



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MÉXICO

INSTITUTO NACIONAL DE NEUROLOGÍA Y NEUROCIRUGIA

MANUEL VELASCO SUAREZ

**"FRECUENCIA DE LOS DIFERENTES FENOTIPOS CLÍNICOS DE CITOPATÍA MITOCONDRIAL, Y SUS
DIFERENCIAS CLÍNICAS. EXPERIENCIA DE UNA CLÍNICA DE ENFERMEDADES
NEUROMUSCULARES"**

TESIS

**PARA OBTENER EL TITULO DE ESPECIALISTA
EN NEUROLOGÍA**

PRESENTA

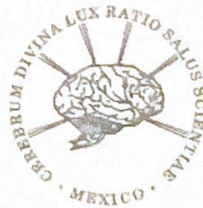
LILIA GEORGINA AGUILAR PARRA

TUTOR DE TESIS

JUAN CARLOS LÓPEZ HERNÁNDEZ

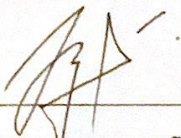


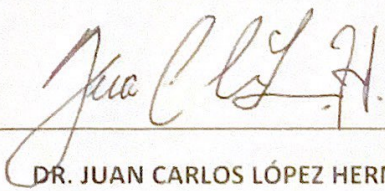
Ciudad de México, Octubre 2021



INSTITUTO NACIONAL
DE NEUROLOGÍA Y
NEUROCIRUGÍA
DIRECCIÓN DE ENSEÑANZA


DRA. SONIA ILIANA MEJIA PEREZ
DIRECTORA DE ENSEÑANZA


DR. FERNANDO ZERMEÑO POHLS
PROFESOR TITULAR DEL CURSO DE NEUROLOGÍA


DR. JUAN CARLOS LÓPEZ HERNÁNDEZ
TUTOR DE TESIS

ÍNDICE

I.	Resumen.....	4
II.	Introducción.....	5
III.	Problema.....	12
IV.	Hipótesis.....	13
V.	Objetivos.....	14
VI.	Justificación.....	15
VII.	Material y métodos.....	16
VIII.	Resultados.....	28
IX.	Discusión.....	31
X.	Conclusión.....	33
XI.	Bibliografía.....	34

I. RESUMEN

Título: Frecuencia de los diferentes fenotipos clínicos de citopatía mitocondrial, y sus diferencias clínicas. Experiencia de una clínica de enfermedades neuromusculares.

Introducción: La prevalencia de todas las formas de enfermedad mitocondrial de inicio en la niñez (<16 años) se estima en un rango de 5 a 15 casos por cada 100,000 individuos. En adultos, la prevalencia de enfermedades mitocondriales se estima en 9.6 casos por cada 100 000 individuos por mutaciones en el DNAm, mientras que es de 2.9 casos por cada 100,000 cuando son debidas a mutaciones en el DNA Nuclear (DNAn) (5). El diagnóstico de las enfermedades mitocondriales sigue siendo un reto para el clínico debido a su gran variabilidad. El fenotipo clínico evoluciona a lo largo del tiempo; los pacientes pueden desarrollar signos y síntomas neurológicos adicionales o involucrar otros órganos en adición a los síndromes de presentación inicial.

Objetivo: Describir la frecuencia de los diferentes fenotipos clínicos de citopatía mitocondrial en adultos atendidos en la clínica de enfermedades neuromusculares del Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía.

Hipótesis: Los pacientes con diagnóstico de citopatía mitocondrial con fenotipo clásico presentan características clínicas diferentes a pacientes con diagnóstico de citopatía mitocondrial oligosintomática.

Metodología: Pacientes con diagnóstico de citopatía mitocondrial en los diferentes grados de certeza por criterios de Walker que cuenten con información completa en el expediente clínico. Para el análisis descriptivo, se determinará la distribución de las variables continuas con la prueba de Kolmogorov-Smirnov, las variables se describirán en medias, Desviación Estándar (DE) o medianas y rango intercuartílico según su distribución.

Análisis estadístico: Todos los análisis estadísticos serán realizados a través del programa estadístico SPSS versión 22.

Resultados: Se incluyeron 52 pacientes, 36 (69.2%) del género femenino y 16 (30.8%) del género masculino, con edades entre los 17 y 76 años (Moda 30). La mediana de edad al inicio de los síntomas fue de 30 años. El síntoma inicial más frecuentemente observado fue de alteraciones oculares, con una mediana de 18 (34.6%) pacientes. Entre los síndromes clásicos, el más común fue oftalmoplejia externa progresiva que se observó en 20 pacientes (38.5%), seguido por Kerns Sayre en 9 pacientes (17.3%). El menos comúnmente observado fue LOHN (1 paciente). Los pacientes oligosintomáticos constituyeron el 26.9% del total (14 pacientes).

Conclusiones: Las citopatías mitocondriales son enfermedades raras, cuyo diagnóstico suele verse retrasado por múltiples factores; desde la amplia variedad de manifestaciones clínicas, un bajo índice de sospecha diagnóstica cuando los síntomas de presentación no son los fenotipos habituales y la dificultad para acceder a las herramientas paraclínicas requeridas para establecer un diagnóstico.

II. INTRODUCCIÓN

La primera asociación entre defectos en el DNA mitocondrial (DNAMt) y enfermedades en humanos se estableció hace 20 años, a través del primer reporte realizado por Holt et al. (1,2). Las alteraciones mitocondriales constituyen el grupo más frecuente de enfermedades metabólicas hereditarias; y pueden ser el resultado de mutaciones genéticas en la mitocondria o en el núcleo celular, por lo que la transmisión se lleva a cabo mediante un patrón maternal o mendeliano (3). Hay casos esporádicos raros que ocurren por mutaciones de novo; en pacientes con mutaciones del DNAMt, la herencia y el patrón clínico dependerán de la presencia de múltiples genomas de DNAMt en una sola célula, lo que puede conllevar a una mezcla de genomas mutados y de tipo salvaje, llamado heteroplasmia. El nivel de heteroplasmia es crucial para determinar la extensión de la disfunción celular (4).

