



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**FACULTAD DE QUÍMICA**

**“Estudios del Polimorfismo CD24<sup>V</sup> asociado a la  
disfunción neurológica en pacientes con Esclerosis  
Múltiple”**

**TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE**

**QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA**

**PRESENTA**

**CYNTHIA SOFÍA RODRÍGUEZ MANDUJANO**



**MÉXICO, D.F.**

**2011**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**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.

**JURADO ASIGNADO:**

**PRESIDENTE:**                   **Profesor: Misael González Ibarra**

**VOCAL:**                           **Profesor: Vanessa Rebeca Maya Ampudia**

**SECRETARIO:**               **Profesor: María del Carmen Chima Galán**

**1er. SUPLENTE:**               **Profesor: Dimitrova Dinkova Tzvetanka**

**2° SUPLENTE:**               **Profesor: José Landeros Valdepeña**

**SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:** DIVISIÓN DE MEDICINA  
GENÓMICA DEL CENTRO MÉDICO NACIONAL “20 DE NOVIEMBRE” ISSSTE.

**ASESORA DEL TEMA:** \_\_\_\_\_

**DRA. MARÍA DEL CARMEN CHIMA GALÁN**

**SUPERVISOR TÉCNICO:** \_\_\_\_\_

**M en C. JOSÉ LANDEROS VALDEPEÑA**

**SUSTENTANTE:** \_\_\_\_\_

**CYNTHIA SOFÍA RODRÍGUEZ MANDUJANO**

## **AGRADECIMIENTOS:**

Gracias a **Dios y al Señor de la Misericordia** por darme la fortaleza y la sabiduría para cumplir mis metas y permitirme convivir con mis seres queridos.

Gracias a mi mamá **Verónica Mandujano** y a mi hermano **Daniel** que siempre han estado y seguirán apoyándome en todo momento en las buenas y en las malas. Hoy cierro un ciclo importante que es motivo de orgullo, satisfacción y felicidad para ustedes y por supuesto que también lo es para mí. Me alegra compartir con ustedes este triunfo, que también es suyo, no sé qué nuevas chocoaventuras me depare el destino para mañana, pero lo que si se es que cuento siempre con mis dos mosqueteros para que sean partícipes y cómplices de la nueva etapa que ya comienzo. **Saben que los quiero mucho y que siempre estaremos unidos.**

Gracias a mi tío **Armando Mandujano** por su apoyo para la impresión de este trabajo, y que Dios siempre te siga bendiciendo en todo lo que te propongas y que también me acompañes igual como fue en ese tiempo cuando era yo una niña, son mis recuerdos más valiosos e inolvidables que tengo de ti. Ahora ya no soy una niña, soy una profesionalista con ganas de llegar muy lejos. Te quiero mucho

Gracias a mis primos **Armando y Fernando Mandujano**, aún están chiquitos pero el día de mañana ustedes también estarán en el mismo lugar que yo estoy, les deseo lo mejor y que tengan un excelente futuro y que lleguen a ser profesionales como su prima que también los quiere.

Gracias a mi abuela **Margarita García** por su apoyo

Gracias al Profesor **José Landeros** por ser mi tutor, maestro y amigo, que estuvo siempre ayudándome y asesorándome en lo largo de la carrera, en el momento que sentí, que esto no era para mí, fue una de las personas que además de mi familia me dijo una vez; “que la carrera no era una competencia que solo era resistencia y llegar como sea a la meta” y ya lo logré. Como se lo he dicho lo

considero un excelente maestro que he tenido y que nuestra amistad continué por mucho tiempo.

Gracias a la Doctora **María del Carmen Chima** por ser mi maestra, tutora, amiga, y confidente que me ha apoyado muchísimo y que me dio la oportunidad de colaborar en este proyecto que ahora me está dando un título profesional y esto se lo agradeceré infinitamente por lo que si en un futuro, tengo la oportunidad de retribuirle con algo con mucho gusto lo haré de corazón y que sigamos siendo amigas por mucho tiempo.

Gracias al Profesor **Misael González** por ser un excelente maestro no solo de la asignatura de micología sino de la vida, sabe como disfrutarla y enseñar a los demás a tomarla por igual y que se preocupa por sus estudiantes, llevamos poco tiempo de conocernos pero lo considero ya un amigo que le tengo una profunda admiración y respeto por lo que es usted, sabe que puede contar conmigo en las buenas y en las malas y que todo pasa por alguna razón y que son pruebas que se pueden superar.

Gracias a **Lidia Barrón** por apoyarme y que en este tiempo difícil que pasaste, uno de tus objetivos para poderte sobreponer fue que querías estar conmigo cerrando este ciclo cosa que te agradezco mucho y me alegra que Dios te este dando una segunda oportunidad gracias amiga y sabes que siempre estaré igual contigo en las buenas y en las malas.

Gracias a mis queridos amigos **Jessica, Adriana Núñez, Martha, Maritza, Juan Carlos, Bocho alias Rafael**, del hermoso CCH-SUR, fue una de las épocas más divertidas que tuve en mi vida que no cambiaría por nada y que las recuerdo con cariño. Me alegra que después de mucho tiempo de conocernos sigamos siendo amiguis y que estemos en contacto los quiero mucho.

Gracias a mis también queridos amigos **Leo Morales, Adriana Millán, Ocelli (Ñera), Oscar Arteaga, Oscar Sanabria, Fosy, Alejandro Alicai, Mi tocaya Cinthia del Carmen, Marita, Serch, Susy, Tanis, Teresita, Ricardo Michelle, Servando, Erika Romero, Pilar, Diana, Claudia, Raúl, Gabo, Alicia, Carlos**

**Esteban, Alfredo, Karina, Jesuitas, Carmen, Gloria y Jesús** de la sensacional FACULTAD DE QUÍMICA, nuestra primera casa porque nuestras casas las usábamos de hotel nada mas jaja, para luego vernos en la mañana siguiente con nuestras ojeras y cara de cansancio por no dormir pero aun así nos divertíamos y vivimos juntos la travesía de prepararnos para ser profesionales. En esta Facultad chismeamos, nos reímos, lloramos, si los muros pudieran contar todo lo que pasamos creo que nunca terminaría. Ahora cada quién tendrá en sus pies el camino para nuevas patoaventuras, así como yo lo tengo espero que en un futuro podamos encontrarnos de nuevo. **Los quiero mucho.**

Gracias a mis amigos del “20 de Noviembre” en especial la **Dra. Liliana García**, y los médicos residentes **Ivonne Bombón, Maryangel, Carlos Iván** y el genetista **Leo Pérez** fue divertida mi estadía ahí con ustedes, ojalá que nos sigamos frecuentando y que sea más para las pachangas jajajaja, sigan adelante con sus metas como yo cumpliré las mías ojalá que cuando nos reunamos sea para compartir más triunfos.

Gracias a todos mis maestros de la primaria, secundaria, del CCH-SUR y de la Facultad de Química que gracias a su paciencia, esfuerzo y enseñanza he logrado llegar hasta esta meta que es tener una Licenciatura de corazón gracias.

Gracias a la División de Medicina Genómica del Centro Médico Nacional “20 de Noviembre del ISSSTE por darme las facilidades en sus instalaciones.

**GRACIAS A LOS FONDOS SECTORIALES EN SALUD 2007-C01-69809 DE  
CONACYT**

GRACIAS A MIS PUMITAS POR LA FELICIDAD DE SER CAMPEONES DEL  
CLAUSURA 2011

**!!! ORGULLOSAMENTE PUMA DE CORAZÓN !!!**

DEDICADA PARA:

MI MAMILINGA VERÓNICA MANDUJANO GARCÍA

MI HERMANO DANIEL HORACIO RODRIGUEZ MANDUJANO

PROFESOR JOSÉ LANDEROS VALDEPEÑA

Y A MI AGUE GILA QUE ESTA EN EL CIELO

## ÍNDICE

I INTRODUCCIÓN.....	1
A) PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	2
B) HIPÓTESIS.....	2
C) OBJETIVOS.....	2
D) JUSTIFICACIÓN.....	3
II. ANTECEDENTES	
CAPÍTULO I “ESCLEROSIS MÚLTIPLE”.....	4
1.1 HISTORIA DE LA ESCLEROSIS MÚLTIPLE.....	4
1.2 ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS.....	4
1.3 DEFINICIONES Y VARIEDADES CLÍNICAS.....	8
1.4 CUADRO CLÍNICO.....	12
1.5 ESCALAS DE DISFUNCIÓN NEUROLÓGICA.....	16
1.6 DIAGNÓSTICO DE LA ENFERMEDAD.....	21
1.7 ETIOLOGÍA.....	24
1.8 FISIOPATOLOGÍA.....	28
CAPÍTULO II “ASPECTOS GENÉTICOS”.....	29
2.1 PROYECTO GENÓMA HUMANO.....	29
2.2 COMPLEJO MAYOR DE HISTOCOMPATIBILIDAD (MHC).....	30
2.3 GENES ASOCIADOS A LA EM.....	33
CAPÍTULO III “CD24”.....	35
3.1 GEN <i>CD24</i> .....	37
3.2 ESTUDIOS DE <i>CD24<sup>V</sup></i> EN OTRAS POBLACIONES.....	39
III. METODOLOGÍA.....	40
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	46

V. CONCLUSIONES.....	60
VI PERSPECTIVAS.....	61
VII BIBLIOGRAFÍA.....	63
VIII. ANEXOS.....	66
ABREVIATURAS.....	66
ANEXO I CONSENTIMIENTO INFOMARDO.....	67
ANEXO II CUESTIONARIO DE RECOLECCIÓN DE DATOS.....	69
GLOSARIO.....	73

## INTRODUCCIÓN

La Esclerosis Múltiple (EM), es una enfermedad auto-inmunitaria en la que los anticuerpos y leucocitos atacan la mielina, lo que causa inflamación, lesión de la vaina y de los nervios que rodea. Afecta a más de tres millones de personas en el mundo, en México tiene una prevalencia de 15 por 100,000 habitantes. Generalmente la EM inicia entre los 20 y 50 años de edad y afecta predominantemente a las mujeres con una frecuencia casi dos veces mayor que en los varones.<sup>2,3</sup>

Esta enfermedad afecta más a menudo a la población caucásica en todo el mundo y el país con más defunciones a causa de EM es Dinamarca.<sup>27</sup>

Hasta ahora no existe un tratamiento curativo para este padecimiento, sin embargo, se utilizan medicamentos aprobados por la FDA (Food and Drug Administration); siendo el interferón beta, mitoxantrona, natalizumab (anticuerpo monoclonal) y acetato de glatiramer, los que buscan disminuir las recaídas y controlar la EM.<sup>6,28</sup>

Es importante estudiar más a detalle la probable etiología de la enfermedad porque conociéndola se podrán proponer estrategias para que de manera oportuna se realice el diagnóstico y se asigne el tratamiento, con el propósito de mejorar la calidad de vida del paciente.

La EM es un padecimiento complejo de etiología multifactorial y dentro de los factores genéticos implicados en la fisiopatología de la enfermedad se proponen genes que participan en la respuesta inflamatoria y autoinmune como *CD24*, en el modelo murino codifica para un antígeno de superficie y participa en la activación de las células T en su migración al sistema nervioso central (SCN). En 2006 se describió el polimorfismo *CD24<sup>V</sup>*, un SNP (polimorfismo de nucleótido simple) que consiste en el reemplazo de una T (timina) en el nucleótido 226 por una C (citosina) en la región codificante del exón 2; el cual se ha asociado a la EM, en la población española, inglesa e iraní.<sup>20,21,24</sup>

En México aún no hay estudios reportados al respecto, por lo que el objetivo de este trabajo es determinar si el polimorfismo  $CD24^V$  se asocia con la presencia de EM en un grupo de pacientes mexicanos, y si el polimorfismo se encuentra relacionado con el grado de disfunción neurológica de los mismos.

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

La EM es una enfermedad compleja, donde influyen factores genéticos y ambientales, hasta ahora no se sabe con precisión que factores participan en la etiología y fisiopatología de la enfermedad. Recientemente se ha propuesto que el gen  $CD24$  está relacionado con la predisposición y evolución de la EM, en algunas poblaciones se ha encontrado que el polimorfismo  $CD24^V$  se asocia a una evolución más rápida y a una mayor discapacidad en pacientes con EM, por lo que es importante estudiar una muestra de pacientes mexicanos.

## **HIPÓTESIS**

Si el polimorfismo  $CD24^V$  se encuentra asociado a la EM entonces también existe una relación con la disfunción neurológica que presentan los pacientes.

## **OBJETIVO GENERAL**

- Identificar si el polimorfismo  $CD24^V$  se encuentra asociado a la EM y la disfunción neurológica

## **OBJETIVOS PARTICULARES**

- 1.- Genotipificar  $CD24^V$  en un grupo de pacientes y controles
- 2.- Evaluar de acuerdo a la escala EDSS el grado de disfunción neurológica de los pacientes con EM.
- 3.- Analizar los datos demográficos y clínicos de los pacientes estudiados

## **JUSTIFICACIÓN**

La EM es una enfermedad con un fuerte impacto en la salud pública, porque la discapacidad que origina conlleva a altos costos en la atención de los pacientes además, por la edad en que se presenta la EM afecta al sector económicamente activo.

