



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA

SECRETARÍA DE SALUD

INSTITUTO NACIONAL DE REHABILITACIÓN

ESTUDIO CLÍNICO Y MOLECULAR DE UNA SERIE
DE PACIENTES MEXICANOS CON NEUROPATIA
PERIFERICA TIPO CHARCOT – MARIE –TOOTH 1A

T E S I S

PARA OBTENER EL DIPLOMA DE:
MÉDICO ESPECIALISTA EN GENÉTICA MÉDICA

PRESENTA:

DR. MAURICIO RAMOS COSS

PROFESOR TITULAR:

DRA. EN C. MARGARITA VALDÉS FLORES

ASESORES DE TESIS:

DR. NORBERTO LEYVA GARCÍA

DR. EN C. JONATHAN JAVIER MAGAÑA AGUIRRE



MÉXICO, D.F.

FEBRERO 2011



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

DRA. MATILDE L. ENRIQUEZ SANDOVAL
DIRECTORA DE ENSEÑANZA

DRA. XOCHIQUETZAL HERNÁNDEZ LÓPEZ
SUBDIRECTORA DE POSGRADO Y EDUCACIÓN CONTINUA

DR. LUIS GÓMEZ VELÁZQUEZ
JEFE DE ENSEÑANZA MÉDICA

DRA. MARGARITA VALDÉS FLORES
PROFESOR TITULAR

DR. NORBERTO LEYVA GARCÍA
ASESOR CLÍNICO

DR. en C. JONATHAN JAVIER MAGAÑA AGUIRRE
ASESOR METODOLÓGICO

DEDICATORIA

A MI ESPOSA, A MI FAMILIA Y A DIOS

AGRADECIMIENTOS

A MIS PROFESORES

Dra. Margarita Valdés Flores

Dra. María de la Luz Arenas Sordo

Dr. Antonio Miranda Duarte

Dr. Norberto Leyva García

A todo el Departamento de Genética Humana del Instituto Nacional de Rehabilitación por su participación en este estudio.

Dr. en C. Jonathan Javier Magaña Aguirre, por su apoyo durante el desarrollo de la parte molecular y metodológica de este trabajo.

INDICE

| | PAG. |
|---|-------------|
| 1.- RESUMEN | 1 |
| 2.- ANTECEDENTES | 3 |
| 3.- JUSTIFICACIÓN | 24 |
| 4.- PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA | 25 |
| 5.- OBJETIVO | 26 |
| 6.- MATERIAL Y MÉTODOS | 27 |
| 8.- RESULTADOS | 34 |
| 9.- DISCUSION | 45 |
| 10.- CONCLUSIÓN | 48 |
| 11.- ANEXOS | 49 |
| 12.- BIBLIOGRAFÍA | 52 |

1. RESUMEN

Las neuropatías motoras y sensoriales hereditarias o enfermedad de Charcot-Marie-Tooth, conforman un grupo de trastornos neurodegenerativos clínica y genéticamente heterogéneos donde están involucrados más de 40 *Loci*, presentan una frecuencia estimada de 1 en 2500 individuos en población mundial. La CMT afecta el sistema nervioso periférico y se manifiesta con debilidad y atrofia muscular progresiva de las extremidades. Existe un amplio espectro en la gravedad clínica, algunos pacientes pueden presentarse asintomáticos y tener una deformidad leve del pie en cavo, mientras que otros presentan debilidad muscular grave, lentamente progresiva y pérdida sensorial. La CMT es causa importante de discapacidad y altera la calidad de vida de los afectados.

Objetivo: Describir las características clínicas con base en el estudio molecular de una serie de pacientes mexicanos con neuropatía periférica tipo CMT1A.

Material y Métodos: Se estudiaron **25** pacientes con diagnóstico clínico y electrofisiológico de CMT tipo 1 (Desmielinizante) y se realizó el estudio molecular por medio de la técnica de PCR en tiempo real (PCR-TR), para demostrar la duplicación del Gen PMP22 y clasificar la neuropatía como CMT1A. En este trabajo se incluyeron **5** casos familiares en los que se pudo comprobar al menos un padre afectado. Se realizó un examen clínico-neurológico, además de un cuestionario clínico en el que se valoró la FDS (Functional Disability Scale) y otros aspectos para explorar los datos clínicos. Posteriormente se realizó un estudio descriptivo y de frecuencias de los parámetros clínicos en este grupo de estudio.

Resultados: Se obtuvo la FDS de los pacientes estudiados y se analizaron las características clínicas individuales de cada paciente, lo que permitió realizar un análisis estadístico de frecuencias de la presentación clínica de la CMT1A en la población mexicana estudiada.

Conclusiones: La FDS de los pacientes con CMT1A es de leve a moderada en >94% de los pacientes estudiados, independientemente del tiempo de la evolución de la enfermedad, se encontraron características clínicas frecuentes en pacientes mexicanos estudiados como lo son la presencia de debilidad y atrofia muscular proximal de miembros pélvicos, se demostraron algunos casos donde la duplicación del Gen PMP22 fue heredada de un progenitor afectado. Es importante continuar con la clasificación clínica y molecular para poder desarrollar tratamientos, diagnósticos y asesoramiento genético específico en los pacientes con neuropatías hereditarias.

2. INTRODUCCIÓN

Las neuropatías motoras y sensoriales hereditarias o enfermedad de Charcot-Marie-Tooth (CMT) conforman un grupo de trastornos neurodegenerativos clínica y genéticamente heterogéneos que afectan principalmente al sistema nervioso periférico (PNS), presentan una frecuencia estimada de 1 en 2500 individuos. El cuadro clínico de CMT se caracteriza por una neuropatía de progresión lenta en la que generalmente existe debilidad de los músculos distales de las piernas, progresando en sentido proximal, causando en algunos casos debilidad en extremidades superiores de forma distal. Existe un amplio espectro en la gravedad clínica, algunos pacientes pueden presentarse asintomáticos y tener una deformidad leve del pie en cavo, mientras que otros presentan debilidad muscular grave, lentamente progresiva y pérdida sensorial. (1)

2.1 Antecedentes históricos

En 1886, la enfermedad fue descrita por primera vez de manera independiente por Jean Martin **Charcot** y Pierre **Marie** en Francia, así como por Howard Henry **Tooth** en Inglaterra. Los primeros describieron magistralmente la semiología de la enfermedad, observando una atrofia muscular de inicio en pies y piernas, la cual posteriormente progresaba a miembros superiores, acompañado de calambres y contracciones fibrilares de músculos atróficos, observándose la integridad relativa de los músculos de las raíces de los miembros del tronco y de la cara, trastornos vasomotores en piernas, así como, la ausencia de reflejos osteotendinosos y la sensibilidad generalmente intacta. De forma paralela, Tooth basándose en estudios de autopsias, sugirió que la naturaleza de la enfermedad radicaba directamente en los nervios periféricos, lo que originaba debilidad y fatiga en músculos distales, involucrando primeramente las extremidades inferiores, en particular los músculos fibulares y extensores de los pies, acompañada de

deformidad en los mismos, tales características fueron designadas de primera instancia como Atrofia Muscular Peroneal (AMP). (2)

En 1893, Déjerine y Sottas describieron el caso de dos hermanos con afección clínica grave, con un cuadro clínico semejante a la AMP (**Figura 1**). Los estudios necrópsicos realizados por estos investigadores sirvieron para demostrar la lesión de los nervios periféricos, caracterizados por la hipertrofia de la envoltura de las fibras nerviosas con degeneración secundaria; a lo que nombraron como neuritis intersticial hipertrófica y progresiva de la infancia. (3)

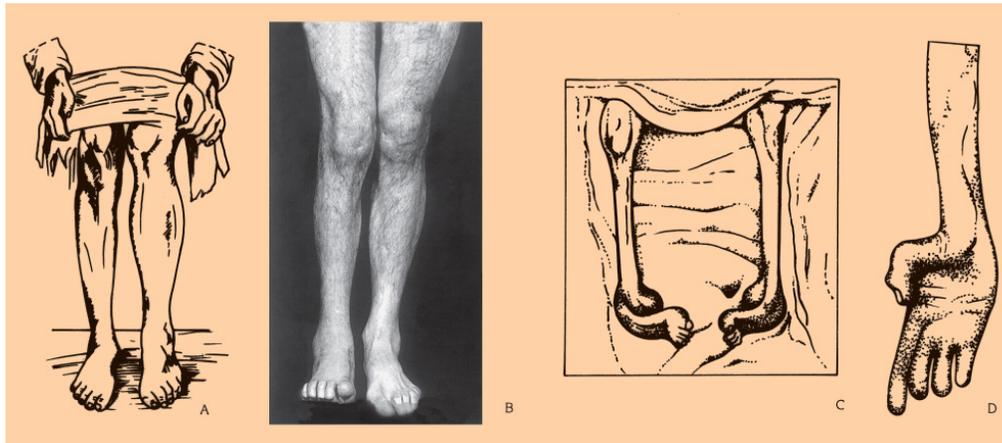


Figura 1. Reproducción del caso de Tooth, (A) demuestra afección de la musculatura peroneal, (B) la asimetría ocurre en torno al 10% de los casos, (C y D) Reproducción del caso de Fanny de Déjerine y Sottas. Tomado de Berciano Blanco J. et al., 1998 (3)

En las siguientes décadas, la descripción de las variantes clínicas llevaron a una enorme confusión nosológica, como lo demuestra el hecho de que S. Davidenkow. et al., en 1927, fuera capaz de distinguir doce formas clínico-genéticas. Sin embargo, estos hallazgos revolucionaron la manera de clasificar a la patología, ya que fue el inicio para delimitar los patrones de herencia (Dominante o Recesiva) asociados directamente a la enfermedad. (4)

No obstante, el avance en la clasificación de la compleja nosología de la enfermedad de CMT se produjo con la llegada de los estudios de conducción nerviosa o velocidades de neuroconducción (VCN). Posteriormente, la realización de dichos estudios, aunado a criterios clínico-genéticos y anatomopatológicos, llevaron en 1975, a P.J. Dyck. et al., a clasificar por primera ocasión a la CMT en tres grandes tipos:

- A) Tipo I o neuropatía hipertrófica con herencia autosómica dominante (AD) e importante disminución de las VCN.
- B) Tipo II o forma neuronal con herencia AD y VCN normal o ligeramente enlentecida.
- C) Tipo III o neuropatía hipertrófica de la infancia (enfermedad de Déjerine-Sottas [DSS]), con herencia autosómica recesiva (AR) y gran disminución de la VCN. (5)

Posteriormente, AE. Harding y PK. Thomas establecieron que la VCN motora media del nervio mediano por debajo de 38 m/seg es característica del tipo I, mientras que su elevación por encima de este valor caracteriza al tipo II. (6)

Sin embargo, tuvo que pasar más de un siglo para que los avances en la genética y biología molecular llevaran a la identificación de diferentes genes y variaciones genéticas relacionados con este grupo de enfermedades, lo que ha permitido que se conozcan actualmente diferentes variedades de la enfermedad. Con ello, el término de Síndrome de Déjerine- Sottas que originalmente fue descrito como una neuropatía desmielinizante severa de la infancia, asociada a VCN muy disminuidas y caracterizada por una marcada debilidad clínica, elevación de proteínas del líquido cerebroespinal y nervios hipertróficos con formaciones histopatológicas conocidas como “bulbos de cebolla”, es utilizado actualmente solo

para indicar un fenotipo clínico específico, por lo que no implica un patrón de herencia o un defecto genético establecido. Por lo que dicha terminología se encuentra en decadencia. (7)

Las técnicas de genética molecular han posibilitado el abordaje de una clasificación etiológica, que aunado a los estudios de ligamiento han permitido la localización del defecto genético en más de una docena de síndromes clínicos.

