



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA

**DIVISIÓN DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN
SECRETARÍA DE SALUD
INSTITUTO NACIONAL DE PEDIATRÍA**

**CARACTERIZACIÓN CLÍNICA Y CITOMORFOLÓGICA DE LA
LIPOFUSCINOSIS CEROIDE NEURONAL**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL DIPLOMA DE:

NEURÓLOGA PEDIATRA

PRESENTA:

DRA. BETINA ZUBIETA RUIZ

TUTORES:

DRA. MATILDE RUIZ GARCÍA

DRA. GLORIA HERNÁNDEZ ANTÚNEZ

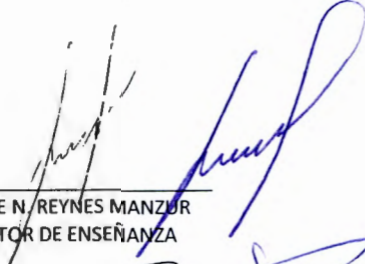
DR. IGNACIO MORA MAGAÑA




MEXICO, D.F.

2010

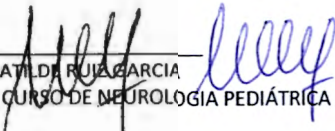
CARACTERIZACIÓN CLÍNICA Y CITOMORFOLÓGICA DE LA LIPOFUSCINOSIS
CEROIDE NEURONAL



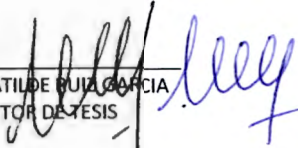
DR. JOSE N. REYNES MANZUR
DIRECTOR DE ENSEÑANZA




DRA. MIRELLA VAZQUEZ RIVERA
JEFE DEL DEPARTAMENTO DE PRE Y POSGRADO



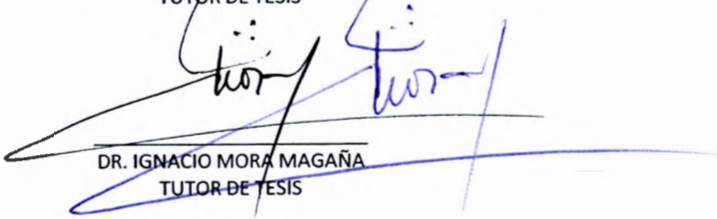
DRA. MATILDE RUIZ GARCIA
PROFESOR TITULAR DEL CURSO DE NEUROLOGÍA PEDIÁTRICA



DRA. MATILDE RUIZ GARCIA
TUTOR DE TESIS



DRA. GLORIA HERNÁNDEZ ANTÚNEZ
TUTOR DE TESIS



DR. IGNACIO MORA MAGAÑA
TUTOR DE TESIS

AGRADECIMIENTOS

Agradezco la colaboración de la Dra. Sandra Nieto, hematóloga pediatra del Instituto Nacional de Pediatría y la Dra. Inés Noher de Haalac, investigadora del Centro de Estudios de las Metabolopatías Congénitas de la Universidad Nacional de Córdoba, Argentina, para la realización de este estudio.

Agradezco también a toda mi familia por su apoyo incondicional.

Contenido

RESUMEN.....	5
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	5
ANTECEDENTES Y MARCO TEÓRICO.....	5
JUSTIFICACIÓN.....	10
OBJETIVOS.....	10
MATERIAL Y METODO.....	11
DISEÑO Y TIPO DE ESTUDIO.....	11
CARACTERISTICAS DE LA POBLACIÓN ESTUDIADA.....	17
METODO.....	17
ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	17
ASPECTOS ÉTICOS.....	18
RESULTADOS.....	18
DISCUSIÓN.....	19
CONCLUSIONES.....	22
CRONOGRAMA.....	23
BIBLIOGRAFÍA.....	24
ANEXO 1. CUADROS.....	27
ANEXO 2. GRÁFICOS.....	28
ANEXO 3. FORMATO DE RECOLECCIÓN DE DATOS.....	31
ANEXO 4. CALCULO DE LA SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD DE LAS PRUEBAS.....	33

CARACTERIZACIÓN CLÍNICA Y CITOMORFOLÓGICA DE LA LIPOFUSCINOSIS CEROIDE NEURONAL

RESUMEN: **Antecedentes:** La lipofuscinosis ceroidea neuronal es la enfermedad degenerativa del SNC más frecuente que afecta predominante sustancia gris y está condicionada por depósito lisosomal. Se reconocen 8 variedades génicas, siendo las más comunes CLN1 (por deficiencia de proteína palmitoil thioesterasa 1, PPT1) y CLN2 (de tripeptidil- peptidasa 1, TPPI). **Objetivo:** Describir el perfil clínico de pacientes con lipofuscinosis, hallazgos neurofisiológicos y de neuroimagen e histomorfológicos en biopsia de piel, médula ósea y frotis de sangre periférica y correlacionar con prueba enzimática para PPT1 y TPPI. **Métodos:** Estudio descriptivo, transversal y retrospectivo. Se revisaron expedientes de 14 pacientes atendidos en Instituto Nacional de Pediatría con diagnóstico de lipofuscinosis. **Resultados:** 100% de los pacientes tenían epilepsia, 79% tipo mioclónica, 100% síndrome demencial, 93% síndrome piramidal y 57% atrofia óptica. La biopsia de tejido fue positiva en 58%, el estudio enzimático en 83%, la evaluación morfológica de médula ósea en 64% y frotis en 33% de los pacientes en que se realizó. **Conclusiones:** En todo paciente con epilepsia mioclónica, síndrome demencial, síndrome piramidal y atrofia óptica debemos sospechar lipofuscinosis. Los estudios de gabinete son poco específicos. El estudio ultraestructural de biopsia de piel tiene una alta especificidad. La medición de la actividad de PPT1 en sangre con papel filtro es una prueba de utilidad en los países que cuenten con ella. Sugerimos el estudio de aspirado de médula ósea ya que encontramos material autofluorescente e histiocitos azul marino que apoyan el diagnóstico, así como el frotis en sangre periférica donde encontramos linfocitos vacuolados.

PALABRAS CLAVE: *lipofuscinosis ceroidea neuronal, perfil clínico, diagnóstico, biopsia de piel, aspirado de médula ósea, frotis de sangre periférica, estudio enzimático.*

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

¿Cuáles son las características clínicas y de gabinete que tienen los pacientes con diagnóstico de lipofuscinosis ceroidea neuronal, en el momento de su ingreso al Servicio de Neurología y Clínica de Epilepsia del Instituto Nacional de Pediatría?

ANTECEDENTES Y MARCO TEÓRICO

La lipofuscinosis ceroidea neuronal (LCN) es un grupo de enfermedades hereditarias neurodegenerativas progresivas, caracterizada por la acumulación de un lipopigmento autofluorescente en neuronas y otros tipos de células^{1,2,3}.

La primera descripción de esta enfermedad se acredita al Dr. Stengel que describió a 4 niños con esta condición. La pérdida visual progresiva y la regresión del desarrollo en este trastorno condujeron a su clasificación como forma de idiocia familiar amaurotica. En 1903, Batten fue el primero en describir claramente la degeneración cerebrotretiniana. En los siguientes años se documentan los elementos patológicos, caracterizados por la pérdida de neuronas corticales y células de Purkinje, y su asociación con la sobrecarga de pigmento autofluorescente que permite su diferenciación con otros síndromes. Entre 1982 y 1988 se establece la necesidad de una categorización adecuada de estos trastornos⁴.

Los avances en la genética molecular han permitido la identificación del gen (y su producto genético) en algunos subtipos y variantes^{4,5}.

La LCN ocurre con distribución mundial, frecuentemente un tipo es predominante de un país específico. Se observa en diferentes grupos étnicos, con predominio de la forma infantil en Finlandia donde se señala una incidencia de 1/13,000 nacimientos⁴. Se ha reportado una frecuencia de hasta uno en 25,000 nacimientos¹. Es la enfermedad neurodegenerativa de sustancia gris de herencia autosómica recesiva más frecuente de la niñez².

Esta enfermedad comprende un grupo de trastornos caracterizados por regresión motora y cognitiva, convulsiones y pérdida visual progresiva^{4,6,7}. La LNC se clasifica en 3 grandes variantes en base a la edad de inicio, presentación clínica y hallazgos morfológicos^{1,3,8}.

CUADRO CLÍNICO

Forma infantil o enfermedad de Santavouri-Haltia-Halberg.

Edad de inicio 8-18 meses. Inicialmente disminución del crecimiento del perímetro cefálico y cambios conductuales. Después rápida pérdida de las habilidades previamente adquiridas, epilepsia mioclónica, hipotonía, ataxia, pérdida visual con degeneración retiniana y atrofia óptica^{1,4,9}.

Forma infantil tardía o enfermedad de Jansky-Bielschowsky y variantes.

Edad de inicio 2-4 años. Retraso del lenguaje y epilepsia (tónico-clónica, ausencia, atónicas y mioclonías) como síntomas principales seguidos de retraso mental, ataxia e hipotonía. La alteración visual es tardía^{1,2,4,9,10}.

Forma juvenil o enfermedad de Batten-Spielmeyer-Vogt-Sjogren

Edad de inicio 4-6 años. Pérdida de la agudeza visual gradual hasta llegar a ceguera en unos años, con atrofia óptica o retinitis pigmentosa¹¹. Después regresión cognitiva y del lenguaje, y epilepsia generalizada o parcial compleja^{1,4,9}.

HALLAZGOS ELECTROFISIOLÓGICOS

En la forma infantil el electronencefalograma (EEG) inicialmente desorganizado y lento, se aplana rápidamente después de 1-2 años y se vuelve isoelectrico a los 4 años. A los 3 años los potenciales evocados visuales (PEV) y electroretinograma (ERG) están gravemente alterados^{4,12,13}.