Las mitocondrias son organelos celulares ubicuos, a excepción de los eritrocitos, y son integradores cruciales en el metabolismo intermedio de muchas vías metabólicas celulares, incluyendo la fosforilación oxidativa, oxidación de ácidos grasos, ciclo de Krebs, ciclo de la urea, gluconeogénesis y cetogénesis. Además juegan un papel importante en otros procesos celulares, tales como la termogénesis, metabolismo de aminoácidos, metabolismo lipídico, biosíntesis del grupo hem y formación de cúmulos de hierro-sulfato; homeostasis del calcio y apoptosis (4).

La prevalencia de todas las formas de enfermedad mitocondrial de inicio en la niñez (<16 años) se estima en un rango de 5 a 15 casos por cada 100,000 individuos. En adultos, la prevalencia de enfermedades mitocondriales se estima en 9.6 casos por cada 100 000 individuos por mutaciones en el DNAMt, mientras que es de 2.9 casos por cada 100,000 cuando son debidas a mutaciones en el DNA Nuclear (DNAn) (5).

Para la función mitocondrial normal, se requieren más de 1,500 proteínas, de las cuales, 13 son codificadas por DNAMt y el resto por DNAn. Las mutaciones patogénicas en el DNAMt pueden afectar las subunidades estructurales de la cadena respiratoria o la maquinaria de síntesis de proteínas mitocondrial. Las mutaciones del DNAMt pueden clasificarse en tres tipos: Microarreglos del DNAMt,

mutaciones en los genes involucrados en la síntesis de proteínas o mutaciones en los genes que codifican proteínas estructurales. Las mutaciones patológicas en el DNAn que afectan a la mitocondria son variadas, e incluyen defectos en el mantenimiento del DNAm, traslación del DNAm, homeostasis mitocondrial entre otras (4).

El diagnóstico de las enfermedades mitocondriales sigue siendo un reto para el clínico debido a su gran variabilidad. El fenotipo clínico evoluciona a lo largo del tiempo; los pacientes pueden desarrollar signos y síntomas neurológicos adicionales o involucrar otros órganos en adición a los síndromes de presentación inicial. La mayoría de los pacientes presentan síntomas neurológicos de lenta progresión; tales como oftalmoplejia externa crónica progresiva, miopatía, neuropatía y ataxia. Sin embargo, también existen presentaciones agudas, como episodios stroke-like y crisis epilépticas de inicio focal refractarias. El diagnóstico se ha facilitado gracias a los avances en medicina molecular y genómica; sin embargo las enfermedades mitocondriales siguen representando un reto para el neurólogo (6). Los pacientes afectados pueden debutar con síntomas a cualquier edad, desde el nacimiento hasta la adultez tardía; y pueden presentar manifestaciones clínicas variables dependiendo de la edad de inicio. La severidad de la enfermedad puede variar desde una presentación que amenaza la vida hasta pacientes asintomáticos u oligosintomáticos portadores de la mutación (12).

Para las enfermedades mitocondriales que son causadas por mutaciones en el DNAm, el fenotipo depende de tres factores: 1. Los tejidos específicos que contienen mitocondrias anormales, 2. La proporción de mitocondrias anormales en dichos tejidos, 3. El número de copias de DNAm mutado dentro del tejido. Para las mutaciones del DNAn, el fenotipo es determinado por la dependencia del tejido de la cadena respiratoria, y por la expresión específica en el tejido de la proteína u otras proteínas compensadoras. La presentación clínica puede incluir las siguientes alteraciones: Una combinación inexplicable de síntomas neuromusculares y no neuromusculares; curso progresivo; involucro de otros órganos no relacionados;

sinomatología fluctuante; intolerancia al ejercicio; calambres musculares, rigidez o fenómeno del segundo aliento y elevación del lactato en reposo (7).

Ataxia cerebelosa. Es común en pacientes adultos y pediátricos, y se han reportado múltiples mutaciones asociadas del DNAm; aunque también se ha reportado en algunas mutaciones nucleares. En mutaciones de POLG, es uno de los síntomas prominentes; y se reporta frecuentemente en pacientes con MEMSA y ANS. El hallazgo neurológico más común es pérdida de volumen cerebeloso.

Trastornos del movimiento. Incluyen distonía, acatisia, parkinsonismo y discinesia tardía; y han sido descritos en las mutaciones de POLG. El síndrome de Leigh es un trastorno neurodegenerativo progresivo que afecta a niños debido a mutaciones que afectan el DNAm, y defectos del DNAn. Los síntomas incluyen retraso en el desarrollo, hipotonía, distonía y falla del crecimiento. El curso clínico puede ser variado, sin embargo los pacientes frecuentemente presentan anomalías respiratorias, nistagmo y ataxia. Los hallazgos neuroradiológicos incluyen lesiones simétricas y bilaterales que afectan el tallo cerebral y los núcleos basales.

Neuropatías periféricas. Son frecuentes en enfermedades mitocondriales, y pueden definir el cuadro clínico en un número de pacientes con defectos de señalización intergenómica, causando múltiples mutaciones del DNAm. Esto incluye ANS debido a mutaciones de POLG, donde la neuropatía es principalmente sensitiva con pérdida del sentido de propiocepción y vibración, y cambios en el tacto fino con un grado variable de debilidad distal. Las velocidades de conducción nerviosa muestran potenciales de acción sensitivos disminuidos o ausentes, y un grado variable de involucro motor. En casi todos los pacientes con encefalopatía neurogastrointestinal mitocondrial (MNGIE), la neuropatía es principalmente desmielinizante.

Epilepsia. Puede ser la característica de presentación, como es el caso de MERRF o MEMSA; o emerger en conjunto con otras alteraciones neurológicas, como en MELAS. Las crisis pueden tener cualquier semiología. Aproximadamente 34.9% de los pacientes con mutaciones en MLTT1 desarrollan epilepsia, y de ellos, 17.5% desarrollan episodios stroke like. En este caso, las crisis son focales, a diferencia

de las mutaciones en MTTK, donde la epilepsia afecta a 92% de los pacientes y se presenta usualmente con crisis generalizadas tónico-clónicas o mioclonías progresivas. El síndrome de Alpers afecta a neonatos y lactantes, quienes pueden presentarse con crisis refractarias, retraso en el desarrollo e involucro hepático.