El origen de la enfermedad es aún desconocido, tanto para investigadores como para la población en general, pero los estudios que se hacen en la actualidad para resolver este enigma sugieren que su etiología es multifactorial.

Este trabajo se centra en identificar si el polimorfismo CD24<sup>v</sup> se encuentra asociado a la EM, así como su relación con la disfunción neurológica secundaria.

## **CAPITULO I “ESCLEROSIS MÚLTIPLE”**

### **1.1 HISTORIA DE LA ESCLEROSIS MÚLTIPLE**

Desde hace más de 130 años la EM se conoce como una entidad clinopatológica, Cruveilhier (1835) y Carswell (1838) realizaron las primeras descripciones, pero fue Jean-Martin Charcot quien en 1868 publicó “Histologie de la sclérose en plaques. Gaz. Hop. (Paris), 41” ofreciendo la primera descripción detallada de los aspectos clínicos y evolutivos de la enfermedad, acuñando el concepto de esclerosis en placas, nombre con el que aún se conoce esta enfermedad en la bibliografía francesa.<sup>2</sup>

Los autores ingleses la denominaron esclerosis diseminada, aludiendo a la diseminación de la lesiones en el sistema nervioso central (SNC) y posteriormente, los autores norteamericanos la llamaron esclerosis múltiple siendo esta la última de nominación la más empleada en la bibliografía actual, dado que alude por una parte, a la existencia de lesiones múltiples en el SNC y, por otra a la existencia habitual de episodios múltiples de disfunción neurológica.<sup>2</sup>

### **1.2 ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS**

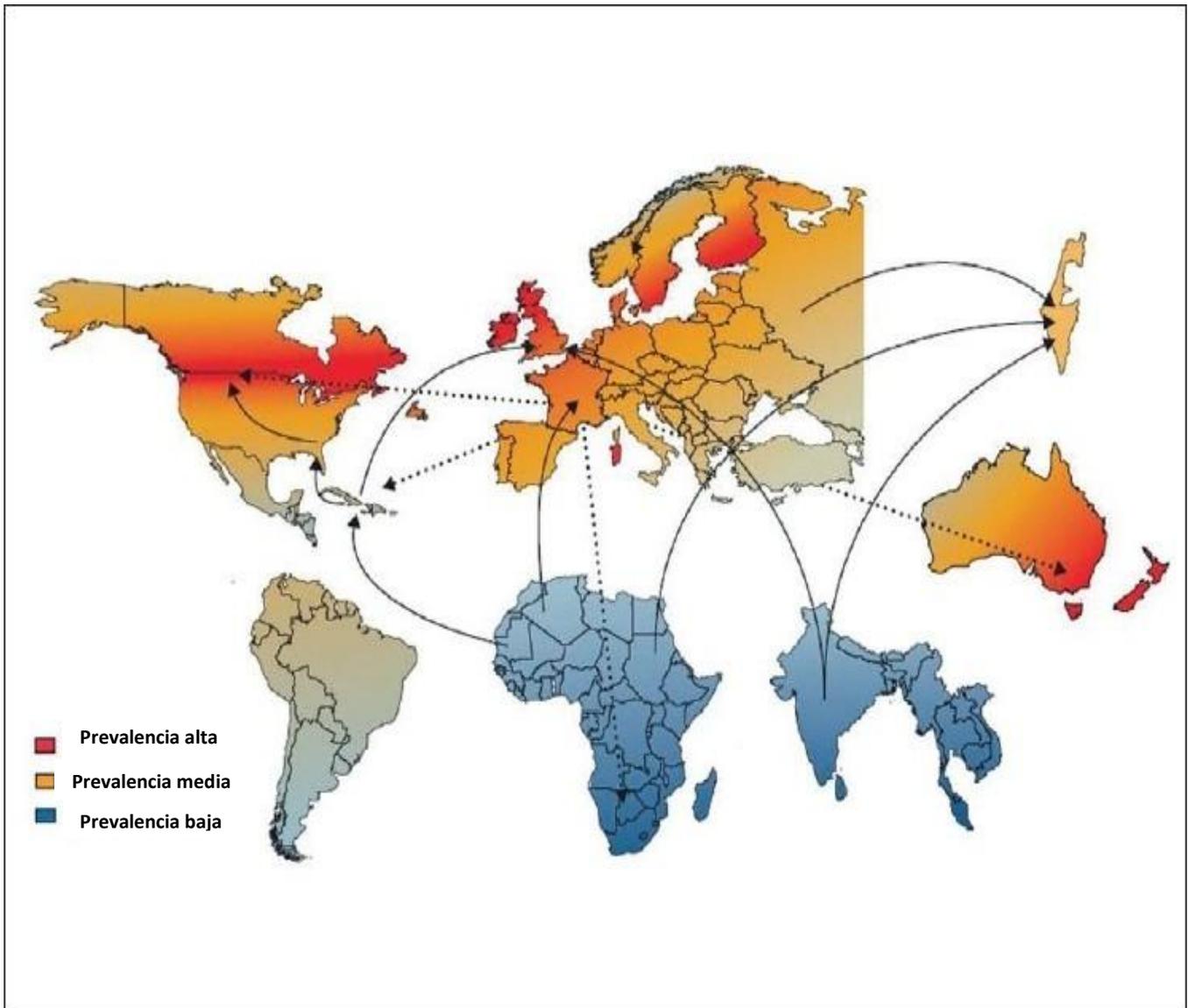
La epidemiología descriptiva permite conocer la frecuencia de las enfermedades; para ello se sirve de las tasas de incidencia, prevalencia y mortalidad. La tasa de incidencia mide el número de casos nuevos al año por cada unidad de población se suele utilizar como denominador la cifra de 100,000 habitantes. La tasa de prevalencia mide el número de casos vivos por cada 100, 000 habitantes en una fecha determinada *a priori*. La tasa de mortalidad mide el número de fallecimientos por una enfermedad al año por cada 100,000 habitantes.<sup>3</sup>

La frecuencia de la EM tiene evidente variación geográfica; es menos frecuente en los países ecuatoriales y se vuelve progresivamente más común conforme a la distancia del ecuador en ambos hemisferios.<sup>3</sup> (Ver Mapa 1) En el mundo aproximadamente un millón de personas de entre 17 y 65 años de edad tiene EM. En Estados Unidos la prevalencia proyectada en el año 2000 para la población

blanca era de 191 enfermos por cada 100, 000 personas en edad de riesgo; lo mismo en Canadá<sup>3</sup>, mientras que para México en el año 2011 es de al menos 15.<sup>30</sup>

En África y Asia la enfermedad es poco frecuente y presenta características clínicas específicas, probablemente debidas a factores étnicos de resistencia. En Cuba la prevalencia es de 5-10, los estudios realizados en Brasil, Uruguay y Argentina reportan una prevalencia que oscila entre 4 y 22, con un gradiente de disminución en relación con la distancia al ecuador.<sup>2</sup>

Los estudios de incidencia son bastante limitados por sus dificultades metodológicas, ya que requieren al menos una medición inicial y otra de seguimiento. Sin embargo, la principal dificultad es que un seguimiento adecuado implica garantizar a toda una población el acceso al diagnóstico y a los sistemas de salud.<sup>2</sup>



**Mapa 1** Es un ejemplo ilustrativo que confirma que las personas caucásicas son las más susceptibles a padecer EM, los países como Estados Unidos, Canadá, Reino Unido, Suiza, Francia y Dinamarca cuentan con una población que tiene mayor prevalencia de EM. (Tomado y modificado de *The Lancet*, Vol. 372, Compston and Coles, *Multiple sclerosis, 1502-1517*, 2008).

En cuanto a la mortalidad que se da mundialmente por EM, la OMS (Organización Mundial de la Salud) publicó en Diciembre de 2004 un listado, en la actualidad esos datos no se han renovado. (Ver Tabla1)

**Tabla 1** Mortalidad Mundial por Esclerosis Múltiple. Tomado de datos de la OMS Diciembre de 2004.<sup>27</sup>

Mortalidad por cada 100,000 habitantes	Países
0,1	Angola, Bangladesh, Bolivia, Cambodia, Chile, China, Colombia, Rep. Dominicana, Ecuador, India, Japón, Maldivia, Mongolia, Morocco, Namibia, Pakistán, Perú, Filipinas, Sudáfrica.
0,2	Afganistán, Brasil, Egipto, Irán, Iraq, Maita, México, Venezuela.
0,3	Argentina, Armenia, Bahamas, Costa Rica, Israel.
0,4	Andorra, Cuba, Yugoslavia
0,5	Italia, Grecia, España, Uruguay
0,6	Australia, Portugal, Rumania, Serbia y Montenegro.
0,7	Antigua y Barbuda, Luxemburgo
0,8	Bosnia y Herzegovina, Austria, Irlanda
0,9	Belarus, Croacia, Francia, Eslovenia
1.0	Estonia, Hungría, Nueva Zelanda, Eslovaquia, Ucrania
1,1	República Checa, Lituania, Rusia, Estados Unidos
1,2	Bulgaria, Finlandia, Suecia
1,3	Polonia, Bélgica, Países Bajos
1,4	Canadá
1,5	Reino Unido
2,0	Suiza
2,1	Dinamarca

### 1.3 DEFINICIONES Y VARIEDADES CLÍNICAS

El Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía “Manuel Velasco Suarez” de la ciudad de México, en su portal de internet define la EM como; “Una enfermedad del sistema nervioso central, desmielinizante y crónica. Se trata de una enfermedad neurológica de la cual no se conoce su causa. Ataca la vaina de mielina que envuelve al nervio que transmite las sensaciones al cerebro y a la médula espinal. En los lugares en los que se destruye la mielina, en diferentes sitios del sistema nervioso central, aparecen placas de tejido cicatricial endurecido (esclerosis). Los impulsos nerviosos que pasan por esos sitios se interrumpen y en ocasiones quedan totalmente bloqueados.”<sup>26,30</sup>

Neurona: Son un tipo de células del sistema nervioso cuya principal característica es la excitabilidad eléctrica de su membrana plasmática; están especializadas en la recepción de estímulos y conducción del impulso nervioso (en forma de potencial de acción), está compuesta por un cuerpo celular, también conocido como soma o pericarion, por una o más prolongaciones conocidas como dendritas y un solo axón.<sup>7</sup>

Neuroglia: Existen 5 tipos de células de sostén relacionadas con el sistema nervioso (astroglia, oligodendroglía, microglía y células endoteliales) y un tipo en el sistema nervioso periférico (SNP).<sup>7</sup>

Astrocito protoplásmico: Se localiza en el SNC y en la materia gris su función es sostener y aislar a las neuronas, secuestra iones  $\text{Na}^+$ , metaboliza neurotransmisores extracelulares; reparan el daño al SNC mediante la formación de tejido cicatrizal glial; rodea a los axones mielinizados y en el embrión establecen las vías por las que migran las neuronas.<sup>7</sup>

Astrocito fibroso: Se localiza en el SNC y en la materia blanca y sus funciones son iguales a las del astrocito protoplásmico.<sup>7</sup>

Oligodendroglía: Se localiza en el SNC y sobre toda materia blanca, su función en la materia blanca es que forma vainas de mielina alrededor de los axones del SNC; en la materia gris rodea a las neuronas.<sup>7</sup>

