complement the effectiveness of gluten-free diets by enzymatic cleavage of gluten fragments for detoxification. Other treatment options include RNA interference or CRISPR-Cas9, which look to reduce gluten production in plants to make them more digestible, and the inhibition of tTG or vaccines aimed to induce immune tolerance to gluten.

**Key Words:** Gluten, tissue transglutaminase, autoimmune disease, enzymatic therapy, gliadin

## Introducción

El gluten, una glucoproteína de significativa importancia en la dieta occidental, se encuentra presente en el trigo, el centeno, la cebada, la avena y todas sus variedades e híbridos. Es un compuesto complejo, caracterizado por el alto polimorfismo alélico que codifica sus proteínas específicas, las gliadinas y gluteninas. Estas proteínas, se clasifican como prolaminas y se distinguen por sus altos niveles de glutamina y prolina. Los elevados niveles de estos aminoácidos hacen que la gliadina sea altamente resistente a la hidrólisis en los procesos de Digestión gástrica, pancreática e intestinal. Esta resistencia se atribuye a la incapacidad de las proteasas presentes en el jugo gástrico, pancreático y en la membrana del borde en cepillo, para degradar completamente los enlaces peptídicos, debido a la deficiencia de prolil-endopeptidasas<sup>1-3</sup>.

La enfermedad celiaca, también llamada *esprúe celiaco* o *enteropatía sensible al gluten*, se define como una respuesta inmunomediada al gluten, que se produce en individuos genéticamente predispuestos<sup>4,4</sup>. Esta respuesta inmunológica lleva a la inflamación de la mucosa, la atrofia de las vellosidades del intestino delgado y al aumento de la permeabilidad intestinal, lo que se traduce en síntomas gastrointestinales comunes, como la distensión abdominal y las alteraciones en los patrones evacuatorios<sup>2</sup>.

La celiaquía es la enfermedad crónica intestinal más frecuente y la mejor estudiada del espectro de trastornos relacionados con la ingestión de gluten. Afecta aproximadamente a un 1% de la población occidental y abarca todos los grupos etarios, lo que implica una prevalencia significativa<sup>5</sup>. En este contexto, esta revisión tiene como objetivo brindar una perspectiva de la enfermedad incluyendo su etiología y las alternativas de tratamiento disponibles en la actualidad para quienes la padecen, más allá de una dieta libre de gluten.

## Materiales y métodos

Se llevó a cabo una revisión de la literatura científica enfocada en la búsqueda de estudios relacionados con el gluten, la enfermedad celiaca, sus implicaciones inmunológicas, el proceso bioquímico y posibilidades de tratamiento. Esta investigación se realizó con recursos académicos, incluyendo las bases de datos EBSCOhost, Wiley Online Library, ScienceDirect (Elsevier), Scielo (Scientific Electronic Library Online), National Library of Medicine (National Center for Biotechnology Information) y Google Académico. Dichas plataformas se seleccionaron considerando que todas poseen un enfoque académico y científico y cubren una amplia gama de disciplinas y campos científicos, lo cual permite acceder a información relevante en diversas áreas del conocimiento manteniendo un enfoque integral. Además, se considera importante el hecho de que las revistas y conferencias indexadas en estas bases de datos suelen utilizar un proceso de revisión por pares, lo cual permite garantizar la calidad y fiabilidad de los artículos publicados y utilizados como fuentes de información.

Las fuentes de información específicas utilizadas se encontraron mediante el uso de términos clave como *T CD4+*, *transglutaminasa*, *terapia enzimática oral*, *glutenasas*, *terapia no dietética*, entre otros. Se revisaron artículos tanto en español como en inglés. A partir de los resultados mostrados en la búsqueda, se utilizaron criterios de inclusión y exclusión, tales como la fiabilidad de la fuente, la fecha de publicación y la relación del contenido con la información de interés.

La fiabilidad de la fuente se evaluó utilizando el rango de cuartiles 1 al 3 del ranking Scimago. Con respecto a la fecha de publicación, se priorizaron los artículos publicados en los últimos 10 años para garantizar la relevancia y actualización constante de la información, pero se reconoció la importancia de no limitarse únicamente a este rango temporal considerando que el interés científico en los aspectos bioquímicos de la enfermedad celiaca se remonta a años anteriores, con sus inicios en el año 1888 y su primera descripción formal. Finalmente, la relación del contenido con la información de interés se evaluó a partir del área de enfoque de las revistas que publicaron los artículos utilizados y, una vez seleccionadas las fuentes de información, se describieron los hallazgos detallados en estas de manera cualitativa.