2.2 Neuropatías hereditarias

De primera instancia, los estudios electrofisiológicos proporcionan la velocidad de conducción nerviosa en fibras motoras (VNCM), lo que llevo a agrupar a las neuropatías hereditarias en dos grandes grupos:

- I) CMT Tipo 1 (CMT1) o desmielinizante
- II) CMT Tipo 2 (CMT2) o axonal

Sin embargo, dicha división es independiente de la forma de herencia, lo que significa que ambas pueden ser heredadas de forma AD, AR o ligadas al cromosoma X (Lig X). Conforme a los estudios histopatológicos de nervio periférico realizados en pacientes con mielinopatías, se observa claramente la desmielinización segmental y remielinización, además de formaciones características anteriormente descritas como bulbos de cebolla (**Figura 2**). Mientras tanto, los pacientes con axonopatías se caracterizan por presentar la mielina normal pero con un menor número de fibras nerviosas. Tanto CMT1 como CMT2 presentan gran variabilidad en la gravedad de la enfermedad que puede ir desde la presentación adulta con afección leve hasta el inicio severo infantil. Estas neuropatías periféricas frecuentemente forman parte de un complejo neurológico o desorden multisistémico. (8)

El estudio histológico demuestra que los nervios agrandados presentan hipertrofia y formaciones en bulbos de cebolla, esto es resultado de la desmielinización y remielinización repetida de las envolturas de la célula de Schwann alrededor del axón. También en casos avanzados se puede demostrar una axonopatía secundaria. (9)

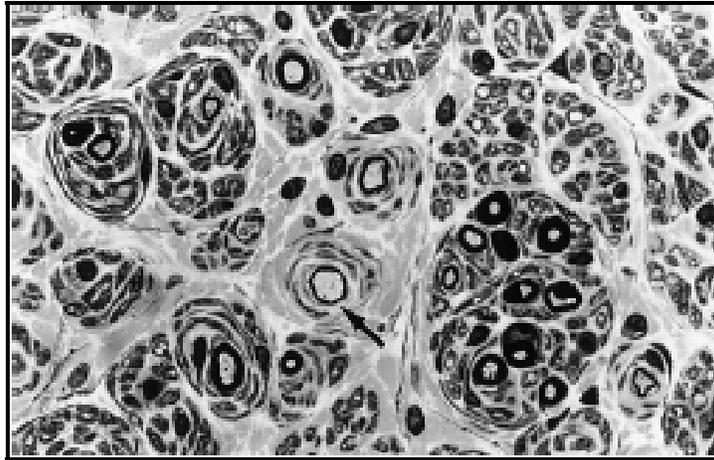


Figura 2. Corte semifino de nervio sural de un paciente con CMT1A. Demuestra perdida de fibras mielinizadas, fibras des y remielinizadas (Flecha) y formaciones en bulbo de cebolla. Tomado de Berciano Blanco J. Et al.2003 (9)

2.3 Clasificación

El análisis molecular juega un rol sustancial en establecer el diagnóstico etiológico preciso y acertado. Las neuropatías genéticas deben ser distinguidas de las causas adquiridas o no genéticas. Por lo tanto, el diagnóstico clínico está basado en la historia familiar y en los hallazgos característicos encontrados a través del examen físico, apoyados en estudios de electromiografía y velocidades de neuroconducción, todo esto es necesario para establecer un diagnóstico preciso. Se han descrito al menos **40** diferentes genes (*Locí*) que están asociados a CMT, sin embargo el diagnóstico molecular está disponible solo para algunos tipos de CMT.

La clasificación de CMT se basa en los patrones de herencia y en el defecto genético molecular. La clasificación es especialmente difícil cuando diferentes mutaciones en un mismo gen están asociadas a formas de herencia AD y AR, así como con presentación clínica de neuropatía desmielinizante y/o axonal. Conforme a las causas monogénicas se clasificaron en 5 tipos (**Tabla 1**); CMT1, CMT2, CMT de forma intermedia, CMT4 y CMTX (Lig X), están subdivididas de acuerdo a los hallazgos genéticos moleculares. Se ha sugerido una clasificación similar que difiere ligeramente en la CMT tipo 3, refiriéndose a presentaciones de tipo axonal con forma de herencia AR y en CMT tipo 4, con presentación desmielinizante y con patrón de herencia AR. (10)

Tabla 1. Causas monogénicas de Neuropatía Hereditaria tipo CMT

| Tipo CMT | Fisiopatología | Modo de Herencia | Porcentaje de CMT |
|-------------------------|---|------------------|-------------------|
| CMT1 | Mielinopatía | AD | ~50% |
| CMT2 | Axonopatía | AD | ~20%-40% |
| Forma Intermedia | Combinación de mielinopatía y axonopatía en un individuo | AD | Rara |
| CMT4 | Mielinopatía axonopatía | AR | Rara |
| CMTX | Axonopatía con cambios en la mielina secundarios | Lig al X | ~10%-20% |

La prevalencia global de las neuropatías hereditarias es estimada aproximadamente de 30 por cada 100,000 personas. La prevalencia de CMT1 es de 15 por cada 100,000, mientras que la prevalencia aproximada de la CMT1A es de 10 por cada 100,000 individuos. Estas frecuencias permanecen muy similares incluyendo diversas poblaciones y diferentes grupos étnicos. (11)

2.3.1 Subtipos de CMT1

Existen 6 subtipos de CMT1, los cuales son indistinguibles clínicamente y son designados únicamente basándose en hallazgos moleculares (**Tabla 2**).

Tabla 2. Subtipos de CMT1 y Genes asociados

| Tipo | Proporción | Gen | Proteína |
|-----------------|--------------------|--------------|--|
| CMT1A | 70%-80% | PMP22 | Proteína de la mielina periférica 22 |
| CMT1B | 5%-10% | MPZ | Proteína de la mielina Cero (P₀) |
| CMT1C | Desconocida | LITAF | Factor de necrosis tumoral alfa inducido por lipopolisacarido |
| CMT1D | Desconocida | EGR2 | Proteína 2 de respuesta temprana al crecimiento |
| CMT1E | Desconocida | PMP22 | Proteína de la mielina periférica 22 |
| CMT1F/2E | Desconocida | NEFL | Neurofilamento de polipéptido ligero |

- I. La CMT1A representa el 70 - 80% de todos los tipos de CMT1 e involucra anomalías del Gen PMP22. Todos los individuos con CMT1A tienen duplicación del Gen PMP22. La penetrancia de CMT1A es usualmente cercana al 100%, pero existe un amplio rango en la edad de presentación, así como en la severidad de esta, lo cual resulta en un subdiagnóstico de individuos levemente afectados y con presentaciones de inicio tardío. No se ha reportado fenómeno de anticipación en esta patología.
- II. La CMT1B representa del 5 - 10% de todos los tipos de CMT1 y esta asociada a mutaciones puntuales del Gen MPZ.

- III. La CMT1C representa solo 1 - 2% de todas las CMT1 y esta asociado a mutaciones del Gen LITAF (SIMPLE).
- IV. La CMT1D representa < 2% de todas las CMT1, asociada a mutaciones del Gen ERG2.
- V. La CMT1E representa < 5% de todas las CMT1 y esta asociada a con mutaciones puntuales del Gen PMP22.
- VI. Las CMT2E/1F que representan < 5% de todas las CMT1 y están asociadas a mutaciones del Gen NEFL. (12)

1.3.2 Otros tipos de CMT

La CMT Tipo 2 se traslapa clínicamente con la CMT1, sin embargo, algunos pacientes afectados tienden a estar menos discapacitados y a presentar menor alteración sensitiva. El umbral de 38 m/s en las VCN del Nervio Mediano, es utilizado como parámetro estándar para distinguir de forma clínica el Tipo 1 del Tipo 2. Existen diferentes subtipos reportados (**Tabla 3**): CMT2A1, 2A2, 2B, 2C, 2D, 2E, 2F, 2G, 2H, 2I, 2K y 2L.

La CMTX presenta un patrón clínico bastante uniforme en las diferentes familias, los hombres experimentan síntomas en la primera década y el grado de afectación suele ser bastante importante; las mujeres no suelen tener síntomas hasta el final de la segunda década y en general muestran escasos signos de enfermedad. La VCN varía entre los diversos pacientes de una familia, los más gravemente afectados tienen VCN disminuida y los menos afectados, la tienen normal o casi normal. En cuanto a la histopatología también difiere de la CMT1 ya que se encuentra mayor densidad de fibras mielinizadas, mayor número de fibras regenerantes («clusters») y pocos bulbos de cebolla. El gen para CMTX se

localiza en Xq13.1 y codifica la proteína Conexina 32 (CX32) que se localiza adyacente a los nodos de Ranvier y las cisuras de Schmidt-Lantermann. Subunidades de esta proteína se ensamblan para formar canales que interactúan con otros canales en las células adyacentes para el transporte de iones y pequeñas moléculas. Se han identificado mutaciones y deleciones en la CX32. CMTX es la siguiente más frecuente después de CMT1 y CMT2. Los subtipos de CMTX son: CMT X1, X2, X3, X4 y X5. (13)

Tabla 3. Subtipos de CMT2 (Axonal): Loci y Genes asociados

| Subtipo (Gen) | Forma de Herencia | Locus | Características Clínicas |
|-----------------------------------|--------------------------|--------------|---|
| CMT2A1 (KIF1B) | AD | 1p36.2 | |
| CMT2A2 (MFN2) | AD | 1p36.2 | |
| CMT2B (RAB7) | AD | 3q13-q22 | Perdida sensitiva severa, Ulceras en Pies |
| CMT2C | AD | 13q23-24 | Involucro de cuerdas vocales, diafragma y musculos intercostales, Acortamiento de la expectativa de vida |
| CMT2D (GARS) | AD | 7p15-p14.2 | Debilidad predominante de manos |
| CMT2E (NEFL) | AD | 8p21 | Hiperqueratosis ocasional |
| CMT2F (HSPB1) | AD | 7q11-q21 | Alteraciones troficas de pies y rodillas |
| CMT2G | AD | 12q12-q13.3 | |
| CMT2L (HSPB8) | AD | 12q24 | Debilidad proximal en piernas |
| CMT2A (LMNA) | AR | 1q21.2 | Debilidad proximal en piernas (60%), Discapacidad frecuente |
| CMT2B | AR | 19q13.3 | De inicio tardío |
| CMT4A/ 2G (GDAP1) | AR | 8q13-q21.1 | Severa, de inicio temprano |
| CMT2K (GDAP1) | AR | | Con voz ronca |
| CMT2H | AR | | Involucro piramidal |
| CMT1B (MPZ) (CMT2I and 2J) | AD | 1q21-23 | Anormalidades pupilares en algunos px. |

Genes y Locus, descrito en los que actualmente se conocen, KIF1B-Proteína de la superfamilia Quinesina motora 1B; MFN2-Mitofusina 2; RAB7- Proteína RAB7 asociada a RAS; GARS- Glicil sintetasa del tRNA; HSPB1-Proteína de Choque térmico 1; HSPB8-Proteína de choque térmico 8; LMNA – Laminina A/C; GDAP1- Proteína de diferenciación inducida por gangliosido 1; MPZ – Proteína de la mielina cero. Tomado de Bienfait HM. et al. 2007 (14)

La CMT4 presenta signos clínicos muy leves. La realización de estudios genéticos en las formas autosómico-recesivas es mucho más complicado que en las dominantes debido a la escasez de familias que la presentan. Presenta distintas formas reportadas: CMT4A, 4B1, 4B2, 4C, 4D y 4E.

La CMT3 es posiblemente la menos frecuente de los diversos tipos de CMT y la menos descrita, por lo que las características clínicas aún se encuentran en discusión. (15)

2.4 Características clínicas de CMT1

Cuadro Clínico

Los pacientes presentan neuropatía periférica motora y sensitiva. Generalmente de presentación bilateral y simétrica. Disminución de las velocidades de neuroconducción (VCNs) que se encuentran en un rango característico entre 10 - 30 m/s (5 – 38 m/s), mientras que lo normal es de > 40 – 45 m/s. Se observa la presencia de debilidad y atrofia muscular de predominio distal de extremidades (Apariencia de patas de cigüeña). Existe pérdida sensitiva. Nervios engrosados y palpables, especialmente del nervio ulnar así como del nervio auricular mayor que corre a través de la cara lateral del cuello. Se manifiesta en forma lentamente progresiva y frecuentemente se asocia con deformidad en pie cavo y debilidad de músculos isquiotibiales. Se pueden presentar contracturas neuromusculares en los pies (Dedos en Garra). Atrofia de los músculos intrínsecos de pies y manos, ausencia de reflejos de estiramiento miotácticos (ROT's) de las extremidades. Los músculos proximales generalmente permanecen con fuerza. El inicio de los síntomas suelen iniciar entre los 5 y los 25 años.

Sin embargo en algunos casos puede variar su presentación que puede ser desde la infancia resultando en retraso para la deambulaci3n, hasta la 4ª y subsecuentes d3cadas. Menos del 5% de los casos se vuelven dependientes del uso de silla de ruedas. El promedio de vida no esta acortado y la historia familiar es consistente con un patr3n de herencia AD.

Dentro de los s3ntomas asociados se presentan alteraciones en la postura, alteraci3n en la percepci3n de la vibraci3n y en la sensaci3n de dolor/temperatura usualmente en pies, en algunos individuos este hallazgo es imperceptible. Se reporta dolor, predominantemente en pies en 20-30% de los individuos afectados, el cual es de origen neurop3tico. Episodios de par3lisis por presi3n tambi3n han sido reportados. (16)

Debido a que la CMT1 es lentamente progresiva, los pacientes afectados experimentan largos periodos de meseta sin aparente deterioro. Las VCN disminuyen progresivamente entre los primeros a3os de vida (2-6 a3os), y se mantienen relativamente estables durante la edad adulta. Las presentaciones tempranas y la severidad de la enfermedad demuestran cierta correlaci3n con la disminuci3n de las VCN, pero esto a3n no ha sido validado en investigaciones cl3nicas. Las alteraciones en las VCN han sido reportadas en algunos pacientes desde los 2 a3os de edad, no obstante el cuadro cl3nico completo suele presentarse hasta la 2ª d3cada de la vida.