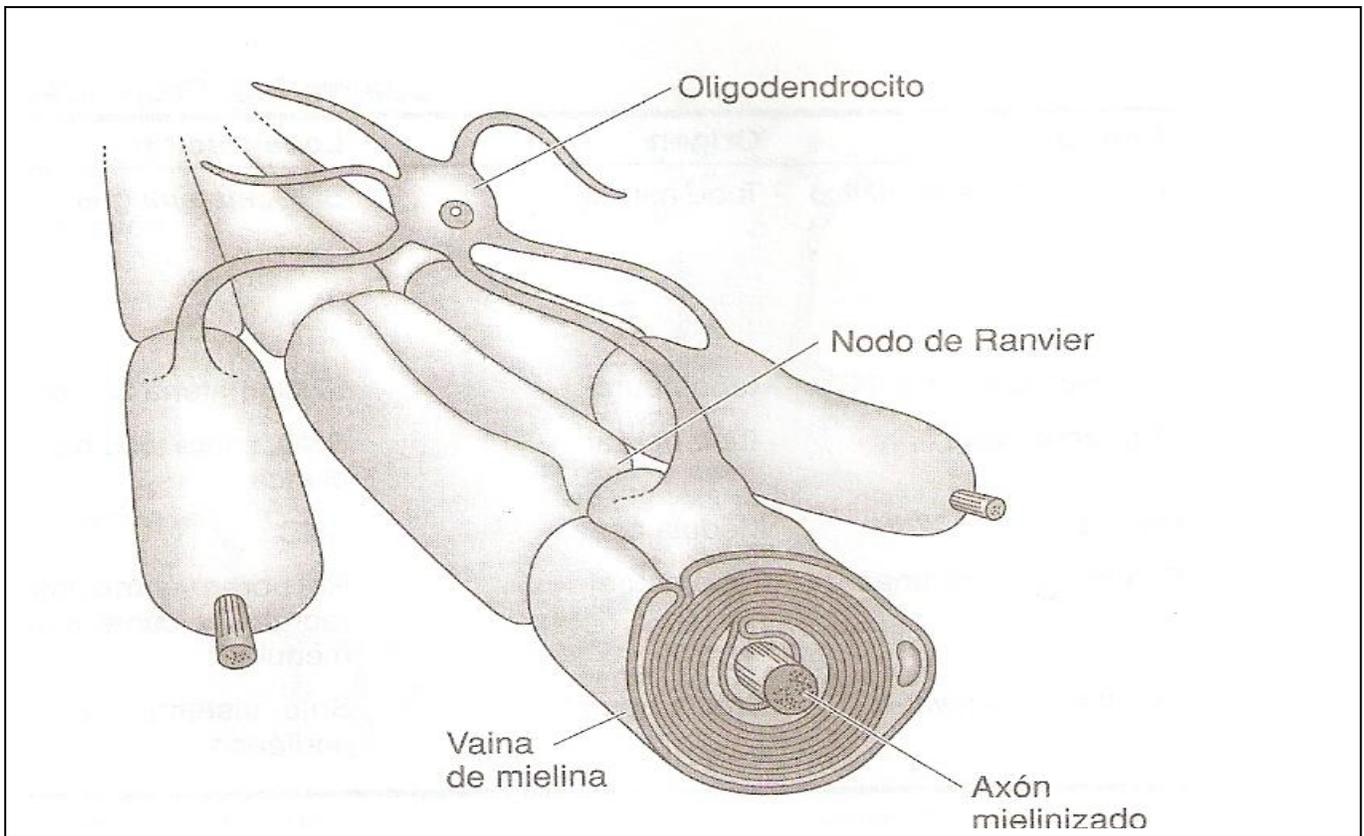
Microglía: Se localiza solamente en SNC y fagocitan el tejido nervioso dañado.<sup>7</sup>

Células endoteliales: Recubren ventrículos cerebrales y el canal central medular, fomentan el movimiento del líquido cefalorraquídeo; forman el epitelio cúbico simple del plexo coroideo; en el tercer ventrículo se diferencia para formar tanicitos.<sup>7</sup>

Células de Schwann: Se encuentran solo en sistema nervioso periférico y su función principal es mielinizar y rodear a los axones no mielinizados del SNP; funcionan durante la degeneración y regeneración de axones.<sup>7</sup>

Mielina: La mielina se forma a partir de las capas de las células oligodendrogliales y del plasmalema de las células de Schwann envuelto alrededor de los de axones de ciertas neuronas. (Ver imagen 1)<sup>7</sup>

La mielina está compuesta por cerca de 70 a 80% de lípidos; el resto consiste en proteínas y agua. El elemento lipídico predominante es el colesterol, seguido de fosfolípidos y glucoesfingolípidos. Existen varias proteínas cuyas funciones en la integridad estructural de la vaina de mielina apenas empiezan a comprenderse, la proteína proteolípidos (PLP) es la principal proteína estructural que solo se encuentra en la mielina del SNC. Todas son proteínas transmembrana y se ha dicho que participan en la compactación de la línea densa mayor, debido a que su parte citoplasmática está compuesta; sobre todo de aminoácidos con cargas elevadas que atraen a sus contrapartes en el otro de la membrana. Otra proteína, la glucoproteína asociada con mielina (MAG; del inglés myelin associated glycoprotein), tiene subunidades globulares que se extienden al espacio extracelular (en la hendidura intraperiodo) de las vainas de mielina, tanto en el SNP como en el SNC. Las caras citoplasmáticas de esta proteína transmembrana se relacionan con los componentes del citoesqueleto espectrina y actina, lo que refuerza la arquitectura rigurosa de la vaina de mielina.<sup>7</sup>



**Imagen 1** Axón mielinizado

El curso clínico de la EM tiene dos fenómenos:

- 1) Exacerbación: Es la aparición, reaparición o empeoramiento de síntomas de disfunción neurológica con duración mayor de 24 horas. Tiene inicio insidioso. La fase inicial es seguida por estabilización o mejoría (remisión), completa o no. El empeoramiento transitorio de síntomas asociado a fiebre, infecciones o estrés se considera como “seudoexacerbación”.<sup>3</sup>
- 2) Progresión: Deterioro neurológico progresivo de 0.5 en la escala de disfunción neurológica de Kurtzke (EDSS; del inglés expanded disability status scale) por un mínimo de 6 meses, sin embargo algunos autores consideran un año y un EDSS de 1,0. Tiende a ser un diagnóstico retrospectivo después de 6 o 12 meses de progresión.<sup>3</sup>

Desde el punto de vista de su severidad, se pueden encontrar las siguientes formas clínicas de la EM:

- a) Esclerosis múltiple benigna: Curso de la enfermedad en el cual el paciente permanece completamente funcional después de 15 años del inicio de la enfermedad. Se considera diagnóstico retrospectivo.<sup>3,6</sup>
- b) Esclerosis múltiple maligna: Curso de la enfermedad que presenta rápida progresión, con discapacidad significativa en varios sistemas neurológicos o muerte en un corto periodo después del inicio de la enfermedad.<sup>3,6</sup>

Tras un consenso realizado por la National Multiple Sclerosis Society (NMSS), Lublin y Reingold publicaron las siguientes variedades de presentación de la EM aceptadas actualmente.<sup>3</sup>

- Esclerosis múltiple recurrente (EMRR). Caracterizada por episodios de disfunción neurológica aguda seguidos por un grado variable de recuperación, con un curso relativamente estable sin progresión entre las exacerbaciones. La EMRR representa aproximadamente el 85% de los casos de EM.<sup>2,3,6,13</sup>
- Esclerosis múltiple secundaria progresiva (EMSP). Curso de inicio EMRR, seguido por progresión con o sin exacerbaciones y/o estabilidad mínimos. Tres de cada cuatro pacientes presentan EMSP a 25 años del inicio de la enfermedad. El 40% de pacientes con EMRR la manifiestan a los 10 años de evolución y más del 88% de los enfermos después de 25 años.<sup>3,6</sup>
- Esclerosis múltiple primaria progresiva (EMPP). Progresión de la enfermedad desde el inicio de la misma. Representa desde el 7% de los casos en algunas series hasta el 20% en otras, y su curso insidioso suele llevar a un retraso en la atención de los pacientes. Esta variedad de EM se distingue por la presentación a mayor edad, la falta de preponderancia femenina, la presencia de mielopatía progresiva y poca cantidad de lesiones cerebrales que aparecen en resonancia magnética (RM).<sup>3,6</sup>

- Esclerosis múltiple progresiva recurrente (EMPR). Curso con progresión continua desde el inicio de la enfermedad con exacerbaciones bien definidas, con o sin recuperación completa.<sup>3,6</sup>

## **1.4 CUADRO CLÍNICO**

La EM es una enfermedad polifacética que puede variar desde una enfermedad asintomática hasta las formas agresivas. El curso de la enfermedad es muy impredecible incluso en un mismo paciente, lo cual dificulta su diagnóstico y manejo. (Ver tabla 2)<sup>3</sup>

### **SÍNTOMAS SENSORIALES**

Estos encabezan la lista de las manifestaciones iniciales y se puede presentar en forma de parestesias, hormigueos, dolor o el llamado signo de Lhermitte (sensación de choque eléctrico al flexionar la cabeza). A veces se presenta en forma de calambres, sensación de constricción o pérdida de la sensibilidad térmica. También incluye pérdida del sentido de posición. Estos síntomas se presentan finalmente en 90% de los pacientes durante el curso clínico.<sup>3</sup>

Un síntoma raro pero evocador de EM es el síndrome de mano inútil, en el cuál existe incapacidad funcional de la mano pero por lesión propioceptiva (pérdida del sentido de posición, vibración, de movimientos, discriminación de dos puntos) secundaria a la lesión de los cordones posteriores de la médula.<sup>3</sup>

	Síntomas Iniciales de EM
Síntomas laterales	33%
Amaurosis unilateral	16%
Déficit motor lentamente progresivo	9%
Déficit motor agudo	5%
Diplopía	7%
Inicio polisintomático	14%
Otros	16%

**Tabla 2** Se mencionan los síntomas más comunes al inicio de la enfermedad (tomado de Cuevas García C. (2007). Fronteras en la Esclerosis Múltiple. Ed. Asociación Medica Mexicana para el estudio de la Esclerosis Múltiple, A.C.)

### ALTERACIONES VISUALES

En algún momento de la evolución de la EM, más del 80% de los pacientes presentarán alteraciones visuales en un 50% de los casos constituyen la primera manifestación de la enfermedad. Así la EM es una enfermedad neurológica que frecuentemente produce signos y síntomas neuro-oftalmológicos.

Por sus características patológicas, la enfermedad puede afectar cualquier parte del sistema de la visión desde la retina hasta la corteza calcarina y sus conexiones.<sup>3</sup>

### ALTERACIONES MOTORAS

Los signos y síntomas motores por disfunción del tracto cortico espinal son notablemente más comunes en la EM. La presencia de paraparesia o paraplejia es mucho más común que la debilidad en extremidades superiores debido a la frecuencia con la que suceden lesiones en los tractos motores descendentes de la médula espinal. Por tanto la paraparesia es un síndrome común de la EM; usualmente es secundaria a una mielopatía y por tanto es espástica, por lo general es más severa cuando se localiza en la región cervical. El paciente a

menudo reporta espasmos flexores que usualmente empeoran por las noches y a veces son desencadenados por estimulación de la piel.<sup>3</sup>

Como las lesiones desmielinizantes pueden localizarse en muchas áreas de la sustancia blanca del cerebro, algunas pueden abarcar territorios de distribución de arterias cerebrales, por lo que puede aparecer un síndrome motor semejante al de una trombosis cerebral. De manera ocasional, se ha visto un síndrome típico de infarto capsular con hemiplejía o hemiparesia desproporcionada, de predominio branquiofacial, que finalmente deja la extremidad superior flexionada en postura de decorticación y la extremidad inferior extendida con marcha hemiparética.<sup>3</sup>

### ALTERACIONES CEREBELOSAS

Pueden aparecer en cualquier momento de la enfermedad tanto recaídas como en forma progresiva. Los signos y síntomas asociados a lesión cerebelosa se manifiestan con la presencia de ataxia, disartria, temblor, nistagmo de rebote, disimetría y disdiadococinesia como principales datos clínicos. Es poco frecuente que estas manifestaciones aparezcan al inicio de la enfermedad, aunque cuando se presentan suelen ser persistentes, y en menor o mayor grado, al resto del cuadro clínico del paciente, suceso notablemente importante pues son síntomas con gran capacidad discapacitante, sobre todo la ataxia y el temblor. El vértigo es un síntoma relativamente común, hasta el 50% de los pacientes con EM sufre episodios intermitentes de vértigo y esto puede ser la manifestación inicial de la enfermedad.<sup>2,3</sup>

### FATIGA

La existencia de una fatiga excesiva es un síntoma frecuente en el 76% de los pacientes; esta fatiga se exagera con el calor, lo que la diferencia de la fatiga en las personas sanas. La fatiga es un síntoma complejo y puede ser descrita por los pacientes como astenia, fatiga durante el reposo o fatiga durante el ejercicio y empeoramiento de los síntomas durante el esfuerzo. Los mecanismos de producción de la fatiga de los pacientes con EM son aún desconocidos.<sup>2</sup>

## ATROFIA MUSCULAR

A veces, pueden presentarse signos de afectación de la segunda moto neurona en la EM (fasiculaciones y atrofia muscular), que suelen ser reversibles.<sup>2</sup>

## DOLOR

Es un síntoma infravalorado; no obstante, hasta un 50% de los pacientes puede experimentar alguna de las siguientes experiencias dolorosas: neuralgia del trigémino, convulsiones tónicas dolorosas, disestesias dolorosas paroxísticas en extremidades, signo de Lhermitte doloroso, sensaciones disestésicas y en miembros inferiores y lumbalgia.<sup>2</sup>

## TRASTORNOS COGNITIVOS

La existencia de deterioro neuropsicológico se relaciona con la EM, cada vez con mayor certidumbre: entre el 40-70% de pacientes experimentan algún tipo de trastornos cognitivos. El patrón de deterioro cognitivo no es uniforme: las pruebas neuropsicológicas en las que aparecen más alteraciones son las de memoria reciente, atención mantenida, fluencia verbal, razonamiento conceptual, percepción espacial y visual, y las habilidades ejecutivas de decodificación semántica y planificación; las facultades/capacidades menos frecuentemente alteradas son las de memoria inmediata y remota, lenguaje y la función ejecutiva de ordenamiento temporal.<sup>2</sup>

