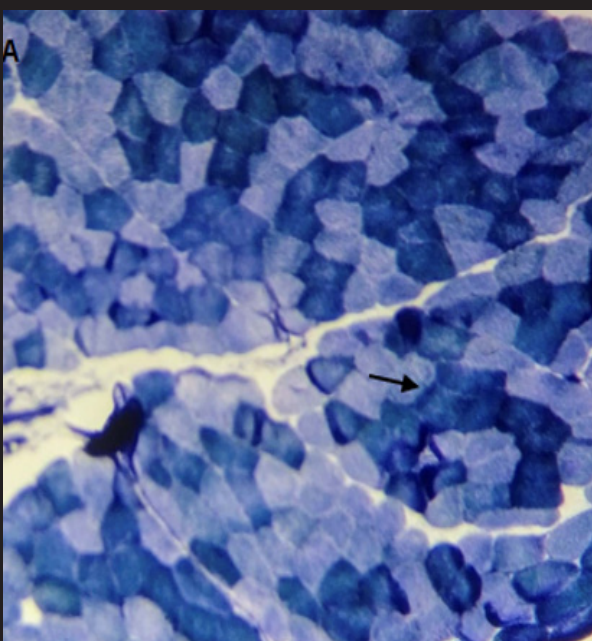
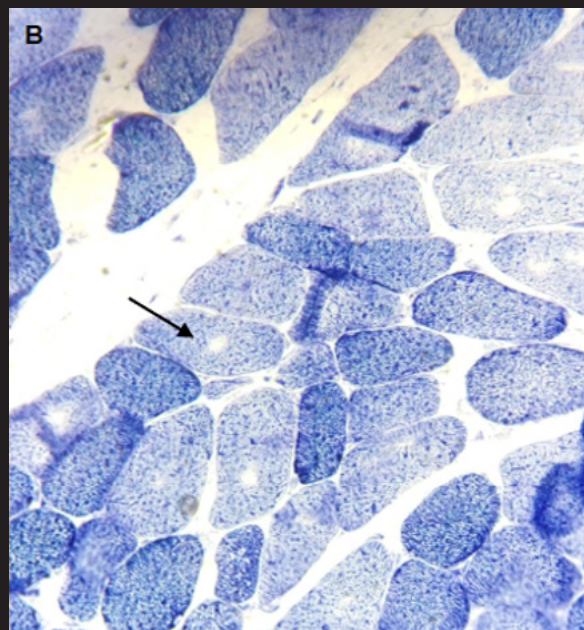


México

ARCHIVOS DE NEUROCIENCIAS

e-ISSN: 2954-4122

VOLUMEN 28 • NÚMERO 1 • AÑO 2023



EDITOR EN JEFE: IVÁN PÉREZ NERI; **GESTORES EDITORIALES:** ELIZABETH LEÓN MANRÍQUEZ; RAMIRO GILBERTO RUÍZ GARCÍA; **AUDITORA INTERNA:** FABIOLA EUNICE SERRANO ARIAS; **GESTORA DE PRODUCCIÓN:** LAURA ELENA GRANADOS VALDEZ; **CORRECCIÓN DE ESTILO:** MARIELA ELIZABETH PÉREZ CASTAÑEDA; **TRADUCCIÓN:** EMMA JULIETA BARREIRO

Directorio

Dr. Ángel Antonio Arauz Góngora
Director General

Dr. Edgar Nathal Vera
Director Médico

Dr. Benjamín Pineda Olvera
Director de Investigación

Dra. Fabiola Eunice Serrano Arias
Directora de Enseñanza

Dra. Karla Avril Osnaya Negrete
Directora de Administración



Editores principales

Sabino Luzzi
University of Pavia (Italia)

Sergio Andrés Castillo-Torres
Fleni (Argentina)

Luis Rafael Moscote Salazar
Grupo Colombiano de Investigación Clínica
en Neurointensivismo (Colombia)

César Álvarez-González
Basel University Hospital (Suiza)

Ulises Coffeen
Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón
de la Fuente Muñiz (México)

Editor en Jefe

Iván Pérez Neri

Gestores Editoriales

Elizabeth León Manriquez
Ramiro Gilberto Ruíz García

Auditora Interna

Fabiola Eunice Serrano Arias

Gestora de Producción

Laura Elena Granados Valdez

Corrección de estilo

Mariela Elizabeth Pérez Castañeda

Traducción

Emma Julieta Barreiro

Archivos de Neurociencias del Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía Manuel Velasco Suárez, volumen 28, número 1, año 2023; es una publicación trimestral editada por el Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía Manuel Velasco Suárez, a través de la Dirección de Enseñanza en Avenida Insurgentes Sur #3877, Colonia La Fama, Alcaldía Tlalpan, C.P. 14269, Ciudad de México. Sitio web: <https://archivosdeneurociencias.org>; correo electrónico: publicaciones@inn.edu.mx Reserva de Derechos al Uso Exclusivo No. 04-2022-090717242000-203, e-ISSN 2954-4122, otorgados por el Instituto Nacional del Derecho de Autor. La última actualización de este número a cargo del director de Reserva de Derechos Alberto Arenas Badillo, con domicilio en calle Puebla número 143, Col. Roma, Alcaldía Cuauhtémoc, C.P. 06700, Ciudad de México. Editor responsable: Dr. Iván Pérez Neri, correo electrónico: publicaciones@inn.edu.mx Teléfono: (55) 5606-3822, ext. 3009. Fecha de la última actualización de este número 7 de septiembre del 2022. Los conceptos, procedencia y exactitud de los datos en los escritos publicados son responsabilidad exclusiva de sus autores.



<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>

2023 © Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía Manuel Velasco Suárez. Esta obra está bajo una licencia de acceso abierto Creative Commons Atribución-NoComercial 4.0 Internacional (CC BY-NC 4.0) que permite el uso, distribución y reproducción en cualquier medio, siempre que el trabajo original sea correctamente citado. No se permite la reutilización comercial. Datos Legales e-ISSN: 2954-4122

Contenido

Arch Neurocién (Mex) | e-ISSN 2954-4122 | Volumen 28, número 1, año 2023

		Página
	EDITORIAL	
1	Del estudio de la esquizofrenia a la creación de algoritmos <i>Iván Pérez Neri</i>	4
	CARTA AL EDITOR	6
2	El constructo de la teoría de la mente <i>López-Valdés Julio César, Jiménez-Ponce Fiacro</i>	
	ARTÍCULO ORIGINAL	
3	Olfactory impairment in Parkinson disease using culture-relevant products: making the case for a Moroccan Smell Identification Test (MoroSIT) <i>Chraa Mohamed, Imizgue Hanane, Klevor Raymond, Kissani Najib</i>	8
4	Miopatías genéticas en adultos: experiencia de un centro de tercer nivel en México <i>Vargas-Cañas Edwin Steven, Martínez-Jiménez Eunice, Galnares-Olalde Javier Andrés, Fernández-Valverde Francisca, de Saráchaga Adib Jorge, Bazán-Rodríguez Lisette, Benítez-Alonso Edmar, López-Hernández Juan Carlos</i>	13
5	Intra-striatum lodoxamide produced conditioning place preference in rats via GPR35 independent mechanisms <i>Díaz-Barba Alejandro, Guerrero-Alba Raquel, Quintanar J. Luis, Marichal-Cancino Bruno A.</i>	20
	SÍNTESIS DE EVIDENCIAS	
6	Role of manganese in the pathophysiology of hepatic encephalopathy: scoping review protocol <i>Pérez-Neri Iván, Sandoval Hugo, Malvaso Antonio, Indika Neluwa-Liyanage R., Alarcon-Ruiz Christopher A., Ebrahimian Manoochehr, Ríos Camilo</i>	25
	REPORTE DE CASO	
7	Percheron artery syndrome, case report and literature review <i>León-Vallejo Sebastián, Anzures-Gómez Perla Karina, Camacho-Becerra César, Reyes-Ortega Daniel, Torres-Pérez Luis Humberto, González-González Gustavo</i>	31
8	Kambo Frog Poisoning in Mexico <i>San-Juan Daniel, Martínez-Piña Daniel Arturo</i>	34
	IMÁGENES EDUCATIVAS	
9	Craniorachisis totalis, rare neural malformation <i>López-Valdés Julio César</i>	37

DEL ESTUDIO DE LA ESQUIZOFRENIA A LA CREACIÓN DE ALGORITMOS

Pérez-Neri Iván¹ 

1. Departamento de Neuroquímica,
Instituto Nacional de Neurología
y Neurocirugía Manuel Velasco
Suárez.

Correspondencia

Iván Pérez-Neri
Departamento de Neuroquímica,
Instituto Nacional de Neurología y
Neurocirugía Manuel Velasco Suárez.
Insurgentes Sur 3877, Col. La Fama,
Alcaldía Tlalpan. CP 14269. Ciudad
de México, México.

✉ ipneri03@gmail.com

Conflictos de intereses

No se presentan conflictos de intereses
por el presente manuscrito.

Financiamiento

El presente manuscrito no recibió
financiamiento de parte de ninguna
entidad comercial, académica o
gubernamental.

Contribuciones de los autores

I.P.N. aportó la idea original, redactó el
manuscrito, revisó y aprobó su versión
final.

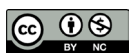
Hacia el final de mis estudios de licenciatura debía entregar un trabajo de investigación sobre las bases genéticas de alguna enfermedad y elegí la esquizofrenia. Un día que me encontraba en la biblioteca de mi facultad estudiando ese tema se acercó a mí una compañera y, cuando le comenté sobre mi trabajo, me preguntó algo que hasta ese momento no podía contestar con mucha certeza: ¿la esquizofrenia se hereda? Me comentó que su padre padecía esta condición, por lo que era de su interés.

Al terminar mi licenciatura tenía claro que quería investigar sobre las bases biológicas de los trastornos mentales y busqué en diferentes instituciones un proyecto de tesis que las abordara. Así llegué al Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía Manuel Velasco Suárez, donde me dieron una cita con el entonces director de investigación, el Dr. Camilo Ríos Castañeda, quien me comentó que había comenzado, en colaboración con el Dr. Jesús Ramírez Bermúdez, el estudio de una reacción bioquímica que se creía alterada en la esquizofrenia: la síntesis del óxido nítrico. Acepté sin pensarlo dos veces, parecía el proyecto ideal para mí.

A la fecha, la colaboración con los doctores Ríos y Ramírez le ha dejado a nuestro grupo de investigación numerosas publicaciones en revistas y libros científicos, así como presentaciones en congresos nacionales e internacionales.

Jesús Ramírez Bermúdez se convirtió en uno de mis maestros. Hijo de un renombrado escritor, Ramírez es un personaje destacado en los ámbitos de la psiquiatría, la investigación científica y la literatura. Esto me llevó recientemente a la publicación de un libro basado en mi tesis doctoral, que incluye ilustraciones digitales, reproducciones de óleos y grabados junto con fotografías artísticas, además de un prólogo de Jesús Ramírez.

También soy aficionado a la lectura. Una de mis mayores influencias ha sido *Gödel, Escher, Bach: un eterno y grácil bucle*, de Douglas Robert Hofstadter. A raíz de esta obra, ha surgido en mí un interés incansable en los simbolismos, que me ha llevado al desarrollo de un proyecto que pretende ser punto de convergencia entre la ciencia y el arte: la creación de algoritmos que permitan convertir textos en música; esto ha generado a la fecha once composiciones musicales, la más reciente de ellas basada en la secuencia genética de una proteína involucrada en la enfermedad de Parkinson: monoamino oxidasa B.



Quizá por ser hijo de un periodista considero que la difusión de la ciencia es una labor muy valiosa, por lo que creo que es lamentable que durante muchos años a los(as) investigadores(as) no se nos haya reconocido esa participación como parte de nuestra productividad. En mi opinión, la interacción estrecha entre científicos(as) y periodistas es fundamental para que el conocimiento que podemos generar sea accesible para la sociedad.

Eventos como el Seminario Iberoamericano de Periodismo Científico, organizado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), se han enfocado en la especialización de los periodistas en temas científicos, sin embargo, existen pocas alternativas para capacitar al(la) investigador(a) en actividades de difusión de la ciencia (ver, por ejemplo, <https://somedicyt.org.mx/cursos-en-linea/>), aún cuando dicha labor también lo requiere.

El libro que he publicado en el 2015, [que mencioné](#) previamente, empieza con una imagen que me inspira muchas ideas: *El Visionario*, un óleo sobre madera de Mauricio Soltero, que ilustra a un sujeto que carece de ojos pero observa a través de sus manos.

Hacia el futuro, imagino el día en que no [tengan](#) que existir por separado dos Sistemas Nacionales, uno de investigadores y otro de creadores de arte, sino que [se conformara](#) un solo sistema de creación intelectual que incluyera a los que hacemos investigación en ciencias o en periodismo, a los practicantes de cualquier disciplina artística [y](#), especialmente, a quienes trasciendan esas etiquetas de manera multidisciplinar.

La experiencia moldea el camino de un investigador. Fijar el inicio y el destino de una trayectoria es importante para avanzar con firmeza, pero sobre la marcha se toman y se dejan muchas cosas que pueden cambiar la ruta que se sigue. En el terreno de la ciencia, todos los caminos se construyen de nuevo cada vez que son recorridos.

Artículo sin conflicto de intereses

© Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía
Manuel Velasco Suárez

EL CONSTRUCTO DE LA TEORÍA DE LA MENTE

López-Valdés Julio César^{1,2} ✉ | Jiménez-Ponce Fiacro³

1. Departamento de Neurocirugía, Hospital Central Sur de Alta Especialidad, Petróleos Mexicanos (PEMEX), Ciudad de México, México.

2. Departamento de Investigación, Facultad de Medicina de Tampico "Dr. Alberto Romo Caballero", Universidad Autónoma de Tamaulipas, Tampico, Tamaulipas.

3. Departamento de Investigación, Subdirección de Regulación y Atención a Hospitales, Instituto de Seguridad y Servicios Sociales de los Trabajadores del Estado (ISSSTE), Ciudad de México, México.

Correspondencia

Julio César López Valdés
Sagrado 248, Colonia Guadalupe Inn, Tlalpan, C.P. 01020, Ciudad de México.

✉ jc.lopez@live.com

Contribuciones de los autores

JCLV: conceptualización, recolección de datos, investigación, escritura del manuscrito original y revisión del manuscrito final. **FJP:** Investigación, escritura del manuscrito original y revisión del manuscrito final.

Responsabilidades éticas

Los autores declaran que para esta investigación no se han realizado experimentos en seres humanos ni en animales.

Los autores declaran que han seguido los protocolos de su centro de trabajo sobre la publicación de datos de pacientes.

Los autores declaran que en este artículo no aparecen datos de pacientes.

Conflictos de intereses

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

Financiamiento

La presente investigación no ha recibido ayudas específicas provenientes de agencias del sector público, sector comercial o entidades sin ánimo de lucro.

Palabras clave: teoría de la mente, lectura de mentes, faux pas

Je pense, donc je suis
René Descartes, *Discours de la méthode* (1637)

Señor Editor:

Tras haber leído el manuscrito titulado "Mente y cerebro: de los egipcios a Cajal y los neuromitos", escrito por nuestro par Parra-Medina,¹ coincidimos con el autor en relación con el avance que originaron las aportaciones de algunos filósofos previos al pensamiento de Santiago Ramón y Cajal (1852-1934), así como aquellas que el médico español generó; sin embargo, debemos mencionar que, a pesar de la falta de conocimiento acerca de una localización primaria bien definida para la conciencia y / o la mente humana, hoy en día la comprensión sobre la "cognición social" mediante las preguntas: ¿qué son los estados mentales?, ¿cómo son representados?, y, ¿cómo nuestro cerebro nos permite entender otras mentes?, se ha convertido en un tema importante para la investigación médica y psicosocial, y ha tenido como consecuencia el nacimiento del constructo denominado teoría de la mente (ToM, por sus siglas en inglés). Esta teoría busca explicar la capacidad mental innata para atribuir estados cognitivos a situaciones cotidianas, tanto para uno mismo (meta-cognición y meta-representación) como para otros sujetos; es decir, representa un mecanismo teórico creado para explicar la racionalidad humana dentro de un entorno social. Es así como la teoría de la mente, también conocida como "pensamiento maquiavélico", "mindreading", "mentalizing", "théorie de l'esprit", entre otros, es un concepto multidimensional, utilizado para referirse al sistema complejo de la cognición del ser humano, que actúa como un determinante clave en la autoorganización y la regulación afectiva; esto es, nos permite conducirnos de manera práctica como interactores sociales al representar una importante habilidad para interpretar, comprender, predecir y controlar el comportamiento de nosotros y los demás dentro de los escenarios de la vida diaria.² A su vez, la ToM tiene participación en los procesos mentales referentes a la sensatez de las creencias, deseos, sentimientos y emociones (ej. religión, dolor, amor, odio, engaño, decepción, etcétera). Por tal motivo, se han propuesto dos sistemas o subprocesos neuronales implicados: el componente cognitivo ("frío") y el componente afectivo ("caliente"), según dicha propuesta, el proceso de cognición social requiere de ambas partes intactas para completar el adecuado funcionamiento de la mente humana, así como para comprender la perspectiva emocional, visual o cognitiva de otro individuo.²⁻⁷

Algunos autores han propuesto que el desarrollo de la ToM es un mecanismo innato que se activa durante el segundo año de vida, y solo se dirige al razonamiento del estado mental (módulo de la teoría de la mente, ToMM, según sus siglas en inglés); sin embargo, al igual que en la teoría de la adaptación evolutiva, la génesis y la maduración de la red neuronal podrían ser moduladas por la experiencia.² Además, este sistema nativo origina el "autorreconocimiento" y la "metarepresentación" dentro del proceso cognitivo, es decir, las facultades metacognitivas surgen con el desarrollo de la teoría de la mente, una conciencia del "yo" mismo dentro del contenido de las mentes de otras personas. Pando-Orellana⁸ explica que nuestro cerebro necesita algunas conexiones capaces de



detectar señales moleculares, desde el interior de nosotros mismos, o externas, por ejemplo, idiomas o ideas. Estos procesadores mentales sufren un desarrollo adaptativo para formar una asociación de por vida que, a su vez, establece interacciones entre los procesos geológicos y atmosféricos. En otras palabras, los modelos con los que el cerebro compara la información son el producto de la experiencia en la vida diaria (aprendizaje) de una persona promedio.

Desde el punto de vista epistemológico, el fenómeno de teoría de la mente se ha tratado de explicar desde dos visiones filosóficas.⁸ El reduccionismo sostiene que la realidad, incluyendo los fenómenos biológicos, puede reducirse a un número mínimo de entidades o componentes básicos. De acuerdo con esta postura el concepto de mente puede y debe interpretarse siempre acudiendo a factores explicativos pertenecientes a niveles de organización más básicos: moléculas, neuronas, microredes neuronales, campo activo, macroredes neuronales, cerebro, y así consecutivamente.

De esta manera, la ToM podría reducirse a las activaciones sinápticas que tienen lugar en diferentes partes del cerebro. Sin embargo, en neurobiología la transición de la función neuronal a un circuito funcional no es siempre predecible. Es evidente que las micro redes y macro redes neuronales poseen diferentes propiedades que pueden deducirse a partir del entendimiento de una neurona. Dicho de otra manera, las propiedades de un circuito exceden la suma de las propiedades de las neuronas que lo conforman, y más aún, las propiedades neuronales representan más que la suma de sus moléculas. De esta manera, el emergentismo propone que cuando crece la complejidad en los distintos niveles de organización aparecen propiedades totalmente nuevas, denominadas propiedades emergentes. El concepto de emergentismo implica que existe una transición de propiedades en cada nivel de organización y, en esencia, esta transición no es explicable a partir de niveles más básicos. Así, la actividad mental, los pensamientos y las experiencias subjetivas emergen de la actividad cerebral.⁹

Ahora bien, desde el punto de vista funcional, los estudios de neuroimagen han proporcionado pruebas de la existencia de una disgregación entre ambos componentes de la ToM, es decir, han evaluado las áreas de procesamiento de la ToM cognitiva versus afectiva al examinar su actividad en respuesta a tareas cognitivas (ej. las “tareas de creencia falsa”) y tareas afectivas (ej. “la tarea *faux pas*”).¹⁰ Dicho esto, según Abu-Akel y Shamay-Tsoory,⁷ existe evidencia respecto a la ubicación del procesamiento afectivo propio a la ToM y su lugar de desarrollo en la corteza prefrontal, la corteza orbitofrontal (área de Brodmann 11/12/47) y la corteza

prefrontal ventral medial (área de Brodmann 10/32). Asimismo, se ha involucrado mayormente a la corteza prefrontal medial dorsal (área de Brodmann 8/9) y la corteza prefrontal dorsal lateral (área de Brodmann 9/46) como las áreas de procesamiento de la ToM cognitiva.¹¹ A su vez, existen conexiones densas entre la amígdala y la participación de la corteza prefrontal ventral medial, corteza orbitofrontal y la corteza frontal inferolateral, que se encuentran fuertemente involucradas en el procesamiento afectivo de la ToM.¹²

Como conclusiones podemos mencionar que, aunque no existe una localización específica para la determinación del origen de la conciencia, o el mismo contenido del pensamiento, podemos establecer la existencia de procesos y subprocesos neuronales que conllevan a la génesis de un concepto filosófico y metacognitivo que nos permite ubicar nuestro pensamiento social. Tal hecho podría explicar el deterioro en las funciones ejecutivas y socio-emocionales (ej. dificultad del lenguaje verbal y no verbal) asociadas a ciertas condiciones neurológicas y psiquiátricas, sin dejar de lado el funcionamiento del cerebro como un todo en las distintas tareas que llevamos a cabo día con día dentro de la sociedad.