La deformidad de *Pes Cavus* es com3n, se observa en > 50% asi como lo es la DDC (Displasia del desarrollo de cadera). En ocasiones se ha acompa3ado de insuficiencia respiratoria, as3 como de apnea del sue3o. La sordera tambi3n se ha reportado ocasionalmente en el fenotipo de CMT1, aunque se ha asociado a mutaciones puntuales del gen PMP22 (CMT1E) o del gen MPZ (CMT1B). La atrofia muscular y la infiltraci3n por tejido graso se pueden demostrar con estudios de Imagen por Resonancia Magn3tica (MRI) y por ultrasonido (USG).

Un dato interesante es que pueden empeorar los síntomas durante y después del embarazo hasta en el 50% de los casos, aunado a este problema existe el riesgo de distocias durante el trabajo de parto como lo son, presentación anormal (Pélvico), necesidad del uso de fórceps, así como aumento en el sangrado post-parto. (17)

2.5 Genética Molecular de CMT1A

De los tipos observados, la neuropatía periférica desmielinizante CMT tipo 1 se presenta en más del 50% de los casos, asociada con una transmisión autosómica dominante. La mutación génica más frecuentemente encontrada es una duplicación en tandem de un fragmento de DNA de 1.5 Mb mapeado en el **Locus 17p11.2-p12 (Figura 3)**. En esta región se encuentra el gen que codifica para la síntesis de la proteína PMP22 (Proteína de la mielina periférica **22**) de **22** kDa, la cual contiene 1,660 nucleótidos, codifica para 160 aminoácidos. La proteína tiene cuatro dominios hidrofóbicos transmembranales con importancia funcional y en el extremo amino terminal presenta una región glucosilada, que juega un papel importante en la compactación de la mielina, la mielinización y la regulación del crecimiento celular (**Figura 4**). (18)

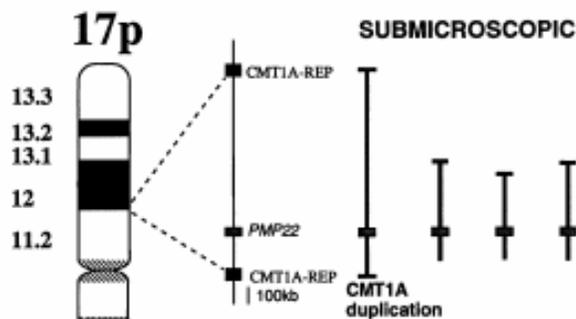


Figura 3. Ideograma del brazo corto del cromosoma 17, donde se demuestra la región de la CMT1A, los rectángulos verticales representan la región duplicada. Tomado de Lupski JR. Et al. (18)

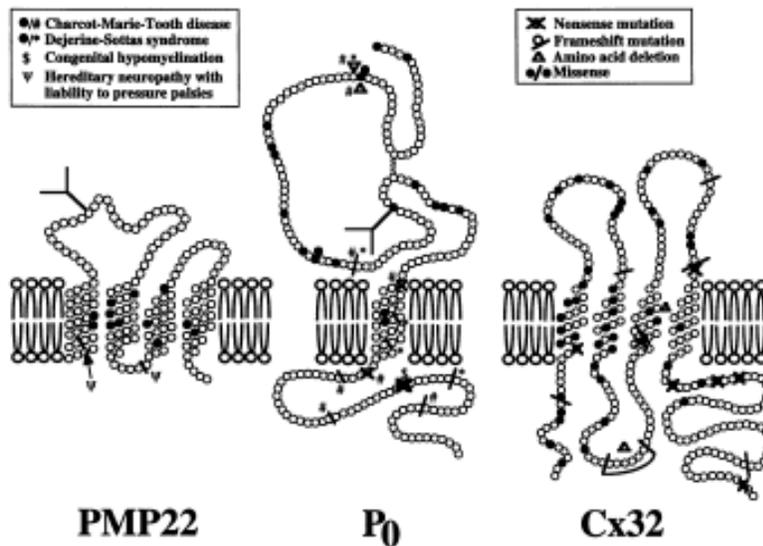


Figura 4. Estructura de la proteína de la mielina periférica 22, comparativa con P0 y Cx32 proteínas constitutivas de las fibras nerviosas. Se demuestra en la casilla izquierda el tipo de Mielinopatía asociado y en la casilla derecha los tipos de mutaciones. Tomado de Lupski JR. Et al. (18)

El gen PMP22 está constituido por seis exones, de los cuales 2 exones son no codificantes, y es regulado por dos promotores localizados hacia el extremo 5' (**Figura 5**). El origen de la duplicación que causa la enfermedad es un intercambio desigual de las cromátides durante la meiosis; este entrecruzamiento ocurre entre dos regiones flanqueadas por elementos repetitivos (LCR) que limitan al gen PMP22 denominadas REP-proximal y REP-distal de 24 Kb cada uno, los cuales tienen una homología del 99%. Dentro de cada REP se localiza una zona «hot spot o sitio caliente» de ~1.4 Kb; donde se presenta el mayor número de mutaciones que pudieran dar origen al intercambio desigual y con ello a la duplicación de PMP22. (18)

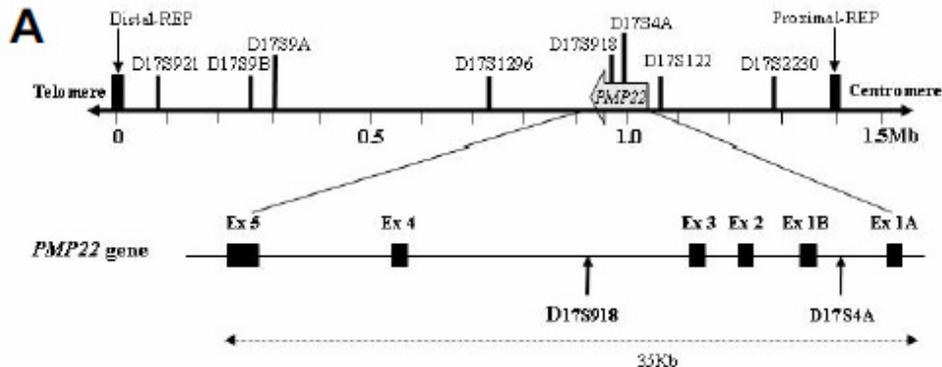


Figura 5. El Gen PMP22, aquí se demuestran sus extensión en Mb, así como sus regiones REP Proximal y distal. Tomado de Lupski JR. Et al. (18)

2.6.1 Neuropatología de CMT1A

En relación al defecto molecular de la enfermedad se puede observar una correlación **genotipo-fenotipo** o un efecto sensible a dosis. Dos alelos normales representan la condición tipo silvestre (Wild Type). La delección de un alelo de PMP22 normal resulta en el fenotipo de HNPP. Tres alelos normales o duplicación heterocigota causa el fenotipo de CMT1A. Cuatro alelos normales o duplicación homocigota resultan en un fenotipo de CMT1A pero con una expresión más grave. También se han reportado neuropatías severas en personas con CMT1A, y que puede coincidir en forma concomitante con una segunda neuropatía, ej. CMT1C, CMTX o adrenomielineuropatía.

El defecto molecular más frecuente en CMT1A es la duplicación de 1.5 Mb, que involucra la región del gen PMP22. Esta duplicación es resultado de la recombinación desigual (NAHR) en las regiones flanqueadas por elementos repetitivos en número de copia (REP) durante la meiosis (**Figura 6**). (19)

En estudios del origen parental de la duplicación se encontró que la mutación frecuentemente es producto de el intercambio de las cromátides durante la espermatogénesis y se ha sugerido factores específicos masculinos pudieran operar durante la espermatogénesis en ayudar a la formación de la duplicación y/o en estabilizar el cromosoma duplicado.

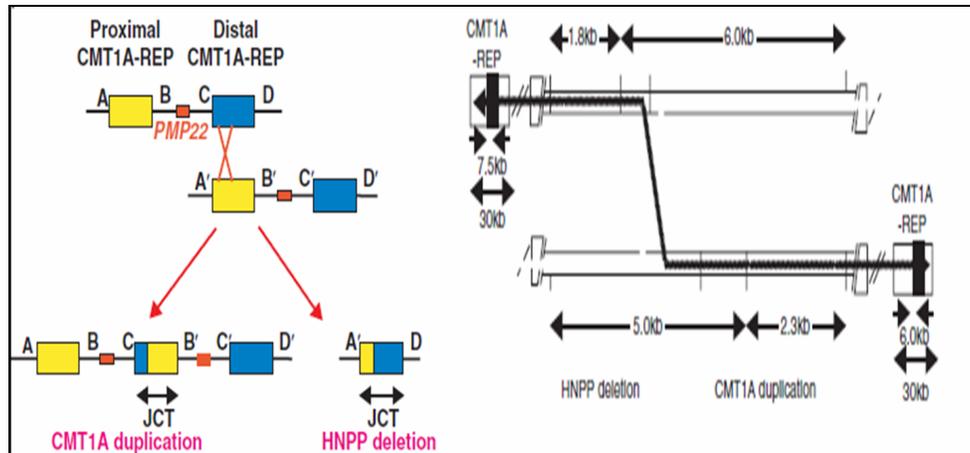


Figura 6. Recombinación homóloga no alélica de locus de CMT1A, se demuestran Regiones REP proximal y distal que conllevan a la duplicación o a la delección de PMP22. Se demuestra el modelo del entrecruzamiento. Tomado de Lupski JR. Et al. 2009. (19)

Una hipótesis propone que la duplicación del gen PMP22 esta asociada con un aumento del mRNA en nervio periférico, lo que provoca un aumento de la traducción de la proteína de la mielina periférica, provocando un proceso de acumulación en los lisosomas de la célula de Schwann y por mecanismos aun en estudio lleva a un proceso de desmielinización. (20)

Los pacientes con mutaciones puntuales que involucran el gen PMP22, generalmente presentan un fenotipo más severo que los que tienen la duplicación, presumiblemente debido a un efecto dominante negativo o pérdida de función de la proteína. (21)

Actualmente se encuentran en proceso de investigación los eventos a nivel celular y del axón miélnico, en los casos donde se presenta la duplicación de PMP22, así como de otras variantes, que en forma similar producen un daño constitutivo a nivel del nervio.

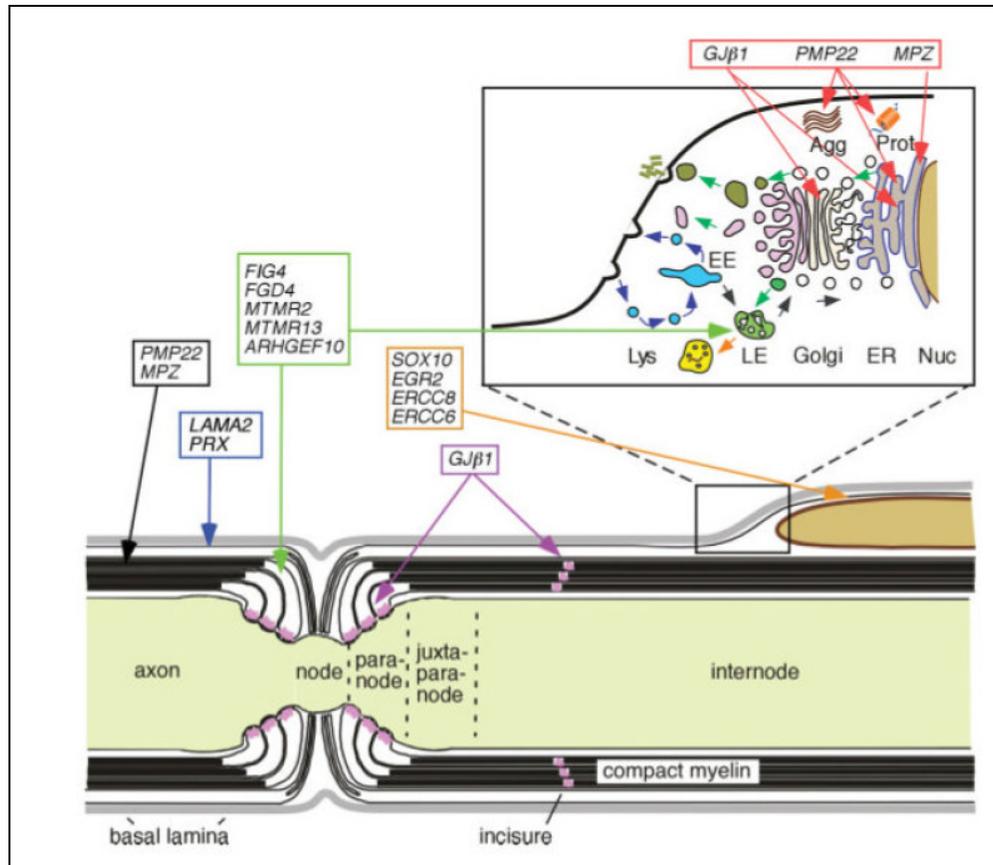


Figura 7. Representación esquemática de un axón miélnico, el código de color representa agrupamiento de genes por alteración patológica. Rojo Control de la calidad de la proteína; **Café** Transcripción; **Violeta** Proteínas Tipo Brecha unión; **Verde** homeostasis de membrana; **Azul** Interacciones con matriz extracelular; **Negro** estabilidad en la compactación de la mielina. Tomado de Sherer S. et al. 2008 (22)