## Desarrollo

### Procesos bioquímicos de la respuesta inmunológica ante el consumo de gluten en personas celíacas

La enfermedad celíaca (EC) se expresa en el contexto en el que antígenos exógenos de gluten son endocitados por las células presentadoras de antígenos y ligados al complejo mayor de histocompatibilidad de clase II (MHC-II), de modo que, al exponerse en la membrana y ser reconocidos por las células T CD4+, desencadenan la respuesta inmunológica<sup>6</sup>. El MHC-II es un complejo de heterodímeros  $\alpha\beta$  localizado en la membrana plasmática, principalmente de células epiteliales pulmonares e intestinales, de las cuales, las encontradas en el tracto intestinal son las más relevantes en el caso de la EC, ya que es donde ocurre la respuesta inmunológica<sup>7</sup>.

Existen tres isótopos del MHC-II en seres humanos: HLA-DR, HLA-DP y HLA-DQ, codificados por genes de las cadenas  $\alpha$  y  $\beta$  ubicadas en el *locus* del antígeno leucocitario humano (HLA), en el cromosoma 6; el HLA-DQ y sus haplotipos relacionados son factores cruciales en el reconocimiento del péptido del gluten como antígenos específicos en el contexto de la enfermedad celíaca. La regulación de la expresión del MHC-II ocurre mediante el transactivador de clase II (CIITA), que atrae factores de unión, proteínas modificadoras de la cromatina e iniciadores de transcripción hacia el *locus*<sup>7</sup>.

En cuanto al proceso de presentación de antígenos, implica interacciones con moléculas auxiliares y compartimentos intracelulares, como es el caso de las moléculas del MHC-II recién formadas, que, en el retículo endoplasmático (RE), se asocian con la proteína chaperona CD74, especializada en dirigir las moléculas hacia un compartimento

endosomal de fase tardía con pH bajo que se conoce como *compartimento del MHC-II (MIIC)*, donde enzimas proteasas cortan la chaperona y dejan un conjunto de fragmentos que ocupan temporalmente el sitio de unión del MHC-II hasta ser transportado a la superficie de la membrana celular para interactuar con las células T CD4+<sup>7</sup>.

La ingesta de gluten en individuos genéticamente predispuestos a la EC ocasiona que, con posterioridad a la descomposición en péptidos del gluten en el intestino delgado, estos sean fagocitados y procesados por las células presentadoras de antígenos vía el MHC-II, posibilitando el reconocimiento por parte de las células T CD4+. La activación de las células T CD4+ necesita de una coestimulación para completar su interacción; las señales clásicas incluyen CD80 y CD86, que son miembros de la familia B7, que interactúan con moléculas estimuladoras, como las CD28, o inhibitoras, como las CTLA-4. La producción de estas moléculas se ve potenciada en presencia de ATP<sup>7</sup>.

La capacidad de las células T para reconocer el MHC-II se ve influenciada y llevada hacia un estado hiporresponsivo y anérgico en ausencia de coestimulación<sup>7</sup>. Las células T CD4+ son linfocitos T que desempeñan la coordinación de la respuesta inmunológica al reconocer el MHC-II. La EC es una patología mediada por estas células, en la que los péptidos derivados de la gliadina [en su forma nativa o desamidados por la transglutaminasa tisular] se presentan en el MHC-II y activan los linfocitos T, que se infiltran en la lámina propia y liberan citoquinas proinflamatorias<sup>8</sup>.

Las células T CD4+ producen grandes cantidades de las citoquinas interferón- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) e interleucina-21 (IL-21), mas no interleucina-17 (IL-17), que, al actuar sobre la lámina propia en células epiteliales intestinales, promueven la activación de linfocitos T citotóxicos intraepiteliales (CTL), lo que ocasiona una remodelación profunda del tejido vía la destrucción de las células epiteliales y la atrofia de vellosidades, marcadores característicos de la EC<sup>6</sup>.

Se sugiere que estos linfocitos T reactivos al gluten median una colaboración con las células B para la producción de anticuerpos específicos contra el gluten y la transglutaminasa 2<sup>6</sup>. Los pacientes que presentan la EC muestran una mucosa en su intestino delgado con una presencia particularmente alta de citoquinas inflamatorias, tales como IL-15, IL-18 e IFN- $\alpha$ , asociadas directamente a la respuesta que busca regular la interacción entre el sistema inmunológico y los péptidos de gluten<sup>6</sup>.