Referencias

1. Parra-Medina, LE. Mente y cerebro: de los egipcios a Cajal y los neuromitos. Arch Neurocién (Mex). 2022; 27(2): 52-5. <https://doi.org/10.31157/an.v27i2.341>
2. Mahy CE, Moses LJ, Pfeifer JH. How and where: theory-of-mind in the brain. Dev Cogn Neurosci. 2014; 9: 68-81. <https://doi.org/10.1016/j.dcn.2014.01.002>
3. Abu-Akel A. Neurobiological mapping of theory of mind. Brain Res Rev. 2003; 43: 29-40. [https://doi.org/10.1016/S0165-0173\(03\)00190-5](https://doi.org/10.1016/S0165-0173(03)00190-5)
4. Brune M, Brune-Cohrs U. Theory of mind—evolution, ontogeny, brain mechanisms and psychopathology. Neurosci Biobehav Rev. 2006; 30(4):437-55.
5. Ng R, Fish S, Granholm E. Insight and theory of mind in schizophrenia. Psychiatry Res. 2015; 225(1-2): 169-74. [doi: 10.1016/j.psychres.2014.11.010](https://doi.org/10.1016/j.psychres.2014.11.010)
6. Frith CD, Corcoran R. Exploring 'theory of mind' in people with schizophrenia. Psychol Med. 1996; 26(3): 521-30.
7. Abu-Akel A, Shamay-Tsoory S. Neuroanatomical and neurochemical bases of theory of mind. Neuropsychologia, 2011; 49(11):2971-84.
8. Pando-Orellana LA. Teoría del juego. Rev Mex Neuroci. 2017; 18(2):137-40.
9. Aboites V. Caos, emergentismo y estados mentales: un análisis de la frontera entre la física y la mente. Acta Universitaria. 2009; 19(2): 53-8.
10. Saxe R, Powell LJ. It's the thought that counts: specific brain regions for one component of theory of mind. Psychol Sci. 2006; 17(8): 692-9.
11. Dvash J, Shamay-Tsoory SG. Theory of Mind and Empathy as Multidimensional Constructs Neurological Foundations. Top Lang Disord. 2014; 34(4): 282-95.
12. Baron-Cohen S, Ring HA, Bullmore ET, Wheelwright S, Ashwin C, Williams SCR. The amygdala theory of autism. Neurosci Biobehav Rev. 2000; 24(3):355-64.

Artículo sin conflicto de intereses

© Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía
Manuel Velasco Suárez

FEASIBILITY OF A CULTURE-SPECIFIC MOROCCAN SMELL IDENTIFICATION TEST (MOROSIT): A PROPOSAL USING THE CASE OF PARKINSON DISEASE

Chraa Mohamed^{1,2} | Imizgue Hanane^{1,2} | Klevor Raymond^{1,2}✉ | Kissani Najib^{1,2}

1. Neuroscience Research laboratory, Faculty of Medicine and Pharmacy of Marrakesh, Cadi Ayyad University, Marrakesh, Morocco.
2. Neurology Department, Mohammed VI University Medical Center of Marrakesh, Marrakesh, Morocco.

Correspondence

Raymond Klevor.
Neurology Department, Mohammed VI University Medical Center of Marrakesh.
P. O. Box 2360, Marrakesh, Morocco.

✉ klevorraymond@gmail.com

Abstract

Introduction: No culture-specific standardized olfactory tests exist in Morocco as yet. Olfactory problems are frequent in Parkinson disease.

Aim: To show the feasibility of investigating olfactory impairment using culture-relevant products (indigenous plant extracts) as a preliminary to the creation of a standardized olfactory test.

Method: Analytical cross-sectional study on a group of 69 patients with Parkinson disease, and a group of 66 healthy volunteers, in order to assess odor threshold, odor identification, and odor discrimination in both groups using *Mentha pulegium* and *Lavandula latifolia* extracts.

Results: We observed an increased mean of odor detection threshold in patients compared to healthy subjects ($p < 0.001$). A significant difference was also found in the ability to discriminate odors; a higher number of patients were unable to distinguish between odors ($p < 0.001$). Regarding the odor identification test, 70% of healthy subjects versus 36% of patients were able to correctly identify the test products. The difference was statistically significant ($p < 0.001$).

Conclusions: Our study points to the potential of using indigenous products — with which patients are familiar — in the elaboration of a standardized smell identification screening battery.

Keywords: Parkinson disease, olfaction, sniff test, indigenous plants, *Mentha pulegium*, *Lavandula latifolia*.

Introduction

The interest in olfaction in neurodegenerative diseases has been on a steep rise in recent years.¹ Several studies have assessed the viability of olfaction tests as markers for Parkinson disease. The different approaches used include psychophysical tests, psychophysiological tests, electrophysiological measures and neuroimaging.²⁻⁴ Of these, psychophysical tests are probably the most widely used.⁵ The University of Pennsylvania Smell Identification Test (UPSIT, Sensonics, Inc., Haddon Heights, New Jersey), developed in the early 1980s, and known commercially as the Smell Identification Test, is the psychophysical test applied to a greater extent. It allows for evaluating odor identification using 40 microencapsulated odorants located next to forced-choice questions.⁶

Besides, olfactory tests are of clinical utility beyond the domain of neurodegenerative diseases. Brain trauma and Kallmann

syndrome are other neurological conditions where olfaction could be impaired.^{7,8} In fact, these tests are used in areas other than neurology, as oto-rhino-laryngologists may use them for patients presenting allergies or oral and nasal issues.⁹ Unfortunately, no such test has been elaborated in Morocco.

The aim of our study is to investigate the feasibility of using indigenous plants extracts generated in our laboratory, en lieu of commercial exotic tests, to detect olfactory impairment in patients with Parkinson disease. Olfactory dysfunction is quite frequent in Parkinson disease; with an estimated prevalence of 50 – 90%. The ease of assessing olfactory dysfunction has made it a promising biomarker for the disease. However, studies have shown that assessment results are skewed by cultural factors thus creating the need for more culturally-specific tests. Since no such tests exists in our setting, we seek to use culture-relevant products to assess these impairments.



“2022 © National Institute of Neurology and Neurosurgery Manuel Velasco Suárez. This work is licensed under an Open Access Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International (CC BY-NC 4.0) license that allows use, distribution and reproduction in any medium, provided that the original work is correctly cited. Commercial reuse is not allowed.”

This should serve as a preliminary investigation toward a more sophisticated, population-validated Moroccan Smell Identification Test (MoroSIT).

Patients and Methods

Design

The present study is a cross-sectional analytical investigation conducted in the Movement Disorders Unit of the Neurology Department at the Mohammed VI University Medical Center of Marrakesh, in Morocco.

Participants

The participants comprised a group of 69 patients with Parkinson disease and another group of 66 healthy individuals. Patients were diagnosed with Parkinson disease based on the UK Parkinson disease brain bank criteria at least 6 months prior to the study, and were recruited during consultations in the Movement Disorders Unit. All patients were on L-dopa.

Non-Parkinsonian participants had to be aged over 30, nonsmokers, have no cognitive impairment or a history of brain trauma, stroke or encephalopathy, or any known neurological or non-neurological condition, and no known allergies.

Material and Methods

Three variables were studied: i) odor threshold, ii) odor identification, and iii) odor discrimination.

Test products

The products used were plant extracts produced in the biochemistry laboratory of the Faculty of Medicine and Pharmacy of Marrakesh. Two plants were used: *Mentha pulegium* and *Lavandula latifolia*. Essential oils from these plants are readily available and widely used in Moroccan households as disinfectants, perfumes and balms.

Aerial parts of *Mentha pulegium* and *Lavandula latifolia* were dried at room temperature and sheltered from light and humidity. The essential oils of plant samples were extracted during 2 hours by hydrodistillation using a Clevenger-type apparatus. Fifty percent NaCl was added, and then the supernatant was collected and dried over anhydrous sodium sulphate. The extracts were sealed in dark glass vials and stowed away from heat and light in a refrigerator at 4°C until use.

Various concentrations of essential oils were obtained for each plant. The ratios of extract to distilled water tested were 1:1,

1:10, 1:32, 1:100 and 1:320. Mixtures were then imbibed in Whatman filter paper strips for the tests.

Test sessions

Tests were conducted in a specially prepared consultation room in the Neurology Department. The room was calm and well aerated. Patients were supposed to abstain from food and drink at least half an hour before the session. The researcher washed his hands without soap, and used non scented gloves.

Each test strip was presented to participants, without visual information, 2 cm from their nostrils, for 3-4 seconds.^{10,11} The subjects were then required to sniff no more than twice. Enough time was allowed between each test.

Statistical analyses

The analyzed variables were demographic (age, sex, level of education, residence) and test-specific (odor detection threshold, odor discrimination, odor identification).

For odor threshold, test strips were presented to participants, starting from the lowest to the highest concentration. The lowest concentration at which the subject detects the odor is the odor threshold. Patients were presented alternatively with test strips and blank strips as controls. Correct (+) and wrong (-) responses were recorded.

For odor discrimination, three sets of tests were presented to subjects. Each one comprised a triplet of strips presented in tandem: two mentholated strips and one lavender strip. A correct response (+) required correctly identifying all three odors, otherwise, response was considered wrong (-).

For odor identification, the highest concentrations of the two test products were presented to subjects. Correct (+) and wrong (-) responses were recorded.

Data were collected in Excel spreadsheet. Analysis was performed using SPSS® version 21 (SPSS Inc., Chicago, USA) for Windows®.

Results for threshold, discrimination and identification were compared between patients and healthy subjects. A p-value equal or less than 0.05 was admitted as statistically significant.

Ethics

The study was evaluated and validated by the Ethics Board of the Faculty of Medicine and Pharmacy of Marrakesh. Participants in the present study gave written consent before inclusion in the study.

Results

Demographic data

Our cohort comprised a group of 69 Parkinson disease patients and a group of 66 healthy subjects (Table 1).

Table 1. Demographic characteristics of participants

	Parkinson disease patients	Healthy participants	p-value
Total	69	66	
Male/ female (%)	46/23 (66%/34%)	22/44 (33%/67%)	0.0001
Mean age (years)	59.6±12.4	46.0±11.2	<0.0001
Rural dwelling	39 (57%)	15 (23%)	<0.0001

Test data

We found an increased threshold for odor detection in patients compared to healthy participants ($p < 0.001$). On average, patients required concentrations over 16 times higher than those detected by healthy participants (Figure 1).

A statistically significant difference was found in the ability to discriminate between the two odors; more patients were unable to distinguish between odors ($p < 0.001$) (Figure 2).

For the odor identification test, 70% of healthy participants versus 36% of patients were able to correctly identify the test products. The difference was statistically significant ($p < 0.001$), (Figure 3).

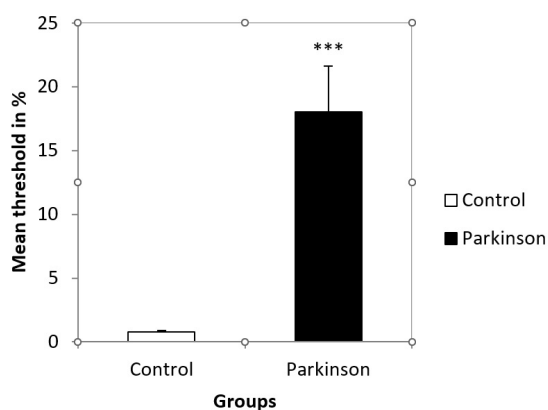


Figure 1. Comparison of detection threshold between healthy subjects and patients. Parkinsonian subjects had an increased mean detection threshold compared to healthy subjects, requiring solutions over 16 times more concentrated to detect odors ($p < 0.001$).

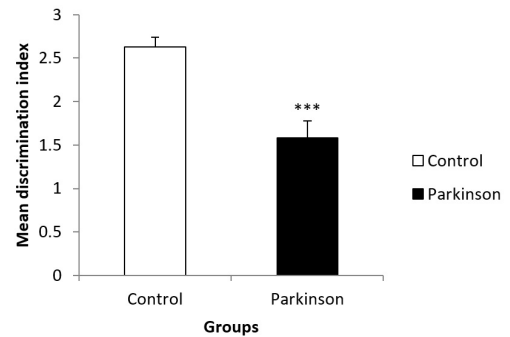


Figure 2. Comparison of discrimination index between healthy subjects and patients. Parkinsonian subjects exhibited decreased mean discrimination index compared to healthy subjects, with relatively more patients being unable to discriminate between odors ($p < 0.001$).

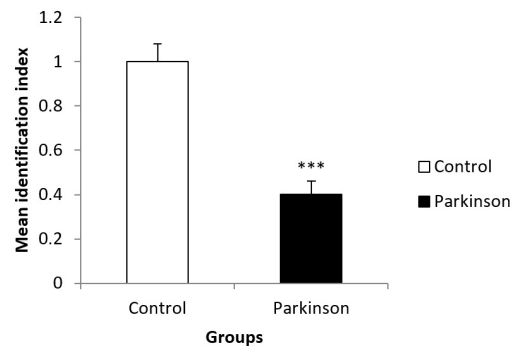


Figure 3. Comparison of identification index between healthy subjects and patients. Parkinsonian subjects exhibited decreased mean identification index compared to healthy subjects, with more patients being unable to discriminate between the two odors ($p < 0.001$).

Discussion

The present study shows the possibility of using culture-relevant products (*Mentha pulegium* and *Lavandula latifolia*) to detect olfactory impairment in Parkinson disease compared to healthy subjects. The relevance of these plants to the Moroccan context stems from their ubiquity and pervasive use in households, beauty products and even food; it is expected that every Moroccan should know these fragrances, hence their utilization in the present study.

One of the challenges of the use of psychophysical smell tests is the variable complex interactions of several aspects of cognition in its execution. This makes comparability difficult between tests.^{12,13} Furthermore, differences in culture and language could render cross-cultural usability difficult.¹⁴

Studies using the UPSIT in different cultural contexts have reported varying results. While some studies found no differences from standard normative values, others largely veer from these, rendering the utility of these measures questionable in some cultural contexts. Jiang et al found in a Taiwanese sample that a traditional Chinese version rendered relatively higher scores than the American UPSIT version.¹⁵ In turn, Fornazieri et al reported slightly lower values than those of North American norms, but with a similar change pattern in age categories.¹⁶ Concerns have been raised in several other cultural contexts.^{17,18}

These discrepancies have led to the formulation of a cross-cultural smell Identification Test (CC-SIT) based on items from the University of Pennsylvania Smell Identification Test (UPSIT). Authors selected UPSIT items that were familiar to most persons from North American, European, South American, and Asian cultures.¹⁹ Unfortunately, no specific Arab or African representation was included in the paper. This suggests an insufficiently “cross-cultural” Smell Identification Test and stresses the need for the development of testing based on culture-specific items. The study by Alrhman et, who used common items like tea, garlic, cinnamon, cacao, coffee, sage, and tobacco, allowed them to evaluate olfaction impairment in patients with a history of sinonasal disease.²⁰ A similar research was done by Hsu et al of the Taiwanese population.²¹ Ogihara et al produced a modified Japanese version of UPSIT (UPSIT-J), and replaced some of the test items with more culturally familiar items.²²

The foregoing notwithstanding, it is important to point out the extant variations in the reliability in olfactory tests. This requires caution in comparing findings from nominally different olfactory tests¹² Furthermore, it is primordial to highlight that a person’s cognitive profile influences their test performance.¹³

Conclusion

In our context, no culture-specific standardized tests exist as yet. Our study points to the potential for the elaboration of a standardized screening battery using indigenous products with which patients are familiar. Further research is required to better characterize the diagnostic potential for the screening of olfactory impairment in Parkinson disease using indigenous products.

Funding

The authors received no funding for the present study.

Declarations of interest

The authors declare that they have no competing interests.

Author contributions

Mohamed Chraa: Conceptualization, methodology, validation, formal analysis, investigation, review and editing. **Hanane Imizgue:** Methodology, formal analysis, investigation, original draft, review and editing. **Raymond Klevor:** Conceptualization, methodology, formal analysis, investigation, original draft, review and editing. **Najib Kissani:** Conceptualization, methodology, validation, formal analysis, investigation, review and editing, supervision.

References

- Doty RL. Olfaction in Parkinson’s disease and related disorders. *Neurobiol Dis.* 2012; 46(3):527–52. doi: [10.1016/j.nbd.2011.10.026](https://doi.org/10.1016/j.nbd.2011.10.026)
- Doty RL, Laing DG. Psychophysical Measurement of Human Olfactory Function. In: *Handbook of Olfaction and Gustation*. Hoboken: John Wiley & Sons; 2015. p. 225–60. <https://doi.org/10.1002/9781118971758.ch11>
- Doty RL, Cometto-Muñiz JE, Jallowayski AA, Dalton P, Kendal-Reed M, Hodgson M. Assessment of upper respiratory tract and ocular irritative effects of volatile chemicals in humans. *Crit Rev Toxicol.* 2004; 34(2):85–142. doi: [10.1080/10408440490269586](https://doi.org/10.1080/10408440490269586).
- Yousem DM, Geckle RJ, Doty RL, Bilker WB. Reproducibility and reliability of volumetric measurements of olfactory eloquent structures. *Acad Radiol.* 1997; 4(4):264–9.
- Doty RL. Office procedures for quantitative assessment of olfactory function. *Am J Rhinol.* 2007; 21(4):460–73. doi: [10.2500/ajr.2007.21.3043](https://doi.org/10.2500/ajr.2007.21.3043)
- Doty RL, Shaman P, Dann M. Development of the University of Pennsylvania Smell Identification Test: a standardized microencapsulated test of olfactory function. *Physiol Behav.* 1984; 32(3):489–502. doi: [10.1016/0031-9384\(84\)90269-5](https://doi.org/10.1016/0031-9384(84)90269-5)
- Dodé C, Hardelin J-P. Kallmann syndrome. *Eur J Hum Genet.* 2009; 17(2):139–46.
- Pellegrino R, Farruggia MC, Small DM, Veldhuizen MG. Post-traumatic olfactory loss and brain response beyond olfactory cortex. *Sci Rep.* 2021; 11(1):4043. doi: [10.1038/s41598-021-83621-2](https://doi.org/10.1038/s41598-021-83621-2)
- Temmel AFP, Quint C, Schickinger-Fischer B, Klimek L, Stoller E, Hummel T. Characteristics of olfactory disorders in relation to major causes of olfactory loss. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 2002; 128(6):635–41. doi: [10.1001/archotol.128.6.635](https://doi.org/10.1001/archotol.128.6.635)
- Wolfensberger M. Sniffin’Sticks: a new olfactory test battery. *Acta Otolaryngol.* 2000; 120(2):303–6. doi: [10.1080/000164800750001134](https://doi.org/10.1080/000164800750001134)
- Hummel T, Sekinger B, Wolf SR, Pauli E, Kobal G. 'Sniffin' sticks': olfactory performance assessed by the combined testing of odor