Episodios Stroke-Like. Se definen mejor como un episodio de crisis metabólica cerebral focal. Se han reportado desencadenantes, incluyendo enfermedades febriles, cefalea, crisis y deshidratación. Es uno de los síndromes más importantes en MELAS por mutación en MTTL1, pero incluye también a pacientes con mutaciones en POLG, FBXL4 y otras mutaciones puntuales, incluyendo mutaciones en MTTK. Los episodios se detectan utilizando resonancia magnética, donde se visualizan como hiperintensidades en T2, típicamente en las regiones posteriores, aunque no se asocian con territorios vasculares.

Deterioro cognitivo y alteraciones del comportamiento. Se han encontrado en reportes de caso de pacientes con enfermedad mitocondrial debida a mutaciones del DNAm_t; sin embargo existen muy pocos estudios longitudinales y criterios diagnósticos para definir las alteraciones cognitivas.

Oftalmoplejia externa progresiva (OEP) y miopatía. La OEP es una manifestación común de enfermedad mitocondrial. Se define como la combinación de ptosis bilateral pero no necesariamente simétrica, y limitación progresiva de los movimientos oculares. Las causas moleculares de OEP incluyen mutaciones del DNAm_t, tales como microarreglos y deleciones. Múltiples alteraciones en genes nucleares pueden resultar en deleciones del DNAm_t, ocasionando un patrón de herencia autosómico recesivo o dominante. En el síndrome de Kearns-Sayre, la OEP se acompaña de retinopatía pigmentaria y al menos otra característica (Miopatía, bloqueo cardíaco, ataxia cerebelosa, elevación de proteínas en LCR), aunque muchos pacientes con el síndrome tienen características clínicas adicionales. Por definición, los síntomas de Kearns-Sayre aparecen antes de los 20 años.

Neuropatía óptica y retinopatía pigmentaria. La enfermedad mitocondrial que más comúnmente resulta en neuropatía óptica es la neuropatía óptica hereditaria de

Leber (LHON). Clínicamente se caracteriza por deterioro visual bilateral y subagudo debido a degeneración de las células ganglionares retinianas y nervios ópticos. La pérdida visual usualmente inicia en la adultez temprana (9) (10).

Se han identificado las mutaciones que causan los síndromes mitocondriales clásicos: Encefalomiopatía mitocondrial, acidosis láctica y episodios stroke-like (MELAS); epilepsia mioclónica y fibras rojas rasgadas (MERRF), Neuropatía, ataxia y retinitis pigmentosa (NARP), Síndrome de Kearns-Sayre y síndrome de Leigh con herencia materna (8).

Evaluación de los pacientes con enfermedad mitocondrial. Al evaluar a un paciente con síntomas neuromusculares en quienes se sospecha una enfermedad mitocondrial, la historia debe enfocarse en recabar síntomas sugestivos, además de buscar involucro de otros órganos. Aunque el patrón de herencia materno puede ser sugestivo, recordar que también puede heredarse mediante patrones mendelianos. La exploración física debe incluir, además, exploración audiológica.

Los exámenes de sangre demuestran metabolismo oxidativo anormal o disfunción de otros órganos asociada. El lactato sérico y piruvato por lo general se encuentran elevados. Los niveles de lactato y piruvato pueden elevarse también en LCR. La biometría hemática completa, glucosa, urea, nitrógeno y creatinina, pruebas de función tiroidea, pruebas de función hepática y TSH son útiles para demostrar el involucro de otros órganos.

Otros estudios. Debe obtenerse un electrocardiograma en todos los pacientes, y considerar monitoreo con Holter. Los estudios de imagen del SNC son útiles en pacientes con hallazgos compatibles con disfunción del sistema nervioso central. Los hallazgos que sugieren encefalomiopatía son calcificaciones en los núcleos basales, infartos cerebrales, especialmente posteriores; atrofia cerebral y cerebelosa. Lesiones múltiples y simétricas en núcleos basales, mesencéfalo y tallo cerebral sugieren síndrome de Leigh. La electromiografía y velocidades de conducción nerviosa son útiles en cualquier paciente en quien se sospecha involucro de nervio periférico y músculo. La electromiografía muestra unidades motoras de corta duración, amplitud reducida y polifasia aumentada. Las

fibrilaciones y ondas positivas agudas son raras pero han sido reportadas. Las velocidades de conducción nerviosa son anormales en los casos en que de forma concomitante existe polineuropatía.

Biopsia muscular. Debido a que el músculo se afecta de manera clínica y subclínica de forma frecuente, la biopsia muscular generalmente lleva al diagnóstico de algún trastorno mitocondrial. El cambio morfológico distintivo de la fosforilación oxidativa deficiente son las fibras rojas rasgadas; que consisten en fibras musculares con acumulación de mitocondrias anormales por debajo del sarcolema o entre las fibras musculares que se tiñen de color púrpura o rojo con la tinción de tricromo de Gomori.

Pruebas genéticas. La PCR de amplio rango o Southern Blot se utiliza para detectar deleciones y duplicaciones en el DNAm de cualquier tejido. El DNAm también puede evaluarse en busca de mutaciones puntuales conocidas. Se encuentran disponibles también ensayos comerciales para deleciones, duplicaciones y las mutaciones puntuales más comunes. (11).

Walker et al. (18) fueron los primeros en proponer un set de criterios mayores y menores para la identificación de enfermedades mitocondriales. **Criterios mayores:** 1. Encefalomiopatía de cadena respiratoria clínicamente completa, 2. >2% Fibras rojas rasgadas (FFR) en la biopsia de músculo esquelético, 3. Presencia de uno o más de los siguientes indicadores de depresión de la actividad enzimática de la cadena respiratoria (<20% de la actividad ajustada a la edad en una evaluación polarográfica de uno o más complejos de la cadena respiratoria, >2% Fibras COX negativas en una biopsia muscular abierta si <50 años de edad, o >5% de fibras COX negativas si >50 años de edad), 4. Identificación de una alteración del DNAm o DNAm de patogenicidad comprobada. **Criterios menores:** 1. Algunos síntomas clínicos con involucro del músculo o SNC, pero no cumple para encefalomiopatía. 2. Al menos uno de los indicadores bioquímicos de aumento del contenido mitocondrial o de anomalías mitocondriales en el músculo (1-2% FFR si 30-50 años, cualquier cantidad de FFR si <30 años, anomalías a la microscopía electrónica generalizadas), 3. Presencia de uno o más de los siguientes indicadores de depresión de la función en la cadena respiratoria (20-30% de la actividad ajustada

a la edad en la evaluación polarográfica de uno o más de los complejos de la cadena respiratoria, demostración basada en anticuerpos de un defecto en la expresión del complejo de la cadena respiratoria), 4. Identificación de una alteración del DNAMt, no reconocida previamente como asociada al síndrome de presentación, y cumpliendo algunos, pero no todos los 6 criterios, 5. Uno o más indicadores metabólicos de alteración en la fosforilación oxidativa [Elevación del lactato, piruvato y/o contenido de alanina (CSF y/o sangre), incremento en las proteínas en LCR si se sospecha KSS, Alteración del metabolismo muscular o cerebral demostrado por ^{31}P -MRS o PET, VO_2max reducido, AVO_2d o umbral de lactato reducido en ergonometría. (19) (20).