2.6 Diagnóstico molecular

El diagnóstico molecular de la duplicación génica de PMP22, puede ser realizado a través de FISH (**H**ibridación **I**n **S**itu **F**luorescente), también por medio del estudio de fragmentos de restricción mediante campos pulsados, por Southern Blot y otras técnicas que resultan costosas y con una gran inversión de tiempo, actualmente se han empleado técnicas más novedosas y relativamente más prácticas para identificar la dosis génica como son; la PCR en tiempo real y la electroforesis capilar a través del análisis de marcadores microsatélites, los cuales son altamente sensibles para detectar la duplicación del Gen PMP22. (23)

Tabla 4. Diagnóstico molecular de CMT1, a continuación se describen las pruebas de genética molecular para el estudio confirmatorio de los diferentes tipos de CMT1

| CMT1 (Subtipo) | Método de evaluación | Mutación Detectada | Proporción de CMT1 atribuida a mutaciones en este Gen | Frecuencia de detección de la mutación |
|-----------------------|---|--|--|---|
| CMT1A | Análisis de delección/duplicación | Duplicación de <i>PMP22</i> | 70%-80% | 100% |
| CMT1B | Análisis de secuenciación /Búsqueda de mutación | <i>MPZ</i> (Variantes de secuencia) | 5%-10% | 100% |
| CMT1C | | <i>LITAF (SIMPLE)</i> (Variantes de secuencia) | 1%-2% | 100% |
| CMT1D | | <i>EGR2</i> (Variantes de secuencia) | <2% | 100% |
| CMT1E | | <i>PMP22</i> (Variantes de secuencia) | <5% | 100% |
| CMT2E/1F | | Análisis de Secuenciación | <i>NEFL</i> (Variantes de secuencia) | <5% |

Debido a que La CMT1A causada por la duplicación del Gen PMP22 es por mucho el subtipo de CMT1 mas común, es apropiado que en la estrategia diagnóstica se estudie en de forma inicial al probando, con la finalidad de descartar la duplicación. (24)

2.6.1 Enfermedades genéticas relacionadas (Alélicas de PMP22)

Existen otros fenotipos asociados con mutaciones de PMP22 como son:

La Neuropatía hereditaria con propensión a parálisis por presión (HNPP), que es causada por delección del Gen PMP22.

Una neuropatía muy rara con tipo de herencia AR es la CMT4, debido a mutaciones puntuales homocigotas en el Gen de PMP22, referida a veces como Síndrome de Déjerine-Sottas (DSS).

El diagnóstico diferencial se realiza por la detección molecular de la mutación del gen PMP22, sin embargo si no se encuentra alteración de este gen, se deben de tener presente las otras formas de neuropatía hereditaria, especialmente la CMTX, CMT2, CMT4 y HNPP, las cuales demuestran similitud fenotípica. Existe una forma familiar con disminución de VCN pero sin la presentación clínica de signos y síntomas, esta forma se asocia a mutaciones del Gen ARHGEF10 (Factor de intercambio Rh guanina-nucleótido), el cual juega un rol importante en el desarrollo de la mielinización de los nervios periféricos. (25)

2.7 Manejo del paciente

El tratamiento de las manifestaciones clínicas es sintomático y debe ser abordado por un equipo multidisciplinario de neurólogos, genetistas, rehabilitadores, cirujanos ortopedistas, terapeutas físicos y ocupacionales, que puedan mejorar la calidad de vida de los pacientes.

Para establecer la extensión de la enfermedad se realiza el examen físico, que determina el grado de debilidad y atrofia, pes cavus, la marcha y la alteración sensitiva.

Se recomienda el uso de zapatos especiales que incluyan adecuado soporte en el tobillo y Ortesis tobillo-plantares (OTPs) para corregir la caída podálica y proporcionan ayuda de la marcha, algunos pacientes necesitan muletas o bastón, así como ejercicios para promover la fuerza de prensión en manos y para la prevención de complicaciones secundarias.

La cirugía ortopédica se reserva para corrección de deformidades como los son el pie cavo severo y la displasia de cadera (DDC). Se utilizan los antiinflamatorios no esteroideos (AINE's) y el acetaminofen para el manejo de dolor musculoesquelético, así como los antidepresivos tricíclicos, carbamazepina y gabapentina para el dolor neuropático. Se ha utilizado el modafinil como tratamiento de la fatiga con buenos resultados.

Se deben evitar algunos fármacos que pueden resultar tóxicos como lo son: la vincristina, el taxol, el cisplatino, la isoniazida y la nitrofurantoina, conocidos por causar daño nervioso, también se debe evitar el sobrepeso que produce la deambulación sea más difícil.

Para la prevención de complicaciones secundarias se deben realizar ejercicios de estiramiento diario para evitar contracturas neuromusculares. El ejercicio se recomienda dentro de las capacidades individuales para mantenerse físicamente activos, pero considerado cada caso de manera particular para efectuar ejercicios submáximos. (26)

Hasta el momento ningún tratamiento revierte o detiene la progresión natural de la CMT.

Existen algunas terapias en fase de investigación. Estudios comparativos de seguimiento a pacientes niños y adultos con CMT1A y recibiendo Vitamina C o ácido ascórbico oral en dosis altas de hasta 3 gr/día no han comprobado diferencias significativas en mejoría de la neurofisiología, fuerza o función, así como en la calidad de vida entre los grupos estudiados. (27 y 28)

Estudios experimentales con el uso de Curcumina en ratones Trembler-J y algunos ya en estudios clínicos han demostrado mitigar la neuropatía y la disminución de la apoptosis en cultivos celulares expresando PMP22 mutante tras la administración de curcumina, esto ha sugerido un rol terapéutico potencial en seleccionados tipos de neuropatía periférica hereditaria. (29 y 30)

2.8 Asesoramiento Genético

La CMT1A presenta un tipo de herencia autosómica dominante, por lo que el riesgo de recurrencia de heredar la enfermedad a su descendencia es de un 50% de probabilidad independientemente del sexo. Sin embargo existen eventos epigenéticos que deben tenerse en consideración al momento de realizar el asesoramiento genético. Palau. et al. estudió el origen parental de la duplicación

en 9 casos y demostró que en todos ellos la mutación fue producto de un intercambio desigual de cromátides durante la espermatogénesis. Sugirió que puede existir un factor específico en el varón que podría influir en la duplicación y/o estabilización del cromosoma duplicado. (31)

Sin embargo estos datos estadísticos no están disponibles en población mexicana ni en otros subtipos de CMT1. El diagnóstico prenatal es posible cuando se reconoce la duplicación identificada en el caso índice. Es por este motivo que se requiere de identificar la causa genética específica para poder brindar un asesoramiento genético adecuado a los enfermos y a sus familias.

Se debe considerar los aspectos éticos, legales y psicosociales de los estudios moleculares a niños y adolescentes que se presenten con esta patología.

3. JUSTIFICACIÓN

Las neuropatías hereditarias son un grupo de enfermedades neurodegenerativas con alta incidencia en la población mundial, estimada de 1 en 2500 siendo una causa importante de discapacidad, lo que compromete la calidad de vida de las personas afectadas. A la fecha no se conoce la frecuencia real de estos padecimientos en la población mexicana y tampoco se ha descrito la presentación clínica específica en nuestra población, la cual es fundamental, ya que la presentación clínica de diversas enfermedades difiere frecuentemente dependiendo de la población en estudio, así mismo la frecuencia de los diversos tipos de CMT pueden variar de población en población.

CMT1 es el tipo más frecuente de las neuropatías periféricas a nivel mundial, dentro de estas, el tipo CMT1A se presenta en más del 70% de los casos, por lo que la determinación del tipo más común será fundamental para conocer el comportamiento de esta patología en nuestro país. Al ser el Instituto Nacional de Rehabilitación (INR) un centro de referencia a nivel nacional, el diagnóstico molecular de CMT1A permitirá correlacionar los datos clínicos y así poder caracterizar a los pacientes con esta patología. Por esta razón el estudio molecular de pacientes con CMT1A permitirá definir el fenotipo de esta neuropatía hereditaria en la población mexicana analizada.

Dichos estudios permitirán seguir descifrando y clasificando los signos y síntomas de las neuropatías periféricas con la finalidad de mejorar la rehabilitación, así como otorgar un asesoramiento genético adecuado en los pacientes y a sus familias.

4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

¿Cuáles son las características clínicas principales de los pacientes con diagnóstico molecular de CMT1A en un grupo de población mexicana?

4.1 PROBLEMA

Analizar las características clínicas de un grupo de **24** pacientes del INR con diagnóstico clínico y electrofisiológico de CMT1A y realizar estudio descriptivo de estas características.

5. OBJETIVO GENERAL

Describir las características clínicas con base en el estudio molecular de una serie de pacientes mexicanos con neuropatía periférica tipo CMT1A.

5.1 OBJETIVOS PARTICULARES

- Determinar la frecuencia de la duplicación del gen PMP22 en una muestra de pacientes con diagnóstico clínico y electromiográfico de CMT1 del INR.
- Establecer el fenotipo específico de CMT1A en pacientes mexicanos del INR.
- Analizar la frecuencia de mutaciones *de novo*, y la frecuencia de CMT1A en la población estudiada.

6 MATERIAL Y MÉTODOS

Diseño del Estudio - Estudio, transversal, observacional y descriptivo.

6.1 SUJETOS DE ESTUDIO

Población - Se realizó el estudio de **25** pacientes mexicanos con diagnóstico clínico y electromiográfico de CMT1 (desmielinizante) del Instituto Nacional de Rehabilitación. Se realizó examen clínico y un cuestionario (**Anexo I**), así como test de funcionalidad FDS (Functional Disability Scale – **Anexo II**).

Criterios de inclusión -- Se incluyeron en el estudio pacientes de ambos sexos, de cualquier edad, que presentaron diagnóstico clínico y molecular de Neuropatía Hereditaria tipo desmielinizante Tipo 1A o CMT1A (VCN < **38** m/s), que aceptaron participar en el estudio y firmaron consentimiento informado, aprobado por el comité de investigación del INR (Ver **Anexo III**).

Criterios de exclusión – Se excluyeron aquellos pacientes que no presentaron la duplicación génica y en los que no se pudo realizar el 100% de los procedimientos requeridos.

6.2 Análisis clínico

En la clínica de enfermedades neuromusculares del Instituto Nacional de Rehabilitación de la consulta externa del servicio de Genética, se capturaron pacientes con el diagnóstico de neuropatía motora y sensorial desmielinizante tipo CMT1, se solicitó firma de consentimiento informado y se realizó cuestionario para clasificación del caso en familiar o esporádico, clasificación de signos clínicos y forma de presentación y progresión de los síntomas. También se

revisaron los expedientes clínicos de los pacientes de la Clínica de enfermedades neuromusculares del servicio de Genética del INR y se realizó árbol genealógico en búsqueda de antecedentes familiares en cada individuo.

En cada uno de los pacientes se realizó un examen clínico neurológico completo. El examen neurológico y el cuestionario se realizó por el mismo investigador (M.R.) en la consulta externa de rehabilitación del INR, el cuestionario (Interrogatorio Directo e Indirecto) clínico incluyó la edad de inicio de la sintomatología, el uso de auxiliares de la marcha, antecedentes perinatales y antecedentes de cirugía previa, presencia de calambres, dolor o parestesias musculares, hallazgos adicionales, tiempo de evolución de la enfermedad, etc.