## EPILEPSIA

En los pacientes con EM, el riesgo de padecer epilepsia está multiplicado aproximadamente por tres. Las crisis epilépticas son más frecuentes en la EM (2-5%), que en la población en general (0.5%); puede presentarse cualquier tipo de crisis, a excepción de las ausencias típicas; aparecen sobre todo crisis parciales motoras (65%). La epilepsia puede preceder al diagnóstico de la EM en 10-15 años, aunque es más frecuente que se presente durante la evolución de la enfermedad.<sup>2</sup>

## ALTERACIONES ESFINTERIANAS

Las alteraciones en esfínteres son raros al comienzo de la enfermedad, pero a medida que progresa la EM, la mayoría de los pacientes (90%) presenta algún síntoma o signo de disfunción esfinteriana debido a la complejidad del sistema neurológico de la micción, que puede resultar afectando a múltiples niveles, uno de ellos, es la incontinencia urinaria.<sup>2,3</sup>

## ALTERACIONES PSIQUIÁTRICAS

La depresión es muy común en la EM, aparece hasta en 75% de los casos durante la enfermedad; usualmente es leve y reactiva, sin embargo, el suicidio es una causa de mayor mortalidad y alcanza hasta 15% de las muertes. Recientemente se han reportado diversos factores de riesgo para suicidio de los pacientes con EM, como son: vivir solos, tener antecedentes familiares de enfermedad mental y sufrir aislamiento social. La ansiedad, labilidad e incontinencia emocional son los síntomas emocionales más frecuentemente referidos por el paciente con EM y también se ha reportado la euforia; sin embargo, al paciente le preocupa mucho más la presencia de fallas en la memoria, trastornos de atención, concentración y bradipsiquia que suelen detectar en alguna etapa de su enfermedad y que se asocia con la cronicidad y predominancia de lesiones cerebrales sobre las medulares. También se han reportado ataques de pánico, hipomanía y psicosis.<sup>3</sup>

### **1.5 ESCALAS DE DISFUNCIÓN NEUROLÓGICA**

El entendimiento de las escalas comúnmente utilizadas en esclerosis múltiple, es un importante aspecto epidemiológico, debido a que se pueden disminuir los costos de su atención.<sup>6</sup>

Existen numerosas escalas que son utilizadas en la evaluación de los pacientes con EM, muchas de ellas son extensamente usadas en enfermedades neurológicas y otras que son específicas para la evaluación de EM. (Ver Tabla 3)

ESCALA	PROPOSITO	VENTAJAS/DESVENTAJAS
Índice Barthel	Estima la independencia y la necesidad de asistencia.	Una efectiva escala de 10 puntos y muy eficiente
Escala modificada de Ashworth	Estima la espasticidad Se puede ocupar como monitor de medicinas antiespasticas.	Considera rehabilitación
Escala de discapacidad extendida de Kurtzke (EDSS)	Estima la progresión de la enfermedad	Es la más ampliamente utilizada y entendida, básicamente el estándar de oro, considera rehabilitación
Esclerosis múltiple funcional	Sigue la progresión de la enfermedad en las pruebas clínicas.	Más fidedigno y preciso que la escala EDSS, pero no cubre del todo el rango de la enfermedad, sobretodo en la utilidad de los pacientes ambulatorios.
Índice de ambulación de Hauser	Evalúa la movilidad	Una escala de movilidad de 10 puntos, fácil de usar, pero restringe la cuestión de la movilidad
Escaleras de la enfermedad	Evalúa el estado de la enfermedad	Es similar a la escala de Hauser, es básicamente un índice de movilidad. Es un adecuado reporte para uno mismo.

**Tabla 3** Tomado y modificado de Oger J. (2007). Multiple Sclerosis for the Practicing Neurologist.V.5 DEMOS. EUA.

La escala que se ocupa comúnmente en la actualidad por los neurólogos es la de EDSS (Kurtze). Kurtze desarrollo una escala de disfunción neurológica, la puntuación se obtiene de la valoración cuantitativa de las alteraciones presentes a los que se les denominó sistemas funcionales (SF), (Ver tabla 4) para lo que se diseñaron ocho subescalas destinadas a cuantificar los hallazgos de la historia y la exploración neurológica en los distintos sistemas funcionales neurológicos (piramidal, cerebelo, tronco encefálico, sistema sensitivo, esfínteres, visión, estado mental, espasticidad). La escala permite al clínico seguir la enfermedad y detectar con más facilidad el momento en que pasa a la forma progresiva. En las tabla 5 observaremos que la escala va del 1 al 10, y que la puntuación asignable al paciente es de acuerdo al progreso de su enfermedad, es decir que si aún es autosuficiente para valerse por sí mismo, o que dependa de algún instrumento como es un bastón, muleta o silla de ruedas, pero en esos casos ya requiere la ayuda de otra persona para realizar sus traslados, es decir existe la dependencia del paciente hasta el punto en donde no se pueda valer por sí solo, llegando incluso a encontrarse postrado en cama. La máxima puntuación se otorga cuando el paciente fallece.

**Tabla 4** Sistemas funcionales de Kurtze (SF), Tomado de Kurtze, JF. Rating neurological impairment in multiple sclerosis: an expanded disability status scale (EDSS). Neurology 1983; 33: 1444-1452<sup>2,18</sup>

<p><b>1. Función piramidal</b></p> <p>0. Normal.</p> <p>1. Signos anormales, sin discapacidad.</p> <p>2. Discapacidad mínima.</p> <p>3. Paraparesia leve o moderada, hemiparesia (debilidad detectable, pero la mayor parte de las funciones se conservan durante largos períodos; la fatiga es un problema) o monoparesia grave (casi sin función).</p> <p>4. Paraparesia o hemiparesia acusadas (la función es muy difícil), cuadriparesia moderada (la función está disminuida, pero puede ser mantenida durante períodos cortos) o monoplejía.</p> <p>5. Paraplejía, hemiplejía o cuadriparesia marcada.</p> <p>6. Cuadriplejía.</p> <p><b>2. Función cerebelosa</b></p> <p>0. Normal.</p> <p>1. Signos anormales, sin discapacidad.</p> <p>2. Ataxia leve (temblor o movimientos torpes evidentes, interferencia menor con la función).</p> <p>3. Ataxia moderada de tronco o miembros (temblor o movimientos torpes que interfieren con la función en todas las esferas).</p> <p>4. Ataxia grave en todos los miembros (la mayor parte de las funciones es muy difícil).</p> <p>5. Incapacidad para realizar movimientos coordinados, debido a la ataxia.</p> <p><b>3. Función tronco-encefálica</b></p> <p>0. Normal.</p> <p>1. Sólo signos.</p> <p>2. Nistagmo moderado u otra discapacidad leve.</p> <p>3. Nistagmo grave, debilidad extraocular acusada o discapacidad moderada de otros pares craneales.</p> <p>4. Disartria acusada u otra discapacidad marcada.</p> <p>5. Incapacidad para deglutir o hablar.</p> <p><b>4. Función sensitiva</b></p> <p>0. Normal.</p> <p>1. Disminución de sensibilidad vibratoria o grafestésica en uno o dos miembros.</p> <p>2. Disminución leve de la sensibilidad táctil o dolorosa o posicional, y/o disminución moderada de la sensibilidad vibratoria en uno o dos miembros, o disminución de la sensibilidad vibratoria (o grafestesia) aislada en tres o cuatro miembros.</p> <p>3. Disminución moderada de la sensibilidad táctil o dolorosa o posicional, y/o esencialmente pérdida de sensibilidad vibratoria en uno o dos miembros, o disminución leve de la sensibilidad táctil o dolorosa, y/o disminución moderada de todas las sensibilidades propioceptivas en tres o cuatro miembros.</p> <p>4. Disminución marcada de la sensibilidad táctil o dolorosa o propioceptiva, aislada o com-</p>	<p>binada, en uno o dos miembros, o disminución moderada en la sensibilidad táctil o dolorosa y/o disminución grave de la sensibilidad propioceptiva en más de dos miembros.</p> <p>5. Pérdida (esencialmente) de la sensibilidad en uno o dos miembros o disminución moderada de la sensibilidad táctil y dolorosa y/o pérdida de la sensibilidad propioceptiva en la mayor parte del cuerpo por debajo de la cabeza.</p> <p>6. Esencialmente, pérdida de sensibilidad por debajo de la cabeza.</p> <p><b>5. Función del intestino-vejiga</b> (Puntúe basándose en la función peor, sea intestinal o vesical).</p> <p>0. Normal.</p> <p>1. Leves dudas urinarias, urgencia o retención.</p> <p>2. Dudas urinarias moderadas, urgencia, retención de heces u orina, incontinencia urinaria rara (autosondaje intermitente, compresión manual para evacuar la vejiga, evacuación digital de las heces).</p> <p>3. Incontinencia urinaria frecuente.</p> <p>4. Necesidad de sondaje vesical prácticamente constante (y medidas constantes para evacuar las heces).</p> <p>5. Pérdida de la función vesical.</p> <p>6. Pérdida de las funciones vesical e intestinal.</p> <p><b>6. Función visual</b></p> <p>0. Normal.</p> <p>1. Escotoma con agudeza visual (corregida) mejor de 20/30 (6/9).</p> <p>2. El ojo peor con escotoma, con agudeza visual máxima (corregida) entre 20/30 y 20/59 (6/9 - 6/12).</p> <p>3. El ojo peor con un escotoma grande, o disminución moderada del campo visual, pero con agudeza visual máxima (corregida) entre 20/60 y 20/99 (6/18 - 6/24).</p> <p>4. El peor ojo con reducción marcada del campo visual y agudeza visual máxima (corregida) entre 20/100 y 20/200 (6/36 - 6/60); grado 3 más agudeza visual máxima del mejor ojo de 20/60 (6/18) o menor.</p> <p>5. El peor ojo con agudeza visual máxima (corregida) menor de 20/200 (6/60); grado 4 más agudeza visual máxima del mejor ojo de 20/60 (6/18) o menor.</p> <p>6. Grado 5 más agudeza visual máxima del mejor ojo de 20/60 (6/18) o menor.</p> <p><b>7. Función mental</b></p> <p>0. Normal.</p> <p>1. Alteración del estado de ánimo aislado (no afecta a la puntuación EDSS).</p> <p>2. Deterioro mental leve.</p> <p>3. Deterioro mental moderado.</p> <p>4. Deterioro mental acusado.</p> <p>5. Demencia o síndrome cerebral crónico, grave o incompetente.</p>
--	---

**Tabla 5** Tomado de Kurtze, JF. Rating neurological impairment in multiple sclerosis: an expanded disability status scale (EDSS). *Neurology* 1983; 33:1444-