En la forma infantil tardía el EEG al inicio es normal pero progresivamente se desorganiza con puntas-ondas agudas y polipuntas generalizadas, puntas en región occipital durante estímulo lumínico a baja frecuencia (3-4Hz) que desaparece en etapas avanzadas de la enfermedad^{2,4}. El ERG está alterado 1 año después de iniciados los síntomas.

En la forma juvenil el EEG revela salvos de ondas lentas, de puntas lentas y ondas agudas en un fondo desorganizado y de baja amplitud. El ERG está alterado desde las primeras etapas de la enfermedad^{4,11,13,14}.

NEUROIMAGEN

Se encuentra atrofia cerebral de grado variable y progresiva, así como atrofia cerebelosa. En la IRM se ha encontrado hiperintensidades periventriculares, además de hipointensidad talámica y de ganglios basales, sobre todo en la forma infantil tardía^{4,9,15,16}.

HISTOPATOLOGÍA

La sobrecarga de lipopigmento autofluorescente en diversos órganos, y principalmente las neuronas y células retinales, representa el rasgo característico de la LNC en humanos y modelos animales⁴. El estudio ultraestructural muestra diversos tipos de inclusiones localizadas en varias células (neuronas, macrófagos, media arteriolar, fibras musculares estriadas, etc) y se aprecia cierta correlación entre la forma clínica y el tipo de inclusiones. En la forma infantil depósitos granulares osmiofílicos, en la infantil tardía cuerpos curvilíneos y en la juvenil "huellas dactilares"^{1,4,17,18}.

ESTUDIOS MOLECULARES

Se han reconocido al menos 8 formas de LCN (denominadas LCN 1 hasta LCN 8) y son causadas por mutaciones autonómico recesivas en genes designados CLN1 a CLN8 respectivamente. El primer gen identificado como responsable es el de la forma infantil de NCL (la forma más severa de NCL) fue identificado como LCN1 y codifica para una enzima lisosomal soluble denominada proteína palmitoil thioesterasa 1 (PPT1). Este gen se encuentra mapeado en el humano en el cromosoma 1p32. su función es remover los ácidos grasos de cadena larga de los residuos de cisteína modificados en las proteínas. Esta función sugiere que la actividad de esta enzima y la observación de que los ésteres de ácidos grasos de cisteína acumulados en las células derivadas de pacientes con estos padecimientos. La actividad de proteína palmitoil thioesterasa 1 (PPT1) fue detectada en fibroblastos, leucocitos, linfoblastos, células del líquido amniótico, pero fue deficiente en tejidos de pacientes con la forma LCN1^{19,20}.

En años posteriores se asociaron otros genes causantes de este padecimiento: LCN2 responsable de la forma infantil clásica tardía y que codifica para una proteína de 563 residuos de aminoácidos con un peso molecular de 46 kDa. La secuencia completa ya ha sido reportada y el gen se encuentra en el cromosoma 11p15.5 y contiene 13 exones en 6.65 kb de DNA genómico. La comparación de la secuencia sugiere que la proteína codificada es una peptidasa lisosomal insensible a pepstatina¹¹. El gen CLN3 produce la forma juvenil; fue aislado por el Consorcio Internacional de la Enfermedad de Batten (IBDC) en 1995. Este gen codifica para una proteína hidrofóbica con 6 dominios transmembranales con 438 aminoácidos²¹. Actualmente se han identificado 25 mutaciones y 2 polimorfismos presentes en este gen. El gen se aisló con

los marcadores microsatélites D16S288 y D16S383 y se localizó en el cromosoma 16p12.1-p11.2.

El gen CLN5 se encuentra mapeado en el cromosoma 13q21.1-q32. En 1996, Varilo pudo rastrear la edad de las mutaciones en una región del suroeste de Ostrobothnia, una población aislada, por la distribución geográfica en 18 familias con el gen CLN5 afectado y demostró que el antecesor emergió en varias ocasiones hace 500 años ó de 20 a 30 generaciones atrás²².

Un sexto locus cromosómico ha sido bien caracterizado (CLN6) y dos más (CLN4 y CLN7) tienen hallazgos clínicos que sugieren que son diferentes genes.

Por último, el gen CLN8 se encuentra localizado en el cromosoma 8p23. Codifica para una proteína putativa de membrana que contiene 286 aminoácidos localizados en el retículo endoplásmico. Una localización fuera del retículo endoplásmico sugiere que hay una polarización en las células neuronales y que puede estar involucrada en la biosíntesis y transporte de lípidos, pero su función aún es desconocida²³. Se asocia al cuadro clínico de la forma adulta.

Para el 2001 treinta y ocho mutaciones y siete polimorfismos se han reportado en los genes neuronales que subyacen a la LCN, incluidas 11 nuevas mutaciones. Un total de 114 mutaciones y 28 polimorfismos se han descrito en los cinco genes humanos identificados que causan LCN. Treinta y ocho mutaciones se registran para CLN1/PPT; 40 para CLN2/TTP-1, 31 para CLN3, cuatro para CLN5, uno para CLN8. Dos mutaciones se han descrito en los genes de animales (cln8/mnd, CTSD). Todas las mutaciones en los genes CLN figuran en NCL Mutation Database (<http://www.ucl.ac.uk/NCL>)²⁴.

ESTUDIOS ENZIMÁTICOS

Recientemente se ha desarrollado un ensayo fluorométrico de la enzima PPT1 que muestra clara deficiencia de la enzima en material de pacientes con LCN infantil (variante Finlandés y no Finlandés) así como en la LCN juvenil con depósitos granulares osmofílicos. Así como un ensayo fluorogénico para tripeptidil-peptidasa 1 (TPP-1) que facilita el diagnóstico de LCN infantil tardía tanto pre como postnatal²⁵. La medición de la actividad de PPT1 y TPP-1 en linfocitos y fibroblastos permite el diagnóstico posnatal definitivo de CLN1 y CLN2²⁶. Como una alternativa al uso de leucocitos, se han descrito recientemente métodos para la determinación de varias enzimas lisosomales en gotas de sangre seca en papel filtro que tienen las ventajas de que sólo necesitan pequeñas cantidades de sangre, son fáciles de manejar, y pueden ser enviados al laboratorio a temperatura ambiente por correo, con poco riesgo de una disminución de la actividad de la enzima. La actividad de PPT1 en controles sanos osciló entre 0,4 a 1,52 nmol / in situ con un valor medio de 0,82 nmol / in situ. Las muestras de los pacientes con CLN1 muestran una actividad de <3% del valor medio de los controles, es decir, valores que fueron 10 veces menor que el valor más bajo del control. No se han detectado resultados falsos positivos con éste método hasta la fecha²⁷.

OTROS MÉTODOS DIAGNÓSTICOS

El frotis de sangre periférica (FSP) incluyendo los linfocitos vacuolados y el examen ultraestructural que muestra la presencia anormal de inclusiones permite hacer el diagnóstico

de LCN²⁸. La ultraestructura en los linfocitos circulantes permite una estrecha correlación clínico-neuropatológica que sólo puede ser superada por los futuros resultados genéticos²⁹.

Desde 1975 se han hecho estudios en el aspirado de médula ósea (AMO) de niños con cuadro clínico de LCN y se ha encontrado el hallazgo de material autofluorescente e histiocitos azules^{30,31,32,33}.

Tipo de lipofuscinosis ceroida neuronal	Naturaleza del material almacenado	Deficiencia enzimática	Locus en gen	Método diagnóstico enzimático	Método diagnóstico molecular	Hallazgos en biopsia de piel	Otros métodos diagnósticos
Infantil (CLN1)	Saposina A y D	Palmitoil protein tioesterasa (PPT1)	1p32	Ensayo enzimático lisosomal	Prueba de ADN de las mutaciones comunes	Depósitos granulares osmiofílicos	
Infantil tardía clásica (CLN2)	Subunidad c mitocondrial de ATPasa sintetasa	Tripeptidil-peptidasa (TPP1)	11p15.5	Ensayo enzimático lisosomal	Prueba de ADN de las mutaciones comunes	Depósitos de cuerpos curvilíneos, combinado con "huellas dactilares".	
Juvenil (CLN3)	Subunidad c mitocondrial de ATPasa sintetasa	Proteína transmembrana lisosomal (Battenina)	16p12	No disponible	Prueba de ADN de las mutaciones comunes	Inclusiones de "huellas dactilares".	Vacuolas numerosas y grandes en linfocitos e inclusiones de "huellas dactilares" a la microscopía electrónica.
Adulta (CLN4)	Subunidad c mitocondrial de ATPasa sintetasa	Desconocida		No disponible	No disponible	Depósitos granulares osmiofílicos	
Infantil tardía (Variante Finlandesa) (CLN5)	Subunidad c mitocondrial de ATPasa sintetasa	Proteína transmembrana	13q31-32	No disponible	No disponible		
Infantil tardía (Variante India) (CLN6)	Subunidad c mitocondrial de ATPasa sintetasa	Proteína transmembrana endoplásmica	15q21-23	No disponible	No disponible		
Infantil tardía (Variante Turca) (CLN7)	Subunidad c mitocondrial de ATPasa sintetasa	Proteína transmembrana protein CLN 8	8p23	No disponible	No disponible		
Epilepsia progresiva con retraso mental (EPMR), northern epilepsy syndrome (CLN 8)	Subunidad c mitocondrial de ATPasa sintetasa	Proteína transmembrana protein CLN 8	8p23	No disponible	Prueba de ADN de las mutaciones comunes		
Variante juvenil (CLN 9)	Desconocido	Desconocido	Desconocido	No disponible	No disponible		

Tomado de ^{18 y 33}.