La fuerza muscular se evaluó por medio de la Escala de LOVETT. Se valoraron los músculos (*Deltoides, Bíceps brachii, Tríceps brachii, extensores de muñeca y de los dedos de la mano, flexores de los dedos de la mano y los músculos interóseos*) los músculos de las piernas evaluados fueron (*Iliopsoas, Cuádriceps, Tibial anterior, Gastrocnemius, Peroneos y extensores de los dedos de los pies*).
(32)

El examen neurosensorial se realizó por medio de estímulo vibratorio y por medio de punción con objeto romo en diferentes sitios de los brazos y piernas.

Los ROT's o reflejos de estiramiento miotáctico se valoraron por medio de la percusión con amartillo de reflejos (Reflejos Bicipital, Radial, Patelar y Aquileo) para valorar si se presentaban disminuidos, normales o aumentados.

(Sin Respuesta -, Disminuidos +, Normales ++, Aumentados +++, Clonus +++)

También se buscó la presencia de atrofia muscular, deformidades neuromusculares de pies y manos, tremor o temblor distal, hiperlaxitud articular y respuesta plantar extensora entre otras.

Se valoro la audición, en pacientes que reportaron disminución auditiva.

Para valorar el grado de discapacidad se realizo la escala funcional de discapacidad o FDS, escala de 9 puntos en la que se le da el valor numérico, según corresponda de 0 – 8, se muestra a continuación.

Tabla 5.- FDS o escala funcional de discapacidad

| Functional Disability Scale (FDS) |
|--|
| 0 – Normal |
| 1 - Normal pero con calambres y/o fatiga |
| 2 - Incapacidad para correr |
| 3 - Camina con dificultad |
| 4 - Camina con ayuda de bastón (auxiliar de la marcha) |
| 5 - Camina con muletas (Órtesis o aparato ortopédico) |
| 6 - Camina con andadera |
| 7 - En silla de ruedas |
| 8 - Confinado en cama |

Las velocidades de conducción nerviosas o VCN`s – Se realizó un examen electrofisiológico estándar en cada individuo, por medio de un Sistema de Neurodiagnóstico Versión Viking Select 9.0 (Nicolet Biomedical, Viasys Healthcare Instruments) por parte del servicio de electrodiagnóstico del INR

Se obtuvieron las mediciones a través de estimulación percutánea y electrodos de lectura de superficie. Las VCN se investigaron en los Nervios Medianos y Peroneos bilaterales, así como los potenciales de acción sensorial entre otros estudiados y fueron los que se tomaron de punto de corte. Se utilizo una VCM por debajo de 38 m/s para la selección inicial de los pacientes como ha sido determinada en el siguiente consenso. (33)

6.3 Diagnostico Molecular

Se obtuvo material genético (DNA) a partir de leucocitos de sangre periférica, a partir del Kit de purificación de DNA GENTRA (Qiagen, Germany), de acuerdo a las condiciones establecidas por el proveedor.

Para realizar el diagnóstico molecular se analizó la dosis del Gen PMP22 por medio de PCR en tiempo real (**Figura 8** - PCR-RT Stepone Applied Biosystems, USA). Este análisis se realizó para determinar o no, la presencia de la duplicación de el Gen PMP22. Este diagnóstico se confirmo mediante el hallazgo de **5** marcadores tipo microsatélite por medio de Electroforesis capilar empleando el programa Genescan. (34 y 35)



Figura 8. PCR-RT Stepone Applied Biosystems

6.3.1 Determinación de la concentración de DNA

- a) A la pastilla de DNA se agregaron de 100 a 200 μL de agua bidestilada estéril.
- b) Se tomó una alícuota de 2 μL y se llevó a 100 μL con agua inyectable para alcanzar una dilución 1:98.
- c) El DNA se cuantificó por espectrofotometría a una $\lambda=260$ y a $\lambda= 280$.
- d) Finalmente, se realizaron los cálculos para obtener la concentración total del DNA de doble cadena (dsDNA), tomando en cuenta que 1 D.O. dsDNA (densidad óptica de DNA de doble cadena)= 50 ng/mL.

Por lo tanto:

$$[\text{dsDNA}] = (1 \text{ D.O. } \lambda 260) (50\text{ng/mL}) (\text{Factor de dilución}).$$

Se determinó la pureza del material genético, a través de la relación entre la $\lambda=260$ y la $\lambda= 280$ que relaciona la medición del DNA con la de las proteínas.

Según los datos obtenidos en la concentración total de dsDNA, se tomó una alícuota para preparar una solución de DNA que contenga una concentración final de 12.5ng/ μL en 200 μL .

6.3.2 DETERMINACIÓN DE DOSIS GÉNICA

Se realizó un análisis de dosis génica a través de la técnica de PCR tiempo real, (ABI Prism StepOne detection system, PE Biosystems). La amplificación del fragmento en donde se encuentra localizado el exón 3 del gen PMP22 se realizó mediante los oligonucleótidos: 5'-GCCACCATGATCCTGTCGAT-3' y 5'-CCCTTGGTGAGGGTGAA GAGT-3' además de la sonda marcada con FAM 5'-TTTCAGCATTCTGTCTCTGTTCCCTG TTCTTCTG-3'. De manera paralela se

realizó la amplificación del gen endógeno albumina sérica humana a través de los oligonucleótidos: 5'-AATGCTGCACAGAATCCTTGGT-3' y 5'-TCATCGACTTCCAGAGCTGAAA-3' y la sonda marcada con VIC 5'-ACAGGCGACCATGC-3'. Las sondas marcadas presentan un "quencher" (tetrametilrodamina, TAMRA). El quencher tiene como función impedir temporalmente la emisión de la fluorescencia por su impedimento esteárico con el reportero, así al existir una hibridación entre la sonda y el DNA, la exonucleasa 5'→3' de la DNA polimerasa degrada la porción del cebador que se ha alineado al templado, rompiendo el enlace con el reportero y separándolo del "quencher", permitiendo con ello la emisión de fluorescencia. Por su parte, si no hay una hibridación, al paso de la DNA polimerasa, la sonda se libera espontáneamente sin emisión de fluorescencia, por tanto la emisión de fluorescencia será directamente proporcional a la cinética de reacción de la amplificación de ambos genes a través del sistema de detección de fluorescencia de forma cuantitativa. Cada Taqman Universal PCR Master mix contiene la Taq polimerasa AmpliTaq Gold, la enzima UNG Amperasa, dNTP's con dUTP, referencia pasiva, y optimizada con buffer y MgCl₂.

Cada reacción se lleva en un volumen de reacción de 15µL conteniendo:

7.5 µL de Taqman Universal PCR Master mix.

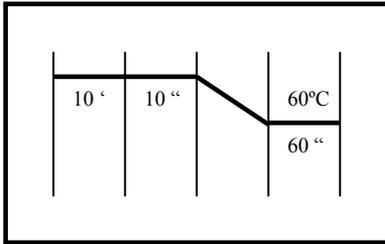
0.9 µL de cada oligonucleótido (forward y reverse- para albúmina y para PMP22).

0.25 µL de cada sonda marcada (para albúmina y para PMP22).

3.4 µL de agua

1.5 µL de DNA genómico a 12.5 ng/µL

El procedimiento de amplificación se llevó a cabo con una desnaturalización inicial y activación de la Taq polimerasa a 95°C por 10 minutos, y 45 ciclos de desnaturalización a 95°C por 15 segundos y de hibridación de cebadores así como la extensión del cebador a 60°C por 1 minuto.



| <i>Temp.</i> (°C) | <i>Tiempo</i> | <i>No.</i> <i>Ciclos</i> | Proceso |
|----------------------|--------------------|-----------------------------|-------------------------------------|
| 94 | 10 minutos | 1 | Desnaturalización Inicial |
| 92 | 10 segundos | 40 | Desnaturalización |
| 60 | 60 segundos | 40 | Hibridación y Polimerización |

Tabla 6. Condiciones de Amplificación para PCR tiempo real

El análisis de resultados se realizó mediante el método cuantitativo DDCT utilizando como calibrador un control positivo para PMP22 (estándar de oro; positivo para la duplicación mediante la técnica de FISH) Los resultados fueron confirmados de manera paralela mediante el análisis de la dosis génica de 5 marcadores tipo microsatélite a través de electroforesis capilar.

6.4 Análisis Estadístico

El análisis estadístico de los datos clínicos obtenidos se analizó por medio de estadística descriptiva.

Se realizó el análisis descriptivo reportando frecuencias para las variables cualitativas, así como promedios y desviaciones estándar para las variables cuantitativas a través del programa SSCP.

Además se realizaron comparaciones de las VCN de Extremidades superiores con las inferiores con prueba de *t de student* por medio del programa Excel 2007.

7 RESULTADOS

Se analizaron **24** pacientes que acudieron a la consulta de genética del INR, quienes resultaron positivos a la prueba molecular para la detección de la duplicación de PMP22 y que presentaban características clínicas y electrofisiológicas de CMT1. Los resultados de los parámetros de estudios comparativos se demuestran a continuación.

7.1 Estudio Molecular

El estudio molecular mediante análisis de dosis génica por PCR tiempo real (Stepone, Applied Biosystems, CA, USA) y el uso de marcadores microsatélites por electroforesis capilar (ABIPRISM 310, Applied Biosystems, CA, USA-Programa GeneScan) permitió identificar la duplicación del Gen PMP22 en los pacientes analizados.

Se analizaron **25** pacientes con características clínicas y electrofisiológicas para CMT1A, de estos pacientes **24 (96%)** resultaron positivos para la duplicación del Gen PMP22 y **1 (4%)** resultó negativo para esta duplicación. Por lo que se piensa que puede presentar otro tipo de CMT1. Al no presentar la duplicación se excluyó del análisis descriptivo. En la **Figura 9** se observa claramente un individuo que presenta la duplicación del gen PMP22, lo cual se corrobora con un control externo o estándar de oro (color rojo), un control negativo (color amarillo) y se compara con un control endógeno de un gen conservado, el cual no presenta ningún cambio en su amplificación o dosis génica comparándolos entre sí.

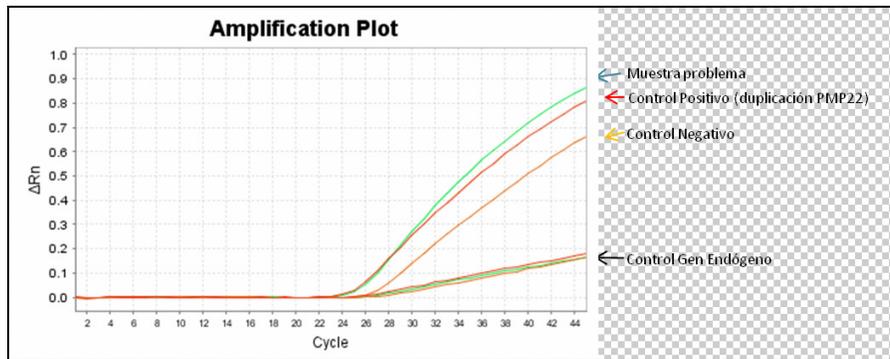


Figura 9.- PCR-RT que demuestra aumento de la dosis génica de la muestra problema en relación al control Negativo, control Positivo y el control del Gen Endógeno.

A partir de la determinación de la duplicación se realizó el análisis clínico y comparativo con la finalidad de determinar el fenotipo específico de la neuropatía tipo CMT1A en población mexicana. De los **24** pacientes **12 (50%)** son del sexo femenino y **12 (50%)** del sexo masculino lo que nos da una relación **1:1**.

7.2 Tiempo de Evolución

En la **Figura 10** se muestra una gráfica de la edad actual de los pacientes en el momento de la valoración clínica, comparando con la edad de inicio de la sintomatología, mediante interrogatorio directo e indirecto.

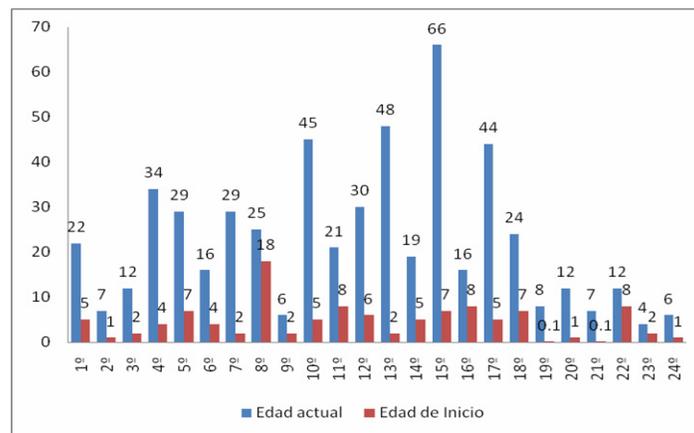


Figura 10.- Comparación de la edad de inicio y Tiempo de evolución de la neuropatía CMT1A.

Se calculó el promedio y DE de las edades observando que el promedio de inicio del padecimiento fue de 4.6 años y un promedio de 18 años de tiempo de evolución del padecimiento.