- identification, odor discrimination and olfactory threshold. *Chem Senses*. 1997; 22(1):39–52. doi: [10.1093/chemse/22.1.39](https://doi.org/10.1093/chemse/22.1.39)
12. Doty RL, McKeown DA, Lee WW, Shaman P. A study of the test-retest reliability of ten olfactory tests. *Chem Senses*. 1995; 20(6):645–56. doi: [10.1093/chemse/20.6.645](https://doi.org/10.1093/chemse/20.6.645)
 13. Hedner M, Larsson M, Arnold N, Zucco GM, Hummel T. Cognitive factors in odor detection, odor discrimination, and odor identification tasks. *J Clin Exp Neuropsychol*. 2010; 32(10):1062–7. doi: [10.1080/13803391003683070](https://doi.org/10.1080/13803391003683070)
 14. Parola S, Liberini P. Assessing olfaction in the Italian population: methodology and clinical application. *Ital J Neurol Sci*. 1999; 20(5):287–96. doi: [10.1007/s100720050043](https://doi.org/10.1007/s100720050043)
 15. Jiang R-S, Su M-C, Liang K-L, Shiao J-Y, Wu S-H, Hsin C-H. A pilot study of a traditional Chinese version of the University of Pennsylvania Smell Identification Test for application in Taiwan. *Am J Rhinol Allergy*. 2010; 24(1):45–50.
 16. Fornazieri MA, Santos CA dos, Bezerra TFP, Pinna F de R, Voegels RL, Doty RL. Development of normative data for the Brazilian adaptation of the University of Pennsylvania Smell Identification Test. *Chem Senses*. 2015; 40(2):141–9.
 17. Rodríguez-Violante M, Gonzalez-Latapi P, Camacho-Ordoñez A, Martínez-Ramírez D, Morales-Briceño H, Cervantes-Arriaga A. Comparing the accuracy of different smell identification tests in Parkinson's disease: relevance of cultural aspects. *Clin Neurol Neurosurg*. 2014; 123:9–14. doi: [10.1016/j.clineuro.2014.04.030](https://doi.org/10.1016/j.clineuro.2014.04.030)
 18. Yücepur C, Özücer B, Değirmenci N, Yıldırım Y, Veyseller B, Özturan O. University of Pennsylvania smell identification test: application to Turkish population. *Kulak Burun Bogaz İhtis Derg*. 2012; 22(2):77–80. doi: [10.5606/kbbihtisas.2012.014](https://doi.org/10.5606/kbbihtisas.2012.014)
 19. Doty RL, Marcus A, Lee WW. Development of the 12-item Cross-Cultural Smell Identification Test (CC-SIT). *Laryngoscope*. 1996; 106(3 Pt 1):353–6.
 20. Alrhman R, Qudah N, Al-zubidi A, Al-Qudah M. Jordan smell test: a pilot study. *Pan Arab J Rhinol*. 2020; 10(1):13-6.
 21. Hsu N-I, Lai J-T, Shen P-H. Development of Taiwan Smell Identification Test: a quick office-based smell screening test for Taiwanese. *Am J Rhinol Allergy*. 2015; 29(2):e50-4.
 22. Ogihara H, Kobayashi M, Nishida K, Kitano M, Takeuchi K. Applicability of the cross-culturally modified University of Pennsylvania Smell Identification Test in a Japanese population. *Am J Rhinol Allergy*. 2011; 25(6):404–10. doi: [10.2500/ajra.2011.25.3658](https://doi.org/10.2500/ajra.2011.25.3658)

Article without conflict of interest

© Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía
Manuel Velasco Suárez

MIOPATÍAS GENÉTICAS EN ADULTOS: EXPERIENCIA EN UN CENTRO DE TERCER NIVEL EN MÉXICO

Vargas-Cañas Edwin Steven¹ | Martínez-Jiménez Eunice¹ | Galnares-Olalde Javier Andrés¹ | Fernández-Valverde Francisca² | de Saráchaga Adib Jorge¹ | Bazán-Rodríguez Lissette¹ | Benitez-Alonso Edmar³ | López-Hernández Juan Carlos¹

1. Clínica de Enfermedades Neuromusculares. Instituto Nacional de Neurología Manuel Velasco Suarez.
2. Departamento de Patología Experimental, Instituto Nacional de Neurología Manuel Velasco Suarez.
3. Departamento de Neurogenética, Instituto Nacional de Neurología Manuel Velasco Suarez.

Correspondencia

Juan Carlos López Hernández
Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía Manuel Velasco Suárez.
Insurgentes Sur, Col. La Fama, Alcaldía Tlalpan, C.P. 14269, Ciudad de México.

✉ juanca9684@hotmail.com

Resumen

Antecedentes: las miopatías genéticas en el adulto son infrecuentes y representan un reto diagnóstico. Con el advenimiento de paneles de secuenciación de siguiente generación se han catalogado molecularmente estas enfermedades, permitiendo un mejor abordaje, seguimiento, pronóstico y tratamiento.

Objetivo: describir la frecuencia de los principales fenotipos clínicos de miopatía de origen genético en adultos en un centro de tercer nivel en México.

Metodología: se realizó un estudio transversal, se incluyeron a todos los pacientes con diagnóstico clínico de miopatía genética de una clínica de enfermedades neuromusculares del 2017 a 2021. Se recabaron características clínicas y paraclínicas al momento del diagnóstico, reporte de biopsia muscular y estudio genético.

Resultados: se incluyeron 85 pacientes. La media de edad de inicio de síntomas fue a los 27, con un retraso en el diagnóstico de 7 años. Los principales fenotipos clínicos son: distrofia de cinturas (28%), distrofia miotónica tipo 1 (26.8%), miopatía congénita (17.1%), miopatía metabólica (9.8%), oculofaríngea (7.3%) y facioescapulohumeral (6.1%).

Conclusión: las principales miopatías de origen genético en nuestra población son la distrofia miotónica tipo 1 y la distrofia de cinturas. El reconocimiento de ellas es importante para la apropiada consejería, seguimiento, pronóstico y tratamiento de potenciales condiciones asociadas.

Palabras clave: miopatía, genética, distrofias.

Introducción

Las miopatías genéticas han tomado importancia en la actualidad debido a la mejor comprensión de la genética subyacente a la enfermedad muscular; se trata de un padecimiento poco frecuente en la práctica clínica, con prevalencia de 22.3 casos por cada 100 000 habitantes.^{1,2} Hasta la fecha, más de 300 genes están asociados con diversos trastornos neuromusculares hereditarios, no obstante, un número significativo de pacientes, a pesar de tener acceso a realización de estos estudios, permanece sin diagnóstico molecular definitivo.³ En los últimos años se ha generalizado la realización de paneles NGS (*next generation sequencing*) de hasta de 301 genes para estudio de enfermedades neuromusculares. Por su bajo costo, estos estudios son accesibles para la gran

mayoría de los pacientes, sin embargo, debido a la falta de conocimiento no son solicitados.⁴

Dado el gran número de genes implicados en las miopatías de causa genética, es importante clasificar a los pacientes en fenotipos clínicos para acortar el diagnóstico molecular o solicitar alguna mutación en gen específico. Actualmente, los pacientes con alguna enfermedad muscular se clasifican en alguno de los siguientes fenotipos: distrofia muscular de cinturas, distrofia con fenómeno miotónico, distrofia oculofaríngea, distrofia facioescapulohumeral, distrofia de Emery-Dreifuss, miopatía metabólica, canalopatía, etc.⁵ Ciertos síntomas y hallazgos en la exploración son particulares de cada fenotipo, sin embargo, se comparten varios datos clínicos, a saber, debilidad progresiva, intolerancia al ejercicio, atrofia, pseudohipertrofia, elevación de creatinfosfquinasa (CPK).^{2,6}



La distrofia muscular de Duchenne y de Becker es la miopatía de causa genética más frecuente en la población en general; es generada por la alteración de la proteína distrofina, y presenta un inicio de síntomas a edades tempranas.⁷ En la población adulta la epidemiología es distinta, ya que en algunos países se reporta que la distrofia miotónica tipo 1 es la más frecuente.^{8,2}

A pesar del avance de la genética para el entendimiento de las miopatías, existe un importante retraso en el diagnóstico de varios años. La biopsia muscular procesada en fresco con microscopía óptica continúa siendo una gran herramienta diagnóstica; las tinciones para observar la estructura de las fibras musculares son: hematoxilina y eosina (H y E) y tricómico modificado de Gomori. En otras tinciones se examinan reacciones enzimáticas: NADH valora el complejo II y la tinción COX valora el complejo IV de la cadena respiratoria mitocondrial, a su vez, la tinción de peróxido de Shiff modificado (PAS) valora el depósito de glucógeno en el sarcoplasma. Todas estas tinciones son de gran ayuda en la búsqueda de hallazgos específicos o para descartar otras causas (miopatías inflamatorias).²

El objetivo del estudio es reportar la frecuencia, características clínicas y preclínicas, hallazgos de biopsia muscular y resultado de estudios genéticos, realizados en los diferentes fenotipos clínicos de miopatías de causa genética en población adulta, en un centro de referencia, así mismo realizar una revisión del tema.

Material y métodos

Estudio observacional y transversal realizado en un solo centro. Se revisaron todos los expedientes de pacientes mayores de 18 años que contaran con diagnóstico clínico de miopatía de causa genética, atendidos en la clínica de enfermedades neuromusculares del Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía (INNN) desde el año 2017 al 2020. De los pacientes incluidos se obtuvo información sobre las siguientes variables: edad al diagnóstico (años), tiempo de retraso del diagnóstico (años), signo y síntomas neuromusculares (fatiga, intolerancia al ejercicio, debilidad, escapula alada, hipertrofia de pantorrillas), así como puntuación en la escala MRC (Medical Research Council), esto es, graduación de la fuerza muscular de 0-60 puntos, tomando en cuenta la valoración de seis músculos de forma bilateral (deltoides, bíceps, extensor de la mano, iliopsoas, cuádriceps y tibial anterior). Todos los pacientes fueron clasificados en algún fenotipo clínico de miopatía de causa genética: distrofia miotónica, distrofia de cinturas, miopatías distales, distrofia facioescapulohumeral,

miopatías metabólicas, miopatías congénitas, distrofia oculofaríngea, distrofia de Emery-Dreifuss y miopatías axiales. Asimismo, se obtuvo información de estudios paraclínicos (niveles de CPK, hallazgos en electromiografía).

De igual modo se recabaron los hallazgos de biopsias musculares con microscopía óptica de los pacientes que contaban con ellas. En el INNN, el procesamiento de biopsia muscular está a cargo del Departamento de Patología Neuromuscular. Las muestras de músculo son procesadas en fresco en 2-metil-butano (isopentano), posteriormente son cortadas a 8 micras de grosor a una temperatura de -20°C, y se les realizan las técnicas de hematoxilina y eosina (H-E), tricómico modificado de Gomori (T-G), tinción enzimática de NADH, tinción enzimática COX, y tinción de PAS.

Paralelamente, se recabaron los resultados de los pacientes que contaban con estudio genético. El INNN solicita a otras instituciones la realización de estudios moleculares genéticos de acuerdo con el diagnóstico clínico. En el caso de distrofia muscular miotónica de Steiner, se realiza un estudio molecular para la determinación del número de repetidos CTG en el gen *DMPK* (cinasa de proteína-miotonina) con un error de la determinación de +/- 2 repetidos; para determinar dicho número se emplea la amplificación mediante PCR: un alelo con 5-34 repeticiones se considera en rango normal, con 35-49 repetidos se clasifica en un rango normal-mutable y un alelo expandido de >50 repetidos se cataloga de penetrancia completa. En el caso de la distrofia oculofaríngea, se determina por expansión del repetido GCN en el primer exón del gen *PABPN1* —tanto de herencia dominante (12-17 repetidos) como recesiva (11 repetidos)— mediante amplificación por PCR y secuenciación nucleotídica tipo Sanger. En el caso de pacientes con diagnóstico clínico de distrofia de cinturas se realiza el panel NGS, esto para las principales distrofias de cinturas autosómicas recesivas en países de Latinoamérica (*ANO5*, *DYSE*, *GAA*, *SGCB*, *SGCG*, *CAPN3*, *FKRP*, *SGCA*, *SGCD*, *TCAP*). En algunos pacientes con diagnóstico diferencial de mayor complejidad (miopatía congénita, distrofia muscular, neuropatía hereditaria, enfermedad de motoneurona) se solicita paneles NGS y análisis de delección/duplicación (MLPA, multiplex ligation-dependent probe amplification) de 357 genes relacionados con enfermedades neuromusculares, neuropatías hereditarias y panel de esclerosis lateral amiotrófica hereditaria.

Análisis estadístico

Las variables continuas se describieron en medias con desviación estándar (DE) o medianas con rangos intercuartílicos

(RIQ) según su distribución; las variables categóricas se describieron en frecuencias y porcentajes. Todos los análisis se realizaron en el programa SPSS 22.0.

Condiciones éticas

El protocolo fue sometido a valoración de los comités de investigación y de ética de nuestra institución.

Resultados

Se revisaron 85 expedientes de pacientes con diagnóstico de miopatía de causa genética. La edad en promedio de la población fue de 37.1 ± 16.7 años, el género femenino representó el 53.5%. Al momento del diagnóstico puntuación: MRC score 45.9 ± 8.3 , puntuación en la escala de Rankin modificado (mediana) 2 puntos (RIQ 1-2), 8 pacientes requerían de silla de ruedas para traslado, el tiempo de retraso del diagnóstico fue de 7 años (RIQ 4-13.5).

Los principales síntomas y signos neuromusculares reportados fueron: debilidad muscular (100%), escápula alada (34%), mialgia (33%), intolerancia al ejercicio (29%), pseudohipertrofia de gastrocnemios (11%) y rippling muscular (9%).

Los niveles de CPK al diagnóstico fueron 239 UI/dl (RIQ 90-902). Entre los fenotipos clínicos más frecuentes se encontraron: distrofia muscular de cinturas (28%), distrofia miotónica (26%), miopatía congénita (16.5%), miopatía metabólica (10.6%), distrofia oculofaríngea (7.1%), distrofia facioescapulohumeral (6%), miopatía axial de inicio tardío (2.4%), y solo un paciente con miopatía distal y otro con Emery-Dreifuss (1.2%) (Tabla 1).

Con respecto a las manifestaciones cardiopulmonares, 14 pacientes (16.47%) presentaron afección cardíaca. Por otro lado, 22 pacientes (25.88%) presentaban afección pulmonar siendo su diagnóstico más frecuente distrofia miotónica tipo 1 y miopatía congénita (Tabla 1).

Cuarenta y cinco pacientes (52.9%) contaban con estudio genético, siendo los principales resultados: 17 de 22 pacientes con distrofia miotónica tipo 1 con >100 repeticiones CTG en el gen *DMPK*; 12 de 24 pacientes con distrofia de cinturas (7 calpaína-3 y 5 disferlina), y 5 de 6 pacientes con distrofia oculofaríngea positivos para la mutación del gen *PABPN1*. El resto de los genes implicados se expone en la Tabla 1. Se realizó biopsia muscular en 40 pacientes (47%) con lectura de microscopía óptica.

Tabla 1. Características clínicas de los pacientes con miopatías genéticas

	Distrofia de cinturas N=24	Distrofia miotónica N=22	Miopatía congénita N=14	Miopatía metabólica N=9	Oculofaríngea N=6	Facio- escapulohumeral N=5	Miopatía axial N=2	Miopatía distal N=1	Canalopatía N=2	Emery-Dreifuss N=1
Edad al diagnóstico (años), promedio (DE)	22.6±15.7	30.4±13.5	12.3±12.2	28.2±9.5	53±8.6	42.2±17	69±15.5	29	30±15.5	33
Género femenino, n (%)	12(50)	9(41)	10(71)	9(100)	3(50)	2(40)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
Retraso en el diagnóstico (años), mediana (RIQ)	9 (5-15)	7.5 (5-10)	9.5 (3.7-18.2)	4 (3-8)	7.5 (3.7-20.5)	4 (3-6.5)	2.5 (2-2.5)	5	12	20
MRC score (puntos) mediana (RIQ)	41±6.5	46.7±7.9	44±9.5	51±5.4	54± 6.5	47±6.4	47±10	56	54±6	32
Afectación cardíaca, n (%)	3(12.5)	8(36)	2(14)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1(100)
Afectación pulmonar, n (%)	2(8)	14(67)	4(29)	0(0)	0(0)	1(20)	0(0)	0(0)	0(0)	1(100)
Niveles CPK (UI/dl), mediana (RIQ)	1019 (94-3015)	194 (131-309)	240 (62-1034)	158 (47-756)	108 (87-157)	566 (85-8672)	515	474	350	1646
Biopsia muscular, n (%)	11(46)	1(4.5)	12(86)	8(89)	2(33)	2(40)	1(50)	1(100)	2(100)	1(100)
Estudio genético, n (%)	12 7-CAPN3 5-DYSF	17 DMPK >100 repetidos CTG	6 CAPN3, PNPLA2, RYR1,LDB3, DES,LAMA2	1 Negativo	5 PABN1	0	1 RYR1	1 ANOS	2 Negativo, CACNA1S	1 LAMNA

Nota: DE: desviación estándar; RIQ: rango intercuartil; CPK: creatinfosfoquinasa.

Discusión y revisión del tema

La epidemiología de las miopatías de causa genética varía en las diferentes poblaciones, reportando una prevalencia de 16.14 a 22.3 casos por 100 000 habitantes. La frecuencia de las principales distrofias musculares varía de acuerdo a la edad de la población estudiada (ejemplo: infantil, adultos o ambos), y entre países. Un estudio previo en población mexicana que incluyó pacientes de edad infantil y adultos demostró que las distrofinopatías son las más comunes, ya que se presentan en 61.7% de la población.^{1,9,10} La distrofia de cinturas es la más frecuente en nuestro centro —que atiende población adulta (≥ 18 años)— seguida de la distrofia miotónica, lo cual difiere con otros reportes. Un estudio realizado en población del norte de Inglaterra demostró que la distrofia miotónica es la más común (28.6%), seguida de la distrofinopatía (22.9%), la distrofia facioescapulohumeral (10.7%) y distrofia de cinturas (6.2%).¹¹ En América Latina, un estudio retrospectivo de un solo centro en Brasil incluyó 1603 pacientes con diagnóstico de miopatía genética que contaban con estudio molecular y/o biopsia muscular, y reportó que las distrofinopatías son las más frecuentes (28.7%), seguidas de citopatía mitocondrial (20.5%), distrofias de cinturas (9.7%) y distrofia miotónica (8.6%).¹² En un estudio previo, multicéntrico en población mexicana, se examinó 290 biopsias musculares con inmunofluorescencia, detectando las siguientes distrofias musculares como más frecuentes: distrofinopatías (52.36%), disferlinopatías (18.4%), sarcoglicanopatías (14.15%) y calpainopatías (11.32%).¹³

Existe un importante retraso en el diagnóstico de las enfermedades neuromusculares de causa genética a nivel mundial. Un estudio en Alemania reportó un retraso de diagnóstico promedio de 4.3 años, cabe señalar que los autores mencionan que el tiempo de retraso depende de los médicos de primer contacto: en médicos neurólogos el tiempo de retraso fue de 3.5 años, en cambio, en médicos no neurólogos fue de 5.2 años.¹⁴ A pesar de que nuestro caso es el de una clínica especializada en enfermedades neuromusculares, el retraso en el diagnóstico fue mayor a lo reportado, 7 años (mediana). Asumimos que esta diferencia se debe a que médicos de primer contacto (primer o segundo nivel de atención en nuestro país) —en la mayoría de las ocasiones, médicos no-neurólogos— tardan en referir a estos pacientes a nuestro hospital (tercer nivel de atención).

La distrofia muscular de cinturas fue la más frecuente, sin embargo, este dato debe ser tomado con reserva, ya que la población incluida en el estudio son pacientes a los que se diagnosticó en edad adulta. Los pacientes con distrofia de cinturas presentan un importante retraso en el diagnóstico, 9

años (mediana), mayor a lo reportado previamente.¹⁴ Este tipo de distrofias tiene un cuadro clínico similar al de las miopatías inflamatorias, es decir, afección de músculos proximales (cintura escapular y pélvica) y niveles de CPK elevados, lo que puede confundir el diagnóstico, ocasionando que los pacientes sean tratados con esteroides e inmunosupresores previamente.¹⁵ La falta de respuesta clínica a estos tratamientos y la evolución progresiva de los síntomas, ocasiona que los médicos soliciten la valoración de otros especialistas (neurólogos o neuromusculares). Las distrofias musculares de cinturas se dividen de acuerdo con la forma de herencia para su estudio genético: autosómico dominante o autosómico recesivo.¹⁶ En México se ha reportado que las distrofias musculares de cinturas más comunes son autosómico recesivas, debido a mutación en el gen de la disferlina, seguido del gen de la calpaína-3.¹³ En nuestro estudio, 50% de los pacientes contaban con estudio molecular NGS, y se encontró que la distrofia muscular de cinturas más frecuente es por mutación en el gen de la calpaína-3, seguido de disferlina. Este resultado se debe tomar con cautela, debido a que la otra mitad de dicha población no tiene estudio genético. Un estudio multicéntrico examinó la experiencia del estudio NGS en Latinoamérica (Brasil, México, Argentina, Ecuador, Chile y Perú), reportando las siguientes causas genéticas como las más frecuentes de distrofias de cinturas de herencia autosómica recesiva: *DYSF* (disferlinopatía), *SGCA* (alfa-sarcoglicanopatía), *GAA* (tripleto para enfermedad de Pompe) y *CAPN3* (calpainopatía-3).¹⁷ A 11 pacientes de nuestra población se les practicó biopsia muscular, con el objetivo de encontrar hallazgos que apoyaran el diagnóstico de distrofia muscular: variabilidad en el tamaño de las fibras, aumento de tejido conectivo interfascicular, fibras en degeneración y presencia de sacos nucleares (Figura 1).