Los estudios de asociación en el nivel genómico (GWAS) han demostrado que la EC es un trastorno poligénico, y que tanto factores ambientales como los ya mencionados genéticos afectan el desarrollo de la enfermedad<sup>9</sup>. Un aspecto de alta contribución en la expresión de la EC se da a partir de la exposición de la gliadina por parte de las células presentadoras de antígenos, que desata la respuesta proinflamatoria vía los linfocitos T<sup>7</sup>.

Los marcadores genéticos HLA-DQ2 y HLA-DQ8 son variantes del MHC-II presentes en individuos portadores

o que expresan la EC, y se estima que contribuyen aproximadamente en un 40% de la variabilidad genética de la patología<sup>9</sup>. Alrededor de un 90% de los pacientes con EC expresa la variable HLA-DQ2.5, por lo que la presencia de este haplotipo se asocia con un alto riesgo de sufrir la enfermedad; los genes que codifican las cadenas a y b de DQ2.5 se encuentran en el cromosoma 6<sup>7,9</sup>. La variable del MHC-II, HLA-DQ2.5 presenta una alta afinidad con el gluten<sup>1</sup>. Por otro lado, la mayoría de los pacientes restantes presenta el haplotipo HLA-DQ8<sup>9</sup>. La presencia de estas variables no garantiza la manifestación de la EC, dado que otros aspectos y genes son necesarios<sup>10</sup>. Los GWAS han permitido la identificación de genes no relacionados con los HLA que, aunque en menor medida, aportan a la expresión de la EC en aproximadamente un 14%; estos genes han demostrado encontrarse asociados a la expresión de otras enfermedades autoinmunes y sugieren la convergencia de vías patogénicas comunes<sup>9</sup>.

La transglutaminasa tisular (tv) es una enzima capaz de unir de manera covalente e irreversible proteínas con un residuo de glutamina con otras proteínas con residuos de lisina; también es capaz de catalizar reacciones de transaminación incorporando aminas primarias a proteínas y, en presencia de pocas aminas o pH bajo, es capaz de hidrolizar enlaces peptídicos de la glutamina convirtiéndola en ácido glutámico como una reacción de desamidación<sup>11</sup>.

La gliadina presente en el trigo se muestra como uno de los sustratos preferidos para esta enzima por su alta presencia de residuos de glutamina. Debido a su afinidad como sustrato, la tTG es capaz de realizar reacciones de desamidación sobre la gliadina formando una molécula reconocible por las células T CD4+. Esto desencadena una liberación de citoquinas que activa las células B, las cuales promueven la formación de IgA anti-gliadina y anti-tTG como parte de la respuesta inmune<sup>11</sup>.

La producción de anticuerpos contra la enzima se puede deber a células B autorreactivas que reciben ayuda de células T, en caso de que la gliadina se encuentre ligada al tTG y funcione como una proteína de transporte para la enzima. Otra alternativa a la producción de anti-tTG es mediante células T autorreactivas contra la tTG que hayan evadido la selección negativa en el timo; estas prestan ayuda directa a células B tTG, específicas para la producción de anticuerpos. Esta característica de producción de autoanticuerpos resulta útil para el diagnóstico de la EC mediante técnicas de pruebas de anticuerpos anti-tTG<sup>11</sup>.

La EC se destaca por poseer una sintomatología relacionada con problemas intestinales, como diarrea y malabsorción de nutrientes, que resultan en pérdidas de peso y déficits nutricionales debido al daño epitelial derivado de la respuesta autoinmune; además, los anticuerpos producidos pueden desencadenar manifestaciones extraintestinales, como la dermatitis herpetiforme, la ataxia cerebral y la neuropatía por IgA, entre otras<sup>12</sup>.

### Terapia enzimática oral

Es un enfoque terapéutico que pretende la desintoxicación del gluten mediante la escisión enzimática de fragmentos de este<sup>13</sup>. Su objetivo no es sustituir la dieta libre de gluten como tratamiento, sino complementar su eficiencia atacando el problema generado por la alta resistencia a la degradación de esta molécula. Para ello, este tratamiento favorece la digestión completa de esta molécula y atenúa así el impacto y la respuesta inmunológica generada por restos de gluten que hayan podido contaminar los alimentos ingeridos<sup>14,15</sup>.

Las proteasas del tracto gastrointestinal son capaces de degradar el gluten solo parcialmente produciendo oligopéptidos de gliadina, en una cantidad de nueve aminoácidos o más, que suelen ser inmunogénicos en pacientes con enfermedad celíaca<sup>16</sup>. El impacto inmunogénico de estos péptidos y del gluten como tal se puede atenuar, si se degradan en péptidos no alergénicos, precisamente, lo que pretende la terapia enzimática oral mediante la ingestión de suplementos enzimáticos orales conformados por glutenasas<sup>14</sup>.