52<sup>2,18</sup>

0 = Exploración neurológica normal (todos grado 0 en los SF).	6.0 = Necesidad de apoyo unilateral (bastón, muleta, ortesis) de forma constante o intermitente para caminar 100 metros con o sin descanso (habitualmente, el equivalente SF son combinaciones con más de dos SF grado 3+).
1.0 = Sin discapacidad, signos mínimos en un SF (grado 1).	6.5 = Necesidad de apoyo bilateral constante (bastón, muleta, ortesis, andador) para caminar alrededor de 20 metros sin descanso (usualmente, el equivalente en SF son combinaciones con más de dos SF grado 3+).
1.5 = Sin discapacidad, signos mínimos en más de un SF (más de un SF grado 1).	7.0 = Incapaz de caminar más de 5 metros aun con ayuda; esencialmente restringido a silla de ruedas, se autopropulsa y traslada solo; levantado alrededor de 12 horas al día en silla de ruedas (generalmente, los equivalentes en SF son combinaciones con más de un SF grado 4+, muy raramente, SF piramidal grado 5 aislado).
2.0 = Discapacidad mínima en un SF (un SF grado 2, otros 0 ó 1).	7.5 = Puede dar solamente unos pasos; restringido a silla de ruedas, puede precisar ayuda para trasladarse; maneja su silla de ruedas pero no puede permanecer en una silla de ruedas estándar un día entero. Puede precisar una silla de ruedas con motor (usualmente, los equivalentes en SF son combinaciones con más de un SF grado 4+).
2.5 = Discapacidad mínima en dos SF (dos SF grado 2, otros 1 ó 0).	8.0 = Esencialmente restringido a una cama o silla de ruedas. Puede estar levantado la mayor parte del día; retiene muchas funciones de autocuidado; generalmente mantiene el uso efectivo de los miembros superiores (usualmente, los equivalentes en SF son combinaciones, generalmente grado 4+, en varios sistemas).
3.0 = Discapacidad moderada en un SF (un SF grado 3, otros 0 ó 1) o discapacidad leve en tres o cuatro SF (tres o cuatro SF grado 2, otros 0 ó 1), aunque completamente ambulatorio.	8.5 = Esencialmente restringido a una cama la mayor parte del día; mantiene parcialmente el uso de los miembros superiores; retiene algunas funciones de autocuidado (habitualmente los equivalentes en los SF son combinaciones, generalmente 4+ en varios sistemas).
3.5 = Completamente ambulatorio, pero con discapacidad moderada en un SF (un SF grado 3) y uno o dos SF grado 2, o dos SF grado 3, o cinco SF grado 2 (otros 0 ó 1).	9.0 = Paciente encamado, puede comunicarse y comer (usualmente los equivalentes en los SF son combinaciones, la mayor parte grado 4+).
4.0 = Completamente ambulatorio sin ayuda, autosuficiente, capaz de estar levantado unas 12 horas al día, a pesar de una relativamente grave discapacidad consistente en un SF grado 4 (otros 0 ó 1) o combinaciones de grados menores que exceden los límites de los pasos previos; capaz de caminar 500 metros sin ayuda o sin descanso.	9.5 = Paciente encamado, incapaz de comunicarse o comer/deglutir (generalmente los equivalentes en los SF son combinaciones, la mayor parte grado 4+).
4.5 = Completamente ambulatorio sin ayuda; levantado la mayor parte del día; puede requerir asistencia mínima; caracterizado por una relativamente grave discapacidad, usualmente consistente en un SF grado 4 (otros 0 ó 1) o combinaciones de grados menores, que exceden los límites de los pasos previos (incluye pacientes totalmente ambulatorios con función visual 5 - 6); capaz de caminar 300 metros sin apoyo o descanso.	10 = Fallecimiento debido a EM.
5.0 = Ambulatorio sin ayuda o descanso unos 200 metros; discapacidad suficientemente grave para impedir las actividades cotidianas de un día completo (p. ej., trabajar un día completo). (Generalmente equivalentes: SF de grado 5 aislado, otros 0 ó 1, o combinaciones de grados menores, que habitualmente sobrepasan las especificaciones para el grado 4.)	* Un grado 1 de la Función mental no influye en la puntuación EDSS.
5.5 = Ambulatorio sin ayuda o reposo unos 100 metros; discapacidad grave suficiente para impedir las actividades de un día completo (usualmente los equivalentes de SF son un grado 5 solo, otros 0 ó 1; o combinaciones de grados menores que exceden las especificaciones del grado previo).	

## 1.6 DIAGNÓSTICO DE LA ENFERMEDAD

El diagnóstico clínico de la EM se apoya en pruebas de laboratorio que confirman el padecimiento, como la determinación de anticuerpos contra la (MBP) proteína básica de mielina y (MAG) glicoproteína de la mielina del oligodendrocito en (LCR) líquido cefalorraquídeo que además se considera como factor de riesgo para un segundo ataque o brote; la MBP es poco específica ya que es un marcador de daño neuronal. Por lo que el análisis de LCR es importante porque permite evidenciar el proceso de inflamación y desmielinización (alteraciones inmunológicas) de la sustancia blanca del (SNC) que se observan hasta en 90% de los pacientes durante la enfermedad. En consecuencia sirve también como guía de la actividad subclínica, para monitorear la eficacia de un tratamiento y más aún, como apoyo en la investigación de la patogénesis de la desmielinización.<sup>2, 3, 6,8</sup>

El LCR de los pacientes con EM es de aspecto macroscópico normal, translucido, incoloro y de presión normal. El número de células es normal (hasta 4/ $\mu$ l) en el 60% de los pacientes; la mayor parte son linfocitos T. Las proteínas totales y la albúmina son normales o están ligeramente elevadas en el 40% y el 20-30% de los casos respectivamente. Un hallazgo característico es la elevación relativa, de las inmunoglobulinas con respecto a las demás proteínas, (normal hasta el 11-12% de las proteínas totales), sobre todo de la IgG (normal hasta 4mg/100 ml), lo que implica síntesis intratecal. Ligado a la elevación de la IgG está el hallazgo de bandas aisladas en la región catódica de los análisis electroforéticos del LCR, denominadas bandas oligoclonales (BO), que son producidas por una o más clonas celulares plasmáticas. El método más sensible es el isoelectroenfoque en gel de poliacrilamida que permite detectar BO hasta en el 95% de los casos de EM. Existen falsos positivos, ya que estas bandas pueden aparecer en algunas otras enfermedades (panencefalitis esclerosante subaguda, infecciones virales, infecciones crónicas del SNC, etc). Los hallazgos característicos del LCR en la EM son: elevación discreta de las células y las proteínas totales en el 40% de los

pacientes; elevación del 70% de gamaglobulinas de IgG en el 80%, y presencia de BO en el 90% de los casos.<sup>2, 3, 6,8</sup>

La imagen por resonancia magnética (IRM), se considera como la prueba de mayor importancia, también se evalúan los potenciales evocados (PE), que al ser relacionados con el estímulo, se utilizan para la valoración de la función en algunas vías nerviosas (visual, acústica, somatosensitiva, motora). Proporcionan una medida fiable de la desmielinización.

Por ello, recientemente se han desarrollado nuevos criterios de diagnóstico propuestos por McDonald en el 2001 (Tabla 6) y aplicados a partir del año 2005, esta guía trata fundamentalmente de criterios de diseminación en el espacio y en el tiempo basados en la IRM, atendiendo estrictamente las recomendaciones sobre los PE.<sup>6,19</sup>

**Tabla 6** CRITERIOS DE McDONALD. Tomado y modificado de Oger J. (2007). Multiple Sclerosis for the Practicing Neurologist. V.5 DEMOS.EUA.Y. Mc Donald WI, et al. Recommended diagnostic criteria for multiple sclerosis: guidelines from the international Panel on the diagnosis of multiple sclerosis. Ann. Neurol 2001; 50(1)

IRM: Imagen por resonancia magnética

LCR: Líquido cefalorraquídeo

PEV: Potenciales Evocados

**Tabla 6** CRITERIOS DE McDONALD

Clínica (brotes)	Lesiones Objetivas	Requisitos adicionales
Dos o más	≥ 2	Ninguno, evidencia clínica suficiente (evidencia adicional)
Dos o más	1	Diseminación en espacio por IRM o LCR positivo y ≥ 2 lesiones en la IRM consistentes con EM o en un brote más que involucre topografía diferente
1	≥ 2	Diseminación en tiempo por IRM o un segundo brote.
1 (monosintomática)	1	Diseminación en espacio por IRM o LCR positivo y ≥ 2 lesiones en la IRM consistentes con EM. Diseminación en tiempo por IRM o un segundo brote
0 (Progresión desde el inicio)	1	LCR positivo Diseminación en espacio por IRM o ≥ 9 lesiones encefálicas en T2 o ≥ 2 lesiones en médula espinal o de 4-8 en encéfalo y una en medula espinal. O PEV positivos con 4-8 lesiones en la IRM O PEV positivos con < 4-8 lesiones en IRM O PEV positivos con < 4 lesiones encefálicas + 1 en medula espinal Diseminación en tiempo por IRM o progresión continúa durante un año.

## 1.7 ETIOLOGÍA

Se piensa que la EM es causada por una interacción compleja entre la genética y el ambiente. Hasta la fecha la hipótesis más sólida consiste en la asociación del complejo mayor de histocompatibilidad (CMH), localizado en el brazo corto del cromosoma 6. La región clase II de este sistema se asocia fuertemente con la EM, en particular con el alelo HLA-DR2 y su correspondiente haplotipo DR15, también denominado Dw2 (DRB1\*1501, DRB5\*0101, DQA1\*0102, DQB1\*0602). Dicha asociación es fuerte en pacientes de origen caucásico.<sup>8, 13, 15, 17,22</sup>

Dentro de los factores de riesgo que se han estudiado como probables causas de la enfermedad, se encuentra: el medio ambiente, infecciones, estrés, ocupación, clima y dieta. Aún no se han llevado a cabo estudios suficientes para establecer si las hormonas sexuales intervienen en la enfermedad.<sup>3</sup>

### INFECCIONES

Para saber si existe alguna bacteria o virus relacionado con la etiología de la esclerosis múltiple, se han realizado estudios de casos y controles para comparar dos tipos de poblaciones (sana vs enferma).<sup>3</sup>

Actualmente los datos sobre una causa viral de la EM son indirectos, pues no se ha logrado aislar de forma reproducible ningún virus ni partícula viral en tejidos de enfermos de EM. Los estudios seroepidemiológicos muestran que el suero y el líquido cefalorraquídeo (LCR) de sujetos con EM tienen mayor prevalencia de anticuerpos contra varios virus con respecto a los controles sanos.<sup>3</sup>

Los estudios de asociación entre EM y virus de varicela y parotiditis han sido negativos. Se han obtenido resultados no concluyentes respecto al sarampión, rubeola, Epstein-Barr, herpes tipo 6, retrovirus y *Chlamydia pneumoniae*; este último es un agente etiológico que está siendo muy estudiado en la actualidad al haber sido identificado en el LCR de un elevado porcentaje de EM (64%) en comparación con los controles (11%); sin embargo los resultados comunicados no

han sido confirmados por otros grupos de investigadores, probablemente por la falta de estandarización de las técnicas microbiológicas.<sup>2</sup>

Los agentes antes mencionados pueden modificar la respuesta inmune condicionando una reacción de autoinmunidad, la cuál sucede en individuos genéticamente susceptibles que sufren de una infección en la infancia tardía o en la adolescencia.<sup>2</sup>

### VACUNA DE LA HEPATITIS B

El posible riesgo patogénico de la vacuna del virus de la hepatitis B (VHB), señalado por algunos estudios, no ha sido posteriormente confirmado en análisis retrospectivos en los que se comparaba a individuos vacunados u no vacunados. Los estudios casos - controles recientes que investigan la posible relación de cualquier tipo de vacuna con la aparición de EM, siguen dando resultados controvertidos, en ocasiones para todas las vacunas, en un estudio se detecto de nuevo una asociación exclusiva con la vacuna de la hepatitis B recombinante.<sup>3</sup>

La Organización Mundial de la Salud en su página de internet aseguró lo siguiente: “Las conclusiones de un informe reciente del Instituto de Medicina de los Estados Unidos (United States Institute of Medicine) sobre una asociación entre la hepatitis B y trastornos neurológicos desmielinizantes tampoco respaldó una relación causal entre la administración de la vacuna contra la hepatitis B en adultos y la aparición o recaídas de esclerosis múltiple. El Comité Consultivo Mundial sobre la seguridad de Vacunación (GACVS; del inglés Global Advisory Committee on Vaccine Safety) de la OMS es un órgano consultivo para asuntos científicos creado por la OMS para evaluar de forma confiable e independiente los problemas de seguridad de las vacunas, con objeto de responder a estas cuestiones de forma inmediata y eficiente y con rigor científico. Ha concluido que no existe razón para sugerir que deban modificarse las recomendaciones de cobertura universal de la vacunación de lactantes y adolescentes contra la hepatitis B.”<sup>27</sup>

De hecho también hay un comunicado donde el GACVS: Responde al artículo de M.A. Hernán y colaboradores, titulado “Recombinant Hepatitis B Vaccine and the Risk of Multiple Sclerosis”, publicado el 14 de septiembre de 2004 en la revista Neurology. En este documento el Comité siguió en la misma postura de negar una asociación de la vacuna de hepatitis B a la enfermedad.<sup>27</sup>