En 2002, Bernier et al. (16) establecieron criterios diagnósticos para enfermedad mitocondrial en niños, basados en una escala previamente validada en adultos; que tenía como objetivo establecer el diagnóstico complejo de enfermedad mitocondrial probada clínica y bioquímicamente. Wolf et al (17) desarrollaron otros criterios con un propósito distinto: Ayudar al clínico durante el proceso diagnóstico para decidir la necesidad de realizar biopsia de músculo y medición de complejos enzimáticos. Posteriormente fue simplificado para ser utilizado como una herramienta de tamizaje en pacientes con sospecha de enfermedad mitocondrial. De acuerdo a estos criterios, un total de 1 punto indica enfermedad mitocondrial improbable; puntaje de 2-4: Posible enfermedad mitocondrial; 5-7 probable enfermedad mitocondrial, y un puntaje ≥ 8 indica un trastorno mitocondrial definitivo (15).

III. PROBLEMA

Hasta 1999, se creía que las enfermedades mitocondriales eran extremadamente raras. Sin embargo, algunos estudios epidemiológicos realizados en Europa cambiaron esta forma de pensar. Estudios de 2015 incorporaron las mutaciones de DNAn y DNAm, encontradas en aproximadamente 1:4,300 pobladores. Diferentes mutaciones están relacionadas con fenotipos clínicos distintos, y progresan a una velocidad diferente (13).

Sin embargo, en nuestro país y en América Latina no se han realizado estudios que tengan por objetivo la descripción de las características epidemiológicas, clínicas y paraclínicas de las citopatías mitocondriales; y por otro lado, tampoco ha sido descrito si los fenotipos clásicos presentan características clínicas diferentes a los pacientes que cumplen criterios diagnósticos para citopatía mitocondrial oligosintomática.

De ahí que para la realización de este estudio nos hemos planteado la siguiente pregunta de investigación:

¿Cuáles son los diferentes fenotipos clínicos de citopatía mitocondrial, y sus diferencias clínicas en la clínica de enfermedades neuromusculares del Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía?

IV. HIPÓTESIS

a) Hipótesis de trabajo

Los pacientes con diagnóstico de citopatía mitocondrial con fenotipo clásico presentan características clínicas diferentes a pacientes con diagnóstico de citopatía mitocondrial oligosintomática.

b) Hipótesis estadística

I. Nula

Los pacientes con diagnóstico de citopatía mitocondrial con fenotipo clásico no presentan características clínicas diferentes a pacientes con diagnóstico de citopatía mitocondrial oligosintomática.

V. OBJETIVOS

a. Objetivo principal

Describir la frecuencia de los diferentes fenotipos clínicos de citopatía mitocondrial en adultos atendidos en la clínica de enfermedades neuromusculares del Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía.

b. Objetivos secundarios/específicos

- Describir las características clínicas y paraclínicas de los diferentes fenotipos clínicos de citopatía mitocondrial.
- Realizar un estudio comparativo entre pacientes con diagnóstico de fenotipos clásicos versus oligosintomáticos.
- Describir los hallazgos de biopsia muscular más frecuentes en pacientes con diagnóstico de citopatía mitocondrial.
- Describir la frecuencia y cambios en estudios de resonancia magnética de encéfalo

VI. JUSTIFICACIÓN

A pesar de los avances que se han realizado en los últimos años para el abordaje y diagnóstico de las enfermedades mitocondriales, aún se desconoce en gran medida su prevalencia real, como es el caso de México, donde no existen estudios que hayan sido enfocados en las características clínicas, paraclínicas y epidemiológicas de las enfermedades mitocondriales.

Es importante conocer las formas de presentación más frecuentes en estos pacientes desde la perspectiva neurológica, ya que, al ser enfermedades poco comunes y con una heterogeneidad tan amplia en sus manifestaciones clínicas, pueden permanecer infradiagnosticadas durante largos períodos de tiempo; con las complicaciones que ello conlleva debido a su alta morbilidad.

Otro punto a tener en cuenta es la importancia que estas enfermedades tienen desde la perspectiva de la salud pública del país, ya que requieren atención altamente especializada y multidisciplinaria, además de considerar el consejo genético en estos pacientes (14).

Por tal motivo, al no existir más información al respecto en México ni América Latina, proponemos el presente estudio para documentar las formas de presentación de las enfermedades mitocondriales en nuestra población, así como diferenciarlas entre los síndromes clásicos y las formas oligosintomáticas para facilitar su identificación.

VII. MATERIAL Y MÉTODOS

1. DISEÑO DEL ESTUDIO

Estudio transversal, observacional, descriptivo.

c. Población de estudio

I. Población blanco:

Pacientes atendidos en la clínica de enfermedades neuromusculares.

II. Población elegible:

Pacientes mayores de 18 años, que acepten participar en el estudio, con diagnóstico de citopatía mitocondrial en los diferentes grados de certeza por criterios de Walker.

III. Población de estudio

Pacientes con diagnóstico de citopatía mitocondrial en los diferentes grados de certeza por criterios de Walker que cuenten con información completa en el expediente clínico.

IV. Método de muestreo

Muestreo no probabilístico por conveniencia.

V. Tamaño de muestra

No requiere cálculo de muestra.

VI. Número total de sujetos (por grupo o brazo)

No aplica.