Por otro lado, entre las distrofias miotónicas, la enfermedad de Steiner es la más común en adultos, sobre todo en Europa Occidental y América del norte (1 en 8000 habitantes) así como en Japón (1 en 20 000 habitantes).¹⁸ En nuestra población representa la segunda causa de miopatía genética en el adulto. Genéticamente, la distrofia miotónica de Steiner es de herencia autosómica dominante, y se debe al aumento de repetidos CTG (>50) en el gen *DMPK* en el cromosoma 19q; dos terceras partes de nuestros pacientes contaron con estudio genético y presentaron >100 repetidos CTG.¹⁸ Este tipo de distrofia presenta un fenotipo clínico característico: debilidad facial (ptosis palpebral, horizontalización de la sonrisa), debilidad de predominio en músculos proximales en extremidades superiores, debilidad de predominio distal en extremidades inferiores, así como fenómeno

miotónico (falta de relajación del músculo después de contraerse). Asimismo, presenta alteraciones sistémicas: alopecia androgénica, cataratas, alteraciones endocrinas (diabetes mellitus), alteraciones cardíacas (arritmias) y pulmonares (apnea obstructiva del sueño).^{18,19} En el caso de nuestra población, más de la mitad de los pacientes presentaban tanto afección cardíaca como pulmonar.

A su vez, las miopatías congénitas son un grupo particular, clínicamente se definen como una miopatía que inicia en el primer año de vida y que se caracteriza por debilidad no progresiva e hipotonía, presentándose niveles de CPK normales o ligeramente elevados.²⁰ Se estima que su prevalencia es de 0.6-0.9 casos por cada 100 000 habitantes, y representan 14% de las causas de hipotonía en el recién nacido.^{20,21} Los pacientes presentan facies miopática, paladar hendido, e inteligencia para la edad conservada. Su debilidad muscular es leve sin algún predominio en las extremidades, y llegan a presentar debilidad de musculatura axial. Posterior a la adolescencia algunos pacientes llegan a presentar afección en la función cardíaca y/o pulmonar, por lo que se aconseja realizar espirometría y ecocardiograma periódicamente.²⁰ La biopsia muscular con microscopía óptica es de gran ayuda en la sospecha de este tipo de miopatía; a través de la tinción de NADH pueden encontrarse hallazgos característicos, como la presencia de *central-cores* o *multiminicores*, y en la tinción tricómico modificado de Gomori pueden observarse cuerpos nemalínicos (Figura 1).²⁰ En nuestra población 12 pacientes contaban con biopsia, 3 de ellos con clasificación para miopatía congénita *central core*. Este tipo de miopatías son de herencia AD, AR o ligada al X, el principal gen involucrado es el de la rianodina y su receptor (*RYR1*), el cual también está relacionado con la hipertermia maligna; solo un paciente de nuestra población presentó mutación en este gen (Tabla 1).^{20,21} Recientemente, un estudio en Italia reportó que las miopatías congénitas se deben principalmente a alteraciones que causan deficiencia en la glucosilación de los α -dístroglicanos (40.18%), seguidas de deficiencia de lámina- α 2 (24.11%) y deficiencia de colágeno VI (20.24%).²²

Las miopatías metabólicas representan un reto diagnóstico ya que poca información existe sobre su epidemiología, sin embargo, se reporta que la prevalencia de enfermedades mitocondriales en la infancia es de 1-15 casos por 10,000 habitantes.^{23,24} En estos casos, existen alteraciones en las rutas metabólicas de la glucosa y lípidos junto con la cadena respiratoria en las mitocondrias.^{22,24} Esto puede generar síntomas musculares, entre ellos, poca tolerancia al ejercicio y episodios de debilidad no severos relacionados a actividad

física extenuante. Por otra parte, los niveles de CPK son generalmente normales y no se presenta atrofia muscular, asimismo, la electromiografía suele resultar normal.^{23,25} En la biopsia muscular con microscopía óptica, algunos cambios que sugieren este diagnóstico son: en tinción de hematoxilina y eosina se presentan cambios miopáticos leves; en tinción NADH, pérdida del patrón de tablero de ajedrez; en tinción COX, presencia de fibras fantasmas, y en tinción de PAS, fibras con ausencia de reacción, así como fibras con acúmulos de glucógeno (Figura 2 y 3).^{24,25}

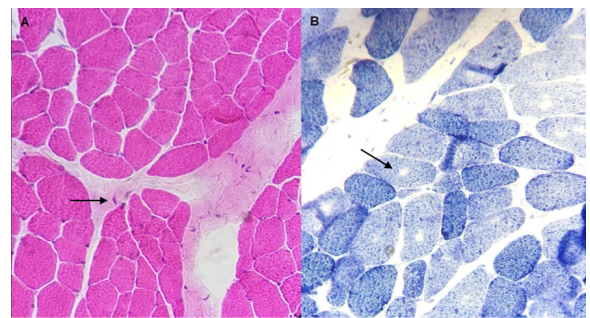


Figura 1. Imagen A) Biopsia de músculo deltoides (izquierdo) de paciente masculino de 23 años con diagnóstico clínico de distrofia muscular de cinturas. En tinción de hematoxilina y eosina presenta leve-moderada variabilidad en la forma y tamaño de las fibras, aumento de tejido conectivo interfascicular y presencia de sacos nucleares (flecha). Imagen B) Biopsia de músculo deltoides (izquierdo) de paciente femenina de 17 años con diagnóstico de miopatía congénita. En tinción NADH presenta pérdida del patrón de "tablero de ajedrez" y algunas fibras con ausencia de reacción central "central core" (flecha).

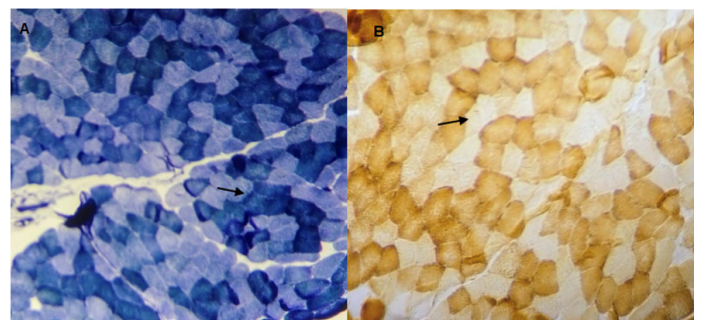


Figura 2. Biopsia de músculos deltoides izquierdo de paciente masculino de 21 años con diagnóstico de citopatía mitocondrial. Imagen A) En tinción NADH presenta cambios miopáticos, pérdida del patrón de "tablero de ajedrez"; fibras tipo I tienden a agruparse (flecha). Imagen B) En tinción COX se observa fibras tipo I y tipo II, algunas con ausencia de reacción (fibras COX fantasmas, se indica con flecha).

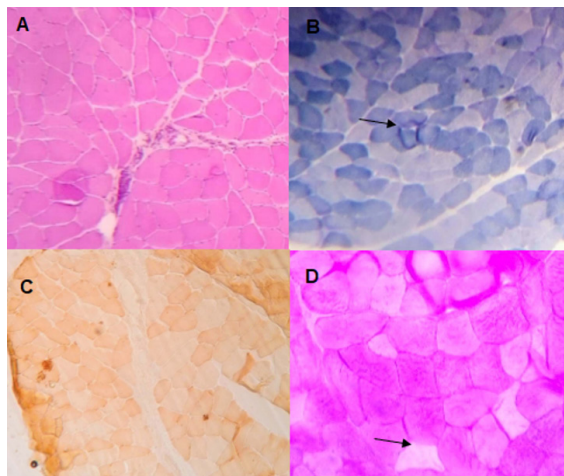


Figura 3. Biopsia de músculo deltoides (izquierdo) de paciente femenina de 28 años con diagnóstico clínico de miopatía metabólica. La biopsia muscular presenta: imagen A) tinción de hematoxilina y eosina de características normales; imagen B) en tinción NADH presenta pérdida del patrón de "tablero de ajedrez" y agrupación de fibras musculares (flecha); imagen C: en tinción COX se observa fibras tipo I y tipo II; imagen D: en tinción PAS presenta algunas fibras con ausencia de reacción (flecha).

Otro tipo de miopatía de causa genética menos común es la distrofia oculofaríngea, la cual se distingue por el inicio tardío de sus síntomas, usualmente alrededor de la quinta década de la vida. Clínicamente se caracteriza por: ptosis palpebral sin afectación de nervios de cráneo, disfagia y debilidad en músculos proximales de las extremidades. Un hallazgo significativo en la biopsia muscular es la presencia de vacuolas bordeadas, lo cual se debe a una mutación en el gen *PABN1*.²⁶ En nuestra población este fenotipo representa la quinta causa de miopatía en el adulto. Un estudio previo, realizado en un centro de referencia de atención de enfermedades oftalmológicas en México, reportó una cohorte de 102 pacientes mexicanos-mestizos con distrofia oculofaríngea y con inicio de síntomas después de los 40 años; 91% presentó disfagia.²⁷

La distrofia facioescapulohumeral es poco frecuente en nuestra población, a nivel mundial se estima que tiene una prevalencia de 7 casos por cada 100,000 habitantes. Es causada por el acortamiento de la región *D4Z4* en el cromosoma 4q y es de herencia autosómica dominante. Los pacientes presentan: debilidad facial, escápula alada, respeto del músculo deltoides y debilidad de los músculos humerales (bíceps y tríceps).^{28,29} Lamentablemente, ninguno de los pacientes incluidos ha tenido acceso a estudios moleculares genéticos por falta de recursos económicos.

Las canalopatías son raras, con prevalencia de 1 en 100 000 habitantes, y principalmente se deben a parálisis periódica hipokalémica por mutación en el gen *CACNA1S* que codifica la subunidad-alfa del canal de calcio Cav1.1; son de herencia autosómica dominante.³⁰ Se caracterizan por la presencia de episodios de debilidad severa, hasta la cuádruplejía en ocasiones, con niveles séricos de potasio bajos, asociados a eventos estresantes, ingesta abundante de carbohidratos o ejercicio. La miopatía vacuolar constituye un hallazgo característico en la biopsia muscular.³¹

Actualmente en México no existe alguna guía de práctica clínica para el abordaje diagnóstico y tratamiento de pacientes con sospecha de miopatía de causa genética que ayude al personal de salud no dedicado a la atención de este grupo de pacientes al pronto reconocimiento y envío a centros hospitalarios de referencia. En países de primer mundo como Inglaterra, a pesar del gran avance en el diagnóstico molecular genético y apoyo de biopsia muscular en pacientes con sospecha de miopatía de causa genética, 24.3% de los pacientes continúan sin diagnóstico definitivo.¹¹ En este sentido, establecer el diagnóstico de probable miopatía de causa genética, ya sea a través de una adecuada evaluación médica, estudio de electromiografía, medición de CPK, o mediante el apoyo de biopsia muscular, es fundamental, ya que permitirá que los pacientes reciban un adecuado programa de rehabilitación, evitando costos de tratamientos y estudios no necesarios.

Conclusión

En nuestro centro, la miopatía genética más frecuente es la distrofia de cinturas. A pesar de avances genéticos en el estudio y entendimiento de las enfermedades neuromusculares, aún existe un importante retraso en el diagnóstico actualmente. Clasificar los pacientes en fenotipos clínicos ayuda a orientar el diagnóstico molecular; la biopsia muscular procesada y valorada adecuadamente continúa siendo una excelente herramienta para el diagnóstico de las miopatías de causa genética.

Referencias

1. Theadom A, Rodrigues M, Poke G, O'Grady G, Love D, Hammond-Tooke G, et al. A nationwide, population-based prevalence study of genetic muscle disorders. *Neuroepidemiology*. 2019; 52(3-4):128-35. doi: [10.1159/000494115](https://doi.org/10.1159/000494115)
2. Shieh PB. Muscular dystrophies and other genetic myopathies. *Neurol Clin*. 2013; 31(4):1009-29. doi: [10.1016/j.ncl.2013.04.004](https://doi.org/10.1016/j.ncl.2013.04.004)
3. Chakravorty S, Nallamilli BRR, Khadilkar SV, Singla MB, Bhutada A, Dastur

- R, et al. Clinical and genomic evaluation of 207 genetic myopathies in the Indian subcontinent. *Front Neurol*. 2020 nov 5;11:559327. doi: [10.3389/fneur.2020.559327](https://doi.org/10.3389/fneur.2020.559327)
4. Mair D, Biskup S, Kress W, Abicht A, Brück W, Zechel S, et al. Differential diagnosis of vacuolar myopathies in the NGS era. *Brain Pathol*. 2020 sep;30(5):877-96. doi: [10.1111/bpa.12864](https://doi.org/10.1111/bpa.12864)
 5. Barohn RJ, Dimachkie MM, Jackson CE. A pattern recognition approach to patients with a suspected myopathy. *Neurol Clin*. 2014 ago;32(3):569-93. doi: [10.1016/j.ncl.2014.04.008](https://doi.org/10.1016/j.ncl.2014.04.008)
 6. Coral VRM, López HLB, Ruano CLÁ, Gómez DB, Fernández VF, Bahena ME. Distrofias musculares en México: un enfoque clínico, bioquímico y molecular. *Rev Esp Med Quir*. 2010;15(3):152-60.
 7. Alcántara-Ortigoza MA, Reyna-Fabián ME, González-Del Angel A, Estandia-Ortega B, Bermúdez-López C, Cruz-Miranda GM, et al. Predominance of dystrophinopathy genotypes in Mexican male patients presenting as muscular dystrophy with a normal multiplex polymerase chain reaction DMD gene result: A study including targeted next-generation sequencing. *Genes (Basel)*. 2019 oct 29;10(11):856. doi: [10.3390/genes10110856](https://doi.org/10.3390/genes10110856)
 8. Verhaart IEC, Aartsma-Rus A. Therapeutic developments for Duchenne muscular dystrophy. *Nat Rev Neurol*. 2019; 15(7):373-86. doi: [10.1038/s41582-019-0203-3](https://doi.org/10.1038/s41582-019-0203-3)
 9. Escobar-Cedillo RE, López-Hernández L, Miranda-Duarte A, Curriel-Leal MD, Suarez-Ocón A, Sánchez-Chapul L, et al. Genetic analysis of muscular dystrophies: Our experience in Mexico. *Folia Neuropathol*. 2021;59(3):276-83. doi: [10.5114/fn.2021.109426](https://doi.org/10.5114/fn.2021.109426)
 10. Mah JK, Korngut L, Fiest KM, Dykeman J, Day LJ, Pringsheim T, et al. A systematic review and meta-analysis on the epidemiology of the muscular dystrophies. *Can J Neurol Sci*. 2016 ene;43(1):163-77. doi: [10.1017/cjn.2015.311](https://doi.org/10.1017/cjn.2015.311)
 11. Norwood FL, Harling C, Chinnery PF, Eagle M, Bushby K, Straub V. Prevalence of genetic muscle disease in Northern England: In-depth analysis of a muscle clinic population. *Brain*. 2009 nov;132(Pt 11):3175-86. doi: [10.1093/brain/awp236](https://doi.org/10.1093/brain/awp236)
 12. Cotta A, Paim JF, Carvalho E, da-Cunha-Júnior AL, Navarro MM, Valicek J, et al. The relative frequency of common neuromuscular diagnoses in a reference center. *Arq Neuropsiquiatr*. 2017 nov;75(11):789-95. doi: [10.1590/0004-282X20170151](https://doi.org/10.1590/0004-282X20170151)
 13. Gómez-Díaz B, Rosas-Vargas H, Roque-Ramírez B, Meza-Espinoza P, Ruano-Calderón LA, Fernández-Valverde F, et al. Immunodetection analysis of muscular dystrophies in Mexico. *Muscle Nerve*. 2012; 45(3):338-45. doi: [10.1002/mus.22314](https://doi.org/10.1002/mus.22314)
 14. Spuler S, Stroux A, Kuschel F, Kuhlmeier A, Kendel F. Delay in diagnosis of muscle disorders depends on the subspecialty of the initially consulted physician. *BMC Health Serv Res*. 2011 4; 11:91. doi: [10.1186/1472-6963-11-91](https://doi.org/10.1186/1472-6963-11-91)
 15. Selva-O'Callaghan A, Pinal-Fernandez I, Trallero-Araguás E, Milisenda JC, Grau-Junyent JM, Mammen AL. Classification and management of adult inflammatory myopathies. *Lancet Neurol*. 2018;17(9):816-28. doi: [10.1016/S1474-4422\(18\)30254-0](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(18)30254-0)
 16. Bockhorst J, Wicklund M. Limb girdle muscular dystrophies. *Neurol Clin*. 2020; 38(3):493-504. doi: [10.1016/j.ncl.2020.03.009](https://doi.org/10.1016/j.ncl.2020.03.009)
 17. Bevilacqua JA, Guecaimburu Ehulete MDR, Perna A, Dubrovsky A, Franca MC Jr, Vargas S, et al. The Latin American experience with a next generation sequencing genetic panel for recessive limb-girdle muscular weakness and Pompe disease. *Orphanet J Rare Dis*. 2020 ene 13;15(1):11. doi: [10.1186/s13023-019-1291-2](https://doi.org/10.1186/s13023-019-1291-2)
 18. Johnson NE. Myotonic muscular dystrophies. *Continuum (Minneapolis)*. 2019; 25(6):1682-95. doi: [10.1212/CON.0000000000000793](https://doi.org/10.1212/CON.0000000000000793)
 19. Meola G. Clinical aspects, molecular pathomechanisms and management of myotonic dystrophies. *Acta Myol*. 2013; 32(3):154-65.
 20. Kirschner J. Congenital muscular dystrophies. *Handb Clin Neurol*. 2013; 113:1377-85. doi: [10.1016/B978-0-444-59565-2.00008-3](https://doi.org/10.1016/B978-0-444-59565-2.00008-3).
 21. Zambon AA, Muntoni F. Congenital muscular dystrophies: What is new? *Neuromuscul Disord*. 2021 oct;31(10):931-42. doi: [10.1016/j.nmd.2021.07.009](https://doi.org/10.1016/j.nmd.2021.07.009)
 22. Graziano A, Bianco F, D'Amico A, Moroni I, Messina S, Bruno C, et al. Prevalence of congenital muscular dystrophy in Italy: a population study. *Neurology*. 2015 mar 3;84(9):904-11. doi: [10.1212/WNL.0000000000001303](https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000001303)
 23. Lilleker JB, Keh YS, Roncaroli F, Sharma R, Roberts M. Metabolic myopathies: A practical approach. *Pract Neurol*. 2018 feb;18(1):14-26. doi: [10.1136/practneurol-2017-001708](https://doi.org/10.1136/practneurol-2017-001708)
 24. Olimpio C, Tiet MY, Horvath R. Primary mitochondrial myopathies in childhood. *Neuromuscul Disord*. 2021 oct;31(10):978-87. doi: [10.1016/j.nmd.2021.08.005](https://doi.org/10.1016/j.nmd.2021.08.005)
 25. Tarnopolsky MA. Metabolic myopathies. *Continuum (Minneapolis)*. 2016 dic;22(6, Muscle and Neuromuscular Junction Disorders):1829-51. doi: [10.1212/CON.0000000000000403](https://doi.org/10.1212/CON.0000000000000403)
 26. Brais B. Oculopharyngeal muscular dystrophy. *Handb Clin Neurol*. 2011;101:181-92. doi: [10.1016/B978-0-08-045031-5.00014-1](https://doi.org/10.1016/B978-0-08-045031-5.00014-1)
 27. Cruz-Aguilar M, Guerrero-de Ferran C, Tovilla-Canales JL, Nava-Castañeda A, Zenteno JC. Characterization of PABPN1 expansion mutations in a large cohort of Mexican patients with oculopharyngeal muscular dystrophy (OPMD). *J Investig Med*. 2017; 65(3):705-8. doi: [10.1136/jim-2016-000184](https://doi.org/10.1136/jim-2016-000184)
 28. Tawil R. Facioscapulohumeral muscular dystrophy. *Handb Clin Neurol*. 2018;148:541-8. doi: [10.1016/B978-0-444-64076-5.00035-1](https://doi.org/10.1016/B978-0-444-64076-5.00035-1)
 29. Hamel J, Tawil R. Facioscapulohumeral muscular dystrophy: Update on pathogenesis and future treatments. *Neurotherapeutics*. 2018;15(4):863-71. doi: [10.1007/s13311-018-00675-3](https://doi.org/10.1007/s13311-018-00675-3)
 30. Miller TM, Dias da Silva MR, Miller HA, Kwiecinski H, Mendell JR, Tawil R, et al. Correlating phenotype and genotype in the periodic paralyses. *Neurology*. 2004; 63(9):1647-55. doi: [10.1212/01.wnl.0000143383.91137.00](https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000143383.91137.00)
 31. López-Hernández JC, Galnares-Olalde JA, Benítez-Alonso E, Alcalá RE, Vargas-Cañas ES. Vacuolar myopathy associated to CACNA1S mutation as a rare cause of late-onset limb-girdle myopathy: a case report. *Cureus*. 2021; 13(10):e18873. doi: [10.7759/cureus.18873](https://doi.org/10.7759/cureus.18873)

Artículo sin conflicto de interés

© Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía
Manuel Velasco Suárez

INTRA-STRIATUM LODOXAMIDE PRODUCED CONDITIONING PLACE PREFERENCE IN RATS VIA GPR35 INDEPENDENT MECHANISMS

Díaz-Barba Alejandro¹ | Guerrero-Alba Raquel¹ | Quintanar J. Luis¹ | Marichal-Cancino Bruno A. ¹✉

1. Department of Physiology and Pharmacology, Center for Basic Sciences, Autonomous University of Aguascalientes

Correspondence

Dr. Bruno A. Marichal-Cancino
Department of Physiology and Pharmacology, Center for Basic Sciences, Autonomous University of Aguascalientes, University City, 20100, Aguascalientes, Ags., Mexico.