Tabla 7. Análisis de la edad actual, edad de inicio y tiempo de evolución expresado en años de pacientes con CMT1A.

| Prueba | Edad | Edad de Inicio | Tiempo de evolución |
|-----------------|------|----------------|---------------------|
| Promedio | 22.6 | 4.6 | 18 |
| DE | 15.9 | 3.9 | 15.1 |
| Mínima | 6 | 0.1 | 2 |
| Máxima | 66 | 18 | 40 |

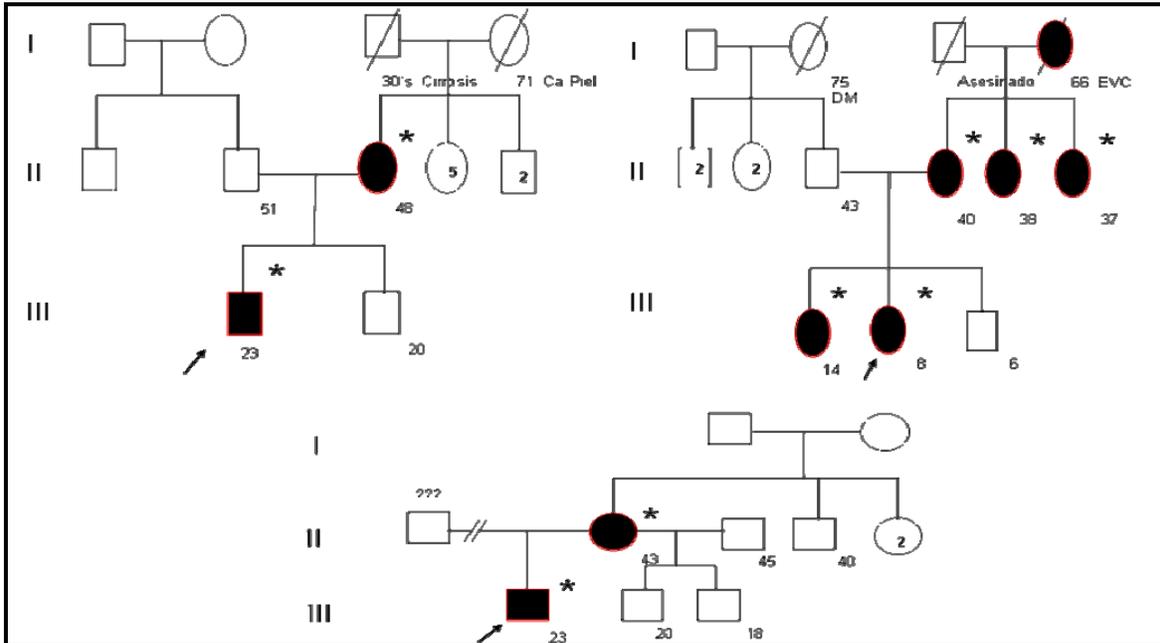
7.3 Estudio del modo de herencia.

En relación al modo de herencia: **5** casos refirieron antecedentes heredofamiliares de neuropatía lo que corresponde al **21%**, esto se pudo comprobar mediante el análisis de los familiares afectados que en este caso estuvieron disponibles para realizar este estudio, en tres probandos se comprobó mediante análisis molecular.

En los **19** pacientes restantes se excluyeron los antecedentes heredo-familiares de la neuropatía por lo que se consideran casos únicos (*de novo*) lo cual representa el **79%**. Interesante es observar que en los **5** casos heredados, la transmisión de la mutación fue transmitida por rama materna.

Figura 11.- Árboles Genealógicos: Se representa la genealogía de 3 probandos (Casos Familiares),

* Casos en los que se pudo confirmar la duplicación.



7.4 Estudios de Electrofisiología

En la **Tabla 8** se observan las VCN de los nervios estudiados para cada paciente, los **24 (100%)** pacientes presentaron disminución de las VCN, de estos la mayor proporción presentó disminución de las VCN de forma bilateral.

| VCN m/s | MD | MI | PD | PI |
|----------------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| 1° | 20 | 55 | 10 | 21 |
| 2° | 42 | 43 | 31 | 33 |
| 3° | 26 | 26 | 16 | 16 |
| 4° | 31 | 36 | 43 | 14 |
| 5° | 18 | 20 | 91 | 13 |
| 6° | 60 | 62 | 73 | 32 |
| 7° | 58 | 59 | 45 | 37 |
| 8° | 60 | 72 | 38 | 17 |
| 9° | 22 | 28 | 24 | 29 |
| 10° | 27 | 26 | 24 | 21 |
| 11° | 16 | 15 | 10 | 10 |
| 12° | 25 | 28 | 0 | 0 |
| 13° | 17 | 18 | 32 | 21 |
| 14° | 38 | 41 | 10 | 10 |
| 15° | 33 | 24 | 0 | 0 |
| 16° | 21 | 21 | 18 | 18 |
| 17° | 58 | 20 | 49 | 51 |
| 18° | 10 | 10 | 10 | 10 |
| 19° | 36 | 37 | 0 | 0 |
| 20° | 30 | 30 | 23 | 24 |
| 21° | 0 | 0 | 36 | 47 |
| 22° | 48 | 51 | 10 | 10 |
| 23° | 38 | 40 | 44 | 40 |
| 24° | 40 | 38 | 43 | 48 |

Tabla 8.- Velocidades de conducción nerviosa (VCM) en metros/segundo obtenidas por paciente. MD (Mediano Derecho): MI (Mediano Izquierdo): PD (Peroneo Derecho): PI (Peroneo Izquierdo).

Todos los pacientes **(100%)** presentaron disminución de las velocidades de conducción por lo menos en alguno de los nervios analizados, con un promedio general de 28.9 m/s. En **19 (79%)** la disminución se presentó de forma bilateral, mientras que en los **5 (20%)** pacientes restantes se observó unilateral, esto muestra la heterogeneidad clínica incluso en los diferentes lados (Izquierdo o Derecho) de los pacientes estudiados.

Tabla 9.- Análisis estadístico de medidas de tendencia central y dispersión

| Prueba | MD | MI | PD | PI | total |
|---------------|-----------|-----------|-----------|-----------|--------------|
| Promedio | 32.25 | 33.3 | 29.5 | 22.6 | 28.9 |
| DE | 16.2 | 17.4 | 22.7 | 15 | 18.4 |
| Min | 10 | 10 | 5 | 5 | 5 |
| Max | 60 | 62 | 91 | 51 | 91 |

Mediante una prueba t de student se observaron diferencias estadísticamente significativas entre las VCN de miembros torácicos y miembros pélvicos la cual fue de **0.038**. Como se observa en la **Figura 12** existe una gran dispersión de los resultados, lo que demuestra la gran variabilidad clínica del padecimiento.

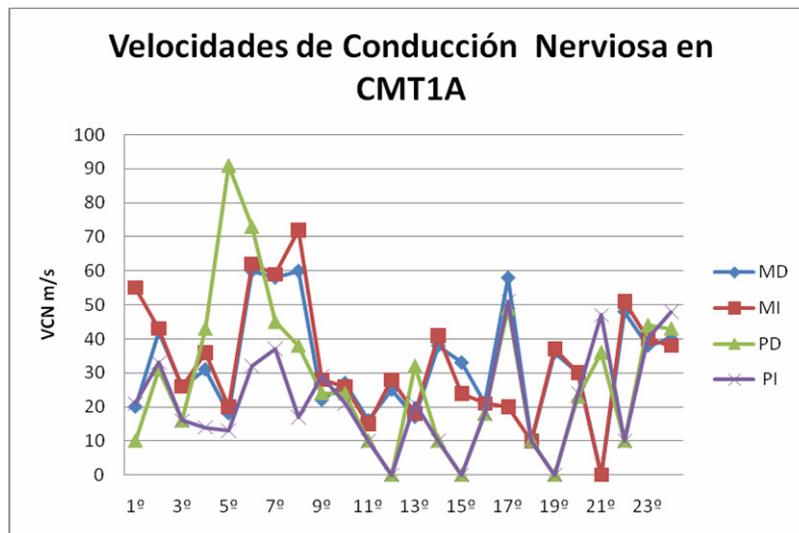


Figura 12.- Gráfica donde se ve la dispersión de las VCN de los 4 nervios estudiados en los 24 pacientes con CMT1A

7.5 Debilidad y atrofia muscular

Desde el punto de vista de la debilidad muscular encontrada en forma bilateral o unilateral resulta interesante observar que **22 (92%)** presentaron de forma bilateral y **2 (8%)** presentaron de forma unilateral lo que se correlaciona a lo reportado en la literatura mundial.

7.5.1 Debilidad y atrofia muscular de miembros torácicos

En primer lugar fue evaluada la debilidad a nivel de miembros torácicos, como se observa en la **Figura 13**, la debilidad se presentó en el **45%** de los pacientes, mientras que el **55%** restante no lo presentó. La debilidad de miembros torácicos se presentó principalmente de forma distal **41%**. La debilidad proximal fue poco frecuente, solo en el **16%** de los pacientes. La debilidad en manos se presentó en el **50%** de los pacientes por lo que se observa que es una característica frecuente de la neuropatía CMT1A.

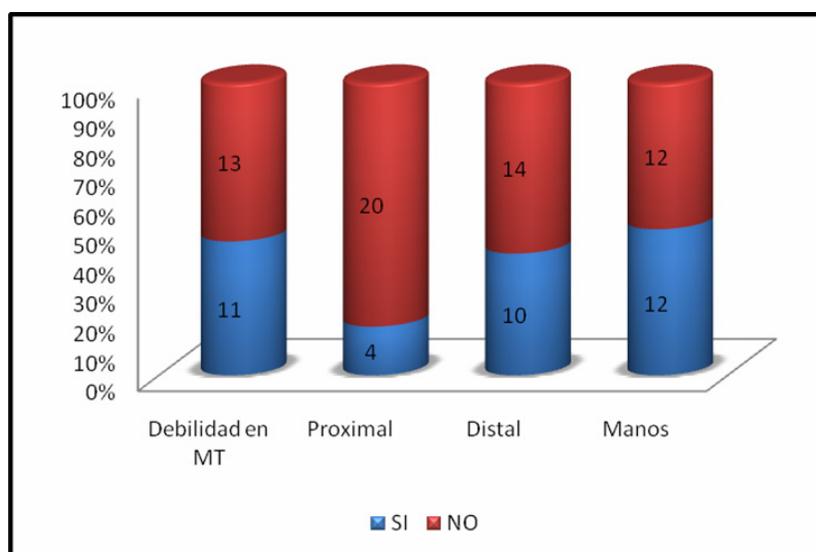


Figura 13.- Debilidad de Miembros Torácicos

Se presentó atrofia muscular en el **65%** de los pacientes, en el **20%** se mostró de forma simétrica y en el **45%** de forma asimétrica, en el **33%** restante no se demostró atrofia muscular de miembros torácicos, la atrofia muscular fue de predominio distal (**80%**) y en **2 (8%)** pacientes se presentó atrofia muscular de forma proximal y distal.

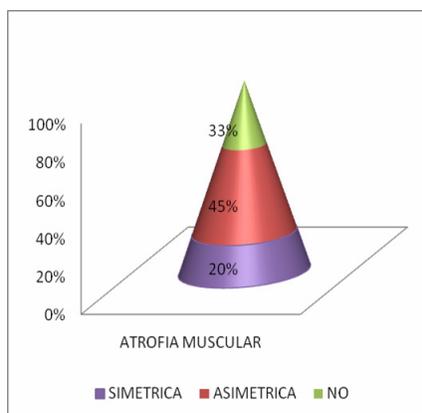


Figura 14.- Atrofia Muscular De Miembros Torácicos

Con respecto a la debilidad en miembros pélvicos, se observó en los **24 (100%)** pacientes analizados, lo que indica que es una característica clínica constante de esta neuropatía. En **22 (92%)** la debilidad de miembros pélvicos se presentó en región distal, en **7 (28%)** este dato estuvo presente también de forma proximal lo que indica que es una característica presente en la CMT1A de esta población. La debilidad de pies se presentó en **23 (95%)** de los pacientes, también siendo una característica mayor de esta neuropatía.

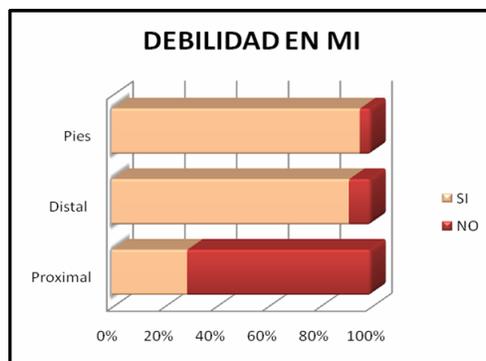


Figura15.- Debilidad muscular en Miembros Pélvicos

Finalmente se exploró el trofismo muscular de miembros pélvicos de los **24** pacientes, identificando que en el **83%** estuvo presente y en el resto no fue posible evaluar esta pérdida muscular. De este grupo de pacientes el **88%** se vio de manera distal, pero en el **12%** fue proximal, este dato clínico, se ha relacionado poco con este tipo de neuropatía y observándose en este estudio un hallazgo frecuente.