JUSTIFICACIÓN

La LCN es la causa más común de enfermedad degenerativa de la sustancia gris a nivel mundial. Existen diferencias fenotípicas y genotípicas que producen dificultad en el diagnóstico clínico temprano. Los estudios de gabinete pueden ser de utilidad para apoyar el diagnóstico aunque no son específicos. La biopsia de tejido, es un procedimiento invasivo que si bien confirma el diagnóstico, muchas veces es informada como negativa y se necesita de su repetición. Se requiere infraestructura de 3er-4to nivel para el estudio de estos pacientes ya que es indispensable la utilización de microscopía electrónica para su evaluación.

La evaluación morfológica de médula ósea es un procedimiento sencillo que permite confirmar el diagnóstico de diversas enfermedades lisosomales dentro de las que se incluye la LCN, ya que en éste padecimiento se encuentra de manera característica alteraciones en los macrófagos conteniendo en su citoplasma material ceroides el cual es fuertemente autofluorescente y PASHiff positivo.

OBJETIVOS

O. General:

Describir las características clínicas y de gabinete que tienen los pacientes con diagnóstico de lipofuscinosis ceroides neuronal, en el momento de su ingreso al Servicio de Neurología y Clínica de Epilepsia del Instituto Nacional de Pediatría del 01 de enero de 1996 al 01 de enero del 2009.

O. Específicos:

Describir las características clínicas en los pacientes con diagnóstico de lipofuscinosis ceroides neuronal, en el momento de su ingreso al Servicio de Neurología y Clínica de Epilepsia

Describir los hallazgos neurofisiológicos y de neuroimagen de los pacientes con diagnóstico de lipofuscinosis ceroides neuronal, en el momento de su ingreso al Servicio de Neurología y Clínica de Epilepsia.

Describir los hallazgos histomorfológicos en médula ósea y sangre periférica de los pacientes con diagnóstico de lipofuscinosis ceroides neuronal, en el momento de su ingreso al Servicio de Neurología y Clínica de Epilepsia.

Describir los hallazgos histomorfológicos en biopsia de piel de los pacientes con diagnóstico de lipofuscinosis ceroides neuronal, en el momento de su ingreso al Servicio de Neurología y Clínica de Epilepsia.

Describir los resultados de la prueba enzimática para PPT-1 y TPP-1 de los pacientes con diagnóstico de lipofuscinosis ceroides neuronal, en el momento de su ingreso al Servicio de Neurología y Clínica de Epilepsia.

MATERIAL Y METODO

DISEÑO Y TIPO DE ESTUDIO

Es un estudio descriptivo, transversal y retrospectivo: serie de casos.

VARIABLES:

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Tipo	Escala
Estado de origen	Lugar donde nace originalmente una persona o una cosa.	Estado de la República Mexicana donde nació el paciente.	Cualitativa, nominal, politémica.	1=Aguascalientes, 2=Baja California Norte, 3=Baja California Sur, 4=Campeche, 5=Chiapas, 6=Chihuahua, 7=Coahuila, 8=Colima, 9=Distrito Federal, 10=Durango, 11=Edo México, 12=Guanajuato, 13=Guerrero, 14=Hidalgo, 15=Jalisco, 16=Michoacán, 17=Morelia, 18=Nayarit, 19=Nuevo León 20=Oaxaca, 21=Puebla, 22=Querétaro, 23=Quintana Roo, 24=San Luis Potosí, 25=Sinaloa, 26=Sonora, 27=Tabasco, 28=Tamaulipas, 29=Tlaxcala, 30=Veracruz, 31=Yucatán, 32=Zacatecas
Sexo	Conjunto de características de un animal o una planta por las que se distingue entre individuos machos y hembras que producen células sexuales (o gametos) masculinas o femeninas.	Femenino y masculino	Cualitativa, nominal, dicotómica	1=femenino, 2=masculino
Antecedentes familiares de la enfermedad	Antecedente de algún familiar con enfermedad hereditaria.	Antecedente de cuadro clínico sospechoso de LCN en algún familiar del paciente	Cualitativa, nominal, dicotómica	0=no, 1=sí
Consanguinidad entre los padres	Es la relación de sangre entre dos personas: los parientes consanguíneos son aquellos que comparten sangre por tener algún pariente común.	Es la relación familiar de sangre entre los padres del paciente.	Cualitativa, nominal, dicotómica	0=no, 1=sí
Endogamia	Cruce entre individuos emparentados	Práctica de contraer matrimonio entre	Cualitativa, nominal, dicotómica	0=no, 1=sí

	genéticamente.	personas de ascendencia común. Se refiere a personas de un grupo o comunidad.		
Edad de inicio	Tiempo de existencia desde el nacimiento hasta que inicia el cuadro clínico.	Edad en que se presentó el primer signo o síntoma en el paciente relacionado con el cuadro clínico sospechoso de LCN	Cuantitativa, numérica, continua	Meses de vida.
Edad de dx	Tiempo de existencia desde el nacimiento hasta que se identifica la naturaleza de una enfermedad.	Edad en que se realizó alguna prueba confirmatoria de LCN	Cuantitativa, numérica, continua	Meses de vida.
Epilepsia	Afección neurológica crónica, recurrente y repetitiva, de fenómenos paroxísticos ocasionados por descargas de neuronas cerebrales de forma desordenada y excesiva.	Mioclónica, tónico-clónica, de ausencias, de crisis atónicas, parcial compleja.	Cualitativa, nominal, poltómica	0=no 1=Mioclónica 2=Parcial 3=Tónico-clónica generalizada 4=Tónica 5=Ausencias 6=Espasmos 7=Atónicas
Atrofia óptica	Es una condición que involucra la muerte tisular del nervio que lleva la información de la visión desde el ojo hasta el cerebro.	Al examen de fondo de ojo palidez de papila óptica compatible con lesión del nervio óptico.	Cualitativa, nominal, dicotómica	0=no, 1=sí
Síndrome demencial	Se refiere a un conjunto de enfermedades crónicas en las que hay pérdida de las habilidades previamente adquiridas.	Pérdida de las habilidades previamente adquiridas de más de 3 meses de evolución.	Cualitativa, nominal, dicotómica	0=no, 1=sí
Síndrome piramidal	Conjunto de signos y síntomas que identifican lesión de la vía piramidal o neurona motora superior, caracterizado por alguno de los siguientes: a) déficit motor voluntario, b) debilitación o pérdida de los reflejos cutáneos, c) sincinesias, d) exageración de los reflejos clínicos por percusión, e) aumento de los reflejos nociocectivoflexores, f) hipertonia espástica, g) atrofia por desuso.	La presencia de alguno de los datos mencionados en la definición conceptual permite identificar al síndrome piramidal establecido o no en el paciente.	Cualitativa, nominal, dicotómica	0=no, 1=sí
Síndrome frontal	Conjunto de signos y síntomas producidos por lesión de lóbulo frontal. Esta sintomatología puede ser muy variada dependiendo sobre todo de la localización, extensión, profundidad y lateralidad de la lesión.	La presencia de alguno de los datos mencionados en la definición conceptual permite identificar al síndrome frontal establecido o no en el paciente.	Cualitativa, nominal, dicotómica	0=no, 1=sí

	Se han descrito trastornos afectivos, de carácter, de personalidad, motivación, atención, percepción, memoria, razonamiento, solución de problemas, lenguaje y control de movimiento.			
Síndrome extrapiramidal	Conjunto de signos y síntomas por afección de las vías y centros nerviosos del sistema extrapiramidal, el cual se extiende por fuera e independientemente del sistema piramidal o corticoespinal. Esta red interviene en la regulación de la motilidad involuntaria.	La presencia de alguno de los datos mencionados en la definición conceptual permite identificar al síndrome extrapiramidal establecido o no en el paciente.	Cualitativa, nominal, dicotómica	0=no, 1=sí
Características del síndrome extrapiramidal	Las lesiones del sistema extrapiramidal se manifiestan por: distonias, disquisias, rigidez, corea, atetosis y/o temblor.	Descripción de cuál de las características del síndrome extrapiramidal presenta el paciente.	Cualitativa, nominal, poitómica	1=atetosis 2=distonía 3=corea 4=temblor 5=disquisias 6=rigidez
Microcefalia	El término microcefalia describe el tamaño de la cabeza significativamente por debajo de lo normal para la edad y sexo de una persona, con base en tablas de referencia.	Perímetro cefálico 2 desviaciones estándar por debajo de la que le corresponde para la edad.	Cualitativa, nominal, dicotómica	0=no, 1=sí
Biopsia de piel	Es la obtención de una porción de piel para realizar diversos procedimientos con fines diagnósticos.	Toma o no de biopsia.	Cualitativa, nominal, dicotómica.	0=No, 1=Sí
Resultado de biopsia	La muestra de la biopsia se estudia bajo microscopía electrónica.	El estudio ultraestructural muestra diversos tipos de inclusiones y se aprecia cierta correlación entre la forma clínica y el tipo de inclusiones.	Cualitativa, nominal, dicotómica.	0=negativa 1=positiva
Tipo de inclusiones en la microscopía electrónica de la biopsia de piel	El estudio ultraestructural muestra diversos tipos de inclusiones y se aprecia cierta correlación entre la forma clínica y el tipo de inclusiones.	En la forma infantil depósitos granulares osmiofílicos, en la infantil tardía cuerpos curvilíneos y en la juvenil "huellas dactilares".	Cualitativa, nominal, poitómica.	1=depósitos granulares osmiofílicos 2=cuerpos curvilíneos 3=inclusiones de "huellas dactilares"
Aspirado de médula ósea	Extracción con una aguja de una muestra pequeña de médula ósea (en niños menores de 1 año a nivel de la tuberosidad tibial, de 1 a 6 años en la cresta ilíaca anterior y posterior y, en mayores de 6 años en la cresta ilíaca anterior)	Toma o no de aspirado de médula ósea.	Cualitativa, nominal, dicotómica.	0=No, 1=Sí