✉ bruno.marichal@edu.uaa.mx

Abstract

The function of the protein-coupled receptor 35 (GPR35) in the central nervous system (CNS) remains largely unknown. Due to its expression in the ventral striatum, a key area in the brain reward system, the function of GPR35 in reinforcing actions is questioning. To analyze if activation of GPR35 in the ventral striatum is related to reinforcing actions, male Wistar rats (250-300 g) received stereotaxic surgery to place guide cannulae in the ventral striatum. Lodoxamide (a full rat-GPR35 agonist) or vehicle (DMSO 10%) were injected (intra-ventral-striatum) in the absence and during the pretreatment with ML-194 (a selective GPR35 antagonist). Lodoxamide (100 pmol) induced a significant increment in preference for the drug-conditioning chamber ($p < 0.05$), but not vehicle or ML-194 *per se* ($p > 0.05$). On the other hand, the pretreatment with ML-194 did not prevent lodoxamide's reinforcing effects. Thus, the reinforcing actions of lodoxamide (intra-ventral-striatum) involve mechanisms likely independent of GPR35 which remains to be identified; and a role for GPR35 in the brain reward systems (at least in ventral striatum) seems improbable.

Keywords: conditioning place preference paradigm, GPR35, lodoxamide, ML-194.

Introduction

GPR35 was initially discovered in the rat intestine.¹ This receptor is coupled to *Gai/o* and *Ga13* proteins.²⁻⁵ Kynurenic acid (KYNA) remains the most likely endogenous agonist ligand for GPR35;^{3,5} interestingly, it also seems to negatively regulate dopamine levels in the ventral striatum,⁶ as well as glutamate levels in hippocampus.⁷ However, the action mechanisms for these effects remain unclear. Previous reports have involved actions on: i) alpha 7 nicotinic acetylcholine receptor (alpha7nAChR); ii) N-methyl-D-aspartic acid receptor (NMDAR); iii) GPR35; iv) among others (e.g., GABAA channels).⁸⁻¹⁰ Furthermore, recently, important participation of the kynurenine pathway in the addiction phenomena was proposed.¹¹ There is a plethora of evidence for the roles of alpha7nAChR, NMDA, and GABAA channels in addictions, but not for GPR35.

In the nervous system, GPR35 was reported in dorsal root ganglion neurons,⁹ and moderate expression in the brain and spinal cord.¹² In sensory neurons, its functions are related to pain

inhibition, whereas its role in the central nervous system (CNS) is less clear, although it has been demonstrated that the loss of GPR35 may underlie at least one kind of mental retardation (i.e., Albright hereditary osteodystrophy-like syndrome).¹³ This pilot study was set up to explore the pharmacological effects of intra-ventral-striatum injections of lodoxamide (a GPR35 full agonist) on the conditioning place preference paradigm.

Methods

Animals

Fifty male Wistar rats (250-300 g) in their young adult life (~ 8 weeks)¹⁴ were obtained from the vivarium of the Autonomous University of Aguascalientes. All experimental protocols and manipulation were approved by our Institutional Ethics Committee (CE-UAA) and followed the Mexican Guidelines for Animal Care (NOM-062-ZOO-1999) in severe harmony with the ARRIVE guide¹⁵ and the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals in the USA.¹⁶ Animals were kept under a 12-hour light/dark cycle with free access to water and food.



Stereotaxic surgery

All rats were anesthetized with 1 mL/kg (i.p.) of the cocktail: Zoletil®50 (35 mg/mL + Xylazine 8 mg/mL). A two-sided guide cannula was stereotaxically placed into the ventral striatum (P: 1.28 mm, L: 3 mm, and V: 7 mm) based on Paxinos and Watson.¹⁷ The guide cannula was held in place to the skull with two screws and dental acrylic, and a stylet was inserted into the guide. After surgery, the animals were in a post-surgery recovery phase of at least seven days, as previously reported.^{18,19}

Microinjections were performed over a period of 60 s using a syringe pump (Sage Instruments, model 355); the injection cannula was left undisturbed for another 60 s to prevent drug reflux. 2,2'-[[2-Chloro-5-cyano-1,3-phenylene]diimino]bis-2-oxoacetic acid (Iodoxamide), and CID-9581011 (ML194) were dissolved in 10% dimethyl sulfoxide (10% DMSO). Fresh solutions were prepared each experimental day, and the free base was considered to calculate the reported concentrations. The drugs used in the present study were purchased from Sigma Aldrich® (Saint Louis, Missouri, USA).

Behavioral procedure

The conditioned place preference (CPP) apparatus consisted of two large side chambers (41.5cm X 32.5cm X 30.5cm) and one middle chamber between both compartments (27.5cm X 15cm X 12.5cm). The two side chambers differed in floor textures (rough versus fine) and somatosensory cues (black versus white). The CPP paradigm consisted of three different phases: pre-conditioning, with a duration of 3 continuous days, conditioning, with a duration of 5 continuous days, and the day of the test. The CPP apparatus was placed in an isolated quiet room that was illuminated with red light, and every procedure was video-recorded for its posterior analysis.

During the conditioning phase, animals were treated and placed in the opposite chamber that was preferred during the pre-conditioning phase. The difference between the time spent in the drug-paired compartment throughout the test day and the time spent in the drug-paired compartment during pre-conditioning (lateral preference shift) was taken as a degree of conditioning. Therefore, a statistically significant increase in time spent in the drug-paired chamber suggests a conditioning effect induced by the treatments, as previously reported.^{20,21}

Pre-conditioning phase

The baseline and compartment preference were determined by placing each animal in the middle aisle of the CPP apparatus, then removing the barriers to allow free access to the entire apparatus for 15 min on days 1 to 3.

The mean time spent in the non-preferred chamber (i.e., the chamber where animals spent less time) during these days was used as a baseline.^{20,22}

Counterbalance conditioning phase

This phase consisted of 5 days of conditioning sessions. Five min before performing each paired compartment session, the pretreatments vehicle (10% DMSO), Iodoxamide (56 pmol), Iodoxamide (100 pmol), ML-194 (300 pmol), or ML194 (300 pmol) + Iodoxamide (100 pmol) was microinjected through the cannulas into the ventral striatum (Figure 1). Conditioning was carried out twice a day (7:00 a.m and 11 a.m) with a 4-hr interval between each 15-min session. A counterbalance scheme was applied by injecting treatment/vehicle in the paired and unpaired chamber, respectively. Access to other compartments was blocked with guillotine doors during this phase.

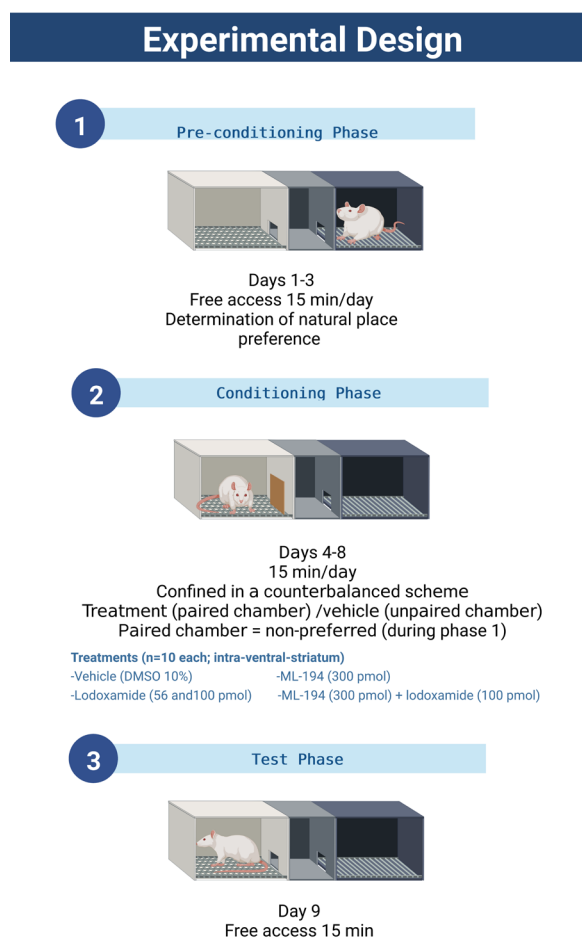


Figure 1. Experimental design. Created with BioRender.com.

Test day

The next day after the conditioning phase, the testing phase was carried out. Guillotine doors were removed, and the rats had access to the entire apparatus. The time each rat spent in the compartments over a 15-min period was video-recorded. The difference between the time spent in the drug-paired compartment during the test day and the time spent in the drug-paired compartment during pre-conditioning (lateral preference shift) was registered.

Histology

At the end of the behavioral procedure, the animals were overdosed with a lethal injection of sodium pentobarbital (70–100 mg/kg, i.p.). Intracardiac perfusion was performed with 0.9% isotonic saline followed by 4% formaldehyde; the brain was removed, and it was preserved in 10% formaldehyde. Subsequently, the brain was mounted in a 30% sucrose bath and coronally sectioned (60 μ m) using a cryostat. The slices were stained with cresyl violet (Sigma®, St Louis, MO) and examined with microscope to identify the microinjection site, in consultation with Paxinos and Watson.¹⁷ Only rats cannulated in the ventral striatum were included in this study.

Data analysis

For all tests, the measure of central tendency was the mean value, and the measure of dispersion was the standard error of the mean (SEM). All data showed normal distribution. Comparisons for the CPP protocol were obtained with a two-way analysis of variance with repeated measures (two-way-RM-ANOVA). If pertinent, this analysis was followed, by the Bonferroni post hoc test. For all experiments, statistical significance was considered $p < 0.05$.

Results

Figure 2 shows the time spent in the CPP paradigm according to different lodoxamide concentrations. The concentration of 100 pmol lodoxamide increased the time spent in the drug-conditioning chamber during the test [$F(1, 27) = 6.328$, $p = 0.018$] compared with baseline, whereas no changes in this value were detected in vehicle and 56 pmol of lodoxamide groups ($p > 0.05$; Figure 2).

Figure 3 shows the effects of a selective GPR35 receptor antagonist *per se* and on the reinforcing actions of 100 pmol lodoxamide. By itself ML194 did not modify time spent in the drug-conditioning chamber during the test compared with baseline. Moreover, it failed to prevent the increment in this value during the test with the animals that received 100

pmol lodoxamide [$F(1, 18) = 5.198$, $p = 0.035$] (Figure 3). Additionally, time spent in the drug-conditioning chamber during the test was greater in ML194 (300 pmol) + lodoxamide (100 pmol) compared with ML194 (300 pmol) ($p < 0.05$, Figure 3).

Discussion

General

In previous reports, systemic injections of kynurenic acid (a GPR35 full agonist) attenuated the rewarding effects of morphine in the CPP paradigm.²³ A low dose of kynurenic acid produced a tendency to increase the time spent in the drug-paired arm in the CPP paradigm (not reported with higher doses), suggesting a possible reinforcing effect of this acid.²³

Interestingly, the preventive effects of the kynurenic acid on the reinforcing actions of morphine has been linked to its role as an antagonist of the NMDA channels.²³ This premise can be supported by the fact that the blockade of NMDA receptors prevented both the reinforcing and aversive effects of diverse substances in the CPP paradigm.²⁴ However, the evaluation of the potential participation of GPR35 had been omitted. In our study, a low dose of lodoxamide (100 pmol) — a full GPR35 receptor agonist with not reported activity on NMDA channels — in the ventral striatum produced an increase in place preference in the CPP paradigm (Figure 2). This reinforcing effect was highly reproducible (Figures 2 and Figure 3), but resistant to the blockade with a GPR35 selective antagonist (i.e., ML-194; Figure 3). Thus, the mechanism of action probably involves GPR35-independent pathways that remain undetermined.

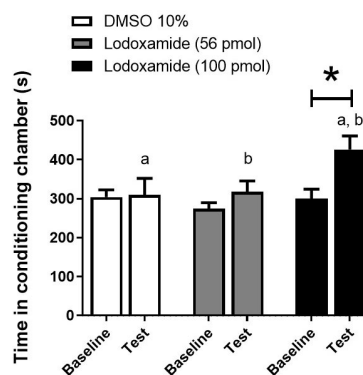


Figure 2. Effect of intra-ventral-striatum injections of vehicle (DMSO 10%) or lodoxamide (56 and 100 pmol) on time spent in the drug-paired chamber. *, $p < 0.05$ vs. respective baseline; a, $p < 0.05$ lodoxamide (100 pmol, during test) vs. vehicle (during test); b, $p < 0.05$ lodoxamide (100 pmol, during test) vs. lodoxamide (56 pmol, during test).

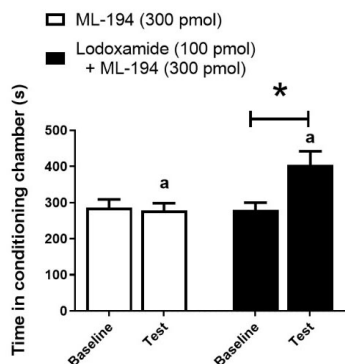


Figure 3. Effect of intra-ventral-striatum injections of ML-194 (selective GPR35 antagonist) *per se* and on the change in place preference induced by lodoxamide (100 pmol intra-ventral-striatum). *, $p < 0.05$ vs. respective baseline. a, $p < 0.05$ lodoxamide (100 pmol) + ML-194 (300 pmol; during test) vs. ML-194 (300 pmol; during test).

Hypothetic mechanisms involved in the reinforcing actions of lodoxamide

Clinically, the main use of lodoxamide in Ophthalmology is related with its anti-inflammatory actions via decrease of mast cells, T-lymphocytes and other immune cells.²⁵ Lodoxamide has also been described as an anti-fibrogenic drug in a hepatic damage model.²⁶ Similarly, other GPR35 agonists such as pamoic acid have been reported mediating neuroprotective actions.²⁷ Therefore, the actions of lodoxamide goes beyond GPR35 receptors.

It has been widely reported that analgesic and anti-inflammatory agents may produce conditioning place preference and other manifestations of reinforcing actions.²⁸ Hence, as lodoxamide may produce neuroprotective and anti-inflammatory actions, a logical speculative idea is that its reinforcing effects may be linked to both effects. Nevertheless, our animals remained 7-10 days in recovery time after surgery, so inflammatory post-surgery processes are unlikely. As lodoxamide include multiple pathways and modulation in the secretion of different mediators (histamine, serotonin, adenosine, etc.),^{29,30} the indirect participation of other compounds which might alter the dopaminergic system should be also considered and studied to determine lodoxamide mechanisms of action.

Admittedly, this study failed to find the action mechanisms for the reinforcing effects induced by lodoxamide. Nevertheless, our data may motivate further research protocols directed to understand these mechanisms and its possible pharmacological effects on the brain reward system.

Conclusion

Our data showed that intracerebral injections of lodoxamide at a concentration of 100 pmol into the ventral striatum elicit an increase in place preference switching through mechanisms that have yet to be identified, but that are most likely independent of GPR35. Likewise, a role for GPR35 in the brain reward systems (at least in ventral striatum) seems improbable.

Acknowledgements

Figure 1 was created with BioRender.com. We thank Fabián David Ruiz Esparza Juárez for his assistance in the elaboration of graphics.

Conflicts of interest

Authors have no conflict of interest to disclose.

Authors' contributions

AD-B carried out the experimental protocols, and contributed to data curation, writing, review and editing the manuscript; RG-A and JLQ contributed to conceptualization, writing, review and editing; BAM-C wrote the original draft, and contributed to formal analysis, funding acquisition and project administration.

Funding

AD-B was supported by doctoral fellowship from the National Council of Science and Technology. B.A.M.C. was supported by grant PIFF21-1 from the "Dirección General de Investigación y Posgrado" of the Autonomous University of Aguascalientes.