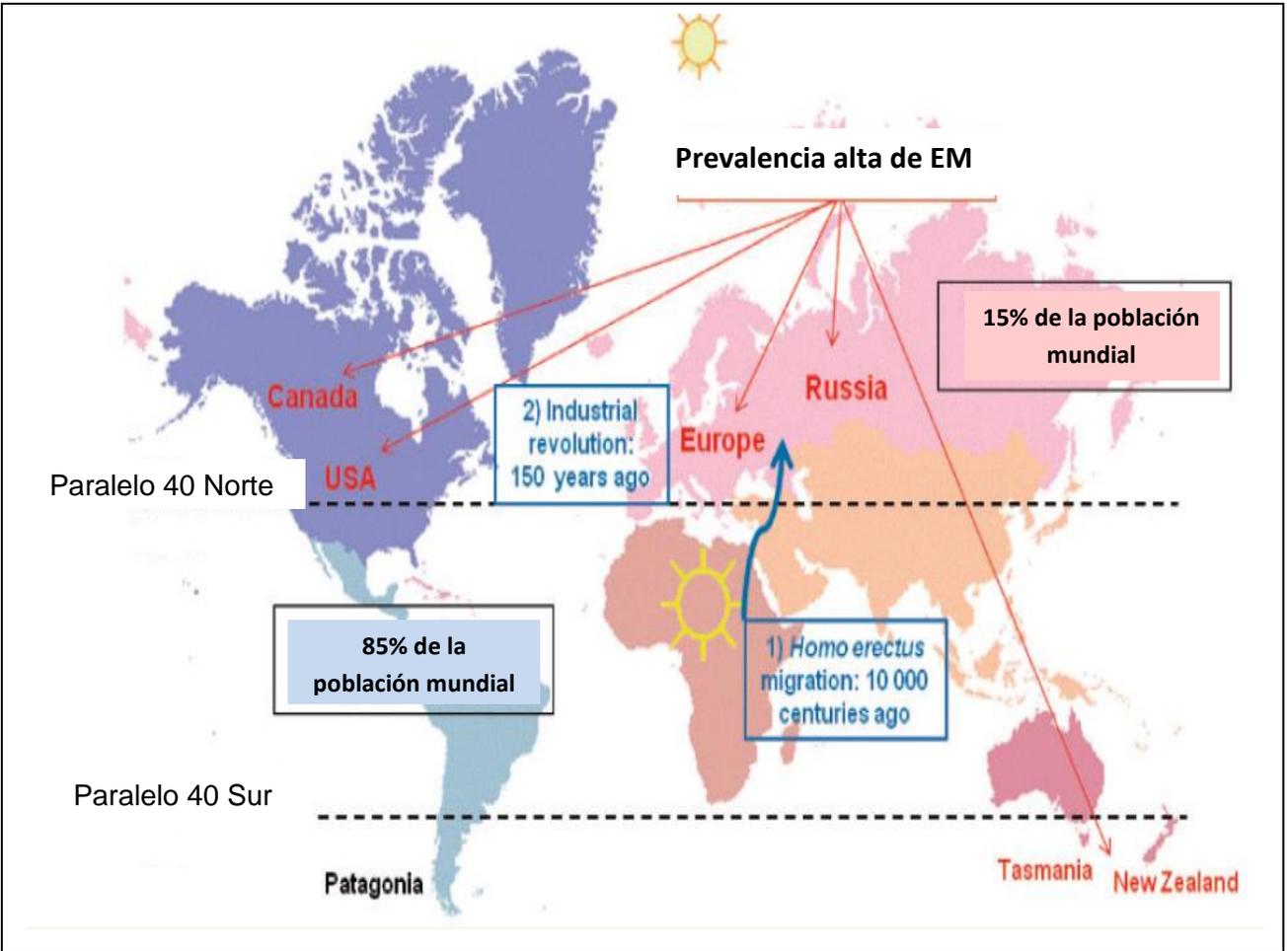
### TOXINAS Y EXPOSICIÓN OCUPACIONAL

Algunos estudios registran la asociación entre exposiciones ocupacionales, principalmente a disolventes orgánicos y EM. Los problemas metodológicos conducen a resultados no concluyentes.<sup>3</sup>

### HIPERVITAMINOSIS D Y LA EXPOSICIÓN SOLAR

Actualmente se ha estudiado el rol de la vitamina D, como probable factor de riesgo para desarrollar EM, esta vitamina podría tener un importante papel inmunológico implicando numerosos órganos y patologías. En la esclerosis múltiple ha sido interesante su análisis. En un estudio llevado a cabo en Francia, con pacientes con EM se ha visto que la vitamina D de manera significativa influye en la regulación de los linfocitos T, cuya participación en la enfermedad se ha reportado. Además de que se ha analizado que los niveles en suero de la vitamina D están por debajo de lo normal en los pacientes con EM, aun si se encuentran en una fase temprana.<sup>22</sup>

En cuanto a la exposición solar se sabe que para que se realice la síntesis de la vitamina D se necesita de la luz UV proveniente del sol, entonces geográficamente los que viven en el paralelo 40 norte y paralelo 40 sur la intensidad de la luz solar es menor, por alrededor de 4 meses al año, esto influye en la síntesis de la vitamina (Ver mapa 2). En cambio bajas alturas que estén cerca de los trópicos no hay problema por la luz del sol.<sup>3</sup>



**Mapa 2** Entre los paralelos se encuentran los países más vulnerables de tener entre sus habitantes pacientes con EM por la intensidad de luz solar que llega a estas regiones. Siendo Canadá, Estados Unidos, Rusia, el continente Europeo y Nueva Zelanda los países con mayor riesgo. El 85% de la población se concentra en la parte donde los rayos del sol son suficientes para sintetizar la vitamina D, mientras que el 15% restante tienen limitada su cantidad de luz del sol. Históricamente se ha estudiado la adaptación del homo erectus cuando migró al continente europeo, observando alteraciones en la piel por la falta de la vitamina. (Tomado y Modificado de Charles, Pierrot "Is hipervitaminosis D one of the environmental risk factor for multiple sclerosis", Journal Neurology: 2010:133; 1873)

## 1.8 FISIOPATOLOGÍA

La EM se caracteriza por la aparición de lesiones focales desmielinizantes en la sustancia blanca, pueden aparecer también en la sustancia gris. Se ha observado que los axones pueden tener una preservación relativa, las neuronas suelen estar respetadas y las placas de desmielinización tienen una localización preferentemente en el nervio óptico, regiones periventriculares, tronco encefálico y médula espinal (1). Se acepta que la EM es una enfermedad autoinmune, dado que en las lesiones agudas se detectan células T colaboradoras (CD4+) y una expresión anómala de los antígenos del complejo mayor de histocompatibilidad clase II en macrófagos y astrocitos. Existe además activación de las células B, que dan lugar al hallazgo característico de las bandas oligoclonales en el LCR. En individuos predispuestos, las células T autorreactivas, son activadas por un factor sistémico o local (infección) y pasan selectivamente la barrera hematoencefálica y, al ser expuestas a su autoantígeno, inician una reacción inflamatoria. El mecanismo por el cual los linfocitos T sistémicos penetran en el SNC no se conoce por completo. En los pacientes con EM se encuentran anticuerpos anti-PBM (proteína básica de la mielina) y anti-MOG (glucoproteína de la mielina de oligodendrocitos), que producen desmielinización a través de la activación del complemento, que atrae a macrófagos, que liberan sustancias tóxicas como proteincinasas, radicales libres, NO y TNF  $\alpha$ .<sup>16</sup>

## CAPITULO II “ASPECTOS GENÉTICOS”

### 2.1 PROYECTO GENOMA HUMANO (PGH)

El PGH comenzó en 1990 como un esfuerzo internacional, patrocinado federalmente, para secuenciar el genoma humano y los genomas de varios organismos modelos utilizados en la investigación genética. En 2001, el consorcio público del PGH y un proyecto genómico privado acometido por “Celera Corporation”, publicaron el primer borrador de la secuencia del genoma humano, que cubría cerca del 96 por ciento de la parte del genoma que tiene genes. En 2003, se completó y publicó la secuencia de los genes que quedaban. El trabajo se centra ahora en la secuenciación de regiones no codificantes del genoma.<sup>5,10</sup>

A medida que se multiplicaron los proyectos genómicos y se depositaron más genomas secuenciados en las bases de datos, surgió una nueva disciplina para el estudio de los genomas, la **genómica**. La genómica utiliza la información de las secuencias nucleotídicas de las bases de datos para estudiar la estructura, función y evolución de los genes y de los genomas.<sup>5</sup>

La genómica está cambiando drásticamente la biología, desde una ciencia basada en el laboratorio a una combinación de experimentos de laboratorio con tecnología de la información.<sup>5</sup>

La necesidad de manejar y almacenar la enorme cantidad de datos sobre secuenciación que se producen con rapidez, se obligó a desarrollar grandes bases de datos electrónicas.<sup>10</sup>

### MEDICINA GENÓMICA

La medicina genómica puede ser definida como el uso del análisis genotípico para incrementar la calidad de la atención médica, incluyendo la identificación pre-sintomática de susceptibilidad a la enfermedad, las intervenciones preventivas, la selección de la farmacoterapia y el diseño de un tratamiento personalizado con base en el genotipo de cada individuo.<sup>11</sup>

La medicina genómica estará basada en estrategias predictivas. La mayoría de las pruebas genéticas proveerán una respuesta en términos probabilísticos, para lo cual es útil que las personas entiendan los principios de la probabilidad con relación a su propia salud. Debido a que la probabilidad de un hecho en particular no es 100%, números menores significan que debe haber un tipo de vida, dieta o manejo médico que pueda reducir la probabilidad de que aparezca. Claramente, la educación tanto del público como de los profesionales de la salud es vital para poder obtener los máximos beneficios de la medicina genómica. La medicina genómica requiere que los pacientes y el público en general entiendan los conceptos básicos de la genética y tengan la información necesaria para tomar decisiones complejas con respecto a su forma de vida y a sus estrategias reproductivas.<sup>11</sup>

Se ha visto que los factores genéticos y ambientales incrementa el riesgo de padecer EM. Hasta ahora se ha demostrado que los genes de la región del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) tienen un papel primordial en la susceptibilidad genética a la EM, otros genes que participan en la respuesta inflamatoria e inmune se han asociado a este padecimiento sin embargo, los resultados no se han podido confirmar en todas las poblaciones.

## **2.2 COMPLEJO MAYOR DE HISTOCOMPATIBILIDAD (MHC)**

El MHC es un grupo de genes localizados, en seres humanos en el brazo corto del cromosoma 6 (6p21.3). Esta región abarca aproximadamente 3.6 pares de mega bases (el tamaño varía con el haplotipo) y contiene un gran número de genes que codifican proteínas diversas, esenciales para la respuesta inmune.<sup>9, 15,17</sup>

Las moléculas de MHC se caracterizan por un gran polimorfismo (variabilidad de la secuencia de aminoácidos en proteínas codificadas por genes alélicos), tanto de alelos como su número de aminoácidos. El polimorfismo en MHC en toda su extensión es tan amplio, que es posible que cada ser humano (con excepción de los gemelos monocigotos) posea un MHC único.<sup>9</sup>

El MHC tiene la capacidad de unir péptidos derivados de la degradación intracelular de proteínas y presentar estos péptidos al receptor de los linfocitos T (TCR), lo cual constituye su función principal. El reconocimiento por el TCR de péptidos derivados de proteínas extrañas, unidos a las moléculas de MHC, induce la activación de los linfocitos T, hecho que marca el inicio de la respuesta inmune adaptativa.<sup>9</sup>

El MHC está dividido en tres regiones: la de clase I, que codifica predominantemente moléculas necesarias para la activación específica de linfocitos T citotóxicos (CD8+); la de clase II que codifica proteínas reconocidas por el subgrupo de linfocitos T colaboradores (CD4+), y las de clase III, que contiene genes que codifican proteínas diversas, como la del complemento, incluidos los factores C4, C2 de la vía clásica y el factor B de la vía alterna, la 21 hidroxilasa de hormonas esteroideas, los genes del factor de necrosis tumoral (TNF), entre otras.<sup>9</sup>

### MOLÉCULAS FUNDAMENTALES DEL MHC

- La región de clase I contiene varios *loci*, que codifican distintos isotipos de MHC-I. Las MHC-I clásicas en humanos son HLA-B,C,A (en ese orden cromosómico), las cuales son altamente polimórficas, en especial el locus HLA-B, del cual hasta el 2001 se habían descrito 344 alelos. Además en esta región se encuentran varios pseudogenes.<sup>9</sup>
- Las MHC-I no clásicas son HLA-E,F,G y H; su polimorfismo es muy limitado y su participación en la respuesta inmune difiere de las MHC-I clásicas. Otras MHC-I no clásicas, codificadas fuera del MHC, conocidas como CD1, presentan antígenos no peptídicos a un subgrupo de linfocitos, conocidos como NKT, que participan en la respuesta inmune innata. Los isotipos CD1 en el humano son CD1a,b,c (grupo I) y d (grupo II) y son codificados en el cromosoma 1.<sup>9</sup>
- La región clase II también contiene varios *loci*, de los cuales seis codifican las MHC-II clásicas humanas, que son HLA-DP,DQ y DR, dos *loci* funcionales para cada isotipo, una para cadena  $\alpha$  y el otro para la  $\beta$ .<sup>9</sup>

- La región clase II también contiene los genes que codifican dos tipos de MHC-II no clásicas, denominados HLA-DM y DO, que no son polimórficas y que cumplen funciones muy distintas respecto a las MHC-II clásicas.<sup>9</sup>

REPORTES DE ASOCIACIÓN DE HLA CLASE II Y CLASE I ALREDEDOR DEL MUNDO

Alelos HLA-DRB1	POBLACIÓN	OR APROXIMADO
*01	Canadá, Suecia, Reino Unido, EUA	0,6
*03	Canadá, Suecia, EUA, Reino Unido, Italia, España y Cerdeña	1,7
*04	Cerdeña	2,2
*07	Italia	0,6
*08	Canadá, Suecia, EUA, Reino Unido, Italia, España	1,7
*09	Japón	0.4
*10	Canadá	0.7
*11	Canadá	0,7
*13	Cerdeña e Israel	2,0
*14	Canadá, Suecia, EUA, Reino Unido, Italia, España	0,3
*15	Casi Universal	3,0
Alelos HLA-CLASE I		
A*02	Suecia e Italia	0,6
B*44	Reino Unido y EUA	0.4
CW*05	Reino Unido y EUA	<1

**TABLA 7** Tomado y modificado de Disanto G, Berlanga A et al. Heterogeneity in Multiple Sclerosis: Scratching the surface of a Complex Disease. Autoimmune Diseases. 2011:1-12.