Las glutenasas son endopeptidasas específicas de glutamina y prolina, diseñadas para atacar y destruir los enlaces entre aminoácidos del gluten que incluyan prolina y glutamina en péptidos con nueve o menos fracciones de aminoácidos<sup>15</sup>. Muchas de estas enzimas se obtienen de organismos (como bacterias, hongos, plantas, etc.) que codifican enzimas proteolíticas distintas de las proteasas endógenas humanas y que se utilizan para elaborar los suplementos enzimáticos orales que promueven la digestión completa del gluten y la destrucción de sus epítomos de las células T<sup>17,18</sup>.

Dentro de las glutenasas más utilizadas con este fin, se encuentran las prolil-endopeptidasas (PEP), las cuales son parte de la familia de las serinas proteasas y tienen la capacidad de hidrolizar péptidos con residuos internos de prolina de menos de 30 residuos<sup>14,19</sup>. Ensayos clínicos que utilizan PEP para terapia oral en pacientes celíacos han mostrado resultados positivos con respecto a su eficiencia en la degradación de péptidos de gliadina tóxicos antes de que alcancen la mucosa del intestino delgado<sup>20,21</sup>. Esta enzima se ha obtenido, por ejemplo, a partir de la producción recombinante de la enzima prolil-oligopeptidasa de *Myxococcus xanthus* en *Escherichia coli*<sup>22</sup>. Además, hay otras preparaciones enzimáticas diseñadas para este tipo de tratamiento que han llegado a pruebas clínicas, como la prolil-endoproteasa derivada del *Aspergillus niger* (AN-PEP), Kuma030 y la latiglutenasa (ALV003). Sin embargo, ninguna de estas se encuentra actualmente aprobada por la Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos (FDA)<sup>23</sup>.

La latiglutenasa, (ALV003), combina dos glutenasas: una cisteína endoproteasa específica de glutamina derivada de semillas de cebada en germinación (EP-B2) y una prolil endoproteasa de cápsulas de *Sphingomonas* (SC-PEP). SC-PEP escinde específicamente los residuos de prolina y

EP-B2 tiene una actividad óptima cuando se encuentra a pH bajos, lo cual la hace resistente a la pepsina. Además, EP-B2 tiene una buena especificidad por la secuencia QXP, que es abundante en secuencias de gluten inmunotóxicas, lo cual convierte a este fármaco en una buena alternativa para la degradación enzimática de gluten<sup>15,16</sup>. Específicamente, ALV003 protege a las personas sensibles al gluten de sufrir lesiones en la mucosa del intestino delgado y su consecuente inflamación<sup>24</sup>.

AN-PEP, por otro lado, es una glutenasa resistente a la pepsina, cuya actividad óptima se da con un pH gástrico entre 2 y 8 (idealmente entre 4 y 5). Deriva del *Aspergillus niger*, un hongo apto para uso alimentario a escala industrial<sup>15,16</sup>. A pesar de que es relativamente inespecífico para los epítomos inmunogénicos del gluten, es muy eficaz en la degradación de la gliadina, y se ha demostrado previamente que degrada el gluten en personas sanas cuando se agrega a una comida con infusión intragástrica<sup>16,25</sup>.

Kuma030, en cambio, es una proteasa diseñada computacionalmente que reconoce secuencias de tripéptidos que se encuentran en todas las regiones inmunogénicas de la gliadina, así como en proteínas homólogas en cebada y centeno, por lo que el tratamiento con esta enzima es capaz de degradar >99% de la gliadina inmunogénica en digestiones gástricas simuladas en laboratorio en niveles no tóxicos, lo que sugiere un gran potencial en su utilización para la terapia enzimática oral<sup>26</sup>. Se basa en la estructura de una enzima natural del microbio acidófilo *Alicyclobacillus sendaiensis*, y es también activa en un amplio rango de pH y resistente a la inactivación por pepsina y tripsina, a diferencia de otras alternativas resistentes a pepsina que sí se degradan por tripsina<sup>16</sup>. Finalmente, otra alternativa actualmente en estudio, y que también ha demostrado un gran potencial, es la endoproteasa 40 (E40), una glutenasa resistente al ácido y a la pepsina, que se descubrió originalmente como proteasa secretada por el actinomiceto acidófilo *Actinoallomurus*<sup>27</sup>.