References

- O'Dowd BF, Nguyen T, Marchese A, Cheng R, Lynch KR, Heng HH, et al. Discovery of three novel G-protein-coupled receptor genes. *Genomics*. 1998;47(2):310-3. doi: [10.1006/geno.1998.5095](https://doi.org/10.1006/geno.1998.5095)
- Fallarini S, Magliulo L, Paoletti T, de Lalla C, Lombardi G. Expression of functional GPR35 in human iNKT cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 2010; 398(3):420-5. doi: [10.1016/j.bbrc.2010.06.09](https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2010.06.09)
- Guo J, Williams DJ, Puhl HL, 3rd, Ikeda SR. Inhibition of N-type calcium channels by activation of GPR35, an orphan receptor, heterologously expressed in rat sympathetic neurons. *J Pharmacol Exp Ther*. 2008; 324(1):342-51. doi: [10.1124/jpet.107.127266](https://doi.org/10.1124/jpet.107.127266)
- Jenkins L, Alvarez-Curto E, Campbell K, de Munnik S, Canals M,

- Schlyer S, et al. Agonist activation of the G protein-coupled receptor GPR35 involves transmembrane domain III and is transduced via $G\alpha_{13}$ and β -arrestin-2. *Br J Pharmacol*. 2011; 162(3):733-48. doi: [10.1111/j.1476-5381.2010.01082.x](https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2010.01082.x)
5. Wang J, Simonavicius N, Wu X, Swaminath G, Reagan J, Tian H, Ling L. Kynurenic acid as a ligand for orphan G protein-coupled receptor GPR35. *J Biol Chem*. 2006; 281(31):22021-22028. doi: [10.1074/jbc.M603503200](https://doi.org/10.1074/jbc.M603503200). PMID: 16754668..
 6. Amori L, Wu HQ, Marinozzi M, Pellicciari R, Guidetti P, Schwarcz R. Specific inhibition of kynurenate synthesis enhances extracellular dopamine levels in the rodent striatum. *Neuroscience*. 2009; 159(1):196-203.
 7. Pocivavsek A, Wu HQ, Potter MC, Elmer GI, Pellicciari R, Schwarcz R. Fluctuations in endogenous kynurenic acid control hippocampal glutamate and memory. *Neuropsychopharmacology*. 2011 Oct;36(11):2357-67. doi: [10.1038/npp.2011.127](https://doi.org/10.1038/npp.2011.127).
 8. Wonodi I, Schwarcz R. Cortical kynurenine pathway metabolism: a novel target for cognitive enhancement in Schizophrenia. *Schizophr Bull*. 2010; 36(2):211-8.
 9. Ohshiro H, Tonai-Kachi H, Ichikawa K. GPR35 is a functional receptor in rat dorsal root ganglion neurons. *Biochem Biophys Res Commun*. 2008; 365(2):344-8.
 10. Mok MH, Fricker AC, Weil A, Kew JN. Electrophysiological characterisation of the actions of kynurenic acid at ligand-gated ion channels. *Neuropharmacology*. 2009; 57(3):242-9.
 11. Morales-Puerto N, Giménez-Gómez P, Pérez-Hernández M, Abuin-Martínez C, Gil de Biedma-Elduayen L, Vidal R, Gutiérrez-López MD, O'Shea E, Colado MI. Addiction and the kynurenine pathway: A new dancing couple? *Pharmacol Ther*. 2021; 223:107807. doi: [10.1016/j.pharmthera.2021.107807](https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2021.107807). PMID: 33476641.
 12. Taniguchi Y, Tonai-Kachi H, Shinjo K. Zaprinast, a well-known cyclic guanosine monophosphate-specific phosphodiesterase inhibitor, is an agonist for GPR35. *FEBS Lett*. 2006; 18, 580(21):5003-8. doi: [10.1016/j.febslet.2006.08.015](https://doi.org/10.1016/j.febslet.2006.08.015). PMID:16934253.
 13. Shrimpton AE, Braddock BR, Thomson LL, Stein CK, Hoo JJ. Molecular delineation of deletions on 2q37.3 in three cases with an Albright hereditary osteodystrophy-like phenotype. *Clin Genet*. 2004; 66(6):537-44. doi: [10.1111/j.1399-0004.2004.00363.x](https://doi.org/10.1111/j.1399-0004.2004.00363.x).
 14. Sengupta P. The Laboratory Rat: Relating Its Age With Human's. *Int J Prev Med*. 2013; 4(6):624-30. PMID: PMC3733029.
 15. McGrath JC, Drummond GB, McLachlan EM, Kilkenny C, Wainwright CL. Guidelines for reporting experiments involving animals: the ARRIVE guidelines. *Br J Pharmacol*. 2010; 160(7):1573-6.
 16. Bayne K. Revised Guide for the Care and Use of Laboratory Animals available. American Physiological Society. *Physiologist*. 1996; 39(4):199, 208-11.
 17. Paxinos G, Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates. 7th ed. New York: Academic Press; 2014. eBook ISBN: 9780124157521; Hardcover ISBN: 9780123919496
 18. Vázquez-León P, Miranda-Páez A, Calvillo-Robledo A, Marichal-Cancino BA. Blockade of GPR55 in dorsal periaqueductal gray produces anxiety-like behaviors and evokes defensive aggressive responses in alcohol-pre-exposed rats. *Neurosci Lett*. 2021:136218.
 19. Vázquez-León P, Ramírez-San Juan E, Marichal-Cancino BA, Campos-Rodríguez C, Chávez-Reyes J, Miranda-Páez A. NPY-Y(1) receptors in dorsal periaqueductal gray modulate anxiety, alcohol intake, and relapse in Wistar rats. *Pharmacol Biochem Behav*. 2020;199:173071.
 20. Liu J, Tao X, Liu F, Hu Y, Xue S, Wang Q, et al. Behavior and hippocampal Epac signaling to nicotine CPP in mice. *Transl Neurosci*. 2019; 10:254-9.
 21. Díaz-Barba A, Calvillo-Robledo A, Vázquez-León P, Gallegos-Vieyra E, Quintanar JL, Marichal-Cancino BA. Central GPR55 may prevent nicotine reinforcing actions: a preliminary study. *Acta Neurobiol Exp (Wars)*. 2022;82(3):304-14. doi: [10.55782/ane-2022-029](https://doi.org/10.55782/ane-2022-029)
 22. Sun Y, Chen G, Zhou K, Zhu Y. A Conditioned Place Preference Protocol for Measuring Incubation of Craving in Rats. *J Vis Exp*. 2018(141).
 23. Bespalov A, Dumpis M, Piotrovsky L, Zvartau E. Excitatory amino acid receptor antagonist kynurenic acid attenuates rewarding potential of morphine. *Eur J Pharmacol*. 1994; 264(3):233-9.
 24. Bespalov A. The expression of both amphetamine-conditioned place preference and pentylentetrazol-conditioned place aversion is attenuated by the NMDA receptor antagonist (\pm)-CPP. *Drug Alcohol Depend*. 1996;41(1):85-8.
 25. Avunduk AM, Avunduk MC, Dayanir V, Tekelioğlu Y, Dayioğlu YS. Pharmacological mechanism of topical lodoxamide treatment in vernal keratoconjunctivitis: a flow-cytometric study. *Ophthalmic Res*. 1998; 30(1):37-43.
 26. Kim MJ, Park SJ, Nam SY, Im DS. Lodoxamide Attenuates Hepatic Fibrosis in Mice: Involvement of GPR35. *Biomol Ther (Seoul)*. 2019; 28(1):92-97. doi: [10.4062/biomolther.2018.227](https://doi.org/10.4062/biomolther.2018.227). Epub ahead of print.
 27. Sharmin O, Abir AH, Potol A, Alam M, Banik J, Rahman AFMT, Tarannum N, Wadud R, Habib ZF, Rahman M. Activation of GPR35 protects against cerebral ischemia by recruiting monocyte-derived macrophages. *Sci Rep*. 2020; 10(1):9400. doi: [10.1038/s41598-020-66417-8](https://doi.org/10.1038/s41598-020-66417-8).
 28. Navratilova E, Xie JY, King T, Porreca F. Evaluation of reward from pain relief. *Ann N Y Acad Sci*. 2013; 1282:1-11. doi: [10.1111/nyas.12095](https://doi.org/10.1111/nyas.12095)
 29. Parenteau GL, Clark RE. Prevention of ischemia-reperfusion injury by the allergy drug lodoxamide tromethamine. *Ann Thorac Surg*. 1991; 52(4):832-8.
 30. MacKenzie AE, Caltabiano G, Kent TC, Jenkins L, McCallum JE, Hudson BD, Nicklin SA, Fawcett L, Markwick R, Charlton SJ, Milligan G. The anti-allergic mast cell stabilizers lodoxamide and bufrolin as the first high and equipotent agonists of human and rat GPR35. *Mol Pharmacol*. 2014; 85(1):91-104. doi: [10.1124/mol.113.089482](https://doi.org/10.1124/mol.113.089482).

Article without conflict of interest

© Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía
Manuel Velasco Suárez

ROLE OF MANGANESE IN THE PATHOPHYSIOLOGY OF HEPATIC ENCEPHALOPATHY: SCOPING REVIEW PROTOCOL

Pérez-Neri Iván^{1*} | Sandoval Hugo² | Malvaso Antonio³ | Indika Neluwa-Liyanage R.⁴ | Alarcon-Ruiz Christopher A.⁵ | Ebrahimian Manoochehr⁶ | Ríos Camilo¹

1. Department of Neurochemistry, National Institute of Neurology and Neurosurgery Manuel Velasco Suárez. México.
2. General Directorate. National Institute of Rehabilitation Luis Guillermo Ibarra Ibarra. México.
3. School of Medicine and Surgery, Vita-Salute San Raffaele University, Milan, Italy.
4. Department of Biochemistry, Faculty of Medical Sciences. University of Sri Jayewardenepura. Sri Lanka.
5. Unidad de Investigación para la Generación y Síntesis de Evidencias en Salud, Universidad San Ignacio de Loyola. Lima, Perú.
6. Department of General Surgery, Loghman Hakim Hospital, Shahid Beheshti University of Medical Sciences. Tehran, Iran.

Correspondence

Iván Pérez-Neri, PhD.
Department of Neurochemistry, National Institute of Neurology and Neurosurgery Manuel Velasco Suárez. Insurgentes Sur 3877, La Fama, Tlalpan. Ciudad de México, México. C.P. 14269.

✉ ipneri03@gmail.com

Abstract

Introduction: Hepatic encephalopathy (HE) is a neuropsychiatric complication of liver disease and/or portosystemic blood shunting, characterized by alterations in alertness, personality, cognition, and motor functions. Its severity can be classified into four grades from mild to coma. This disease may affect several brain regions, including the cingulate gyrus, insular cortex, and globus pallidus. The pathophysiology of HE is thought to be multifactorial, involving manganese accumulation in the brain, the damaging effect of ammonia on glial cells, etc. Previous studies describe the pathophysiology of HE or the effect of manganese on the central nervous system. However, there is no review addressing both topics from an integrative perspective through a systematic methodology. This scoping review aims to evaluate the role of manganese in HE. **Methods:** Published studies (all publication types) will be retrieved from Web of Science, Medline, Scopus, EBSCOhost, Ovid, and Google Scholar. Inclusion criteria: studies reporting manganese levels in any biological sample sample of patients with HE, any experimental model reporting the effect of manganese administration on neuroprotection in models of liver damage, or showing an effect on manganese levels in the liver and/or the brain. Exclusion criteria: studies reporting subjects exposed occupationally or environmentally to manganese, or written in languages different than Spanish or English that could not be appropriately translated, or whose full-text files could not be retrieved. Either clinical or preclinical studies will be analyzed separately but might be discussed together. Data summaries will be presented in graphs, figures, and tables. A narrative synthesis will be presented. This protocol complies with PRISMA-P.

Keywords: *manganese, ammonia, oxidative stress, neurotransmitter, neuronal death*



Introduction

Hepatic encephalopathy (HE) is a neuropsychiatric complication of liver disease and/or portosystemic blood shunting, characterized by transient or persistent alterations of alertness, personality, cognition, and motor functions,¹ that mainly occurs in alcoholic cirrhosis.¹ HE can be triggered by several stress factors such as gastrointestinal bleeding, hypokalemia, infections, dehydration, constipation, hypotension, oral protein load, deteriorating liver function, anesthesia, and surgery.² It may also occur in non-human species.³

HE is classified into three main types: type A, due to acute liver failure; type B, resulting from portosystemic bypass or shunting, and type C, associated with cirrhosis.² Furthermore, its severity is categorized into four grades (I, II, III, and IV) from mild symptoms to coma.² This disease can affect several brain regions, including the cingulate gyrus, insular cortex, and globus pallidus.⁴ Minimal HE (MHE) is a mild form of the disease which shows no cognitive or motor alterations but affects patients' quality of life.¹ This latter presentation occurs in 70% of cirrhotic patients.²

Repeated HE episodes might lead to acquired hepatocerebral degeneration, causing neuronal loss and astrocytosis in several brain regions such as the basal ganglia, cerebral cortex, and cerebellum.^{1,4} The pathophysiology of HE is thought to be multifactorial. The proposed pathogenic mechanisms include manganese (Mn) accumulation in the brain, ammonia toxicity, gut dysbiosis, etc.^{4,5} Injury to the basal ganglia can lead to extrapyramidal symptoms similar to those observed in Parkinson's disease.^{1,2} This is different from cirrhosis-related parkinsonism, which is unresponsive to HE treatment and is also associated with brain Mn accumulation.⁴

HE pathophysiology mostly involves ammonia-mediated mechanisms.¹ This occurs since the liver is the primary organ responsible for ammonia metabolism through the urea cycle and glutamine synthesis.¹ In HE, ammonia is accumulated in the brain — even in mild cases¹ — and damages glial cells (astrocytes and microglia) to a greater extent than neurons, leading to neuroinflammation.¹ Hyperammonemia may cause brain edema, especially in type A HE.² This leads to astrocyte swelling, blood-brain barrier disruption, and increased intracranial pressure,² which may lead to brain herniation and death.² HE patients can be candidates for liver transplantation, following which HE significantly improves, even though some patients show signs of persistent cognitive impairment.² However, this intervention is limited by organ availability.

Alzheimer's type II astrocytosis is a common neuropathological feature of this disorder. These changes may differ histologically across brain regions: spherical forms of astrocytes are observed in the cerebral cortex, while an irregular shape is present in the basal ganglia.¹ Nonetheless, this type of astrocytosis is associated with several hyperammonemic syndromes, but not limited to liver damage.¹

In the central nervous system, astrocytes contribute to ammonia clearance through glutamine synthesis.³ Astrocyte dysfunction results in an increased glutamine level and a decreased glutamate availability.³ In turn, glutamine is released from astrocytes and taken up by neurons, which convert it back to glutamate through glutaminase activity.³ High extracellular glutamine concentrations inhibit further release of this amino acid, leading to its intracellular accumulation and swelling.³ In addition, ammonia can impair chloride channel function, increasing cell excitability¹ and stimulating glutamine synthesis, enhancing brain edema.² Moreover, ammonia may alter the Krebs cycle,¹ affecting energy metabolism.

Affected neurotransmitter systems and modulators in HE include GABA, serotonin, histamine, dopamine, and neurosteroids,¹ also, the glutamate-nitric oxide (NO) pathway may be altered² due to glutamine-mediated regulation of NO synthesis.⁶ This can also cause oxidative stress.²

Despite the role of ammonia in HE pathophysiology, its serum levels do not correlate with HE severity,² and normal blood concentrations do not exclude HE diagnosis.³ This suggests the involvement of additional mechanisms, like neuroinflammation and Mn accumulation.³ Liver damage may disturb the clearance of all substances using this route for their primary excretion, including Mn.¹ Thus, serum Mn levels are increased up to 7-fold in patients with cirrhosis; within the brain, Mn accumulates mainly in the globus pallidus.¹ Astrocytes are the main cell type accumulating Mn, and they may reach a 50-fold higher intracellular concentration compared to surrounding cells.³ This causes Alzheimer's type II astrocytosis,³ as ammonia does. Also, Mn may stimulate an inflammatory response and oxidative stress mediated by microglia.³

Mn is an essential trace element that serves as a cofactor for several enzymes such as arginase, glutamine synthetase, and Mn superoxide dismutase.⁷ It is a micronutrient usually present in parenteral nutrition admixtures.⁷ Accordingly, it is considered that large intravenous Mn doses during parenteral nutrition may cause oxidative stress, liver damage, and neurologic and psychiatric symptoms⁷ — some authors

consider that Mn can generate oxidative stress under those conditions.⁷ Mn can also alter glutamine uptake by astrocytes, impairing the glutamine/glutamate cycle.⁷

It has been suggested that lowering ammonia levels might be beneficial for HE patients.¹ Additionally, benzodiazepine receptor antagonists, histamine antagonists, or dopaminergic agonists have shown limited efficacy in clinical trials.¹ Non-pharmacological interventions include artificial liver support systems and liver transplantation,¹ but they are not available for every patient, especially in veterinary medicine;³ extrapyramidal symptoms may not be reverted by transplantation.¹ For these reasons, modulating Mn levels or its downstream mechanisms might benefit HE patients. However, reducing oral intake is not an efficient strategy for this purpose,⁷ so additional therapeutic strategies await development.

Rationale for the study

Previous narrative reviews describe the pathophysiology of HE or the effect of Mn in the central nervous system⁸ but, to the best of our knowledge, there is no evidence synthesis addressing both topics from an integrative perspective, and using a systematic methodology.

For those reasons, performing a scoping review may be the next step required to elucidate the actual role of Mn in HE, the mechanisms underlying this relationship, and the therapeutic alternatives that could arise from its analysis.

Methods

Protocol development

This methodology is based on a previous protocol.⁹ After elaborating on preliminary research questions, we used an online tool to define the appropriate type of review article for our study, as previously reported;¹⁰ the result was: scoping review (<https://whatreviewisrightforyou.knowledgetranslation.net/map/results?id=6448&code=hna8lHck7j>).

The International Prospective Register of Systematic Reviews (PROSPERO, <https://www.crd.york.ac.uk/prospero/>), JBI Clinical On-line Network of Evidence for Care and Therapeutics (JBI CONECT+, <https://connect.jbiconnectplus.org/>), and the Open Science Framework (<https://osf.io/>), were consulted to identify ongoing protocols for systematic or scoping reviews related to our research questions, but no relevant records were found (July 28th, 2021; updated in March 14th, 2022).

Our protocol was drafted by the research team and

revised as necessary. Supporting materials (checklists and forms) are publicly available through the Open Science Framework (https://osf.io/p7gdm/?view_only=123a09c13cd44ad3a6587e922f44c36e) as previously reported¹¹ (registration date Oct. 9th, 2021; last update Feb. 11th, 2022). Our research team comprises researchers with different stakeholder profiles: preclinical, clinical, and socio-medical, recruited with the aid of Cochrane TaskExchange (<https://taskexchange.cochrane.org/>).

This protocol complies with the Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses statement (PRISMA 2020¹²), complemented with the PRISMA extensions for abstracts (PRISMA-A¹³), protocols (PRISMA-P¹⁴), scoping reviews (PRISMA-Scr¹⁵), and the JBI Manual for Evidence Synthesis.¹⁶ Those guidelines were applied as much as suitable for a scoping review protocol. PRISMA 2020 and PRISMA-A checklists were elaborated using online templates (<https://prisma.shinyapps.io/checklist/>).

Objectives

The primary objective of this scoping review is to evaluate the pathophysiological role of Mn accumulation in HE. Secondary objectives are:

- To evaluate the role of Mn accumulation in modulating oxidative stress.
- To evaluate the possible interaction between Mn accumulation and brain ammonia metabolism.
- To evaluate the effect of Mn accumulation on neurotransmitter systems relevant to HE.
- To evaluate the possible effect of sex on Mn-induced neurotoxicity.
- To evaluate the therapeutic potential of modulating Mn levels for HE.

Research questions for this review are described in [Table 1](#).¹⁶⁻¹⁸

Search strategy

This search strategy is reported according to PRISMA-S.¹⁹ It was elaborated by a trained researcher, and it has been peer-reviewed using the PRESS Peer Review of Electronic Search Strategies: 2015 Guideline Statement.²⁰ Published studies (all publication types) will be retrieved from Web of Science (Clarivate), Medline (PubMed), Scopus, EBSCOhost (Academic Search Ultimate), and Ovid, from database inception to the present. Also, the first 100 results from Google Scholar (<https://scholar.google.com/>), sorted by relevance and without citations, will be retrieved¹¹ using the software program Publish or Perish.²¹ The author's collections will also be considered.

Table 1. Research questions for this systematic scoping review

Question type	Framework	Description
Primary research question	PCC (Population, Concept, and Context)	In hepatic encephalopathy (P), what is the pathophysiological role (C) of manganese accumulation (C)?
Secondary research question 1	CIMO (Context, Intervention, Mechanisms, Outcomes)	In hepatic encephalopathy (C), what is the role of manganese accumulation (I) on modulating oxidative stress (M) for neurotoxic effects (O)?
Secondary research question 2	CIMO (Context, Intervention, Mechanisms, Outcomes)	In hepatic encephalopathy (C), does manganese accumulation (I) interact with other pathogenic mechanisms (M) causing neurotoxicity (O)?
Secondary research question 3	CIMO (Context, Intervention, Mechanisms, Outcomes)	In hepatic encephalopathy (C), what is the effect of manganese accumulation (I) on the neurotransmitter systems (M) involved in its pathophysiology (O)?
Secondary research question 4	PCC (Population, Concept, and Context)	In hepatic encephalopathy (P), what is the influence of sex/gender (C) on manganese neurotoxicity (C)?
Secondary research question 5	MIP framework (Methodology, Issues, Participants)	Does modulating manganese levels (M) has a therapeutic potential (I) for hepatic encephalopathy (P)?

No other sources will be consulted. Default EBSCOhost configuration (Limiters - Hidden NetLibrary Holdings; Expanders - Apply equivalent subjects; Search modes - Boolean/Phrase) will be used. No other filters or limits will be applied.

Databases to be consulted, their providers, and coverage dates (if available) are listed in Appendix A (available at https://osf.io/p7gdm/?view_only=123a09c13cd44ad3a6587e922f44c36e). Search algorithms were elaborated using an online tool (except that for EBSCOhost, which was adapted from other algorithms) and are publicly available (<https://app.2dsearch.com/new-query/611956d77e2b2d00042239a8>). Those algorithms were adjusted if necessary during the line-by-line analysis, which is described in Appendix B (available at https://osf.io/p7gdm/?view_only=123a09c13cd44ad3a6587e922f44c36e).