VII. Tamaño de efecto

$$p < 0.05$$

VIII. Nivel de confianza

95%

IX. Poder estadístico

La significancia estadística será evaluada al nivel 0.05.

d. Criterios de selección

I. Inclusión:

- Ambos géneros
- ≥ 18 años

- Pacientes con diagnóstico de citopatía mitocondrial en los diferentes grados de certeza por criterios de Walker.
- Cuenten con resultado de reporte de biopsia muscular.

II. Exclusión:

- Pacientes que cuenten con un diagnóstico alternativo: Distrofia muscular, miopatías congénitas.
- Pacientes que no cuenten con información completa en el expediente clínico.

III. Eliminación

- Pacientes en quien se concluya un diagnóstico alternativo.
- Pacientes que no cumplan con información completa en el expediente clínico.

2. Variables

Variable de desenlace (dependiente)				
Nombre	Definición conceptual	Definición operacional	Tipo de variable	Instrumento y unidad de medición
Fenotipo clásico	Paciente que cumpla criterios de de Walker	Dicotómico	Continua	Prueba de Chi cuadrada o

	para alguno de los siguientes fenotipos clínicos: MELAS, OEPC, Síndrome de Kerns-Sayre, Retinitis pigmentaria de Leber.	(presente o ausentes)		prueba exacta de Fisher Si o No
Principales variables independientes, covariables y confusoras				
Nombre	Definición conceptual	Definición operacional	Tipo de variable	Instrumento y unidad de medición
Sexo	Conjunto de características biológicas que definen el aspecto de humanos como mujer u hombre.	Hombre o mujer.	Nominal	Chi cuadrada H(Hombre) o M (Mujer)
Edad	Edad cronológica del paciente del momento de presentación de signos y síntomas al	Años	Continua	Prueba de T de Student o ANOVA Númerico (Años)

	momento de diagnóstico.			
Tiempo del inicio de los síntomas al diagnóstico	Periodo de tiempo transcurrido del inicio de signos y síntomas al diagnóstico.	Meses	Continua	Prueba U de Mann-Whitney Númerico (Meses)
Antecedente familiar con diagnóstico previo de algún fenotipo de citopatía mitocondrial	Registro de las relaciones entre los miembros de una familia junto con la presencia o ausencia de algún fenotipo de citopatía mitocondrial.	Dicotómica (presente o ausentes)	Nominal	Prueba Chi cuadrada o Prueba exacta de Fisher Sí o No
Talla	Medición de altura del paciente, expresado en metros	Metros	continua	Prueba U de Mann-Whitney
Peso	Masa o cantidad de peso de un individuo. Se expresa en kg.	kilogramos	continua	Prueba U de Mann-Whitney

índice de masa corporal	Razón matemática que asocia la masa y la talla de un individuo, expresado en kg/m^2	Kg/m^2	continua	Prueba U de Mann-Whitney
Puntuación en escala Rankin modificada	Escala que mide el grado de discapacidad o dependencia para las actividades diarias en pacientes que han sufrido un evento vascular cerebral u otras causas de discapacidad neurológica.	Puntaje 0-6.	continua	Prueba U de Mann-Whitney
Primer síntoma de inicio de cuadro clínico	Cualquier fenómeno anormal funcional o sensitivo percibido por	Nominal	Nominal	Chi cuadrada o Prueba exacta de Fisher

	el paciente, indicativo de una enfermedad.			
Fenotipo clásico	Paciente que presente algún fenotipo clásico clínico de citopatía mitocondrial por criterios de Walker, como son: MELAS, OEPC, Síndrome de Kerns-Sayre, Retinitis pigmentaria de Labe.	Dicotómica (presente o ausentes)	Nominal	Chi cuadrada o Prueba exacta de Fisher Si o no
Oligosintomático	Paciente que presente al menos una característica clínica y con hallazgos compatibles con citopatía mitocondrial	Dicotómica (presente o ausentes)	Nominal	Chi cuadrada o Prueba exacta de Fisher Si o no
Niveles de glucosa al diagnóstico	Medida de concentración de glucosa	mg/dl	Continua	Prueba U de Mann-Whitney

	libre en la sangre, suero o plasma al momento del diagnóstico.			
Niveles de colesterol al diagnostico	Medida de concentración de colesterol libre en la sangre, suero o plasma al momento del diagnóstico.	mg/dl	Nominal	Prueba U de Mann-Whitney
Niveles de triglicéridos al diagnostico	Medida de concentración de triglicéridos libres en la sangre, suero o plasma al momento del diagnóstico	Mg/dl	Nominal	Prueba U de Mann-Whitney
Niveles de lactato sérico al diagnostico	Medida de concentración de lactato libre en la sangre, suero o plasma al momento del diagnóstico	Mmol/L	Nominal	Prueba U de Mann-Whitney
IRM de encéfalo con	Cambios estructurales o	Dicotómico	Nominal	Prueba de Chi cuadrada.

alteraciones en la sustancia blanca	de señal en RMN de encéfalo en sustancia blanca.	(presente o ausentes)		Regresión logística binaria
Presencia de fibras rojas rasgadas en tinción de Tricomico Gomori en biopsia muscular	Fibras musculares con acumulación de mitocondrias proliferadas anormales por debajo del sarcolema y entre las fibras musculares con tinción de Tricrómico de Gomori.	Dicotómico (presente o ausentes)	Nominal	Prueba de Chi cuadrada.
Presencia de acúmulos mitocondriales en el espacio subsarcolemico en la tinción NADH de biopsia muscular	Fibras musculares con acumulación de mitocondrias proliferadas anormales por debajo del sarcolema y entre las fibras	Dicotómico (presente o ausentes)	Nominal	Prueba de Chi cuadrada.

	musculares con tinción de NADH.			
Presencia de fibras COX fantasmas en la tinción de COX de biopsia muscular	Tinición de citocromo c oxidasa que identifica el complejo IV de la cadena respiratoria.	Dicotómico (presente o ausentes)	Nominal	Prueba de Chi cuadrada.

3. PLAN ESTADÍSTICO

e. Descriptivo

Para el análisis descriptivo, se determinará la distribución de las variables continuas con la prueba de Kolmogorov-Smirnov, las variables se describirán en medias, Desviación Estándar (DE) o medianas y rango intercuartílico según su distribución.

f. Paquetería utilizada

Todos los análisis estadísticos serán realizados a través del programa estadístico SPSS versión 22.