### 2.3 GENES ASOCIADOS A LA EM

La región de MHC, es la región génica más importante y confiere un gran riesgo para el desarrollo de la EM, en comparación con otros *loci* combinados. Esta asociación con la enfermedad se reconoció aproximadamente hace 35 años y fue inicialmente atribuida al MHC-I en los alelos HLA-A3 y HLA-B7. Estas asociaciones fueron desechadas posteriormente, siendo el haplotipo HLA-DR2 (CMH-II) el que se encuentra fuertemente asociado a la EM. Los tres genes candidatos de este haplotipo son HLA-DRB1\*1501(codifica HLA-DR2b), HLA-DRB5\*0101(codifica HLA-DR2a) y HLA-DQB1\*0602 (codifica HLA-DQ6), están estrechamente ligados que casi siempre se heredan juntos, por lo que los estudios de genética clásica no los discrimina entre ellos. Recientemente lo estudios genéticos mas grandes han implicado la susceptibilidad del alelo HLA-DRB1\*1501 en EM.<sup>15</sup>

Adicionalmente los estudios recientes, incluyen un ajuste para el fuerte efecto genético de CMH-II, han revivido la posibilidad de una susceptibilidad adicional al *loci* dentro CMH-I. El HLA-A y HLA-C son *loci* candidatos y los alelos asociados a la enfermedad a este *loci* son HLA-A\*0301, el cual predispone la enfermedad, HLA-A\*0201 y HLA-C\*05, el cual tiene un efecto de protección.<sup>15</sup>

Aunque la región MHC se destaca como la única región dominante de riesgo de EM, es también claro que otras variantes genéticas No-MHC contribuyen a la susceptibilidad de la enfermedad. Al menos 16 genes No-MHC han sido identificados de estar asociados con EM dentro de los 2 años anteriores; estos pueden ser caracterizados como genes inmunológicos, neurológicos o con ningún rol predecible en su participación de EM. (Ver tabla 8)<sup>15</sup>

**Tabla 8** Genes asociados con el riesgo de EM

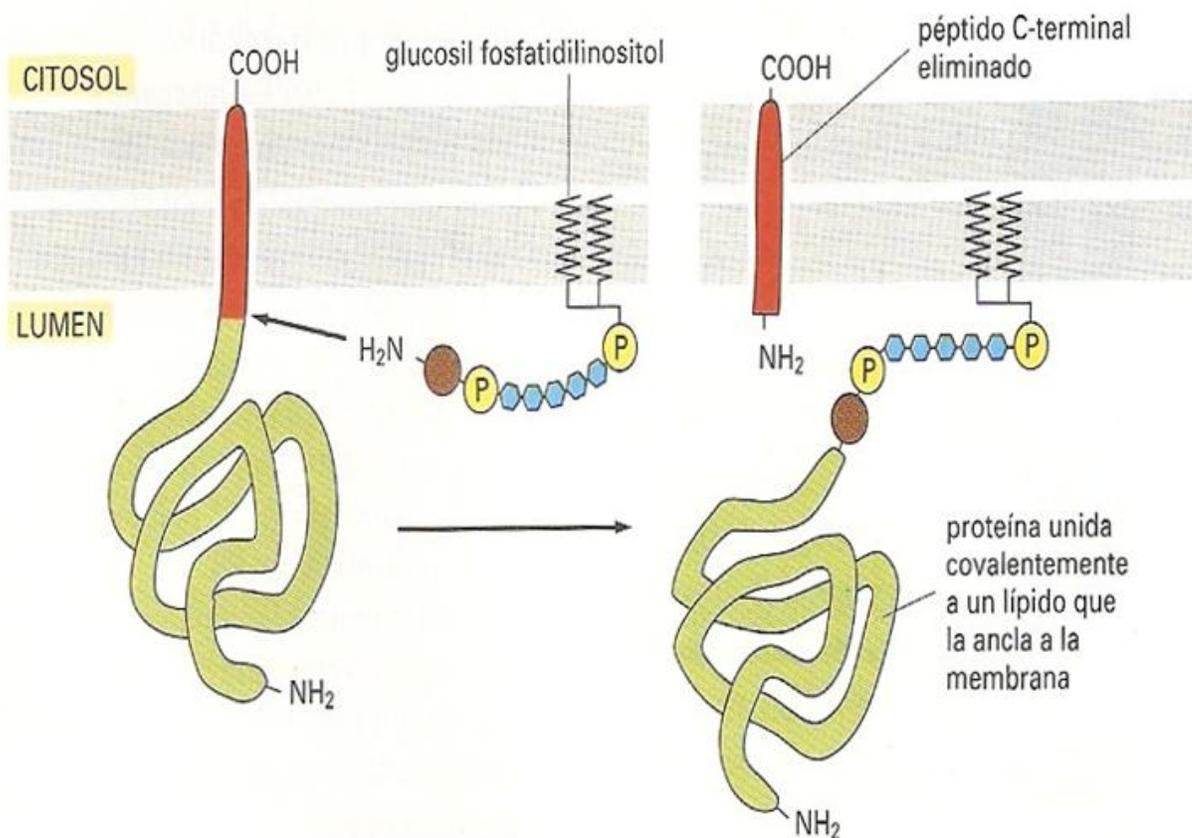
<b>Gen asociado</b>	<b>Función</b>	<b>Localización cromosomal</b>
<b>Genes inmunológicos</b>		
CD24 <sup>8</sup>	Respuesta Inmune	6q21
HLA-DR	Presentación de antígeno	6p21.3
HLA-A	Presentación de antígeno	6p21.3
HLA-C	Presentación de antígeno	6p21.3
IL2RA	Receptor de citocina y apoptosis	10p15
IL7R	Receptor de citocina	5p13
CD58	Adhesión célula-célula	1p13
TYK2	Señalización celular	19p13.2
CD226	Co-estimulación	18q22
PDE4B	Transducción de señales en células inflamatorias	1p31
<b>Genes Neurológicos</b>		
ACCN1	pH Neuronal- sensible al canal iónico	17q11.2
KIF1B	Transporte axonal	1p36.22
ALK	Receptor Tirosincinasa	2p23
ANKRD15	Función desconocida	9p24
<b>Genes de Función desconocida</b>		
RPL5	Proteína ribosomal	1p22
CLEC16A	Enlace de azúcar	16p13
DBC1	Arresto del Ciclo celular y apoptosis	9q33
FAM69A	Unión a proteína	1p22
EVI5	Control ciclo celular	1p22

Tomado y Modificado del artículo Fugger L, Friese M, Bell J et al. "From genes to function: the next challenge to understanding multiple sclerosis". Nature Rev. Immunol. 2009; 9: 408-417.

### CAPITULO III “CD24”

CD24 es una proteína (32 aminoácidos) de glicosilfosfatidilinositol (GPI), es decir es una proteína anclada a lípidos, que se puede unir al extremo C-terminal de una proteína durante una modificación post-traduccion. Está constituido por un grupo fosfatidilinositol unido a un carbohidrato (enlace formado por una glucosamina y una manosa glicosilada al residuo inositol) el cual está unido al extremo C-terminal de un aminoácido de una proteína madura. Los dos ácidos grasos sin el grupo hidrofóbico fosfatidilinositol ancla la proteína a la membrana celular.<sup>1,4</sup>

(Ver imagen 2)



**Imagen 2** Se representa la bicapa lipídica que conforman la membrana celular, destacando el anclaje de GPI en la hojilla externa de la célula. (Tomado de Alberts Bruce “Biología Molecular de la Célula” 3ª edición, 1996)

Las proteínas que se unen a los GPI contienen un péptido señal, que las conduce al retículo endoplasmico (RE). El extremo C-terminal está compuesto de aminoácidos hidrofóbicos que permanecen insertados a la membrana de RE.<sup>1</sup>

El extremo hidrofóbico es entonces escindido y sustituido por el anclaje GPI. A medida que la proteína avanza por la vía secretora, es transmitida a través de vesículas al aparato de Golgi, y finalmente al espacio extracelular donde permanece unida a la mono capa extracelular.<sup>1</sup>

La expresión del gen *CD24* se da en una variedad de células que pueden participar en la patogénesis de EM, incluyendo la activación de las células T, en las células B, macrófagos, células dendríticas y células presentadoras de antígenos en el SNC, así como en células vasculares endoteliales, como los astrocitos. Está bien establecido en el modelo murino que *CD24* media la coestimulación independiente de *CD28*-, ruta que promueve la activación de los linfocitos *CD4* y *CD8*. Además se ha demostrado la modulación tardía del antígeno 4- fibronectina que es una molécula de adhesión vascular, que es requerida para la migración de las células T al SNC, lo que conlleva al desarrollo de la enfermedad autoinmune encefalomiéлитis.<sup>14,25</sup>

En el desarrollo de la encefalomiéлитis experimental autoinmune, que es un modelo animal para el estudio de la EM, las células T autoreactivas tienen que ser activadas y los clones expandidos en órganos linfoides, después migran al SNC donde son sometidas a promover la activación. No está del todo claro que tan lejos se expanden las células T en el SNC, y que interacciones son requeridas en este proceso. Se ha demostrado previamente que la expresión por las células hospederas del antígeno termoestable (*CD24*), del cuál ha sido identificado como un modificador genético para EM, es esencial para la expansión clonal y la persistencia de las células T después de su migración en el SNC, y que la expresión de *CD24* en cualquiera de las células hematopoyéticas o no hematopoyéticas (células presentadoras de antígeno) en el receptor es suficiente para conferir susceptibilidad a la encefalomiéлитis.<sup>14, 23, 25</sup>

### 3.1 GEN *CD24*

El gen humano *CD24*, que codifica para la proteína con anclaje GPI, se encuentra localizado en el cromosoma 6q21, con pseudogenes en los cromosomas 1, 15 y en el cromosoma sexual Y.<sup>8, 23</sup>

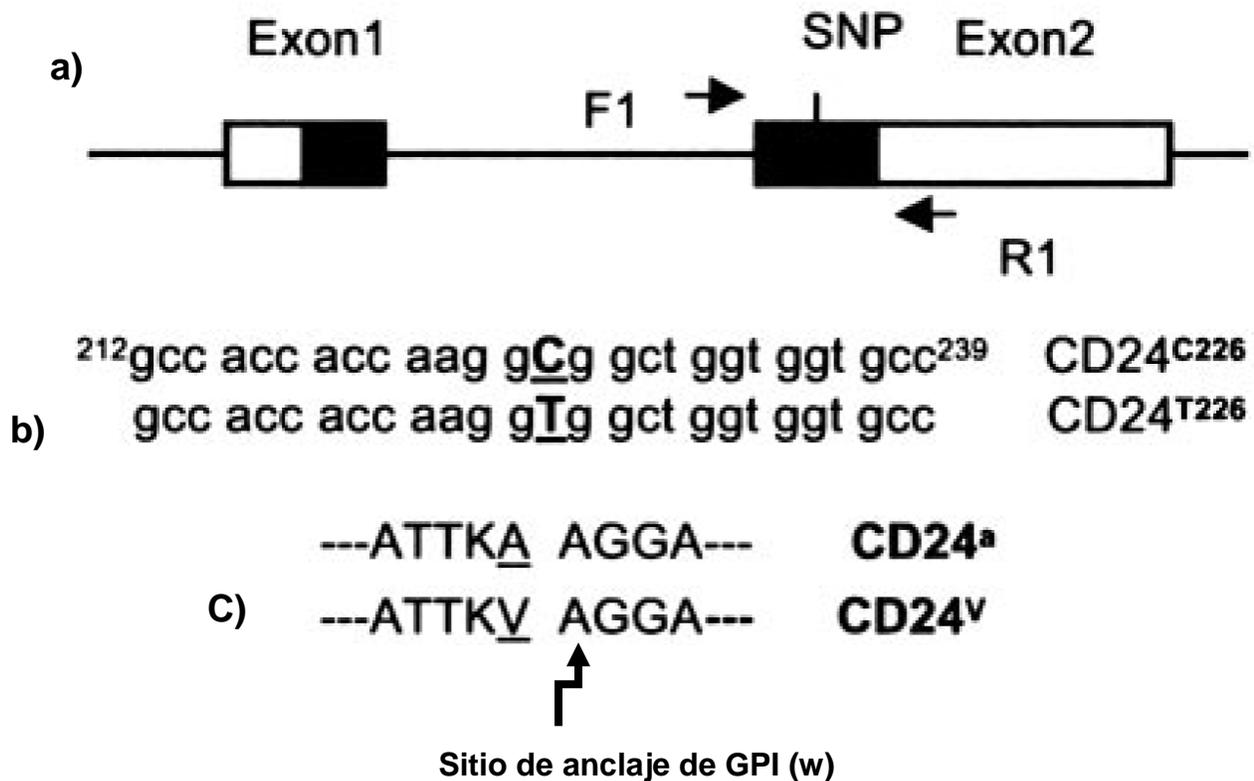
*CD24* se encuentra constituido por 2 exones y el fragmento tiene una longitud de 453 pb.<sup>24</sup>