No obstante, en el mercado se encuentran muchos otros productos con estos fines, que no han sido debidamente aprobados o que se ha demostrado que no degradan efectivamente el gluten, hecho que pone en peligro la salud de las personas sensibles a esta molécula<sup>28</sup>. Por lo tanto, se debe incrementar el control sobre la comercialización de los productos que se promueven como alternativas para el tratamiento de esta condición. Además, existen áreas de mejora entre los productos para terapia enzimática ya existentes cuya funcionalidad se ha comprobado, como, por ejemplo, su adaptación, para que puedan actuar en el pH ácido del estómago y, así, sean capaces de prevenir y evitar por completo la llegada del gluten al intestino<sup>15,16,20,28</sup>.

### Otras opciones de tratamiento

Algunos posibles tratamientos que no impliquen directamente dejar de consumir gluten o degradar las moléculas tóxicas del gluten enfocan su efectividad en objetivos generales, como hacer menos tóxico el gluten antes de ser

absorbido por el sistema gastrointestinal; otros se enfocan en reducir los efectos inmunoestimuladores del organismo, una vez que comienzan a ser absorbidos los péptidos tóxicos del gluten, y finalmente, otras terapias se centran en inducir tolerancia inmunológica al gluten<sup>29</sup>.

### Remoción de los péptidos nocivos del gluten antes de su llegada al tracto intestinal

Dentro de esta alternativa, se encuentra el modificar genéticamente las plantas que producen gluten para reducir su producción. Las técnicas más utilizadas para este fin incluyen el ARN interferente y CRISPR-Cas<sup>30</sup>. Por otro lado, para la preparación de panes, se pueden utilizar especies de *Lactobacillus* capaces de hidrolizar algunos de los péptidos del gluten<sup>31</sup> y conseguir con esto una masa más asimilable para personas celíacas.

### Reducción de los efectos inmunoestimuladores del organismo en respuesta a los polipéptidos tóxicos del gluten

Esta alternativa se basa en la regulación de la respuesta inmune. Consiste en la inhibición de la transglutaminasa tisular (tTG) implicada en la respuesta inflamatoria de la mucosa del intestino delgado<sup>32</sup>. Es posible utilizar inhibidores para disminuir su protagonismo, pero su regulación es delicada, puesto que la tTG es importante para la cicatrización de las heridas en el interior del intestino<sup>33,34</sup>.

### Inducción de tolerancia inmunológica al gluten

La alternativa de tolerancia inmunológica incluye ensayos con vacunas que contienen epítopos de gluten para inducir una respuesta inmunológica específica. Se busca estimular la expansión de las células T reguladoras, que ayudan a regular la respuesta inmunológica excesiva contra el gluten en personas con EC<sup>35</sup>. Esta terapia se dirige específicamente a individuos portadores del gen HLA-DQ2, que está estrechamente relacionado con la predisposición genética a la enfermedad celíaca. Por lo tanto, es necesario desarrollar otra vacuna que sea efectiva para los pacientes con el haplotipo HLA-DQ8, que también son susceptibles a la EC<sup>36</sup>.

### Conclusiones

El sistema inmune tiene gran participación en la respuesta contra el gluten, por tanto, las terapias enfocadas en ayudar al sistema inmune en la degradación de estas moléculas hasta sus oligopéptidos menos tóxicos han reflejado gran efectividad. Estos hallazgos son fundamentales para comprender la patogénesis de la EC y pueden tener implicaciones en el diagnóstico y tratamiento de esta enfermedad.

Actualmente, se investigan diversas estrategias para abordar la enfermedad celíaca y la sensibilidad al gluten, desde la terapia enzimática oral, que ofrece una perspectiva prometedora al ayudar en la digestión de esta proteína, hasta la modificación genética de las plantas que la producen y la inducción de tolerancia inmunológica ante ella. Cada enfoque tiene sus propias ventajas y desafíos, y se requieren

mayor investigación y regulación para garantizar la seguridad y eficacia de estas terapias.

### Agradecimientos

Los autores desean expresar su gratitud a la Dra. Carolina Centeno Cerdas por su dedicación y compromiso a lo largo del desarrollo de este trabajo, ya que, sin sus observaciones y aportes, no habría sido posible de realizarlo.

### Conflictos de interés

Los autores declaran no poseer conflictos de interés.