METODOLOGÍA

Estudio transversal. Se incluirán a los pacientes con diagnóstico de citopatía mitocondrial en los diferentes grados de certeza por criterios de Walker, de un solo centro, en la clínica de enfermedades neuromusculares del Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía, atendidos en el periodo de tiempo 1 de enero del 2019 a julio del 2021.

De los pacientes elegibles se obtendrán datos epidemiológicos y clínicos: edad, genero, antecedente familiar, índice masa corporal, peso (metros), talla (metros), primer síntoma clínico, edad de inicio de los síntomas, tiempo de retraso del diagnóstico, puntuación en la escala de Rankin modificado al inicio de los síntomas, tiempo (años) de seguimiento en la clínica de enfermedades neuromusculares, puntuación en la escala Rankin modificado en la ultima valoración en la clínica. Además, se registrará la presencia de otros síntomas o signos clínicos: cefalea, ptosis, epilepsia, miopatía, intolerancia al ejercicio, encefalopatía, retraso psicomotor, afección visual, retinosis pigmentaria.

De los resultados de estudios de laboratorio realizados rutinariamente, se recolectarán los siguientes datos: Glucosa sérica (mg/dl), colesterol (mg/dl), triglicéridos (mg/dl), ácido úrico (mg/dl), perfil hormonal, niveles de CPK (mg/dl), resultado de lactato sérico (mmol/L) o de líquido cefalorraquídeo (mmol/L).

En aquellos pacientes en quienes se haya realizado biopsia muscular, se recolectara información de la visualización al microscopio posterior a las tinciones. De las tinciones de Tricomico modificado de Gomori, NDAH y COX: La presencia o ausencia de fibras rojas rasgadas, presencia o ausencia de acúmulos mitocondriales en el espacio subsarcolemico, presencia o ausencia de fibras COX fantasmas.

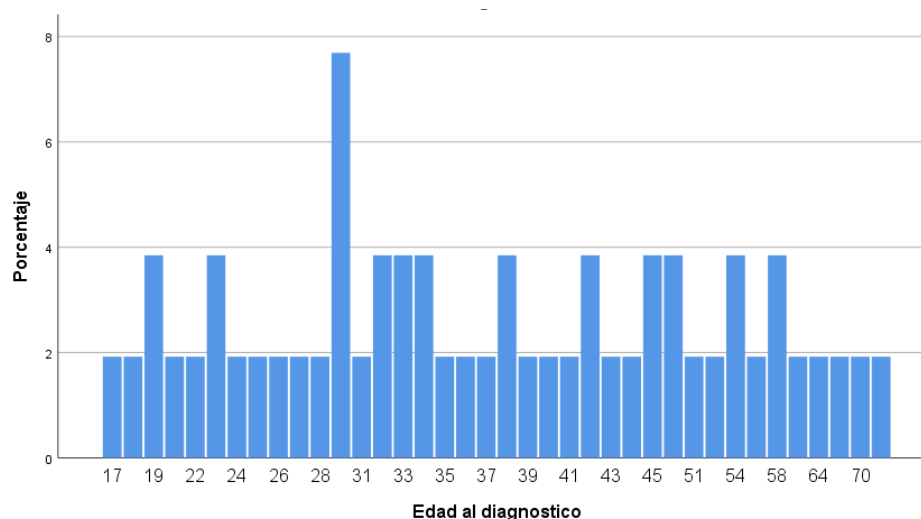
En pacientes que hayan sido sometidos a un estudio de IRM de encéfalo, se obtendrá la siguiente información: Presencia de cambios en la sustancia blanca en secuencia T2 y FLAIR, alteraciones estructurales y/o cambios de señal supratentoriales o infratentoriales.

Los pacientes serán clasificados en fenotipos clínicos clásicos y/o oligosintomáticos por criterios de Walker.

VIII. RESULTADOS.

Se incluyeron 52 pacientes, 36 (69.2%) del género femenino y 16 (30.8%) del género masculino, con edades entre los 17 y 76 años (Moda 30) (Gráfica 1). El tiempo de retraso del diagnóstico desde el inicio de los síntomas fue de 7 años (Mediana); y el Rankin al diagnóstico fue de 1 en el 69% de los casos. Se encontraron antecedentes familiares de citopatía mitocondrial en 9 pacientes (17.3%), y entre las comorbilidades estudiadas, hipotiroidismo fue la más común, encontrada en un 11.5% de los casos. La mediana de edad al inicio de los síntomas fue de 30 años. El síntoma inicial más frecuentemente observado fue de alteraciones oculares, con una mediana de 18 (34.6%) pacientes, en tanto que los menos frecuentes fueron ataxia y déficit intelectual (1.9%). 15 pacientes presentaron epilepsia (28.8%), 21 pacientes refirieron intolerancia al ejercicio (40.4%), se observó hipoacusia en 10 pacientes (19.2%), miopatía en 14 pacientes (26.9%), ptosis en 29 pacientes (55.8%), oftalmoplejia en 29 pacientes (55.8%), retraso psicomotor en 5 pacientes (9.6%), neuropatía en 9 pacientes (17.3%), eventos stroke like en 8 pacientes (15.4%), atrofia óptica bilateral en 2 pacientes (3.8%), retinosis pigmentaria en 9 (17.3%), afección cerebelosa en 10 pacientes (19.2%), deterioro cognitivo en 10 (19.2%), encefalopatía en 3 pacientes (5.8%). La paraplejia espástica se documentó en solo 1 paciente; la coxopatía fue observada en 22 (42.3%) (Tabla 1).