Articles written in languages other than English and Spanish will be included if adequately translated using Google Translate²² or if English or Spanish translations be found.²³ Gray literature will be consulted through the Conference Proceedings Citation Index - Science (Web of Science Core Collection) and OpenDissertations (EBSCOhost). Retrieved references will be de-duplicated using Rayyan QCRI default algorithm, complemented with Zotero and Bookends;²⁴ Ovid deduplication tool will be used within

that platform. Identified duplicates will be manually revised to confirm duplicated publications and will be eliminated.²⁴

Selection of studies

Two independent researchers will assess all references for eligibility using Sysrev²⁵ according to predefined criteria. A third researcher will solve discrepancies. Agreement between reviewers will be assessed using Sysrev concordance tool.²⁵ Two screening stages will be performed: Title/Abstract, and Full-Text.¹⁶ Both stages will be pilot-tested with a random sample of 25-50 studies.^{16, 26}

Studies selected for inclusion will be retrieved using the Retraction Watch database (<http://retractiondatabase.org/>) to identify retracted studies, which will be eliminated. The search strategy will be rerun six months after initial searches to identify more recent studies for possible inclusion. Results from the search strategy will be described in a PRISMA flow diagram.²⁷

Eligibility criteria

Inclusion criteria

- Original, experimental, or theoretical studies reporting Mn levels in any biological or tissue sample, assessed by any imaging or biochemical method, in patients with HE. Any study design will be considered.

- No specific diagnostic criteria for HE will be considered if the studies describe their population as presenting this specific condition, as previously reported.²⁸
- The analysis will not be limited to any clinical setting or article type. All quantitative, qualitative, or mixed-method studies will be considered.
- Original, experimental, or theoretical studies that describe experimental models reporting the effect of Mn administration (any pharmacological regime) on measures of neuroprotection (cell death, oxidative stress, excitotoxicity) in models of liver damage. Any study design will be considered.
- Experimental models of liver damage showing an effect on Mn levels in the liver and/or the brain.

Exclusion criteria

- Studies reporting subjects exposed occupationally or environmentally to Mn.
- Studies written in languages other than Spanish or English that could not be appropriately translated.
- Studies whose full-text files could not be retrieved.

As previously reported,¹¹ these criteria may be adjusted during the screening process. Adjustments will be applied to all studies and reported accordingly.

Data charting

Variables to be charted include age (years for humans, body weight or months for experimental animals), gender, HE type (A, B, or C), HE severity (MHE, grades I, II, III, or IV), Mn levels (any units of measure), biological sample (any tissue or fluid), brain region or cell type (neurons or glial cells), cell/tissue damage mechanism (cell death, edema, excitotoxicity, oxidative stress, astrocytosis), quality-of-life measures, pharmacological or surgical treatment, intra-hospital stay, patients' outcome, substance use, affected neurotransmitter system, experimental model (cell culture, rodents, non-human primates). Data charting will be pilot-tested with a random sample of 25-50 studies.¹⁶ Also, some variables recommended by the JBI Manual of Evidence Synthesis¹⁶ (authors, publication year, aims/purpose, study population, sample size, study design/methodology, interventions type/duration, comparator, outcome measures, key findings) will be charted. Only original studies are eligible for these charting methods.

Data synthesis

Either clinical or preclinical studies will be analyzed separately but might be discussed together. Data summaries will be presented in graphs, figures, and tables. Results

will be presented in the units they were reported, and no conversions will be applied. Studies will be analyzed separately by type of experimental model (cell cultures, rodents, or non-human primates). A narrative synthesis will be performed for all studies. Only original research studies are eligible for data charting. A scientific paper will be submitted to a leading journal in this field.

Strengths and limitations of the present protocol

This scoping review will provide an integrative perspective of the role of Mn for HE based on a comprehensive search of both clinical and preclinical studies. In contrast to other protocols,¹¹ our research questions were elaborated according to systematic frameworks supporting our search strategy, which was also peer-reviewed. An effort will be made to include articles written in any language. The multidisciplinary research group provides complementary perspectives from several profiles.

This protocol complies with several methodological guidelines, including some for systematic reviews (PRISMA 2020, PRISMA-P, PRISMA-S, PRESS) and not only those for scoping reviews (PRISMA-Scr, and the JBI Manual for Evidence Synthesis). However, only a narrative analysis of the evidence will be presented. No risk-of-bias analysis or certainty of evidence assessment is included. The heterogeneity of the included studies may be a strength of this review since it allows an exhaustive analysis of the research topic. However, it is also a limitation as this precludes performing a systematic review of intervention or a meta-analysis.

Author's contributions

I.P.N. provided topic and methodological expertise, contributed to the design of the protocol's methodology (including the development of the search strategy), coordinated the reviewer team, drafted and approved the manuscript. H.S. provided methodological expertise, contributed to the design of the protocol's methodology (including peer-review of the search strategy), corrected and approved the final draft. A.M., and N.L.R.I. provided topic expertise, contributed to the design of the protocol's methodology (including the search strategy), corrected and approved the final draft. C.A.A.R., M.E., and C.R. provided methodological expertise, corrected and approved the final draft.

Conflicts of interest

I.P.N. is an editor for Archivos de Neurociencias.

Funding

This protocol received no funding from any academic or governmental entity.

References

1. Butterworth RF. Hepatic encephalopathy in alcoholic cirrhosis. *Handbook of clinical neurology*. 2014;125:589-602. doi: [10.1016/B978-0-444-62619-6.00034-3](https://doi.org/10.1016/B978-0-444-62619-6.00034-3)
2. Feltracco P, Cagnin A, Carollo C, Barbieri S, Ori C. Neurological disorders in liver transplant candidates: Pathophysiology and clinical assessment. *Transplantation Reviews*. 2017; 31(3):193-206. doi: [10.1016/j.trre.2017.02.006](https://doi.org/10.1016/j.trre.2017.02.006)
3. Gow AG. Hepatic Encephalopathy. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*. 2017; 47(3):585-99. doi: [10.1016/j.cvsm.2016.11.008](https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2016.11.008)
4. Sureka B, Bansal K, Patidar Y, Rajesh S, Mukund A, Arora A. Neurologic manifestations of chronic liver disease and liver cirrhosis. *Curr Probl Diagn Radiol*. 2015; 44(5):449-61. doi: [10.1067/j.cpradiol.2015.03.004](https://doi.org/10.1067/j.cpradiol.2015.03.004)
5. Elwir S, Rahimi RS. Hepatic encephalopathy: An update on the pathophysiology and therapeutic options. *Journal of Clinical and Translational Hepatology*. 2017; XX:1-10. doi: [10.14218/JCTH.2016.00069](https://doi.org/10.14218/JCTH.2016.00069)
6. Pérez-Neri I, Ríos-Castañeda C. Glutamine-mediated nitric oxide synthase inhibition might explain the 'arginine paradox'. *Arch Neurocién*. 2021;26(2):7-9. doi: [10.31157/archneurocienciasmex.v26i2.277](https://doi.org/10.31157/archneurocienciasmex.v26i2.277)
7. Hardy G. Manganese in parenteral nutrition: Who, when, and why should we supplement. *Gastroenterology*. 2009;137(5):S29-S35. doi: [10.1053/j.gastro.2009.08.011](https://doi.org/10.1053/j.gastro.2009.08.011)
8. Rivera-Mancía S, Ríos C, Montes S. Manganese accumulation in the CNS and associated pathologies. *BioMetals*. 2011; 24(5):811-25. doi: [10.1007/s10534-011-9454-1](https://doi.org/10.1007/s10534-011-9454-1)
9. Pérez-Neri I, Diéguez-Campa CE, Sandoval H, Chávez VA, Castro-Martínez E, Ríos C. Therapeutic potential of dehydroepiandrosterone for Parkinson's disease: scoping review protocol. *Arch Neurocién*. 2022; in press.
10. Rosca EC, Tudor R, Cornea A, Simu M. Parkinson's disease in Romania: A scoping review protocol. *Brain Sci*. 2021;11(2):251. doi: [10.3390/brainsci11020251](https://doi.org/10.3390/brainsci11020251)
11. Polhemus AM, Bergquist R, Bosch de Basea M, Brittain G, Buttery SC, Chynkiamis N, et al. Walking-related digital mobility outcomes as clinical trial endpoint measures: Protocol for a scoping review. *BMJ Open*. 2020;10(7):e038704. doi: [10.1136/bmjopen-2020-038704](https://doi.org/10.1136/bmjopen-2020-038704)
12. Page MJ, Moher D, Bossuyt PM, Boutron I, Hoffmann TC, Mulrow CD, et al. PRISMA 2020 explanation and elaboration: updated guidance and exemplars for reporting systematic reviews. *BMJ*. 2021;372:n160. doi: [10.1136/bmj.n160](https://doi.org/10.1136/bmj.n160)
13. Beller EM, Glasziou PP, Altman DG, Hopewell S, Bastian H, Chalmers I, et al. PRISMA for abstracts: reporting systematic reviews in journal and conference abstracts. *PLoS Med*. 2013; 10(4):e1001419. doi: [10.1371/journal.pmed.1001419](https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1001419)
14. Shamseer L, Moher D, Clarke M, Ghersi D, Liberati A, Petticrew M, et al. Preferred reporting items for systematic review and meta-analysis protocols (PRISMA-P) 2015: Elaboration and explanation. *BMJ*. 2015;350:g7647. doi: [10.1136/bmj.g7647](https://doi.org/10.1136/bmj.g7647)
15. Tricco AC, Lillie E, Zarin W, O'Brien KK, Colquhoun H, Levac D, et al. PRISMA Extension for Scoping Reviews (PRISMA-ScR): Checklist and Explanation. *Ann Intern Med*. 2018;169(7):467-73. doi: [10.7326/M18-0850](https://doi.org/10.7326/M18-0850)
16. Aromataris E, Munn Z, editors. *JBI Manual for Evidence Synthesis*. JBI; 2020. <https://synthesismanual.jbi.global>. doi: [10.46658/JBIMES-20-01](https://doi.org/10.46658/JBIMES-20-01)
17. Tanila T, Tenhunen H, Hirvonen P. Value mechanisms in the implementation of intelligent patient flow management system - a multiple case study. *Stud Health Technol Inform*. 2020; 270:708-12. doi: [10.3233/SHTI200252](https://doi.org/10.3233/SHTI200252)
18. Strech D, Synofzik M, Marckmann G. Systematic reviews of empirical bioethics. *J Med Ethics*. 2008; 34(6):472-7. doi: [10.1136/jme.2007.021709](https://doi.org/10.1136/jme.2007.021709)
19. Rethlefsen ML, Kirtley S, Waffenschmidt S, Ayala AP, Moher D, Page MJ, et al. PRISMA-S: An extension to the PRISMA Statement for Reporting Literature Searches in Systematic Reviews. *Syst Rev*. 2021;10(1):39. doi: [10.5195/jmla.2021.962](https://doi.org/10.5195/jmla.2021.962)
20. McGowan J, Sampson M, Salzwedel DM, Cogo E, Foerster V, Lefebvre C. PRESS Peer Review of Electronic Search Strategies: 2015 Guideline Statement. *J Clin Epidemiol*. 2016;75:40-6. doi: [10.1016/j.jclinepi.2016.01.021](https://doi.org/10.1016/j.jclinepi.2016.01.021)
21. Bramer WM, de Jonge GB. Improving efficiency and confidence in systematic literature searching. *EAHIL+ ICAHIS+ ICLC*. 2015.
22. Willcox MDP, Walsh K, Nichols JJ, Morgan PB, Jones LW. The ocular surface, coronaviruses and COVID-19. *Clin Exp Optom*. 2020;103(4):418-24. doi: [10.1111/ceo.13088](https://doi.org/10.1111/ceo.13088)
23. Pérez-Neri I, González-Aguilar A, Sandoval H, Pineda C, Ríos C. Therapeutic potential of ultrasound neuromodulation in decreasing neuropathic pain: Clinical and experimental evidence. *Curr Neuropharmacol*. 2021;19(3):334-48. doi: [10.2174/1570159X18666200720175253](https://doi.org/10.2174/1570159X18666200720175253)
24. McKeown S, Mir ZM. Considerations for conducting systematic reviews: Evaluating the performance of different methods for deduplicating references. *Syst Rev*. 2021;10(1):38. doi: [10.1186/s13643-021-01583-y](https://doi.org/10.1186/s13643-021-01583-y)
25. Bozada T, Borden J, Workman J, Del Cid M, Malinowski J, Luechtefeld T. Sysrev: A FAIR Platform for Data Curation and Systematic Evidence Review. *Front Artif Intell*. 2021;4:685298. doi: [10.3389/frai.2021.685298](https://doi.org/10.3389/frai.2021.685298). eCollection 2021
26. Garrity C, Gartlehner G, Nussbaumer-Streit B, King VJ, Hamel C, Kamel C, et al. Cochrane Rapid Reviews Methods Group offers evidence-informed guidance to conduct rapid reviews. *J Clin Epidemiol*. 2021;130:13-22. doi: [10.1016/j.jclinepi.2020.10.007](https://doi.org/10.1016/j.jclinepi.2020.10.007)
27. Haddaway NR, McGuinness LA. PRISMA 2020: R package and ShinyApp for producing PRISMA 2020 compliant flow diagrams (Version 0.0.2). medRxiv. 2021. doi: [10.5281/zenodo.5082518](https://doi.org/10.5281/zenodo.5082518)
28. Usher R, Stapleton T. Approaches for assessing decision-making capacity in older adults: A scoping review protocol. *JBI Evidence Synthesis*. 2020;18(4):832-40. doi: [10.11124/JBISRIR-D-19-00068](https://doi.org/10.11124/JBISRIR-D-19-00068)

Article without conflict of interest

© Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía
Manuel Velasco Suárez

SÍNDROME DE LA ARTERIA DE PERCHERÓN: REPORTE DE CASO CLÍNICO Y REVISIÓN DE LA LITERATURA

León-Vallejo Sebastián¹✉ | Anzures-Gómez Perla Karina¹ | Camacho-Becerra César¹ | Reyes-Ortega Daniel¹ | Torres-Pérez Luis Humberto¹ | González-González Gustavo²

1. Departamento de medicina interna Hospital Regional ISSSTE Puebla, México.

2. Departamento de neurología Hospital Regional ISSSTE Puebla, México.

Correspondencia

Sebastián León Vallejo
Fraccionamiento Arboledas de San Ignacio, segunda cerrada de la Soledad #9, Colonia Arboledas de San Ignacio, Puebla, Puebla, México, CP 72590.

✉ seleva_291119@outlook.es

Resumen

La relevancia de este caso clínico se sustenta en que el síndrome de la arteria de Percherón es poco reportado en México; la mayoría de los casos son reportados en otros países. El objetivo principal de esta investigación es aumentar el conocimiento y difusión de su expresión clínica, facilitando a los lectores una revisión detallada de la bibliografía y claves para su identificación mediante exploración neurológica.

Presentamos el caso clínico de un paciente en quien —debido a descontrol metabólico, acompañado de emergencia hipertensiva con deterioro neurológico súbito, y que requirió manejo avanzado de la vía aérea con alta sospecha de hemorragia cerebral— se documentó infarto cerebral isquémico de origen aterotrombótico con esta variante anatómica. El paciente fue sometido a vigilancia neurológica y control metabólico estricto, logrando extubación con mejoría, sin embargo, presentó secuelas de grado 4 según la escala de Rankin modificada, lo que hizo necesaria la terapia por fisiatría.

Palabras clave: accidente cerebrovascular isquémico, infarto cerebral, síndrome de la arteria de Percherón, trastornos cerebrales

Antecedentes

La arteria de Percherón fue descrita por primera vez en 1973 por Gérard Percherón como una variante anatómica tálamo perforante infrecuente —presente en 11 a 33% de la población—, cabe señalar que la irrigación de mesencéfalo anterior e inferior y tálamo es dada por la arteria carótida interna, mientras que los territorios mediales, laterales y posteriores son irrigados por el sistema vertebrobasilar. La arteria de Percherón se origina de un solo pedículo, y puede expresar un síndrome clínico complejo, siendo el origen de 0.1 a 6% de todos los infartos cerebrales.¹⁻³

La arteria paramediana deriva del segmento P1 proximal de la arteria cerebral posterior, e irriga el tálamo ventral medial, el hipotálamo, así como la unión subtálamo mesencéfalo, parte superior del tronco encefálico, que abarca los núcleos interpedunculares, la decusación de los pedúnculos cerebelares superiores, porción anterior de la sustancia gris periacueductal, parte medial del núcleo rojo, núcleo del

tercer y cuarto par craneal.⁴⁻⁵ En términos anatómicos, se trata de un tronco común que emerge desde la arteria cerebral posterior entre la arteria basilar y la arteria comunicante posterior, irrigando ambos territorios paramediales del tálamo y territorios de la región mesencéfalo rostral.⁶⁻⁷

Presentación del caso

Paciente masculino de 49 años, con antecedente crónico degenerativo de hipertensión arterial sistémica. Acudió al servicio de urgencias cinco horas después de haber desarrollado de manera súbita cefalea holocraneana de intensidad 9/10 y alteración del nivel de conciencia con deterioro progresivo, hasta llegar al estupor profundo. El paciente presentaba síndrome piramidal derecho denso completo proporcionado, y requirió manejo avanzado de vía aérea con vigilancia neurológica estricta.

Se logró extubación con adecuada progresión de la vía aérea; el paciente persistió con el síndrome piramidal previamente



descrito, sin afectación de pares craneales y sin alteración de sensibilidad, con valoración de cuatro según la escala Rankin modificada previa a su alta.

Asimismo, se realizó el protocolo para infarto cerebral y se obtuvieron los siguientes resultados en estudios de laboratorio: química sanguínea, perfil de lípidos y perfil tiroideo normales; estudios de gabinete: electrocardiograma y ecocardiograma transtorácico y transesofágico sin alteraciones; ultrasonido carotídeo con evidencia de placa aterotrombótica con afectación bilateral del 40% derecho

y 70% izquierdo (no siendo candidato, por valoración de neurología y radiología intervencionistas, para prótesis); tomografía de cráneo simple a las 12 y 48 horas sin datos de hemorragia o datos tempranos de isquemia. También se realizó resonancia magnética simple de encéfalo (Figura 1), que mostró hiperintensidad talámica bilateral en Fluid-Attenuated-Inversion-Recovery (FLAIR) con restricción a la difusión en Diffusion Weighted Imaging (DWI), y se integró síndrome de Percherón por la afectación del territorio bilateral correspondiente a la arteria paramediana derivada del segmento P1 proximal de la arteria cerebral posterior.

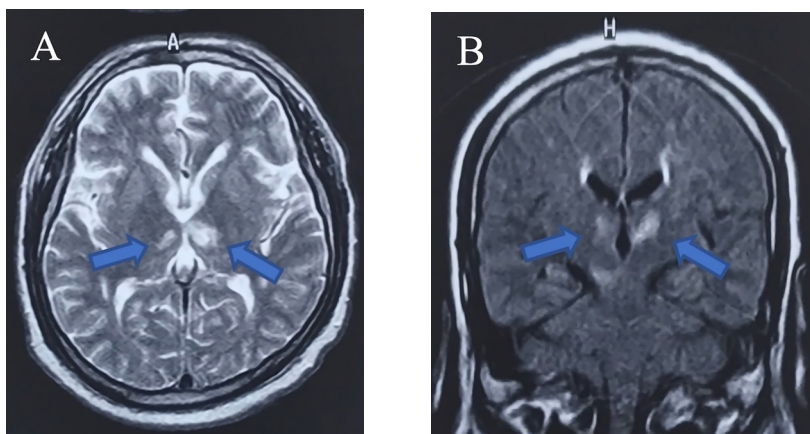


Figura 1. A) Resonancia magnética en T2 FLAIR corte axial donde se muestra el infarto isquémico bilateral en la región talámica sin evidencia de lesiones en sustancia blanca, y sin datos de hemorragia o complicaciones del infarto (flechas azules). B) DWI se observa con restricción a la difusión y con lesiones presentes en región talámica bilateral (flechas azules), en un corte coronal sin presencia de complicaciones del infarto, sin hemorragia o desplazamiento de línea media.