Es importante mencionar que la debilidad y atrofia muscular asimétrica de miembros pélvicos en 2 de los casos se relacionó con la presentación asimétrica de miembros torácicos, por lo que se puede derivar que la presentación asimétrica en la población estudiada es cercana al **10%**.

7.6 Contracturas neuromusculares

Las deformidades neuromusculares observadas se presentaron de forma predominante en pies, Pie en cavo Varo (PEV) en **15 (62%)** de los pacientes y la contractura de los dedos en garra se presentó en **17 (70%)** de los pacientes, lo que indica que esta característica es muy frecuente en esta patología. Es importante mencionar que en algunos casos existía el antecedente de corrección quirúrgica de la alteración postural.

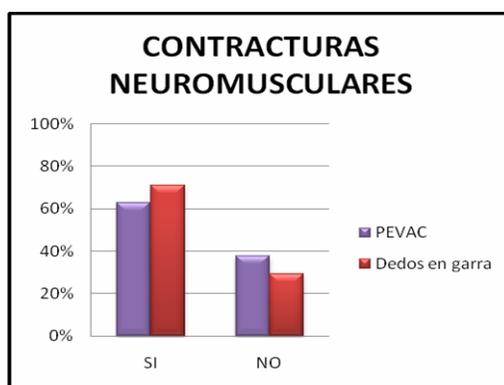


Figura 17. Contracturas Neuromusculares

7.7 Alteraciones neurosensoriales

Conforme a los datos a nivel sensorial, en la **Figura 20** se puede observar que el **42%** de los pacientes presentaron parestesias siendo esta la manifestación neurosensorial más común, mientras que el **21%** presentaron calambres. Solo el **8%** de los casos presentaron ambas características de manera conjunta, en general de predominio en miembros pélvicos. El **29%** no presentó ninguna alteración de tipo Neurosensorial.

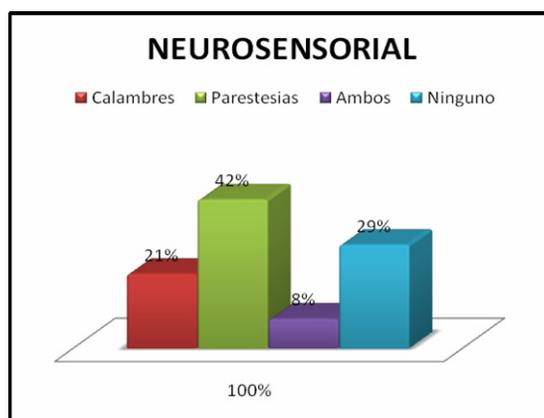


Figura 18.- Alteraciones de tipo Neurosensorial

La disminución de los reflejos osteotendinosos se demostró en **20 (83%)** de los pacientes, principalmente del reflejo patelar y aquileo que los de brazos, braquial y estiloradial.

Se presentó pérdida sensorial en el **13%** de los pacientes, esto predominantemente en pies, distal en la región plantar manifestando dolor el **33%** de los pacientes. Se presentaron otros hallazgos clínicos como tremor o temblor distal en el 29% de los pacientes, además de escoliosis en **20%** y en **8%** se demostró dificultad respiratoria. Solamente el **87%** refirió haber recibido algún tipo de terapia física y el **66%** estaban recibiendo tratamiento farmacológico, ej. Vitamina C, E, B, Gabapentina, carbamazepina, carnitina, Coenzima Q, así como remedios alternativos entre otros, en algunos casos se refirió en tratamiento sintomático del dolor con AINE's principalmente.

7.8 Estudio de la Escala de Discapacidad Funcional.

Se observó en el análisis de la **FDS**, que **19 (79%)** pacientes, fueron capaces de caminar sin auxiliares de la marcha. (**FDS 91% \leq 4**), lo que muestra una discapacidad de leve a moderada. Solo **1 (4%)** paciente presentó una FDS de **6**, ningún paciente presentó una FDS de **5, 7 ni 8** lo que está relacionado con un grado de discapacidad grave.

Tabla 10.- FDS – Numero de pacientes (% - Porcentaje), ordenados por grupo etario

| Escala de Discapacidad Funcional | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
|-----------------------------------|---|----------|----------|----------|----------|---|----------|---|---|
| Porcentaje | | 12.5% | 37.5% | 29% | 16% | | 5% | | |
| 1 - 10 años | | | 2 | 1 | 2 | | 1 | | |
| 11 - 20 años | | 2 | 3 | 1 | | | | | |
| 21 - 30 años | | 1 | 2 | 3 | 1 | | | | |
| > 31 años | | | 2 | 2 | 1 | | | | |
| Total de la muestra (N 24) | | 3 | 9 | 7 | 4 | | 1 | | |

En la **Figura 19** se observa que ningún paciente de los **24** presentó una **FDS** de **0, 5, 7 u 8**, siendo el grupo con mayor porcentaje el **2 (37%)**, seguido del **3 (29%)** y del **4 (16%)**. Solo en **3 (12%)** pacientes se obtuvo una **FDS** de **1**. Un **(8%)** paciente obtuvo una **FDS** de **6** y uno solo **(4%)** de **7**.

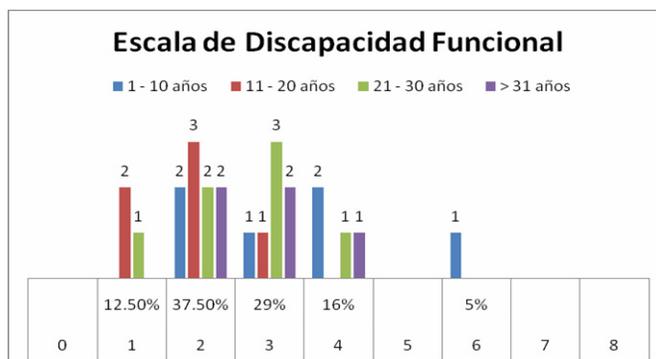


Figura 19.- Resultados de los grupos de FDS expresados en porcentaje por grupo

8. DISCUSIÓN

Este es el primer estudio de un grupo de **24** pacientes con CMT1A cuidadosamente seleccionados, confirmados por estudio Genético Molecular en población mexicana del INR.

Cabe mencionar que el método diagnóstico utilizado es muy confiable ya que siempre fue comparado con un control positivo (estándar de oro) confirmado por FISH (paciente con la duplicación del gen PMP22), además de un control negativo confirmado de la misma manera. Dentro de cada corrida se analizó la amplificación de un gen conservado, esto es un gen el cuál se expresa de la misma forma en todos los tejidos, sin ser afectada su expresión por un evento patológico de esta índole. Tales características evitan la presencia de posibles sesgos provocados por factores extrínsecos o intrínsecos como errores de pipeteo o errores de concentración entre la muestra problema y los diferentes controles utilizados. En la actualidad el análisis de dosis génica es muy recurrido en la implementación del diagnóstico molecular de dosis génica a nivel mundial. Cada experimento fue confirmado por tetraplicado, además del uso de otra técnica utilizando **5** marcadores microsatélites por medio de electroforesis capilar. (36)

Conforme a lo que observamos de primera instancia, **25** pacientes presentaron características clínicas y electrofisiológicas compatibles con CMT1, de los cuales **24** individuos fueron positivos para la duplicación del gen PMP22, esto significa que en nuestra muestra el **96%** presentó CMT1A. De acuerdo a lo reportado en la literatura generalmente los casos de CMT1A con respecto a las neuropatías CMT1, se presentan en un promedio del **70%** de los casos. Por lo cual podríamos pensar que la frecuencia en nuestra población es más alta a la reportada en la literatura internacional, sin embargo para poder aseverar este hallazgo, es necesario incrementar el tamaño de muestra y confirmar este dato, o determinar la presencia de algún sesgo originado por un tamaño de muestra de **25** pacientes. (37)

No obstante, que la clínica y los estudios electrofisiológicos son importantes para un diagnóstico, la única manera confiable de determinar la presencia de un tipo de neuropatía específica esta dada por el estudio molecular, lo cual confirmamos en este trabajo.

Por otro lado de acuerdo a los hallazgos de este trabajo realizamos el análisis fenotípico de los pacientes analizados. Cabe mencionar que para este estudio piloto el número de pacientes analizados es suficiente para obtener una clara tendencia de las características clínicas de la enfermedad. Se observó que la edad pico de presentación fue en la 1ª década de la vida y con progresión de los síntomas posteriores.

La mayoría de los pacientes presentan el fenotipo clásico de CMT, el cual es una neuropatía con debilidad y atrofia muscular simétrica de predominio distal, alteración sensorial más en piernas que en brazos. (38)

Sin embargo algunos hallazgos difieren a lo descrito en la literatura mundial, como lo es la presencia de debilidad en manos que se presentó en **12 (50%)** de los pacientes estudiados. Esto es más frecuente de lo reportado en la literatura. Esto es más frecuente de lo reportado en la literatura, Thomas PK. et al., mencionan que esta característica es poco frecuente en los pacientes analizados. Estas características podrían ser un hallazgo característico de nuestra población. (39)

Con respecto a la debilidad proximal de piernas presente en **7 (28%)** pacientes, encontramos un hallazgo interesante, ya que generalmente la fuerza proximal no es frecuente que sea analizado en esta patología. Por lo que posteriormente la inclusión de un análisis específico de este rubro podría darnos respuestas de las que no se tienen reportes en la literatura. (40)

La **FDS** fue de leve a moderada, **92%** siendo ambulantes con o sin auxiliares de la marcha.

En el presente estudio encontramos que el **21%** son casos familiares, mientras que el **79%** son mutaciones *de novo*, el riesgo de recurrencia empírico en individuos que se presentan como casos únicos familiares en los que la mutación patogénica no se ha identificado no es posible. Es por esto que es de suma importancia realizar un diagnóstico de certeza. Sin embargo estos datos son solo tendencias ya que de manera confirmatoria se tienen que realizar el diagnóstico molecular en los familiares de primer y segundo grado del caso índice.

Los estudios de correlación sugieren que la debilidad y la duración de la enfermedad, son factores que determinan el grado de discapacidad. Esto se ha demostrado en estudios de pacientes con CMT1A, en estudios a 5 años de seguimiento. (41)

El trabajo presentado, será de suma importancia, ya que aunque en su mayoría las características clínicas encontradas coinciden con los datos reportados en la literatura, existen hallazgos que deben ser analizados de manera puntual, lo que nos llevaría a enriquecer a lo antes descrito, así como posiblemente explicar diferencias que pudiesen estar dadas por nuestras diferencias genéticas a nivel poblacional. Por lo que, la contribución de este trabajo piloto, llevará a consolidar un megaproyecto en el estudio de las neuropatías en nuestro país.

Cabe mencionar que en la muestra analizada encontramos una alta variabilidad clínica, además de encontrar desviaciones estándar elevadas (**Tabla 8**), por lo que será importante incrementar el tamaño de muestra para poder analizar diferentes estratos de pacientes de acuerdo a su edad de evolución y correlacionarlas con sus características clínicas. En el presente trabajo no fue posible analizar a grupos por separado ya que el número de individuos presentes a cada grupo presentaba un muy bajo poder estadístico para dar conclusiones contundentes.

9. CONCLUSIÓN

A nivel de grupo, el fenotipo de la enfermedad de Charcot-Marie-Tooth Tipo 1A es uniforme, con debilidad distal simétrica, atrofia y alteraciones sensoriales, más pronunciado en extremidades pélvicas que en las torácicas. A pesar de esto existe una considerable variación clínica entre los individuos afectados. (42)

La disminución de los REM's, así como la afectación muscular asimétrica, se pueden considerar parte del fenotipo de CMT1A.

La mutación génica causante se encontró en **24 (96%)** de los pacientes estudiados.

La FDS que se presentó en el **95%** de los pacientes fue de **≤4** o de leve a moderada y solo en un caso se presentó con una FDS de **6** o grave.

Es importante continuar con el estudio y la caracterización de las neuropatías hereditarias para reconocer las características clínicas individuales que pudieran diferenciarlas entre ellas, así como para conocer la forma de evolución, gravedad, tratamiento, prevención de cada una de estas de manera individual.