	superior).			
Resultado de aspirado de médula ósea	Para examinarla bajo un microscopio de luz con adaptación para epifluorescencia.	Alteraciones en los macrófagos conteniendo en su citoplasma material ceroide el cual es fuertemente autofluorescente y PASHiff positivo.	Cualitativa, nominal, dicotómica.	0=Negativa 1= Positiva
Determinación de PPT-1	Prueba cuantitativa de la enzima Palmitoyl protein thioesterasa, estudio que se hace en muestra de sangre obtenida en papel filtro.	Prueba cuantitativa de la enzima Palmitoyl protein thioesterasa, estudio que se hace en muestra de sangre obtenida en papel filtro.	Cuantitativa, numérica, continua.	Nmoles/SPOT.
Determinación de TPP-1	Prueba cuantitativa de la enzima Tripeptidyl-peptidasa.	Prueba cuantitativa de la enzima Tripeptidyl-peptidasa.	Cuantitativa, numérica, continua.	Nmoles/SPOT.
Tamiz metabólico ampliado	Muestra de gotas de sangre que se toma en una tarjeta de papel filtro grueso y absorbente (calibrado) para estudiar distintas enfermedades.	Se determina: I. Pruebas cualitativas en orina II. Análisis de aminoácidos III. Análisis de ácidos orgánicos IV. Análisis de azúcares reductores V. Cuantificación de mucopolisacáridos. VI. Pruebas complementarias : ácido orótico, lactato, piruvato, acetoacetato, 8-hidroxitirato, actividad de la enzima galactosa 1-fosfatouridiltransferasa, y cuantificación de carnitina.	Cualitativa, nominal, dicotómica.	0=No 1=Si
Resultado del tamiz metabólico ampliado	El resultado de la prueba antes mencionada.	No se ha reportado alteraciones en este estudio en LCN, descarta otras enfermedades.	Cualitativa, nominal, dicotómica.	1=normal, 2=anormal
Aminoácidos en plasma	Prueba de detección que examina las cantidades de aminoácidos en la sangre. Los aminoácidos son los pilares fundamentales para las proteínas en el cuerpo.	Cuantificación de aminoácidos mediante cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC)	Cualitativa, nominal	0=No 1=Si
Resultado de aminoácidos en plasma.	El resultado de la prueba antes mencionada.	No se ha reportado alteraciones en este estudio en LCN, descarta otras enfermedades.	Cualitativa, nominal, dicotómica.	1=normal, 2=anormal
Ácidos orgánicos en orina	Es una prueba efectuada con el método de cromatografía de gas/espectrometría de masa que evalúa niveles de subproductos de microorganismos,	Combina procedimientos cromatográficos y de espectroscopia de masas (aumenta valor analítico). Una sola muestra de orina identifica cientos de compuestos.	Cualitativa, nominal, dicotómica.	0=No 1=Si

	incluyendo varios tipos de bacterias y hongos, anormalidades del ciclo Krebs, niveles de vitaminas, aminoácidos, ácidos grasos y antioxidantes, ayudando a encontrar defectos metabólicos y causas no diagnosticadas de varios trastornos.	Util en acidurias orgánicas.		
Resultado de ácidos orgánicos en orina	El resultado de la prueba antes mencionada.	No se ha reportado alteraciones en este estudio en LCN, descarta otras enfermedades.	Cualitativa, nominal, dicotómica.	1=normal 2=anormal
Electroencefalograma	Registro gráfico de las variaciones de potencial provocados, a nivel del cuero cabelludo, por la actividad del cerebro, espontáneamente o bajo la influencia de diversas estimulaciones.	Desorganizado con puntas-ondas agudas y polipuntas generalizadas, espigas en región occipital durante estímulo lumínico a baja frecuencia (3-4Hz) que desaparece en etapas avanzadas de la enfermedad.	Cualitativa, nominal, poltómica.	1=normal 2=con lentificación generalizada 3=con lentificación focal 4=con actividad paroxística generalizada 5=con actividad paroxística focal 6=focos múltiples 7=paroxístico a la fotoestimulación
Potenciales evocados visuales OD y OI	Son procedimientos neurofisiológicos que se emplean para evaluar la integridad de la vía visual.	Toma o no del estudio.	Cualitativa, nominal, dicotómica.	0=No 1=Si
Resultado de potenciales evocados visuales OD	Obtenidos mediante estimulación con destello ("flash") monocular, la información obtenida por este método es más cualitativa que cuantitativa. Se promedian entre 50 y 100 respuestas y se sobreponen para determinar confiabilidad de respuestas. Se identifican normalmente tres picos, con variación sucesiva de la polaridad negativa-positiva-negativa respectivamente, con latencias de los picos de 70 ms, 100 ms y 135 ms.	Alterados.	Cualitativa, nominal, dicotómica.	1=normal 2=anormal
Resultado de potenciales evocados visuales OI	Obtenidos mediante estimulación con destello ("flash") monocular, la información obtenida por este método es más cualitativa que cuantitativa. Se promedian entre 50 y 100 respuestas y se sobreponen para	Alterados.	Cualitativa, nominal, dicotómica.	1=normal 2=anormal

	determinar confiabilidad de respuestas. Se identifican normalmente tres picos, con variación sucesiva de la polaridad negativa-positiva-negativa respectivamente, con latencias de los picos de 70 ms, 100 ms y 135 ms.			
Electroretinograma	Es un examen que mide la respuesta eléctrica producida por las células retinianas sensibles a la luz; conos y bastones.	Toma o no del estudio.	Cualitativa, nominal, dicotómica.	0=no, 1=sí
Resultado de electroretinograma	Obtenido mediante estimulación con flash. Los fotorreceptores en respuesta generan un componente inicial corneano negativo u onda "a" del ERG, en tanto que las células de Müller son las responsables del componente tardío positivo u onda "b".	Patrón específico para bastones indetectable, respuesta electronegativa máxima, disminución y retraso en la respuesta de los conos, reducción en la relación b:a al estímulo fotópico con flash y ausencia total de respuesta. Cualquiera de éstos resultados se considerará como positivo.	Cualitativa, nominal, dicotómica.	0=normal 1=anormal
Tomografía computarizada del cráneo	Es un método imagenológico que utiliza rayos X para crear imágenes transversales de la cabeza, incluyendo el cráneo, el cerebro, las órbitas y los senos paranasales.	Atrofia cerebral de grado variable, así como atrofia cerebelosa.	Cualitativa, nominal, politémica.	1=normal 2=con atrofia cerebral 3=con atrofia cerebelosa 4=otros hallazgos
Resonancia magnética cerebral	Técnica de diagnóstico por imagen que nos permite valorar alteraciones del sistema nervioso central y se basa en la capacidad de algunos núcleos para absorber ondas de radiofrecuencia cuando son sometidos al efecto de un campo magnético.	Toma o no del estudio.	Cualitativa, nominal, dicotómica.	0=No 1=Si
Resultado de resonancia magnética cerebral.	Dicha capacidad genera una señal que es detectada por un receptor y tratada en un ordenador para producir imágenes.	Atrofia cerebral de grado variable y progresiva, atrofia cerebelosa, encontrado hiperintensidades periventriculares, además de hipointensidad talámica y de ganglios basales.	Cualitativa, nominal, politémica.	1=atrofia cerebral 2=atrofia cerebelosa 3=hiperintensidades periventriculares 4=hipointensidad talámica 5=hipointensidad de ganglios basales 6=otros

CARACTERÍSTICAS DE LA POBLACIÓN ESTUDIADA.

Población

P. objetivo

Expedientes de niños y niñas de 0 a 18 años con diagnóstico confirmado de LCN.

P. elegible

Que asistieron a la clínica de Epilepsia del servicio de Neurología del Instituto Nacional de Pediatría en el período 01 de enero de 1996 al 01 de enero del 2009.

Criterios de selección:

C de inclusión:

1. Expedientes de sujetos con edad de un mes a 18 años de edad
2. De cualquier sexo.
3. Con diagnóstico de LCN confirmado (al menos con uno de los siguientes: biopsia de piel, aspirado de médula ósea, estudio enzimático).

Criterios de Exclusión:

1. Que el expediente no contenga al menos, el 80% de la información que solicita el formato de recolección de datos de este proyecto.

METODO:

Se solicitó en archivo clínico los expedientes que tuvieran diagnóstico de LCN en el período comprendido entre 01 de enero de 1996 y 01 de enero del 2009 y se obtuvieron los datos según la hoja de recolección anexa. El primer paciente diagnosticado en el Instituto Nacional de Pediatría con esta patología fue establecido en 1996. Se eliminaron aquellos expedientes que no cumplieron con los criterios de inclusión. Asimismo, se revisó la bitácora de registro de internamientos hospitalarios y de interconsultas en el Servicio de Neurología.

Se revisaron 4 expedientes de 11 probables encontrando que de todos los datos, 17% no se encuentran en los expedientes. De estos datos faltantes: a) son indispensables para el estudio: ninguno; b) necesarios para el estudio: ninguno; c) deseables para el estudio: tres.

ANALISIS ESTADÍSTICO

En virtud de que se trata de un estudio descriptivo (¿cuales son las características clínicas de la enfermedad?), se realizó análisis univariado de cada una de las variables. En el caso de las variables cuantitativas, se realizó media, mediana, desviación estándar, mínimos y máximos. En el caso de las variables cualitativas se realizó porcentajes y proporciones.

Se elaboraron gráficas de barras, caja y bigote.

ASPECTOS ÉTICOS

Esta investigación es un estudio con riesgo menor que el mínimo dado que se llevó a cabo en expedientes. Sin embargo, el investigador responsable y sus colaboradores nos comprometemos a salvaguardar el anonimato y la confidencialidad de los pacientes cuyos expedientes fueron revisados.