### Referencias bibliográficas

- Cobos OJ, Hernández GA, Remes JM. Trastornos relacionados con el gluten: panorama actual. *Med Interna Mex* 2017;33(4):487-502. ISSN 0186-4866
- Biesiekierski JR. What is gluten? *J gastroenterol hepatol* 2017; 32(S1):78-81, <https://doi.org/10.1111/jgh.13703>
- Torres S, Martínez Z. Base genética de la enfermedad celíaca en el diagnóstico. *Rev Cubana Med* 2012;51(2):170-182. ISSN 0034-7523
- Pietzak M, Kerner JA. Celiac Disease, Wheat Allergy, and Gluten Sensitivity. *JPEN. J Parenter Enteral Nutr* 2012;36:68S-75S, <https://doi.org/10.1177/0148607111426276>
- Jiménez AI, Martínez RM, Quiles MJ, Majid JA, González MJ. Enfermedad celíaca y nuevas patologías relacionadas con el gluten. *Nutr Hosp* 2016;33(suppl 4):44-48, <https://doi.org/10.20960/nh.345>
- du Pré MF, Sollid LM. T-cell and B-cell immunity in celiac disease. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2015;29(3):413-423, <https://doi.org/10.1016/j.bpg.2015.04.001>
- Wosen JE, Mukhopadhyay D, Macaubas C, Mellins ED. Epithelial MHC Class II Expression and Its Role in Antigen Presentation in the Gastrointestinal and Respiratory Tracts. *Front Immunol* 2018;9:2144, <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.02144>
- Gianfrani C, Auricchio S, Troncone R. Adaptive and innate immune responses in celiac disease. *Immunol Lett* 2005;99(2):141-145, <https://doi.org/10.1016/j.imlet.2005.02.017>
- Meresse B, Malamut G, Cerf-Bensussan N. Celiac Disease: An Immunological Jigsaw. *Immunity* 2012;36(6):907-919, <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2012.06.006>
- Qiao S, Iversen R, Ráki M, Sollid LM. The adaptive immune response in celiac disease. *Semin Immunopathol* 2012;34(4):523-540, <https://doi.org/10.1007/s00281-012-0314-z>
- Di Sabatino A, Vanoli A, Giuffrida P, Luinetti O, Solcia E, Corazza GR. The function of tissue transglutaminase in celiac disease. *Autoimmun Rev* 2012;11(10):746-753, <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2012.01.007>
- Calle Idl, Ros G, Peñalver R, Nieto G. Enfermedad celíaca: causas, patología y valoración nutricional de la dieta sin gluten. *Revisión. Nutr Hosp* 2020;37(5):1043-1051, <https://doi.org/10.20960/nh.02913>
- Rashtak S, Murray JA. Review article: coeliac disease, new approaches to therapy. *Aliment pharmacol ther* 2012;35(7):768-781, <https://doi.org/10.1111/j.1365-2036.2012.05013.x>
- Shetty R, Vestergaard M, Jessen F, Hägglund P, Knorr V, Koehler P, Prakash HS, Hobbey T. Discovery, cloning and characterisation of proline specific prolyl endopeptidase, a gluten degrading thermo-stable enzyme from *Sphaerobacter thermophiles*. *Enzyme microb technol* 2017;107:57-63, <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2017.08.002>
- Stoven S, Murray JA, Marietta E. Celiac Disease: Advances in Treatment via Gluten Modification. *Clin gastroenterol hepatol* 2012;10(8):859-862, <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2012.06.005>
- Yoosuf S, Makharia GK. Chapter 11 - Treatment of gluten-related disorders. In: Rostami-Nejad M, editor. *Gluten-Related Disorders: Academic Press*; 2022. p. 149-182, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12->