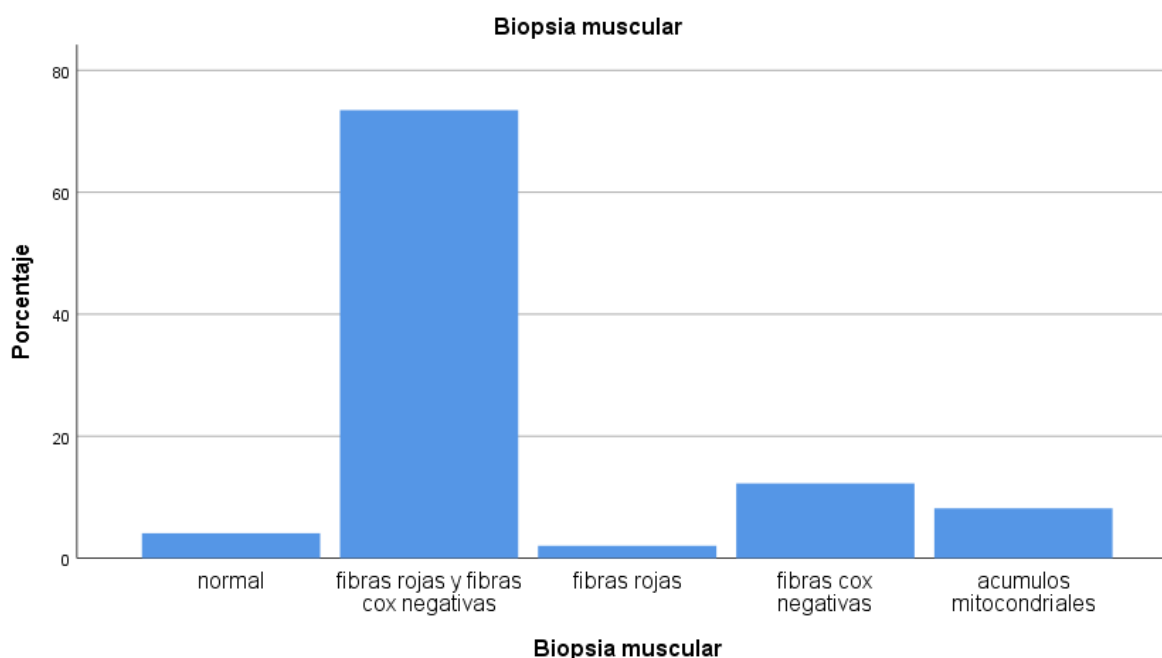
Gráfica 1.



Entre los síndromes clásicos, el más común fue oftalmoplejia externa progresiva que se observó en 20 pacientes (38.5%), seguido por Kerns Sayre en 9 pacientes (17.3%). El menos comúnmente observado fue LOHN (1 paciente). Los pacientes oligosintomáticos constituyeron el 26.9% del total (14 pacientes).

El lactato sérico se encontró elevado en 3 pacientes, mientras que el lactato en LCR se encontró elevado en un total de 6 pacientes (11.5%). Entre los hallazgos de la biopsia muscular, el más frecuente fue fibras rojas y fibras cox negativas (36 pacientes, 69.2%); se encontraron fibras rojas en 1 paciente, fibras cox negativas en 6 pacientes (11.5%), acúmulos mitocondriales en 4 pacientes (7.7%) y los hallazgos fueron normales en 2 pacientes (Gráfica 2).

Gráfica 2.



Del total de pacientes, 35 cumplieron criterios para un diagnóstico definitivo, 13 pacientes para un diagnóstico probable y 4 pacientes para un diagnóstico posible. El diagnóstico molecular pudo obtenerse en tres pacientes (5.8%).

Los hallazgos en resonancia magnética fueron normales en 28 pacientes (53.8%), se encontró atrofia en 19 pacientes (36.5%) y stroke like en 2 pacientes.

Tabla 1.

Estadísticos descriptivos							
	N	Rango	Mínimo	Máximo	Media	Desv. Desviación	Varianza
Edad al diagnostico	52	59	17	76	38,96	14,605	213,293
Tempo de retraso del diagnostico, años	50	54	1	54	15,39	12,567	157,932
Años de seguimiento	51	19	1	20	5,06	4,998	24,976
Rankin al diagnostico	52	6,00	1,00	7,00	1,5192	1,05701	1,117
Ultimo Rankin	52	4	0	4	1,37	1,103	1,217
Edad de Inicio primer Sintoma	50	60	0	60	21,42	16,040	257,269
Lactato LCR	6	4,00	2,20	6,20	3,9667	1,72124	2,963
Glucosa Serica	31	95,00	47,00	142,00	93,4194	18,05875	326,118
Colesterol Total	24	177,00	110,00	287,00	171,0833	36,05541	1299,993
Trigliceridos	24	215,00	57,00	272,00	140,1958	58,02022	3366,347
Acido Urico	28	3,70	3,30	7,00	4,7636	1,08463	1,176
CPK	14	1706,00	50,00	1756,00	312,9286	463,54677	214875,610
Albumina	4	36,70	4,30	41,00	13,6500	18,23449	332,497
N válido (por lista)	1						

Tabla 2.

Síndromes clásicos				
	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
No	13	25,0	25,0	25,0
MELAS	7	13,5	13,5	38,5
MERF	2	3,8	3,8	42,3
OEPC	20	38,5	38,5	80,8
Kerns Sayre	9	17,3	17,3	98,1
LOHN	1	1,9	1,9	100,0
Total	52	100,0	100,0	

IX. DISCUSIÓN.

Las citopatías mitocondriales son trastornos genéticos del metabolismo que directamente afectan la estructura mitocondrial o su función. Son debidos a trastornos del DNAm o del DNAn. Pueden presentarse a cualquier edad y afectar a múltiples sistemas o selectivamente involucrar un solo órgano. Además pueden encontrarse como un síndrome bien definido o como una constelación de fenotipos; aunque por lo regular, al menos un síntoma prototípico se encuentra presente al momento del inicio de la enfermedad (21).

Se requiere un alto índice de sospecha ante la posibilidad de una enfermedad mitocondrial; esto es apropiado cuando hay afección multisistémica, como episodios stroke like, distribución no vascular, lesiones bilaterales y simétricas hiperintensas en T2 en los núcleos basales y el tallo u oftalmoplejia externa progresiva y miopatía. En nuestro estudio, la mayoría de los pacientes se presentaron con afección multisistémica al momento del diagnóstico (73.1%), y solo un pequeño porcentaje presentó una variedad oligosintomática (26.9%).

La presentación de las enfermedades mitocondriales puede ocurrir casi en cualquier momento de la vida; en nuestro estudio, la mediana de edad de presentación fue a los 30 años, con un rango entre los 17 y 76 años. Cabe destacar que existe un gran retraso en el diagnóstico de este tipo de enfermedades; en nuestra investigación con una mediana de 7 años; pero con un rango desde 1 hasta 54 años.