10. ANEXOS

Anexo I.- Cuestionario, realizado en Consulta externa con Examen Físico

| PROTOCOLO CMT1A Cuestionario Clínico | | | | |
|--|--|---|---|---|
| EXP. INR | | EXP. GENETICA | | FECHA |
| NOMBRE | | | EDAD | SEXO |
| FECHA DE NACIMIENTO | | | LUGAR DE ORIGEN | |
| DOMICILIO ACTUAL | | | TELEFONO | |
| INICIO DE LA SINTOMATOLOGIA: | | | OCUPACION | |
| AHF NO <input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> | A. PERINATALES | | | |
| PESO | TALLA | | APGAR | |
| EDAD DE INICIO | | NUMERO DE MUSCULOS AFECTADOS | | |
| DEBILIDAD MUSCULAR | PIES <input type="checkbox"/> | MANOS <input type="checkbox"/> | CUELLO <input type="checkbox"/> | CARA <input type="checkbox"/> |
| DOLOR NO <input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> | DEBILIDAD MUSCULAR NO <input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> | | | |
| ATROFIA MUSCULAR NO <input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> | SIMETRICA <input type="checkbox"/> ASIMETRICA <input type="checkbox"/> | | | |
| LOCALIZACION DE LA AFECCION | | BILATERAL <input type="checkbox"/> IZQ. <input type="checkbox"/> DERECHO <input type="checkbox"/> | | |
| PIERNAS <input type="checkbox"/> | BRAZOS <input type="checkbox"/> | CARA <input type="checkbox"/> | PROXIMAL <input type="checkbox"/> | DISTAL <input type="checkbox"/> |
| PEVAC <input type="checkbox"/> | PERDIDA SENSITIVA <input type="checkbox"/> | DEDOS EN GARRA NO <input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> | | |
| DISCAPACIDAD INTELECTUAL NO <input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> | | AUDIOMETRIA NO <input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> | | |
| EEM Y VCN : | | | | |
| AFECTACION REPIRATORIA NO <input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> | | ESCOLIOSIS NO <input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> | | |
| RADIOGRAFIAS NO <input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> | | | | |
| BIOPSIA NO <input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> | | TRATAMIENTO <input type="checkbox"/> | TERAPIA FISICA <input type="checkbox"/> | |
| USG NO <input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> | | | | |
| AFECTACION DEL SISTEMA NERVIOSO PERIFERICO NO <input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> | | | | |
| NEUROPATIA NO <input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> | | ROT's DISMINUIDOS NO <input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> | | |
| SISTEMA NERVIOSO CENTRAL NO <input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> | | HIPERSOMNIA NO <input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> | | |
| PRESENCIA DE DOLOR (ESCALA 1-10) | | | | |
| LABORATORIO: ENZIMAS MUSCULARES SERICAS CREATININA SERICA CREATININA URINARIA | | | | |
| ELECTROMIOGRAFIA <input type="checkbox"/> | | | | |
| BIOPSIA MUSCULAR <input type="checkbox"/> | | | | |
| BIOPSIA NERVIOSA <input type="checkbox"/> | | | | |
| ESTUDIOS AUXILIARES | | TAC <input type="checkbox"/> | IRM <input type="checkbox"/> | EEG <input type="checkbox"/> VCN <input type="checkbox"/> |
| AUDIOMETRIA <input type="checkbox"/> | | | | |
| REPORTE: | | | | |
| TESTS PSICOMETRICOS | | WAIS <input type="checkbox"/> | MMPI <input type="checkbox"/> | |

Anexo II. - Escala de Discapacidad Funcional

| Escala de Discapacidad Funcional | Escala de 9 Puntos | Rango 0 - 8 |
|--|---------------------------|--------------------|
| 0 - Normal | | |
| 1 - Normal pero con calambres y/o fatiga | | |
| 2 - Incapacidad para correr | | |
| 3 - Camina con dificultad | | |
| 4 - Camina con ayuda de bastón (auxiliar de la marcha) | | |
| 5 - Camina con muletas (Órtesis o aparato ortopédico) | | |
| 6 - Camina con andadera | | |
| 7 - En silla de ruedas | | |
| 8 - Confinado en cama | | |

Anexo III.- Consentimiento Informado



**INSTITUTO NACIONAL DE REHABILITACIÓN
DIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN
SUBDIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA
SERVICIO DE GENÉTICA**



CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

México D.F. a _____ de _____ de 2010

A quién corresponda:

Por medio de la presente hago de su conocimiento que he dado mi consentimiento para participar en el proyecto **"ANÁLISIS CLÍNICO Y MOLECULAR DE LAS NEUROPATÍAS PERIFÉRICAS DESMIELINIZANTES"** que realizará el Dr. Norberto Leyva García en el servicio de Genética del Instituto Nacional de Rehabilitación lo cual he aceptado libre y voluntariamente. He sido informado sobre el procedimiento del estudio que consiste en la extracción de 5 ml de sangre por punción de una vena periférica del brazo, pudiendo existir como complicación la formación de un pequeño moretón o hematoma. La información obtenida será confidencial. Tengo el entendimiento que de este estudio se obtendrá como beneficio el desarrollo de procedimientos diagnósticos más eficaces y un mejor conocimiento para el manejo de mi enfermedad. Por otra parte, estoy en libertad de retirarme del estudio en el momento que lo desee sin que esto modifique la calidad de atención médica que reciba en el Instituto.

NOMBRE DEL PACIENTE:

FIRMA DEL PACIENTE, PADRE O TUTOR:

TESTIGOS: _____

FIRMAS: _____

TELEFONOS: _____

RESPONSABLE DEL PROYECTO:

**El Jefe Del Servicio de Genética.
Dr. Norberto Leyva García.**

FIRMA: _____

11. BIBLIOGRAFÍA

1. Bird DT. CMT Hereditary Neuropathy Overview. GeneReviews. June 1. 2010. NIH Seattle, Washington. USA
2. Kinga S. Lupski JR. Hereditary Motor and Sensory Neuropathies. EMERY's Elements of Medical Genetics. Elsevier. XII Edition. Section IV:2946-2958
3. Berciano Blanco J. et al. Neuropatías Hereditarias. Medicina. Idepsa.1998. 7(98):4543-4553
4. Davidenkow S. et al. Muscular Atrophy in Charcot Marie. Klinisch-Genetische Studien. Z Ges Neurology Psychiatrie.1927;107:259-320
5. Dyck PJ. et al. Inherited neuronal degeneration and atrophy affecting peripheral motor, sensory and autonomic neurons. Peripheral Neuropathy. WB Saunders co. Philadelphia.1975:825-867
6. Harding AE, Thomas PK. et al. The clinical features of hereditary motor and sensory neuropathy types I and II. Brain. 1980;103:259-280
7. Dejerine J. Sottas J. et al. Sur la neurite interstitielle et hypertrophique de l'enfance (2 observations suivie d'autopsie). Nouv Iconogr Salpet. 1906;19:477-509
8. Christopher J. Klein, MD. The Inherited Neuropathies. Neurology Clinics. Elsevier. 2007;25:173-207
9. Berciano J. et al. Hereditary motor and sensory neuropathy type II. Clinic pathological study. Brain 1986;109:897-914

10. Bird D. Thomas, MD. Charcot-Marie-Tooth Neuropathy Type 1. GeneReviews. June 1. 2010. NIH Departments of Neurology and Medicine. University of Washington. USA
11. Song S. et al. Mutation frequency for Charcot-Marie-Tooth disease type 1 in the Chinese population is similar to that in the global ethnic patients. Genet Med. 2006; 8:532–5.
12. Shy ME. et al. Neuropathy progression in Charcot-Marie-Tooth disease type 1A. Neurology 2008. (70):378-383
13. Lupski JR. et al. Molecular genetics of peripheral neuropathies. Scientific American Neurology, Scientific American Press. 1998;24;84-87
14. Bienfait HM. et al. Phenotype of Charcot-Marie-Tooth disease Type 2. Neurology. 2007;(68):1658-1667
15. Dichgans M. et al. Guidelines for the molecular diagnosis of inherited diseases. European Journal of Neurology. 2001; 8:407-424
16. Pareyson Davide. et al. Diagnosis, natural history and management of Charcot-Marie-Tooth disease. The Lancet Neurology. 2009;8:654-667
17. Jani-Acsadi Agnes. et al. Charcot-Marie-Tooth Neuropathies: Diagnosis and management. Seminars of Neurology. 2008;(28):185-193
18. Lupski JR. Charcot-Marie-Tooth Disease: Lessons in Genetic Mechanisms. Molecular Medicine. 1998;4:3-11

19. Lupski JR. et al. Genomic disorders ten years on. *Genome Medicine* 2009, 1:42.1-10
20. Banchs I. et al. Diagnosis of Charcot-Marie-Tooth-Disease. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*. 2009:1-10
21. Niedrist D. et al. Severe phenotype with cis-acting heterozygous PMP22 mutations. *Clinical Genetics*. 2009;75:286-289
22. Sherer S. et al. Molecular Mechanisms of Inherited Demyelinating Neuropathies. NIH author manuscript. November. 2008;1;56(14):1578-1589
23. Rautenstrauss B. Lupski JR. et al. Draft Best Practice Guidelines for Molecular Analysis of Hereditary Motor and Sensory Neuropathies. *European Molecular Genetics* 2001:1-10
24. Philippe Latour. Et al. Polymorphic Short Tandem Repeats for diagnosis of the Charcot-Marie-Tooth IA duplication. *Molecular Diagnostics and Genetics. Clinical Chemistry* 2001;(47:5):829-837
25. Lupski JR. Et al. Whole genome sequencing in a patient with Charcot-Marie-Tooth Neuropathy. *The new England Journal of Medicine*. 2010;March:1-12
26. Berciano J. et al. Initial semeiology in Children with CMT1A Duplication. *Muscle Nerve*. 2003;27:34-39
27. Burns J. et al. Ascorbic acid for CMT1A in Children: a randomized, double-blind, placebo-controlled, safety and efficacy trial. *The lancet*. 2009; Vol8: 1-8

28. Micallef J. et al. Effect of ascorbic acid in patients with CMT1A. *The Lancet*. 2009; Vol 8:1-8
29. Khajavi M. et al. Oral Curcumin Mitigates the clinical and neuropathologic Phenotype of the Trembler-J Mouse: A potential therapy for Inherited Neuropathy. *The American Journal of Human Genetics*. 2007; Vol 81: 438-453
30. Burns J. et al. Effect of Oral Curcumin on Déjerine-Sottas Disease. *Pediatric Neurology*. 2009; 41:305-308
31. Palau F. et al. Origin of the de novo duplication in Charcot-Marie-Tooth disease type 1A: unequal nonsister chromatid exchange during spermatogenesis. *Human Molecular Genetics*. 1993; 2: 2031-2035
32. Martínez P. et al. Cambios neurológicos basados en el análisis de la historia clínica secuencial. *Acta Ortopédica Mexicana* 2008; 22(6):374-383
33. Neuromuscular Disorder. 1998 Aug; 8(6):426-31. 2nd Workshop of the European CMT Consortium: 53rd ENMC International Workshop on Classification and Diagnostic Guidelines for Charcot-Marie-Tooth Type 2 (CMT2-HMSN II) and Distal Hereditary Motor Neuropathy (distal HMN-Spinal CMT) 26-28 September 1997, Naarden, The Netherlands.
34. Reilly MM. et al. 136th ENMC International Workshop: Charcot-Marie-Tooth Disease Type 1A. *Neuromuscular Disorders*. 2006; 16: 392-402
35. Lupski JR. et al. Charcot-Marie-Tooth peripheral neuropathies and related disorders. Scriver CR (eds). *The Metabolic and molecular bases of inherited disease*. McGraw-Hill, New York. Capítulo 227: 5759-5788

36. Byung-Ok Choi. Et al. Rapid diagnosis of CMT1A Duplications and HNPP deletions by multiplex microsatellite PCR. *Molecules and Cells*. 2007;(23-1):39-48
37. Meyer G. et al. Myelin Disorders: Causes and Perspectives of Charcot-Marie-Tooth Neuropathy. *Journal of Molecular Neuroscience*. 2006;28:77-88
38. García CA. et al. Neuropatías Hereditarias. Departamento de Neurología de la Universidad de Tulane. 2001: 1-4
39. Thomas PK. et al. The phenotypic manifestations of chromosome 17p11.2 duplication. *Brain*. 1997;120:465-478
40. Hanemann O. Pathogenesis of Charcot-Marie-Tooth IA neuropathy. *Perspectives on Disease*. 1998;21:283-289
41. Teunissen LL. et al. Disease course of Charcot-Marie-Tooth disease: a 5 year follow up study. *Archives of Neurology* 2003;60:823-828
42. Sarah J. et al. A chromosomal rearrangement Hotspot can be identified from population genetic variation and is coincident with a hotspot for allelic recombination. *The American Journal of Human Genetics*. 2006; 79: 890 - 902