RESULTADOS

Se revisaron 56 expedientes con diagnóstico de LCN en el archivo clínico. Se eliminaron 42 expedientes por no cumplir con los criterios de inclusión, de los cuales 13 expedientes eran de pacientes en quienes se concluyó otro diagnóstico, 2 expedientes eran de pacientes sin sintomatología pero portadores de LCN por estudio enzimático al momento de evaluación y 27 expedientes eran de pacientes en quienes el diagnóstico es aún posible (ya que no se han realizado los estudios para confirmar LCN), por lo tanto 14 expedientes fueron incluidos. No se excluyó ningún expediente, todos tenían el 80% de la información que solicita el formato de recolección de datos.

Se revisaron los expedientes de 14 pacientes con diagnóstico hecho por biopsia de piel, AMO o estudio enzimático. De los 14 pacientes estudiados 7 (50%) eran del sexo masculino. La procedencia de los pacientes se puede revisar en el cuadro número 1. De los pacientes, 4 (29%) tenían antecedentes familiares de lipofuscinosis y 3 (23%) tenían hermanos sintomáticos (de los cuales 2 eran hermanos entre sí). Sólo dos (14%) de los 14 pacientes tiene antecedente de consanguinidad y 7 (50%) de endogamia. La edad de inicio promedio fue de 22 ± 23.6 meses y la mediana de 13 meses (siendo la mínima de 1 mes y la máxima de 6 años); y la edad de diagnóstico promedio de 66 ± 50.4 meses y la mediana de 45 meses (siendo la mínima de 10 meses y la máxima de 13 años). Teniendo una evolución promedio de 44 meses (3 años 8 meses) entre el inicio de los síntomas y la fecha del diagnóstico.

En cuanto al cuadro clínico todos tenían epilepsia, 11 de los 14 pacientes (79%) tenían epilepsia mioclónica. 11 (79%) pacientes presentaban varios tipos de crisis, siendo principalmente mioclónica. Otros tipos presentados fueron: parcial 7 (50%) y tónico clónica 8 (57%). En 8 (57%) pacientes se identificó atrofia óptica. Todos de los pacientes con síndrome demencial, 13 (93%) con síndrome piramidal, 1 (7%) con síndrome frontal, 1 (7%) con extrapiramidal (que se manifestó como atetosis), 6 (43%) con microcefalia.

En cuanto a los estudios neurofisiológicos se realizó EEG a todos los pacientes, ningún estudio fue normal, reportándose lentificación generalizada en 13 (92%), actividad paroxística focal en 4 (29%), focos múltiples en 3 (21%), paroxístico a la fotoestimulación en 2 (14%), actividad paroxística generalizada en 1 (7%) y lentificación focal en 1 (7%). A 9 (64%) pacientes se les realizó electroretinograma siendo en 8/9 de los casos anormal por prolongación de las latencias a y b, y 1 normal. A 10 (71%) pacientes se les realizó PEV, de los cuales 9 (90%) fueron anormales. Las alteraciones fueron de manera bilateral: con disminución de la amplitud de la onda P100 en 3 (30%), prolongación de la latencia de P100 en 6 (60%) y dispersión del potencial en 4 (40%), presentando un mismo paciente más de una de éstas alteraciones. Los PEV anormales se correlacionaron con atrofia óptica por clínica.

En cuanto a estudios de laboratorio para descartar otras enfermedades se les realizó tamiz metabólico a 10 pacientes (71%), siendo normal en 9 (90%) y anormal en 1 (10%) por la presencia de ácido urónico en la orina. Se les realizó aminoácidos en plasma a 8 pacientes (57%) de los cuales 6 (75%) fueron normales y 2 (25%) anormales por tener elevado en uno taurina y en otro aminoaciduria generalizada. Se tomaron ácidos orgánicos en orina a 8 pacientes (57%) siendo normal en todos los casos.

En cuanto a estudios de gabinete se le realizó TAC de cráneo simple y contrastada a 10 de los 14 pacientes (71%), siendo el hallazgo en el 100% de atrofia cerebral y en 2 (20%) de atrofia cerebelosa. Así como RM cerebral a 12 pacientes (86%): encontrando atrofia cerebral en 10 (83%), hiperintensidades periventriculares en 4 (33%), atrofia cerebelosa en 5 (41%), hipointensidad talámica en 1 (8%) e hipointensidad de ganglios basales en 1 (8%). Encontrándose más de un hallazgo en un mismo paciente.

Se les realizó determinación enzimática de PPT1 y TPPI a 6 de los 14 pacientes (43%), siendo la PPT1 normal en 1 paciente (17%) y anormal en 5 (83%) lo que indica en estos 5 pacientes diagnóstico probable de LCN tipo 1. Como ya se mencionó, como a los hermanos de los pacientes con diagnóstico de LCN por prueba enzimática se les realizó también el estudio enzimático, se encontraron 2 enfermos asintomáticos. Todos los pacientes en quienes se realizó TPPI, la prueba fue negativa.

Se les realizó biopsia de piel a 12 (86%) de los 14 pacientes, siendo negativa para lipofuscinosis y normal en 5 (42%) y positiva en 7 (58%). El tipo de inclusiones encontradas por microscopía electrónica en la biopsia de piel fueron: depósitos granulares osmiofílicos en 2 (28%), cuerpos curvilíneos en 6 (86%) e inclusiones de huellas dactilares en 2 (28%); encontrándose más de un tipo de inclusión en un mismo paciente.

Se realizó FSP a 12 de los pacientes (85%) siendo en 4 (33%) positiva por encontrar el hallazgo de linfocitos vacuolados. Se realizó AMO a 11 de los pacientes (79%), siendo en 7 (64%) positiva con los siguientes hallazgos: linfocitos con gránulos azurófilos en el citoplasma, se observan histiocitos azul marino.

Calculamos la especificidad (Esp), sensibilidad (Sens), factor predictivo positivo (FPP) y factor predictivo negativo (FPN) para cada una de las pruebas diagnósticas antes mencionadas en nuestro grupo de pacientes (para ver detalles del cálculo, anexo 4). Estos resultados no son necesariamente definitivos por el tamaño de muestra (cuadro número 2). Se realizó un gráfico de *forrest plot* con estos datos (gráfico número 1).

El estado actual de estos pacientes se desconoce en 7 (50%); 4 (29%) están vivos con la sintomatología y fallecieron 3 (21%).

DISCUSIÓN

La lipofuscinosis ceroides neuronal (LCN) es la forma más frecuente de enfermedad degenerativa del SNC, afecta predominante sustancia gris y está condicionada por depósito lisosomal^{2,4}. Se reconocen 8 variedades génicas, siendo las más comunes en niños CLN1 (por deficiencia de proteína palmitoil thioesterasa 1, PPT1) y CLN2 (por deficiencia de tripeptidil-peptidasa 1, TPPI)^{19,20}.

No hay predominio de sexo como se observa en nuestra serie en que 50% son masculinos. Ocurre con distribución mundial y frecuentemente un tipo de LCN es predominante de un país específico¹, existiendo así una variante finlandesa, una variante india, otra turca, etc. En México se desconoce su frecuencia así como el tipo más frecuente. En este estudio la presentación poblacional no tuvo una predominancia específica, y no es representativa de lo que sucede en el país (cuadro 1), toda vez que nuestro Instituto es centro de referencia nacional con influencia sobre el centro de la República.

Es una enfermedad con herencia autosómica recesiva², por ello es importante investigar antecedentes familiares de la enfermedad, así como consanguinidad y endogamia lo que incrementa el riesgo de que este tipo de enfermedades se presenten. De nuestros pacientes, el 50% tenía antecedente de endogamia, 15% de consanguinidad y de estos 2 grupos el 29% tenía antecedentes familiares con LCN. En un 35% no pudimos documentar ningún antecedente y probablemente representen expresión de *novo*.

La edad de inicio en este grupo de pacientes fue amplia (mínima 1 mes, máxima 6 años) y está determinada por la suma de todos los fenotipos. De acuerdo a la edad de inicio se puede clasificar en forma infantil o enfermedad de Santavouri-Haltia-Halberg (inicio entre 8 y 18 meses), forma infantil tardía o enfermedad de Jansky-Bielschowsky (inicio entre 2 y 4 años) y forma juvenil o enfermedad de Batten-Spielmeyer-Vogt-Sjogren (inicio entre 4 y 6 años)^{1,4}. En esta serie el 64% fueron forma infantil, 21% infantil tardía y 14% juvenil. Al correlacionar esta clasificación por edad con la determinación de PPT-1 que es específica para la forma CLN1 encontramos que de 6 estudios realizados: 3 correspondieron a la forma infantil temprana, 1 a la infantil tardía y 1 a la juvenil. Estos resultados nos demuestran que no existe una correlación absoluta entre la clasificación por edades y el defecto génico específico, por lo que es necesario realizar los estudios bioquímicos y génicos para una adecuada clasificación. La edad de diagnóstico también fue amplia (mínima 10 meses, máxima 13 años) ya que algunos se diagnosticaron antes porque existía el antecedente familiar de la enfermedad. (Gráficos 2 y 3).

Las manifestaciones clínicas identificadas en esta serie coinciden con lo reportado en la literatura^{1,4}, siendo las más frecuentes el desarrollo de epilepsia (mioclónica en un 85%), síndrome demencial, síndrome piramidal y atrofia óptica. (Gráficos 4 y 5).