Discusión y conclusión

El síndrome de la arteria de Percherón es denominado por algunos autores como stroke camaleón por su variada e inusual expresión, que puede presentar oftalmoplejía internuclear, paresia del VI, alteración en el núcleo de Edinger Westphal, hemiplejía y trastornos del movimiento. Inicialmente, en el caso reportado se sospechó de hemorragia de primera instancia, sin embargo, se llegó al diagnóstico mediante un estudio de imagen de infarto cerebral isquémico, realizando protocolo diagnóstico y concluyendo origen aterotrombótico.⁸

Existen cuatro patrones imagenológicos de presentación del síndrome: 43% se presentan como un infarto bilateral paramediano talámico y mesencéfalo, 38% solo con lesión paramediana bilateral talámica, 14% con lesión

en el núcleo talámico anterior, bilateral paramediano talámico y mesencéfalo y 5% bilateral paramediano y anterior talámico. A su vez, el signo de la V es un patrón distintivo de hiperintensidad en forma de V que se observa a lo largo de la superficie del mesencéfalo en la fosa interpeduncular; en este caso no se encontró dicho signo.^{9,10}

Es importante tener presentes los diagnósticos diferenciales de importancia clínica, ya sea de origen vascular, como trombosis venosa cerebral, el síndrome del tope de la basilar y síndrome del uno y medio, como otras patologías que pueden afectar bilateralmente el tálamo no siendo vasculares, como síndrome de desmielinización osmótica, encefalopatía anoxo isquémica, enfermedad de Wilson, toxoplasmosis, virus de inmunodeficiencia humana, enfermedad Creutzfeldt-Jakob y Fahr.¹¹⁻¹²

El objetivo de esta revisión es proporcionar al lector el sustento anatómico y los patrones de correlación imagenológicos de los reportes de casos previos y el caso que se presenta. Cabe resaltar la importancia de tener en cuenta los diagnósticos diferenciales y las superposiciones con otros síndromes, ya que esto determinará que tan rápido se pueda mejorar la calidad de vida de estos pacientes. Por último, también es significativo conocer que el infarto cerebral tiene expresión tardía como ansiedad, depresión u otros síntomas atípicos de evolución no habitual.¹³⁻¹⁴

Contribuciones de los autores

Sebastián León Vallejo: investigación principal, redacción - revisión y edición. Perla Karina Anzures Gómez: investigación de apoyo, redacción - borrador original. César Camacho Becerral: investigación de apoyo. Daniel Reyes Ortega: investigación de apoyo. Luis Humberto Torres Pérez: investigación de apoyo. Gustavo González González: recursos, validación.

Financiamiento

Este estudio no recibió financiamiento de ninguna entidad comercial, académica o gubernamental.

Conflictos de interés

Los(as) autores(as) del presente manuscrito no presentan conflictos de intereses que declarar.

Referencias

- Caruso P, Manganotti P, Moretti R. Complex neurological symptoms in bilateral thalamic stroke due to Percheron artery occlusion. *Vasc Health Risk Manag.* 2017;13:11-4. doi: [10.2147/VHRM.S119395](https://doi.org/10.2147/VHRM.S119395)
- García-Grimshaw MA, Peschard-Franco M, Gutierrez-Manjarrez FA. Bilateral thalamic ischemic stroke secondary to occlusion of the artery of Percheron. *Cureus.* 23 de mayo de 2018;10(5):e2676. doi: [10.7759/cureus.2676](https://doi.org/10.7759/cureus.2676)
- Gonçalves DB, Barreira RP, Torres TZM, Correa BM, Rossette VM, Marques T da C, et al. Vertical one-and-a-half syndrome in a patient with pecheron artery ischemia: A case report. *Radiol Case Rep.* Diciembre de 2021;16(12):3908-10. DOI: [10.1016/j.radcr.2021.09.028](https://doi.org/10.1016/j.radcr.2021.09.028)
- Snyder HE, Ali S, Sue J, Unsal A, Fong C, Deng Z. Artery of Percheron infarction with persistent amnesia: a case report of bilateral paramedian thalamic syndrome. *BMC Neurol.* 2020; 20(1):370.
- Weerasinghe WS, Kularatne SAM, Pathirage LPMMK. Para median thalamic syndrome due to occlusion of the artery of Percheron: A rare case of stroke. *Ceylon Med J.* 31 de marzo de 2019;64(1):30-1. doi: [10.4038/cmj.v64i1.8835](https://doi.org/10.4038/cmj.v64i1.8835)
- Navas-Alcantara MS, Castilla-Guerra L, Álvarez Suero J, Carmona González E. Percheron artery syndrome. *Med Clin (Barc).* 21 de agosto de 2015;145(4):184. doi: [10.1016/j.medcli.2015.02.020](https://doi.org/10.1016/j.medcli.2015.02.020)
- Wong JP, Viswanathan S, Wang M, Sun LQ, Clark GC, D'Elia RV. Current and future developments in the treatment of virus-induced hypercytokinemia. *Future Med Chem.* Febrero de 2017;9(2):169-78.
- Yang J, Zheng Y, Gou X, Pu K, Chen Z, Guo Q, et al. Prevalence of comorbidities and its effects in patients infected with SARS-CoV-2: a systematic review and meta-analysis. *Int J Infect Dis IJID Off Publ Int Soc Infect Dis.* 2020; 94:91-5. doi: [10.1016/j.ijid.2020.03.017](https://doi.org/10.1016/j.ijid.2020.03.017)
- Arauz A, Patiño-Rodríguez HM, Vargas-González JC, Arguelles-Morales N, Silos H, Ruiz-Franco A, et al. Clinical spectrum of artery of Percheron infarct: clinical-radiological correlations. *J Stroke Cerebrovasc Dis Off J Natl Stroke Assoc.* Junio de 2014;23(5):1083-8. doi: [10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2013.09.01](https://doi.org/10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2013.09.01)
- Lazzaro NA, Wright B, Castillo M, Fischbein NJ, Glastonbury CM, Hildenbrand PG, et al. Artery of percheron infarction: imaging patterns and clinical spectrum. *AJNR Am J Neuroradiol.* 2010; 31(7):1283-9. doi: [10.3174/ajnr.A2044](https://doi.org/10.3174/ajnr.A2044)
- Vasconcellos LF, Tiel C, Sudo FK, Moreira DM, Engelhardt E. Percheron thalamopeduncular syndrome with cervical dystonia: A case report. *Dement Neuropsychol.* 2016; 10(4):365-9. doi: [10.1590/s1980-5764-2016dn1004019](https://doi.org/10.1590/s1980-5764-2016dn1004019)
- Pérez Pan Art MI, Sierra Bergua B. Artery of Percheron in the differential diagnosis of acute altered mental status. *Case Rep Med.* 2021; 2021:5583248. doi: [10.1155/2021/5583248](https://doi.org/10.1155/2021/5583248)
- Ince B, Asan F. Persistent anterograde amnesia due to the artery of Percheron occlusion: a case report. *Neurocase.* 2018; 24(2):95-7. doi: [10.1080/13554794.2018.1458884](https://doi.org/10.1080/13554794.2018.1458884)
- Oliveira G da P, Truzzi G, Lima FCB, Coelho FMS. A rare differential diagnosis of excessive daytime sleepiness - artery of Percheron territory infarct. *Sleep Sci Sao Paulo Braz.* 2018; 11(1):25-7.

Artículo sin conflicto de intereses

© Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía
Manuel Velasco Suárez

KAMBO FROG POISONING IN MEXICO

San-Juan Daniel¹   | Martínez-Piña Daniel Arturo²

1. Epilepsy Clinic, National Institute of Neurology and Neurosurgery Manuel Velasco Suárez, Mexico City, Mexico.

2. Neurology Department, National Institute of Neurology and Neurosurgery Manuel Velasco Suárez, Mexico City, Mexico

Correspondence

Dr. Daniel San-Juan.
Epilepsy Service, National Institute of Neurology and Neurosurgery. Insurgentes Sur 3877, La Fama, Tlalpan, Mexico City, 14269, Mexico.

 dsanjuan@innn.edu.mx

Abstract

Introduction: Kambo is the skin secretion of the toxic Brazilian frog *Phyllomedusa bicolor*, and its inoculation to human skin is globally practiced, especially in South America, out of interest or to cure multiple diseases. **Objective:** A case report of poisoning with Kambo frog poison during a ritual. **Results:** 41-year-old male, marijuana user, who reported a last consumption three months ago, and used Kambo for generalized anxiety disorder with panic attacks and claustrophobia. The patient suffered complications, including neuropathy, that we associate to the toxic effect of Kambo, and received oral prednisone, diphenidol and paroxetine as treatment, showing improvement. **Discussion:** The substances that could be related to neuropathy are tachykinin, mediated through B receptors that participate in mechanisms linked to pain, dermorphins and deltorphins, as well as Mu opioid agonists, that act on Mu and Delta receptors of the central nervous system involved in analgesic effects. Two phases have been described in Kambo intoxication: the first phase, that lasts usually 15-30 minutes, and the second phase, which includes persistent acute symptoms, syndrome of inappropriate antidiuretic hormone secretion, acute toxic hepatitis, and dermatomyositis. **Conclusion:** Clinicians need to be aware of the complications of this shamanic ritual expanding worldwide.

Keywords: frog poisoning, hypoesthesia, Kambo, neuropathy *Phyllomedusa bicolor*.

Background

The first case report related to Kambo was published in 1925 by the Frenchman Constantin Tastevin. It is a ritual that consists in inoculations of Kambo, the skin secretion of the toxic Brazilian frog *Phyllomedusa bicolor* and has been practiced worldwide, especially in South America, because of the belief that this secretion can purify the mind and spirit against negative energy, enhancing the immunological system, and sharpening the senses and physical abilities of hunters; currently, people use Kambo out of interest or to cure multiple diseases.¹ This ritual is known by different names, including *Kambô*, *kampu*, *vaccino da floresta* and also *sapo*, which means "toad" in Spanish.²

Case report

A 41-year-old male with no relevant medical history, Marijuana user since he was 24 years old (last consumption three months ago), reported one-year untreated generalized anxiety disorder with panic attacks every 72 hours and claustrophobia. In order to reduce this symptomatology, he decided to try a ritual that consists in inoculations of Kambo.

Before the ritual he was hydrated with 1 liter of water, then he was burned in two points on the left shoulder, where the gelatinous Kambo substance was applied (Figure 1). After 30 minutes, he started vomiting during 10 minutes, at least 40 times, then he experienced generalized tremors for 20 minutes, at the end of which he started with moderate holocranial headache, fatigue, vertigo, and paresthesias in both hands. For the next 24 hours, he continued with slight dizziness without auditory alterations, paresthesias in the index finger of the left hand, and bilateral palmar hyperhidrosis. Five days later he required a neurological consultation because of hand paresthesia and generalized anxiety. During the physical examination, vital signs were found normal, the general aspect showed only scars on the left shoulder (Figure 1). At the neurological examination, the patient was alert, conscious, oriented in person, place and time, without alterations in language; he had an anxious expression and distal tremor of hands with sweating, his motor system had a score of 5/5 in generalized strength according to the Medical Research Council (MRC) Scale for Muscle Strength, muscle stretch reflexes (bicipital, stylo-radial, patellar and Achilles) were bilaterally normal, and Babinski reflex was negative in both lower limbs; regarding the exteroceptive sensory system, hypoesthesia was found in the left



index finger, the rest without alterations, and hypopallesthesia of 2 seconds in the lower limbs and 10 seconds in the upper limbs; cerebellar signs without alterations; atavistic or meningeal signs were not present; gait disturbance, steppage type, and positive Romberg's sign were recorded. His blood tests, including complete blood count, comprehensive metabolic panel, liver panel, serum electrolytes (Na⁺, K⁺, Cl⁻, Ca⁺², Mg⁺, P⁺), C-reactive protein levels, and general urine test were normal, and only minor dyslipidemia was found (cholesterol 210 mg/dl and triglycerides 280 g/dl). Electrocardiogram and electroencephalogram were normal.

A subacute Kambo frog poisoning was diagnosed, and the patient received 50 mg of oral prednisone during one week — the dosage was decreased throughout a month — 10 mg of diphenidol every six hours for one week, and 20 mg of paroxetine every day for six months. After six months of follow-up, the patient became asymptomatic.



Figure 1. Burns scars on the left shoulder, placement site of the Kambo frog poison.

Discussion

A case of a male with an acute and subacute Kambo Frog poisoning in Mexico is reported. The clinical manifestations are secondary to bioactive peptides applied to burned skin, which in a matter of minutes enters the lymphatic system and subsequently the blood. Different peptides are found in the excretions of *Phyllomedusa* skin: tachykinins, which act in the gastrointestinal system by increasing the smooth muscle contractility, salivation and secretion of lacrimal glands, and are vascular vasodilators that cause central arterial hypotension, increasing the excitability of neurons; sauvagine, a neuropeptide with an effect similar to corticotropin-releasing hormone, and cerulein, an oligopeptide with a similar function to cholecystokinin, that acts on cholecystokinin type A receptors causing a strong contraction of the smooth

musculature and increased intestinal transit, and gastric and pancreatic secretions, it also induces contraction of the gallbladder, relaxation of the sphincter of Oddi, delayed gastric emptying and hyperglycemia. Furthermore, the effect of cerulein causes explosive vomiting in the first minutes of the ritual, moderate elevation of blood pressure, tachycardia and generalized tremor, as well as a sudden loss of electrolytes and physical fatigue. In this case, the patient also experienced a transient sensory polyneuropathy (due to affectation of the exteroceptive modality with localized hypoesthesia to the left index finger and hypopallesthesia in the lower extremities) that had not been described before in this toxic event, however, it was not possible to perform a nerve conduction study. The substances that can be related to this neuropathy are tachykinin, mediated through the B receptors that participate in mechanisms linked to pain, dermorphins and deltorphins, as well as Mu opioid agonists that act on Mu and Delta receptors of the central nervous system involved in analgesic effects, however, phyllocerulein, phylloquinine, adenoregulin and others, can also cause similar or other effects, that are yet to be determined.³

Two phases have been described in Kambo intoxication: the first phase, that usually lasts 15-30 minutes, is characterized by nausea, abdominal pain, and abundant and frequent vomiting, which are momentary as in our patient. However, severe complications have been reported in this stage: altered consciousness, symptomatic seizures, psychomotor agitation, psychosis, hallucinations, fever, esophageal rupture, systemic inflammatory response syndrome, and even death.⁴ The second phase includes the persistence of acute symptoms, syndrome of inappropriate antidiuretic hormone secretion, acute toxic hepatitis, and dermatomyositis. Our patient presented the classic acute symptoms, however, he persisted with focal sensory neuropathy.

The treatment of Kambo poisoning is essentially symptomatic, and is based on the clinical manifestations, for example, antiseizure medications, antipsychotics, or steroids, all with good response.⁵ In this case, prednisone, diphenidol and paroxetine were indicated.

Conclusion

We showed the acute and subacute clinical features of Kambo frog poisoning, and a favorable resolution with symptomatic treatment. Clinicians need to be aware of the complications of this shamanic ritual expanding worldwide and its possible complications.

Source of financing

The authors received no funding for the present study.

Conflicts of interest

The authors have no conflict of interest to disclose.

Author's contributions

Daniel San Juan Orta: Patient approach, patient follow-up, topic review, drafting and revising of the manuscript.

Daniel Arturo Martínez Piña: Patient follow-up, topic review, drafting and revising of the manuscript.

References

1. Majić T, Sauter M, Bempohl F, Schmidt TT. Connected to the spirit of the frog: An Internet-based survey on Kambô, the secretion of the Amazonian Giant Maki Frog (*Phyllomedusa bicolor*): Motivations for use, settings and subjective experiences. *J Psychopharmacol*. 2021;35(4):421–36. doi: [10.1177/0269881121991554](https://doi.org/10.1177/0269881121991554)
2. Hesselink JMK. Kambo and its multitude of biological effects: Adverse events or pharmacological effects? *Int Arch Clin Pharmacol*. 2018;4(1):1–6. doi: [10.23937/2572-3987.1510017](https://doi.org/10.23937/2572-3987.1510017)
3. da Silva FVA, Monteiro WM, Bernarde PS. “Kambô” frog (*Phyllomedusa bicolor*): Use in folk medicine and potential health risks. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2019;52:3–4. doi: [10.1590/0037-8682-0467-2018](https://doi.org/10.1590/0037-8682-0467-2018)
4. Schmidt TT, Reiche S, Hage CLC, Bempohl F, Majić T. Acute and subacute psychoactive effects of Kambô, the secretion of the Amazonian Giant Maki Frog (*Phyllomedusa bicolor*): retrospective reports. *Sci Rep*. 2020;10:21544. doi: [10.1038/s41598-020-78527-4](https://doi.org/10.1038/s41598-020-78527-4)
5. Alamos MF, Walker RH, Miranda M. Life-threatening risk of using Kambô in alternative medicine. *Neurol Clin Pract*. 2020;10(4):e35–7. doi: [10.1212/CPJ.0000000000000749](https://doi.org/10.1212/CPJ.0000000000000749).

Article without conflict of interest

© Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía
Manuel Velasco Suárez

CRANORRAQUISQUISIS TOTALIS, MALFORMACIÓN NEURAL POCO COMÚN

López-Valdés Julio César^{1,2}✉

1. Departamento de Neurocirugía, Hospital Central Sur de Alta Especialidad, Petróleos Mexicanos (PEMEX), Ciudad de México, México.
2. Departamento de Investigación, Facultad de Medicina de Tampico "Dr. Alberto Romo Caballero", Universidad Autónoma de Tamaulipas, Tampico, Tamaulipas.

Correspondencia

Julio César López Valdés
Sagredo 248, Colonia Guadalupe Inn, Tlalpan, C.P. 01020, Ciudad de México, México.

✉ jc.lopez@live.com

Responsabilidades éticas

El autor declara que para esta investigación no se han realizado experimentos en seres humanos ni en animales.

El autor declara que ha seguido los protocolos de su centro de trabajo sobre la publicación de datos de pacientes.

El autor declara que en este artículo no aparecen datos de pacientes.

Conflictos de intereses

El autor declara no tener conflicto de intereses.

Financiamiento

La presente investigación no ha recibido ayudas específicas provenientes de agencias del sector público, sector comercial o entidades sin ánimo de lucro.

Hoy en día, los defectos del tubo neural (DTN - encefaloielodisrafias) constituyen una entidad que va en aumento en países en vías de desarrollo. El espectro para este grupo de malformaciones abarca desde entidades "benévolas" (disrafismos espinales ocultos), hasta alteraciones incompatibles con la vida para el portador (anencefalia con exencefalia).¹⁻⁵ Estos defectos suelen tener un origen multifactorial (ambiental, genético, entre otros).¹⁻³

El proceso embriológico de formación del tubo neural se da a partir del día 18 de gestación; durante este periodo la placa neural se invagina sobre su eje longitudinal, lo cual origina el surco neural con sus correspondientes pliegues a ambos lados. Hacia la semana tres de gestación, los pliegues inician su fusión para dar origen al tubo neural, durante los días 21-23 aproximadamente.^{6,7} Dicha fusión se da de forma irregular, iniciando a partir del cuarto somita y prosigue en ambas direcciones. Como resultado, el tubo neural se encuentra total o parcialmente abierto en los extremos durante distintas etapas y mantiene comunicación con la cavidad amniótica. El extremo rostral o neuróporo anterior (orificio craneal) sufre el cierre hacia el día 24-25 de vida intrauterina aproximadamente, con el subsecuente cierre del orificio lumbar (neuróporo posterior) alrededor del final de la semana cuatro (días 26-27, aproximadamente); estos procesos son conocidos como neurulación primaria y secundaria, respectivamente.⁶⁻⁸

Los DTN se dividen en defectos cefálicos y lumbares, y pueden ser abiertos o cerrados; empero, existe una malformación del tubo neural cuya magnitud es total, esto es, que se presenta con ausencia encefálica en conjunción con espina bífida, que generalmente se presenta de forma abierta, la cual recibe el nombre de craneorrasquisis.^{2,6} Actualmente se desconoce la incidencia para este defecto y es la forma más rara de DTN, la cual es incompatible con la vida.² Según Rodríguez-Partida² y Jiménez-Guerra et al,⁹ datos aportados por el Anuario de Morbilidad de la Dirección General de Epidemiología de la Secretaría de Salud de México, en 2016 se reportó una tasa de incidencia de 0.27 casos por cada 100,000 habitantes.^{2,9} Asimismo, Johnson et al,¹⁰ señalaron una prevalencia de 0.51 por 10,000 nacidos vivos a lo largo de la frontera Texas-México.

A continuación, se presentan las imágenes de un recién nacido de 37 semanas de gestación, originario de Córdoba, Veracruz, cuya madre refirió llevar un adecuado control prenatal y consumo de suplementos de ácido fólico, quien obtuvo diagnóstico por ultrasonido de craneorrasquisis, y cuyo embarazo se decidió llevar a término (Figura 1).

Palabras clave: defectos del tubo neural, embriogénesis, embriología, sistema nervioso central.





Figura 1. Recién nacido de término, que presenta defecto del cierre del tubo neural en su totalidad. Se observa ausencia de bóveda craneal con presencia de proptosis, además de apertura completa desde la columna cervical hasta la región lumbar (ausencia total del cierre del tubo neural). Por otra parte, se aprecian estigmas del disrafismo lumbar como hipertrichosis local en el área y hoyuelo dérmico (seno dérmico), asociados a aplasia cutis total.

Artículo sin conflicto de intereses

© Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía
Manuel Velasco Suárez