821846-4.00006-1

17. Balakireva AV, Zamyatnin AA. Properties of Gluten Intolerance: Gluten Structure, Evolution, Pathogenicity and Detoxification Capabilities. *Nutrients* 2016;8(10): 644:1–28, <https://doi.org/10.3390/nu8100644>
18. Kumar J, Kumar M, Pandey R, Chauhan NS. Physiopathology and Management of Gluten Induced Celiac Disease. *J Food Sci* 2017;82(2):270-277, <https://doi.org/10.1111/1750-3841.13612>
19. Moreno Amador MdL, Arévalo-Rodríguez M, Durán EM, Martínez Reyes JC, Sousa Martín C. A new microbial gluten-degrading prolyl endopeptidase: Potential application in celiac disease to reduce gluten immunogenic peptides. *PLoS ONE* 2019;14(6):e0218346, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0218346>
20. Sestak K, Thwin H, Dufour J, Liu DX, Alvarez X, Laine D, et al. Supplementation of Reduced Gluten Barley Diet with Oral Prolyl Endopeptidase Effectively Abrogates Enteropathy-Associated Changes in Gluten-Sensitive Macaques. *Nutrients* 2016;8(7):401:1-13, <https://doi.org/10.3390/nu8070401>
21. Szaflarska-Popławska A. Non-dietary methods in the treatment of celiac disease. *Prz Gastroenterol* 2015;10(1):12-17, <https://doi.org/10.5114/pg.2014.47503>
22. Kocadag Kocazorbaz E, Zihnioglu F. Purification, characterization, and the use of recombinant prolyl oligopeptidase from *Myxococcus xanthus* for gluten hydrolysis. *Protein Expr Purif* 2017;129:101-107, <https://doi.org/10.1016/j.pep.2016.09.016>
23. S. Yoosuf and G. K. Makharia. Evolving Therapy for Celiac Disease. *Frontier Paediatric* 2019. 14:7:143, <https://doi.org/10.3389/fped.2019.00193>
24. Lähdeaho M, Kaukinen K, Laurila K, Vuotikka P, Koivurova O, Kärjä-Lahdensuu T, et al. Glutenase ALV003 Attenuates Gluten-Induced Mucosal Injury in Patients With Celiac Disease. *Gastroenterology* 2014;146(7):1649-1658, <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2014.02.031>
25. König J, Holster S, Bruins MJ, Brummer RJ. Randomized clinical trial: Effective gluten degradation by *Aspergillus niger*-derived enzyme in a complex meal setting. *Sci Rep* 2017;7(1):13100-7, <https://doi.org/10.1038/s41598-017-13587-7>
26. Wolf C, Siegel JB, Tinberg C, Camarca A, Gianfrani C, Paski S, et al. Engineering of Kuma030: A Gliadin Peptidase That Rapidly Degrades Immunogenic Gliadin Peptides in Gastric Conditions. *J Am Chem Soc* 2015;137(40):13106-13113, <https://doi.org/10.1021/jacs.5b08325>
27. Cavaletti L, Taravella A, Carrano L, Carenzi G, Sigurtà A, Solinas N, et al. E40, a novel microbial protease efficiently detoxifying gluten proteins, for the dietary management of gluten intolerance. *Sci Rep* 2019;9(1):13147, <https://doi.org/10.1038/s41598-019-48299-7>
28. Janssen G, Christis C, Kooy-Winkelaar Y, Edens L, Smith D, van Veelen P, et al. Ineffective Degradation of Immunogenic Gluten Epitopes by Currently Available Digestive Enzyme Supplements. *PLoS ONE* 2015;10(6):e0128065, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0128065>
29. Segura V, Carnicer AR, Martín CS, Amador MLM. Nuevos horizontes para la enfermedad celiaca: terapias no dietéticas. *RESCIFAR Revista Española de Ciencias Farmacéuticas* 2020;1(2):196-209. ISSN 2660-6356
30. Sánchez-León S, Gil-Humanes J, Ozuna CV, Giménez MJ, Sousa C, Voytas DF, et al. Low-gluten, nontransgenic wheat engineered with CRISPR/Cas9. *Plant Biotechnol J* 2018;16(4):902-910, <https://doi.org/10.1111/pbi.12837>
31. Picozzi C, Mariotti M, Cappa C, Tedesco B, Vigentini I, Foschino R, et al. Development of a Type I gluten-free sourdough. *Lett Appl Microbiol* 2016;62(2):119-125, <https://doi.org/10.1111/lam.12525>
32. Moscoso F, Quera R. Enfermedad celiaca. revisión. *Rev Med Chile* 2016;144(2):211-221, <http://dx.doi.org/10.4067/S0034-98872016000200010>
33. Alhassan E, Yadav A, Kelly C, Mukherjee R. Novel Nondietary Therapies for Celiac Disease. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol* 2019; 8(3):335-345, <https://doi.org/10.1016/j.jcmgh.2019.04.017>
34. Lähdeaho ML, Scheinin M, Vuotikka P, Taavela J, Popp A, Laukkanen J, et al. Safety and efficacy of AMG 714 in adults with coeliac disease exposed to gluten challenge: a phase 2a, randomised, double-blind, placebo-controlled study. *Lancet Gastroenterol Hepatol* 2019;12:948-959, [https://doi.org/10.1016/s2468-1253\(19\)30264-x](https://doi.org/10.1016/s2468-1253(19)30264-x)
35. Tye-Din JA, Stewart JA, Dromey JA, Beissbarth T, van Heel DA, Tatham A, et al. Comprehensive, quantitative mapping of T cell epitopes in gluten in celiac disease. *Sci Transl Med* 2010;2(41):41ra51, <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3001012>
36. Daveson AJM, Ee HC, Andrews JM, King T, Goldstein KE, Dzuris JL, et al. Epitope-Specific Immunotherapy Targeting CD4-Positive T Cells in Celiac Disease: Safety, Pharmacokinetics, and Effects on Intestinal Histology and Plasma Cytokines with Escalating Dose Regimens of Nexvax2 in a Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Phase 1 Study. *EBioMedicine* 2017;26:78-90, <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2017.11.018>



Esta obra está bajo la licencia Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International. Permite compartir (copiar y redistribuir el material en cualquier medio o formato) y adaptar (remezclar, transformar y crear, a partir del material, otra obra) siempre que se cite la autoría y la fuente original de su publicación (revista, editorial y URL de la obra), no sean utilizados para fines comerciales y que se respeten los mismos términos de la licencia.