Los estudios de gabinete pueden ser de utilidad aunque no son específicos. En la literatura se refiere que el EEG con actividad paroxística a la fotoestimulación a baja frecuencia 3-4Hz es sugestivo de LCN^{2,4}, en esta serie sólo el 14% presentó este hallazgo. Esto probablemente fue debido a que se describe que esta respuesta desaparece en etapas tardías de la enfermedad y la evolución promedio de nuestros pacientes al diagnóstico fue de 3 años 8 meses. El hallazgo más frecuente en nuestros pacientes fue lentificación generalizada, lo cual refleja una alteración inespecífica de grado variable en etapas tardías.

Peña y Caraballo refieren alteración de los potenciales evocados visuales y en el electroretinograma de los pacientes con LCN en diferentes estadios de la enfermedad^{2,4}. En esta serie el 90% fueron anormales y se relacionaron con atrofia óptica. La alteración más frecuente (60%) fue prolongación de la latencia P100, a nuestro conocimiento no hay estudios en los que se analicen los hallazgos característicos en los potenciales evocados visuales en pacientes con LCN.

Un paciente (10%) presentó ácido úrico en la orina, otro taurina elevada en sangre y otro aminoaciduria generalizada. Estas son alteraciones no específicas. En pubmed (13:43 hrs; 01/03/2010) no encontramos reportes de alteraciones de este tipo en pacientes con lipofuscinosis con las siguientes palabras MESH: *acid uronic AND lipofuscinosis, plasma taurine AND lipofuscinosis, generalized aminoaciduria AND lipofuscinosis*.

El hallazgo más frecuente por tomografía y resonancia magnética cerebral es atrofia cerebral de grado variable y progresiva, lo cual es similar a los hallazgos en nuestra serie aunque por ser un estudio transversal no se pudo identificar la progresión de la atrofia^{15,16}.

Los hallazgos de microscopía electrónica en biopsia de piel sugieren el diagnóstico de LCN y han sido la base durante muchos años para el diagnóstico, hasta el advenimiento de los estudios bioquímicos y genéticos. A nivel ultraestructural se encuentran diversos tipos de inclusiones localizadas en varios tipos de células y existe relación entre la forma clínica y el tipo de inclusiones. En la forma infantil temprana se encuentran depósitos granulares osmiofílicos, en la infantil tardía cuerpos curvilíneos y en la juvenil "huellas dactilares"^{1,4,26}. En nuestra serie la biopsia se realizó a 86% de los pacientes y fue positiva en el 58%. En nuestro estudio esta prueba tuvo una sensibilidad de 85%; y esto puede ser debido a que depende del sitio de biopsia, la presencia de lipofuscina en las células evaluadas y además es un estudio dependiente del observador y de su curva de aprendizaje. En esta serie encontramos un paciente con depósitos granulares (variedad infantil temprana), 2 pacientes tuvieron cuerpos curvilíneos y ninguno con "huellas dactilares", lo que sugiere que los hallazgos de microscopía electrónica tampoco son específicos de una variante génica.

La evaluación de sangre periférica en busca de los linfocitos vacuolados y su examen ultraestructural que muestra la presencia de inclusiones anormales también sugiere el diagnóstico de LCN²⁸. En nuestra serie se realizó en 85% de los pacientes y fue positivo en 33%; obtuvimos una sensibilidad del 57% dado que incluimos todas las variantes de LCN y una especificidad del 100%, lo cual coincide con lo que se refiere en la literatura²⁹. Aunque Alroy refiere es más útil en la variante CLN 3¹⁸ en nuestro estudio no podemos corroborar dicha afirmación ya que no contamos con el estudio molecular para categorizar las variantes de LCN.

En este estudio se realizó AMO en 79% de los pacientes y fue positivo en 64% ya que se encontró material autofluorescente e histiocitos azules como se refiere en la literatura³⁰⁻³³. La evaluación morfológica de MO es un procedimiento sencillo que apoya el diagnóstico de algunas enfermedades lisosomales, dentro de ellas la LCN; aunque no se reporta en la literatura como parte del protocolo de estudio de la LCN.

La medición de la actividad de PPT1 y TPP-1 en linfocitos y fibroblastos permite el diagnóstico posnatal definitivo de CLN1 y CLN2¹⁹. Este se realizó enviando la muestra a Argentina en donde realizan la medición en gota de sangre seca (papel filtro)²⁷, lo cual nos permitió confirmar el diagnóstico de CLN1 en 5 de 14 pacientes. Ninguna de las pruebas enviadas para TPP-1 fue positiva lo cual sugiere que los pacientes evaluados no presentan la variante CLN 2 de LCN. Obtuvimos que en este estudio tiene una especificidad del 100% que coincide con lo reportado en la literatura²⁷.

Las pruebas más sensibles en nuestro estudio resultaron la biopsia de piel y el estudio enzimático (PPT-1) (gráfico 1), lo que nos indica que si estas pruebas son positivas es alta la probabilidad de que el paciente tenga LCN, pero pueden tener falsos positivos (no es así en el caso del estudio enzimático, ya que tuvo una especificidad del 100%). Estas pruebas son más útiles como tamizaje para el diagnóstico.

Las pruebas más específicas fueron el estudio enzimático (PPT-1) y el FSP (gráfico 1), es decir, si el paciente no tiene LCN estas pruebas serán negativas. Estas pruebas son más útiles para confirmar el diagnóstico. El estudio enzimático resulta entonces muy sensible y específico, siempre tomando en cuenta que el PPT-1 es una prueba exclusiva para CLN1.

El diagnóstico preciso requiere de la identificación del gen alterado²⁰⁻²³. Actualmente no está disponible en nuestro país, pero estamos en proceso de contar con la evaluación génica de las principales variedades de LCN.

En el seguimiento de los pacientes, 7 desertaron, 4 continúan asistiendo a consulta y 3 fallecieron. Estos últimos presentaron inicio temprano (antes de los 18 meses) y cuadro clínico grave.

CONCLUSIONES

- En todo paciente con epilepsia mioclónica, síndrome demencial, síndrome piramidal y atrofia óptica debemos sospechar la posibilidad de LCN.
- Los hallazgos neurofisiológicos más característicos son: electroencefalograma paroxístico a la fotoestimulación, aunque puede no presentarse en estadios tardíos de la enfermedad. Y potenciales evocados visuales así como electroretinograma alterados, sobre todo si hay atrofia óptica.
- Los estudios de neuroimagen evidencian atrofia cortical progresiva.
- Los estudios de gabinete, pueden apoyar el diagnóstico pero son poco específicos.
- El estudio ultraestructural en la biopsia de piel tiene una alta especificidad (en nuestro estudio de 91%) pero puede tener falsos negativos, necesitando su repetición. Además se requiere microscopía electrónica. Los hallazgos ultraestructurales son: depósitos granulares osmiofílicos, cuerpos curvilíneos e inclusiones de "huellas dactilares".
- La medición de la actividad de PPT1 en sangre con papel filtro nos permitió confirmar el diagnóstico de CLN1 en 5 de 14 pacientes, tuvo una sensibilidad de 83% y especificidad de 100% en nuestro estudio, por lo que consideramos es una prueba de utilidad en los países que cuenten con ella.
- Sugerimos el estudio de aspirado de médula ósea y frotis de sangre periférica a los pacientes con sospecha de LCN ya que encontramos material autofluorescente e histiocitos azul marino en el primero y linfocitos vacuolados con ultraestructura característica en el segundo, que apoyan el diagnóstico y pudieran ser pruebas más accesibles.

CRONOGRAMA

Elaboración del protocolo	Marzo-Julio 2009
Presentación al comité de investigación	Agosto 2009
Recolección de datos	Oct 2009-Ene 2010
Análisis de los datos	Febrero 2010
Redacción del manuscrito final	Marzo 2010
Presentación del trabajo final	Marzo 2010

BIBLIOGRAFÍA

1. Wisniewki KE, Kida E, Patxot OF, Conell F. Variability in the clinical and pathological findings in the neuronal ceroid lipofuscinoses: Review of data and observations. *American J of Medical Genetics* 1992; 42: 525-532.
2. Caraballo R, Sologuestua A, Ruggieri VL, Monges S, Cersósimo R, Taratuto AL, Medina C, Fejerman N. Lipofuscinosis cerioidea infantil tardía: aspectos clínicos y electroencefalográficos. *Rev Neurol* 2005;40:135-40
3. Ostergaard JR, Hertz JM. Juvenile neuronal ceroid lipofuscinosis. *Ugeskr Laeger* 1998;160(26):3895-900.
4. Peña JA, Cardozo J, González S, Luna D. Aspectos neurológicos de la ceroidlipofuscinosis. *Rev Neurol* 2000;31(3):283-287.
5. Mole SE. Neuronal ceroid lipofuscinoses. *Eur J Paediatr Neurol* 1997;5-6:187.
6. Taschner PE, Losekoot M, Breuning MH, Hofman I, van Diggelen OP. From gene to disease; from CLN1, CLN2 and CLN3 to neuronal ceroid lipofuscinosis. *Ned Tijdschr Geneesk* 2005;149(6):300-3.
7. Chabrol B. Ceroid-lipofuscinosis: recent notions. *Arch Pediatr* 1997;4(7):671-5.
8. Williams R, Vesa J, Jarvela I, McKay T, Mithison H, Hellsten E, Thompson A, Callen D, Sutherland G, Luna-Battadano D, Stallings R, Peltonen L, Gardiner M. Genetic heterogeneity in neuronal ceroid lipofuscinosis (NCL): evidence that the late-infantile subtype (Jansky-Bielschowsky disease; CLN2) is not an allelic form of the juvenile or infantile subtypes. *Am J Hum Genet* 1993;53:931-935.
9. Santavouri P, Vanhanen SL, Autti T. Clinical and neuroradiological diagnostic aspects of neuronal ceroid lipofuscinosis disorders. *European Journal of Paediatric Neurology* 2001;5(A):157-161.
10. Santavouri P, Rapola J, Nuutila A, Raininko R, Lappi M, Launes J, Herva R, Sainio K. The spectrum of Jansky-Bielschowsky disease. *Neuropediatrics* 1991;22:92-96.
11. Wilkinson ME. Ceroid lipofuscinosis, neuronal 3, Juvenile-Batten disease: case report and literature review. *Optometry* 2001;72(11):724-8.
12. Weleber RG, Gupta N, Trzuppek KM, Wepner MS, Kurz DE, Milam AH. Electroretinographic and clinicopathologic correlations of retinal dysfunction in infantile neuronal ceroid lipofuscinosis (infantile Batten disease). *Mol Genet Metab* 2004;83(1-2):128-37.
13. Larsen A, Sainio K, Aberg L, Santavouri P. Electroencephalography in juvenile neuronal ceroid lipofuscinosis: visual and quantitative analysis. *European Journal of Paediatric Neurology* 2001;5(A):179-183.