Además de detallar el fenotipo, la investigación clínica cuando se sospecha de una enfermedad mitocondrial puede utilizarse para guiar investigaciones genéticas, particularmente en los casos en los que las características clínicas son inusuales. En nuestro medio, estos estudios no se encuentran disponibles para todos los pacientes con sospecha de citopatía mitocondrial por diversos factores; entre ellos, el impacto económico. En nuestra investigación, únicamente tres pacientes contaban con análisis molecular. Sin embargo, la investigación de laboratorio que puede realizarse sobre el músculo esquelético, del cual puede obtenerse

información histoquímica y bioquímica, es crucial para el diagnóstico de enfermedades mitocondriales. En nuestro estudio, únicamente dos pacientes tuvieron biopsias musculares normales; el resto mostró alteración de fibras rojas, tinción cox o acúmulos mitocondriales. (2).

Si la historia clínica, examen físico y estudios complementarios sugieren una enfermedad mitocondrial, el siguiente paso es determinar si el paciente tiene un síndrome conocido asociado a una mutación puntual del DNAm, tales como MELAS, MERFF, NARP. Si es así, el estudio molecular debe realizarse en sangre. Un resultado negativo no es absoluto, como es el caso de algunos pacientes en quienes pueden detectarse estas anormalidades en tejido muscular pero no en sangre. Una mutación es más probablemente patogénica si se encuentra en mayores niveles en fibras musculares COX-negativas que en fibras COX-positivas; si se segrega en un fenotipo determinado y si el grado de heteroplasmia de la mutación se correlaciona con el fenotipo.

El síndrome clásico más frecuentemente diagnosticado en nuestro estudio fue la oftalmoplejia externa progresiva, en 38.5% de los casos, seguido por Kerns Sayre, en 17.3% de los casos. El menos común, fue LOHN, esto en concordancia con publicaciones previas (9,10).

X. CONCLUSIÓN.

Las citopatías mitocondriales son enfermedades raras, cuyo diagnóstico suele verse retrasado por múltiples factores; desde la amplia variedad de manifestaciones clínicas, un bajo índice de sospecha diagnóstica cuando los síntomas de presentación no son los fenotipos habituales y la dificultad para acceder a las herramientas paraclínicas requeridas para establecer un diagnóstico. Debe prestarse especial atención a aquellos pacientes con enfermedad oligosintomática, en quienes el diagnóstico puede complicarse aún más y verse más retrasado. Esperamos que este estudio sea la base para continuar la investigación del comportamiento y las variedades más frecuentes de las citopatías mitocondriales en nuestra población, para intentar que su sospecha diagnóstica pueda tenerse de manera cada vez más temprana.

XI. BIBLIOGRAFÍA.

1. Holt I, Harding AE, Morgan-Hughes JA. Deletion of muscle mitochondrial DNA in patients with mitochondrial myopathies. *Nature* 1998; 331:717-19.
2. McFarland R, Taylor RW, Turnbull DM. A neurological perspective on mitochondrial disease. *Lancet Neurol* 2010 9:829-40.
3. Davis RL, Liang C, Sue CM. Mitochondrial diseases. *Handbook of clinical neurology*. 2018; Vol 147.
4. Gorman GS, Chinnery PF, DiMauro S, Hirano M, Koga Y, McFarland R et al. Mitochondrial diseases. *Nat Rev Dis Primers*. 2016 Vol 2 16080.
5. Gorman GS, Schaefer AM, Ng Y, Gomez N, Blakely EL, Alston CL et al. Prevalence of nuclear and mitochondrial DNA mutations related to adult mitochondrial disease. *Ann Neurol* 2015; 77(5)753-9.
6. Ng YS, Turnbull DM. When to think about mitochondrial disease. *Pract Neurol* 2020 0;1-2.
7. Dimmock DP, Lawlor MW. Presentation and diagnostic evaluation of mitochondrial disease. *Pediatr Clin N Am* 2017 64; 161-171.
8. McFarland R, Taylor RW, Turnbull DM. The neurology of mitochondrial DNA disease. *Lancet Neurol* 2002; 1:243-51.
9. Lax NZ, Gorman GS, Turnbull DM. Central nervous system involvement in mitochondrial disease. *Mitochondrial genetics and disease*. 2016.
10. Martikainen MH, Chinnery PF. Mitochondrial disease: mimics and chameleons. *Pract Neurol* 2015. 0;1-12.
11. Nardin RA, Johns DR. Mitochondrial dysfunction and neuromuscular disease. *Muscle & Nerve*. 2001.
12. Liang C, Ahmad K, Sue CM. The broadening spectrum of mitochondrial disease: Shifts in the diagnostic paradigm. *Biochimica et Biophysica Acta*. 2014 1840;1360-67.
13. Chinnery PF. Mitochondrial disease in adults: what's old and what's new? *EMBO Molecular Medicine*. 2015 7;12.

14. Solano A, Playán A, López-Pérez MJ, Montoya J. Enfermedades genéticas del ADN mitocondrial humano. Salud Pública de México. 2001. 43;2.
15. Witters P, Saada A, Honzik T, Tesarova M, Kleinle S, Horvath R et al. Revisiting mitochondrial diagnostic criteria in the new era of genomics. *Genetics in Medicine*. 2018 Vol 20;4.
16. Bernier FP, Boneh A, Dennett X, Chow CW, Cleary MA, Thorburn DR. Diagnostic criteria for respiratory chain disorders in adults and children. *Neurology* 2002;59: 1406-1411.
17. Wolf NI, Smeitink JA. Mitochondrial disorders: a proposal for consensus diagnostic criteria in infants and children. *Neurology* 2002;59:1402-1405.
18. Walker UA, Collins S, Byrne E. Respiratory chain encephalo-myopathies: A diagnostic classification. *Eur Neurol*. 1996; 36:260-7.
19. Koenig M. Presentation and diagnosis of mitochondrial disorders in children. *Pediatr Neurol*. 2018; 38:305-315.
20. DiMauro S, Bonilla E, De Vivo DC. Does the patient have a mitochondrial encephalomyopathy? *Journal of child neurology* 1999; 14:1.
21. Parikh S, Karaa A, Goldstein A, Bertini ES, Chinnery PF, Christodoulou J et al. Diagnosis of “possible” mitochondrial disease: an existential crisis. *J Med Genet* 2019. 0:1-8.