## SOLICITUD DE INSCRIPCION

ASOCIACION  
BIOQUIMICA  
ARGENTINA



### ASOCIACION BIOQUIMICA ARGENTINA

Fundada el 3 de septiembre de 1934

#### Miembro Fundador:

*Confederación Unificada Bioquímica de la Republica Argentina (CUBRA); Coordinadora de Colegios Bioquímicos de Ley de la República Argentina; Sociedad de Bioquímica y Patología Clínica del MERCOSUR.*

#### Institución Invitada:

*Ente Coordinador de Unidades Académicas de Facultades de Farmacia y Bioquímica (ECUAFyB)*

#### Miembro Adherente:

*Asociación Latinoamericana Patología Clínica.*

#### Integrante:

*Comisión Nacional de Certificación Bioquímica (COCERBIN); Comisión de Elaboración de Normas y Guías de Laboratorio del Ministerio de Salud y Acción Social; Consejo Asesor y del Comité de Auditoría Interna Programa de Acreditación de Laboratorios de la Fundación Bioquímica Argentina.*

La ASOCIACION BIOQUIMICA ARGENTINA es la primera entidad Bioquímica de nuestro país, y la precursora de muchas otras en Latinoamérica.

#### Los objetivos que llevaron a su creación, siguen vigentes en la actualidad:

- 1 | Promover la educación continua de los bioquímicos.
- 2 | Editar la Revista Bioquímica y Patología Clínica, que es la revista científica de la Asociación, de distribución cuatrimestral.
- 3 | Desarrollar cursos de capacitación y actualización, en la Ciudad de Buenos Aires y el Interior del País.
- 4 | Cada 2 años, organiza en los años pares el Congreso Nacional Bioquímico y en los años impares, las Jornadas de Actualización ABA.
- 5 | En su sede tiene un aula docente de 30 asientos y un moderno laboratorio de trabajos prácticos.
- 6 | Asimismo, la Asociación ha implementado el Programa de Certificación Bioquímica, mediante el cual se puede acceder a los Certificados de Especialista, y de Actualización en una determinada especialidad o en Bioquímica Clínica.
- 7 | En la Asociación funcionan además, diferentes Comisiones Internas y las Divisiones / Secciones, encabezadas por prestigiosos profesionales, para asesorar a la Comisión Directiva y a sus socios.
- 8 | La ABA tiene convenios de cooperación institucional con universidades nacionales, privadas y fundaciones científicas de prestigio.

Los socios de la ABA gozan de aranceles preferenciales en cualquier actividad que desarrolla la Institución y reciben la Revista ByPC sin cargo adicional.

## SOLICITUD DE INSCRIPCION

ASOCIACION  
BIOQUIMICA  
ARGENTINA



Para asociarse, debe hacernos llegar esta solicitud completa en letra clara de imprenta y sin omitir ningún dato. Adjuntar una foto carnet, una fotocopia del título (anverso y reverso, tamaño 10 x 15 cm) y -de elegir este sistema de pago- el formulario de ingreso al sistema de débito automático por tarjeta de crédito VISA o MASTERCARD (\$45/mes). En su defecto deberá abonar un año por adelantado (\$540/año)

En el caso que usted optara por el pago anual, puede hacerlo en efectivo en nuestra secretaría o mediante cheque y/o giro postal a la orden de "Asociación Bioquímica Argentina", completo, sin abreviaturas.

Apellido y Nombre .....

D.N.I. – L.C. – L.E. – C.I. ....

Fecha de Nacimiento .....

Domicilio .....

Localidad ..... C.P. ....

Provincia ..... País .....

Teléfono ..... e-mail .....

Título profesional ..... Otorgado por .....

Año ..... Nro. Matrícula .....

Lugar de trabajo .....

Domicilio .....

Teléfono ..... e-mail .....

### INFORMES

Secretaría de la Asociación Bioquímica Argentina Venezuela 1823 Piso 3  
1096 – Ciudad de Buenos Aires. e-mail: info@aba-online.org.ar.  
TELEFAX (011)4384-7415 - TEL: (011) 4381-2907

Horario: Lunes a Viernes de 15:00 a 19:00 Hs.