14. Collins J, Holder GE, Herbert H, Adams GG. Batten disease: features to facilitate early diagnosis. *Br J Ophthalmol.* 2006;**90**(9):1119-24.
15. Guillén Méndez, SL. Lipofuscinosis ceroide en niños. Asociación clínica con neuroimagen: tomografía axial computarizada de craneoresonancia magnética de encéfalo. Tesis. INP. México, DF. 1995.
16. Autti T, Raininko R, Vanhanen S-L, Santavuori P. Magnetic resonance techniques in neuronal ceroid lipofuscinoses and some other lysosomal diseases affecting the brain. *Current Opinion in Neurology* 1997;**10**:519-524.
17. Galvin N, Vogler C, Levy B, Kovacs A, Griffey M, Sands MS. A murine model of infantile neuronal ceroid lipofuscinosis- Ultrastructural evaluation of storage in the central nervous system and viscera. *Pediatric and Developmental Pathology* 2008;**11**:185-192.
18. Alroy J, Ucci AA. Skin Biopsy: A Useful Tool in the Diagnosis of Lysosomal Storage Diseases. *Ultrastructural Pathology* 2006;**30**:489-503.
19. Lu JY, Hofmann SL. Inefficient cleavage of palmitoyl-protein thioesterase (PPT) substrates by aminothiols: Implications for treatment of infantile neuronal ceroid lipofuscinosis. *Inherit Metab Dis* 2006;**29**:199-126.
20. Voznyi Y, Keulemans J, Mancini G, Catsman-Berrevuets C, Winchester B, Kleijer W, van Diggelen O. A new simple enzyme assay for pre- and postnatal diagnosis of infantile neuronal ceroid lipofuscinosis (INCL) and its variants. *J Medical Genet* 1999;**36**:471-474.
21. Janes R, Munroe P, Mitchison H, Gardiner R, Mole S, Wallace B. A model for Batten disease protein CLN3: functional implications from homology and mutations. *FEBS Lett* 1996;**399**:75-77.
22. Varilo T, Savukoski M, Norio R, Santavuori P, Peltonen L, Jarvela I. The age of human mutation: genealogical and linkage disequilibrium analysis of the CLN5 mutation in the Finnish population. *Am J Hum Genet* 1996;**58**:506-512.
23. Canelli N, Cassandrini D, Bertini E, Striano P, Fusco L, Gaggero R, Specchio N, Biancheri R, Vigeveno F, Bruno, Simonati A, Zara F, Santorelli F. Novel mutations in CLN8 in Italian variant late infantile neuronal ceroid lipofuscinosis: another genetic hit in the Mediterranean. *Neurogenetics* 2006;**7**:111-117.
24. Mole SE, Zhong NA, Sarpong A, Logan WP, Hofmann S, Yi W, Franken PF, van Diggelen OP, Breuning MH, Moroziewicz D, Ju W, Salonen T, Holmberg V, Järvelä I, Taschner PE. New mutations in the neuronal ceroid lipofuscinosis genes. *Eur J Paediatr Neurol* 2001;**5**(A):7-10.
25. Van Diggelen OP, Keulemans JL, Kleijer WJ, Thobois S, Tilikete C, Voznyi YV. Pre- and postnatal enzyme analysis for infantile, late infantile and adult neuronal ceroid lipofuscinosis (CLN 1 and CLN2) *European Journal of Paediatric Neurology* 2001;**5**(A):189-192.

26. Young EP, Worthington VC, Jackson M, Winchester BG. Pre- and postnatal diagnosis of patients with CLN1 and CLN2 by assay of palmitoyl-protein thioesterase and tripeptidyl-peptidase I activities. *European Journal of Paediatric Neurology* 2001; 5(A): 193-196.
27. Lukacs S, Santavuori P, Keil A, Steinfeld R, Kohlschütter A. Rapid and Simple Assay for the Determination of Tripeptidyl Peptidase and Palmitoyl Protein Thioesterase Activities in Dried Blood Spots. *Clinical Chemistry* (2003) 49, 509-11.
28. Anderson GW, Smith VV, Brooke I, Malone M, Sebire NJ. Diagnosis of Neuronal Ceroid Lipofuscinosis (Batten Disease) by Electron Microscopy in Peripheral Blood Specimens. *Ultrastructural Pathology* 2006;30(5):373-78.
29. Goebel HH. Morphologic diagnosis in neuronal ceroid lipofuscinosis. *Neuropediatrics*. 1997;28(1):67-9.
30. Gadoth N, O’Croinin P, Butler JJ. Bone marrow in the Batten-Vogt syndrome. *J Neurol Sci* 1975;25(2):197-203.
31. Miley CE, Gilbert EF, France TD, O’Brien JF, Chun RW. Clinical and extraneural histologic diagnosis of neuronal ceroidlipofuscinosis. *Neurology* 1978;28(10):1008-12.
32. Nakano T, Sakai H, Kinoshita J, Yagishita S, Itoh Y. The fine structure of blood cells in ceroid-lipofuscinosis (Spielmeyer-Vogt’s disease). *Neuropadiatrie* 1979;10(1):56-66.
33. Armstrong D, Gadoth N, Harvey J. Sea-blue histiocytes in canine ceroid-lipofuscinosis (CCL). *Blood Cells* 1985;11(1):151-5.
34. Anderson GW, Smith VV, Malone M, Sebire NJ. Blood film examination for vacuolated lymphocytes in the diagnosis of metabolic disorders; from a single centre retrospective experience of more than 2500 cases. *J Clin Pathol* 2005;58:1305-10.

ANEXO 1. Cuadros.

Cuadro N°1.
Procedencia

	Frecuencia n(%)
Distrito Federal	3 (21)
Estado de México	4 (29)
Guanajuato	1 (7)
Guerrero	1 (7)
Jalisco	1 (7)
Michoacán	1 (7)
Oaxaca	1 (7)
Puebla	2 (14)
Total	14 (100)

Cuadro N°2.

Prueba	Sens	Esp	VPP	VPN
AMO	0.78	0.80	0.73	0.84
FSP	0.57	1.00	1.00	0.84
Biopsia	0.85	0.91	0.92	0.84
PPT-1	0.83	1.00	1.00	0.80

Gráfico N°1. Análisis de Sensibilidad / Especificidad de las Pruebas Diagnósticas

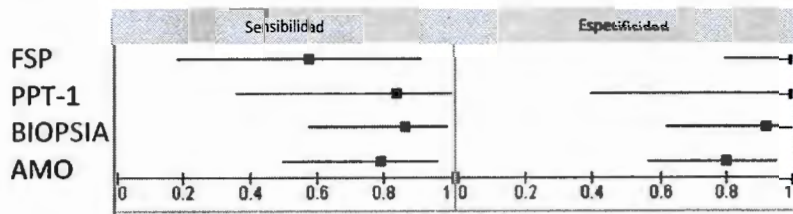


GRAFICO N°2.

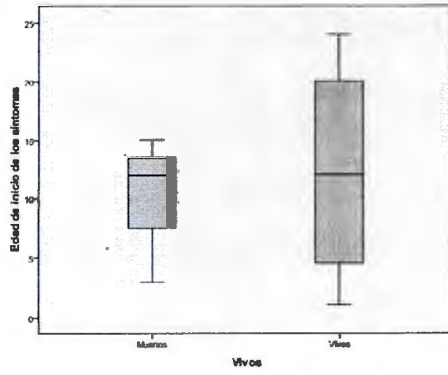
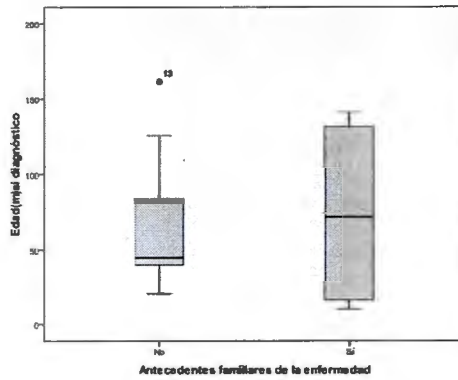
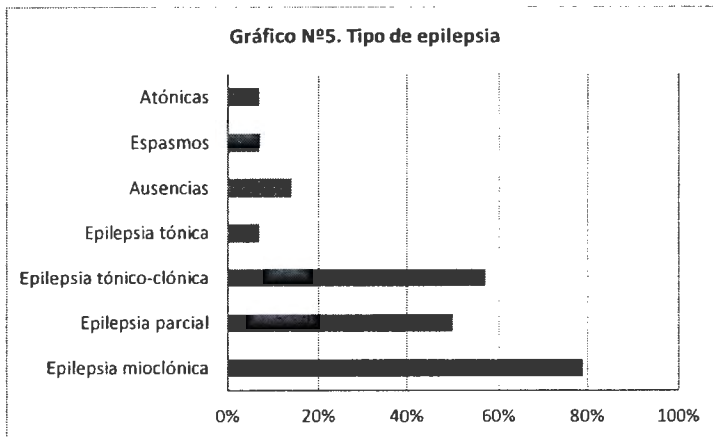
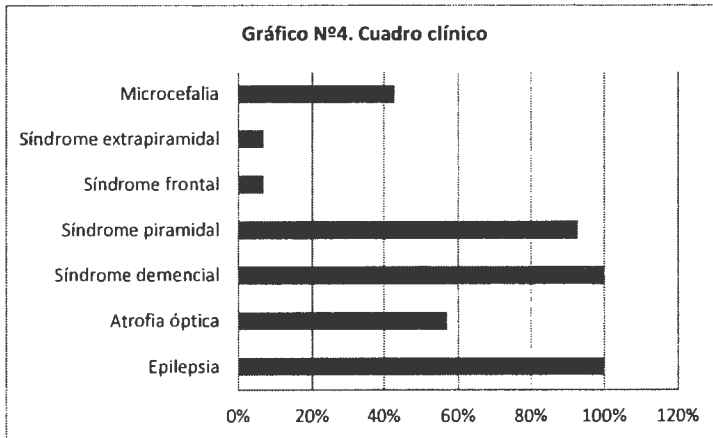


GRAFICO N°3.





ANEXO 3.**FORMATO DE RECOLECCIÓN DE DATOS del protocolo "Caracterización clínica y citomorfológica de la Lipofuscinosis ceroides neuronal" Hoja 1.**

1.-Familia:

2.-Registro:

3.-Nombre:

4.-Lugar de Origen: []

(1=Aguascalientes, 2=Baja California Norte, 3=Baja California Sur, 4=Campeche, 5=Chiapas, 6=Chihuahua, 7=Coahuila, 8=Colima, 9=Distrito Federal, 10=Durango, 11=Estado de México, 12=Guanajuato, 13=Guerrero, 14=Hidalgo, 15=Jalisco, 16=Michoacán, 17=Morelia, 18=Nayarit, 19=Nuevo León, 20=Oaxaca, 21=Puebla, 22=Querétaro, 23=Quintana Roo, 24=San Luis Potosí, 25=Sinaloa, 26=Sonora, 27=Tabasco, 28=Tamaulipas, 29=Tlaxcala, 30=Veracruz, 31=Yucatán, 32=Zacatecas)

5.-Sexo (1=femenino, 2=masculino) []

6.-Fecha de Nacimiento: |__|_|_|_| (dd|mm|aaaa)

7.-Fecha de ingreso al INP: |__|_|_|_| (dd|mm|aaaa)

Hermanos:

Nombre	Sexo (1=Fem, 2=Masc)	Edad	Sintomático (0=No, 1=Si)
8.-	9.-	10.-	11.-
8a.-	9a.-	10a.-	11a.-

12.-Antecedentes familiares de la enfermedad (0=No, 1=Si) []

13.-Consanguinidad de los padres (0=No, 1=Si) []

14.-Endogamia en la comunidad de origen (0=No, 1=Si) []

CUADRO CLINICO

15.-Edad de Inicio de los Síntomas (En meses) |__|_|_|

16.-Edad de Diagnóstico (En meses) |__|_|_|

17.-Epilepsia (0=No) []

1=Micoclónica, 2=Parcial, 3=Tónico-clónica generalizada, 4=Tónica, 5=Ausencias, 6=Espasmos, 7=Atónicas

18.-Atrofia óptica (0=no, 1=si) []

19.-Síndrome Demencial (0=no, 1=si) []

20.-Síndrome Piramidal (0=no, 1=si) []

21.-Síndrome frontal (0=no, 1=si) []

22.-Síndrome Extrapiramidal (0=no, 1=si) []

23.-Características del síndrome extrapiramidal ()

1=atetosis, 2= distonía, 3= corea, 4= temblor, 5= disquinesias, 6= rigidez

24.-Microcefalia (0=no, 1=si) []

LABORATORIO

25.-Biopsia de piel (0=no, 1=si) []

26.-Hallazgos:

27.-Resultado de biopsia de piel (0=negativa, 1=positiva) []

28.-Tipo de inclusiones en la microscopía electrónica de la biopsia de piel []

1=depósitos granulares osmiofílicos, 2=cuerpos curvilíneos, 3=inclusiones de "huellas dactilares"

29.-Médula Osea (0=no, 1=s) []

30.-Hallazgos:

31.-Resultado de aspirado de médula ósea (0=negativa, 1=positiva) []

Resultado del frotis de sangre periférica (0=negativo, 1=positivo) []

Hallazgos:

FORMATO DE RECOLECCIÓN DE DATOS del protocolo "Caracterización clínica y citomorfológica de la Lipofuscinosis ceroides neuronal" Hoja 2.

DETERMINACION DE PPTI, TPP-1

Nombre	Parentesco	PPTI nmoles/SPOT	TPP-1 nmoles/SPOT
32.-	33.-	34.-	35.-
32a.-	33a.-	34a.-	35a.-
32b.-	33b.-	34b.-	35b.-

36.-Tamiz metabólico ampliado (0=no, 1=si) []

37.-Resultado de tamiz metabólico ampliado (1=normal, 2=anormal) []

38.-Hallazgos:

39.-Aminoácidos en plasma (0=no, 1=si) []

40.-Resultado de aminoácidos en plasma (1=normal, 2=anormal) []

41.-Hallazgos:

42.-Acidos orgánicos (0=no, 1=si) []

43.-Resultado de ácidos orgánicos (1=normal, 2=anormal) []

44.-Hallazgos:

GABINETE

45.-Electroencefalograma []

1= normal, 2=con lentificación generalizada, 3=con lentificación focal, 4=con actividad paroxística generalizada, 5=con actividad paroxística focal, 6=focos múltiples, 7=paroxístico a la fotoestimulación.

46.-Hallazgos:

47.-Potenciales Evocados Visuales OD y OI (0=no, 1=si) []

48.-Hallazgos OD:

49.-Resultado de PEV en OD (1=normal, 2=anormal) []

50.-Tipo de alteración en PEV de OD (1=disminución de la amplitud de la onda P100, 2=prolongación de la latencia de P100, 3=dispersión del potencial) []

51.-Hallazgos OI:

52.-Resultado de PEV en OI (1=normal, 2=anormal) []

53.-Tipo de alteración en PEV de OI (1=disminución de la amplitud de la onda P100, 2=prolongación de la latencia de P100, 3=dispersión del potencial) []

54.-Electroretinograma (0=no, 1=si) []

55.-Resultado de ERG (0=negativo, 1=positivo) []

56.-Hallazgos:

57.-Tomografía de cráneo (1=normal, 2=con atrofia cerebral, 3=con atrofia cerebelosa, 4=otros hallazgos) []

58.-Fecha de realización: |_|_|_|_| (dd|mm|aaaa)

59.-Hallazgos:

60.-Resonancia magnética cerebral (0=no, 1=si) []

61.-Resultado de RM cerebral []

1=atrofia cerebral, 2=atrofia cerebelosa, 3=hiperintensidades periventriculares, 4=hipointensidad talámica, 5=hipointensidad de ganglios basales, 6=otros hallazgos

62.-Fecha de realización: |_|_|_|_| (dd|mm|aaaa)

63.-Hallazgos:

64.-Estado actual: (0=se desconoce, 1=vivo, asintomático, 2=vivo, sintomático, 3=falleció).

65.-Fecha de defunción |_|_|_|_| (dd|mm|aaaa) 66.-Ultima cita: |_|_|_|_| (dd|mm|aaaa)

67.-Nombre y firma de la persona que recolecto la información

68.-Fecha: |_|_|_|_| (dd|mm|aaaa)

ANEXO 4.

1. ASPIRADO DE MÉDULA OSEA

		LCN		Total
		+	-	
AMO	+	11	4	15
	-	3	16	19
Total		14	20	34

Valor predictivo positivo= $VP/VP+FP = 11/(11+4) = 0.73$

Valor predictivo negativo= $VN/VN+FN = 16/(16+3) = 0.84$

Sensibilidad= $VP/(VP+FN) = 11/(11+3) = 0.78$

Especificidad= $VN/(VN+FP) = 16/(16+4) = 0.80$

2. FROTIS DE SANGRE PERIFÉRICA

		LCN		Total
		+	-	
FSP	+	4	0	4
	-	3	16	19
Total		7	16	23

Valor predictivo positivo= $VP/VP+FP = 4/(4+0) = 1.00$

Valor predictivo negativo= $VN/VN+FN = 16/(16+3) = 0.84$

Sensibilidad= $VP/(VP+FN) = 4/(4+3) = 0.57$

Especificidad= $VN/(VN+FP) = 16/(16) = 1.00$

3. MICROSCOPÍA ELECTRÓNICA EN BIOPSIA DE PIEL

		LCN		Total
		+	-	
Biopsia	+	12	1	13
	-	2	11	13
Total		14	12	26

Valor predictivo positivo=	$VP/VP+FP= 12/(12+1)=$	0.92
Valor predictivo negativo=	$VN/VN+FN= 11/(11+2)=$	0.84
Sensibilidad=	$VP/(VP+FN)= 12/(12+2)=$	0.85
Especificidad=	$VN/(VN+FP)= 11/(11+1)=$	0.91

4. ESTUDIO ENZIMÁTICO (PPT-1)

		LCN		Total
		+	-	
PPT-1	+	5	0	7
	-	1	4	5
Total		6	6	12

Valor predictivo positivo=	$VP/VP+FP= 5/(5+0)=$	1.00
Valor predictivo negativo=	$VN/VN+FN= 4/(4+1)=$	0.80
Sensibilidad=	$VP/(VP+FN)= 5/(5+1)=$	0.83
Especificidad=	$VN/(VN+FP)= 4/(4+0)=$	1.00