Se sabe que *CD24*, se sobre expresa en algunos tejidos tumorales, incluyendo linfomas, eritroleucemias, gliomas, carcinomas hepatocelulares, esofágiales, pulmonares, pancreáticos, neuroendocrino primarios y de próstata.<sup>14</sup>

Se ha considerado *CD24* como un marcador importante para el diagnóstico y pronóstico del cáncer. En el cáncer de mama, la expresión de *CD24* es significativamente elevado en el carcinoma invasivo que en la lesión precancerosa.<sup>14</sup>

El gen *CD24* posee un SNP (Polimorfismo de nucleótido simple) que es un reemplazo de una T (timina) en el nucleótido 226 por una C (citosina)

(T → C) en la región codificante del exón 2, que resulta en la substitución de Ala (alanina) en el aminoácido 57 por Val (valina) (Ver imagen 3) inmediatamente cerca del anclaje de GPI (posición ω-1). Se ha reportado que el genotipo *CD24<sup>V/V</sup>* está asociado al aumento en el riesgo de desarrollar la enfermedad y una rápida progresión de la EM.<sup>24</sup>



**Imagen 3** Se ilustra la localización de la mutación que se encuentra en el gen *CD24*. **a)** El SNP se encuentra en el exón 2 del gen *CD24*. **b)** En el nucleótido 226 se da el cambio (T → C) mientras que en **c)** vemos que cerca del sitio de anclaje de GPI tenemos el cambio de un aminoácido 57 de Alanina (CD24<sup>a</sup>) por Valina (CD24<sup>v</sup>)

Tomado de Zhou D, Rammohan K, Lin S, Robinson N, Li O, Liu X et al. *CD24 is a genetic modifier for risk and progression of multiple sclerosis*. Proc Natl Acad Sci USA 2003;100: 1541-46.

### 3.2 ESTUDIOS DE CD24 EN OTRAS POBLACIONES

**España:** Se realizó un estudio de casos y controles con población de la ciudad de Basque, al norte de España, y personas “caucásicas” (no especifican lugar de origen) para ver la asociación de CD24<sup>V</sup> con el riesgo de desarrollar EM, y en efecto confirman que el SNP tiene tal efecto para la enfermedad autoinmune.<sup>21</sup>

**Irán:** De igual manera se llevó un estudio de casos y controles, utilizando la prueba estadística de  $X^2$  (chi cuadrada), y determinaron el riesgo relativo con la prueba de OR (odds ratio) siendo estadísticamente significativo, y un OR mayor de 1 para confirmar la asociación de CD24<sup>V</sup> al desarrollo de EM.<sup>20</sup>

**Estados Unidos:** Del mismo modo se realizó un estudio de casos y controles de la población de Ohio, utilizan la prueba estadística  $X^2$  y OR siendo estadísticamente significativo para el genotipo V/V.<sup>24</sup>

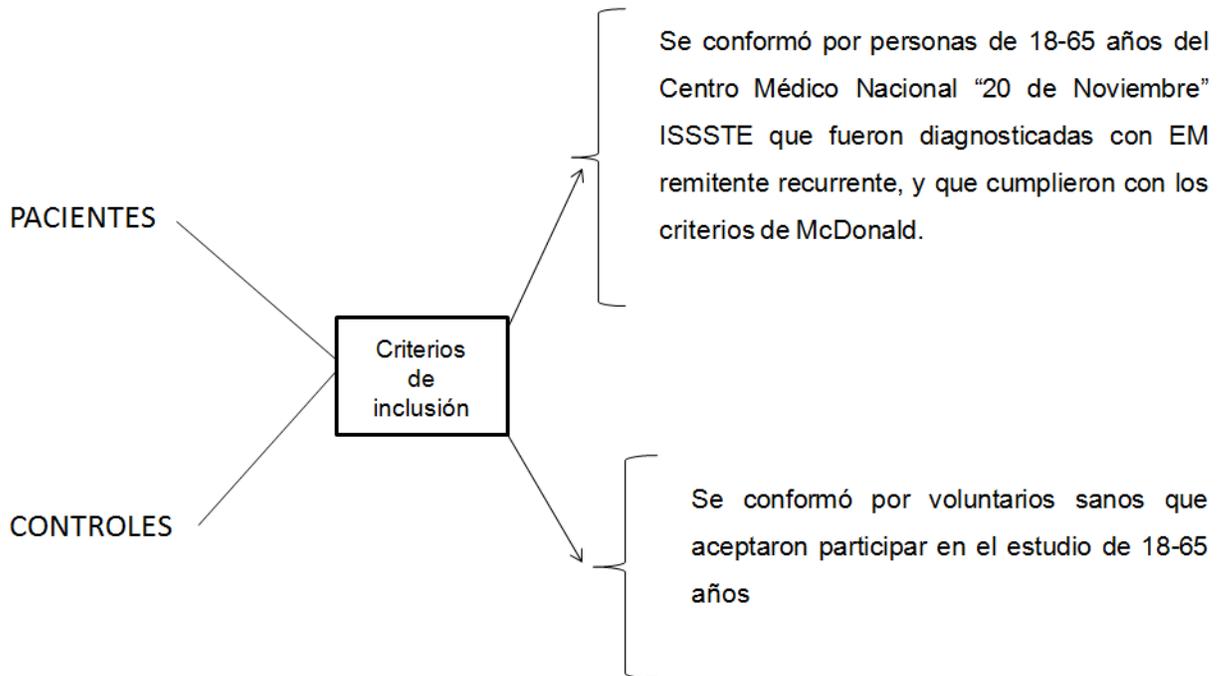
## METODOLOGÍA

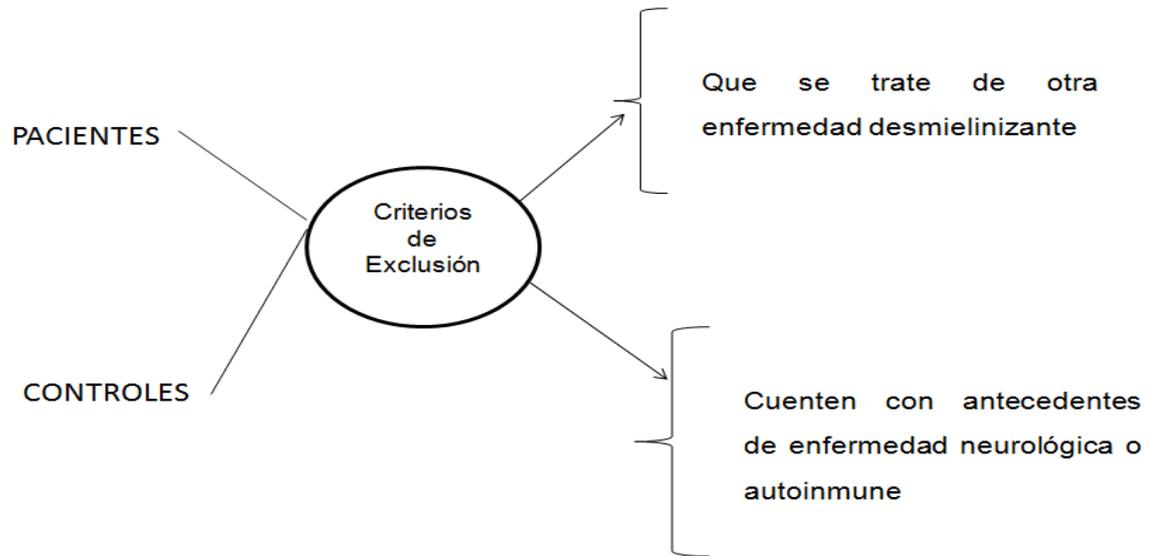
De acuerdo al Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud, destacando la parte correspondiente al Título Segundo, Capítulo 1 donde se establecen los aspectos éticos de la investigación en seres humanos, se elaboró el consentimiento informado por escrito para cada uno de los participantes los cuales aceptaron ingresar al estudio de manera voluntaria, sin remuneración alguna y estricta confidencialidad del individuo.<sup>29</sup>

Se realizó un estudio descriptivo, transversal, de muestreo no aleatorizado consecutivo y de análisis abierto.

En el trabajo se incluyeron dos grupos de estudio de personas que aceptaron participar con previo consentimiento informado (Ver apéndice anexo I): pacientes con EM y controles sanos, los criterios de inclusión y exclusión de cada grupo fueron:

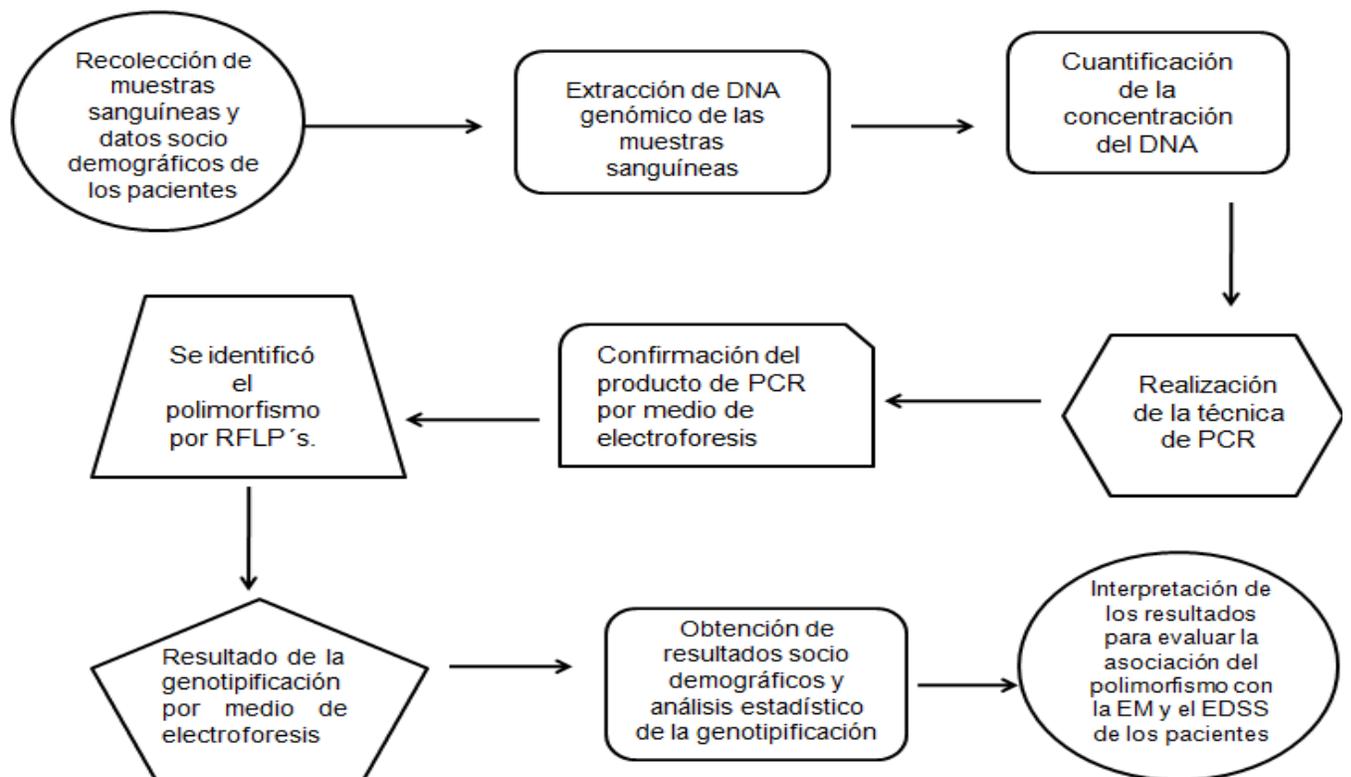
### Criterios de exclusión e inclusión para la selección de los participantes





En el siguiente diagrama se describe brevemente los pasos que se siguieron para realización de este trabajo

### DIAGRAMA GENERAL DE TRABAJO



**Diagrama 1** Metodología utilizada

A continuación se describe cada una de las técnicas utilizadas:

### TOMA DE LA MUESTRA

Representando un riesgo mínimo para los individuos, y con personal capacitado se extrajeron 5 ml de sangre periférica, en un tubo vacutainer con anticoagulante EDTA (tapa morada), todo esto con el fin de inhibir la participación del ión calcio en la cascada de coagulación, además que no se afectó la morfología de las células hemáticas. Después se refrigeraron las muestras a 4°C.

### EXTRACCIÓN DE DNA

La extracción de DNA es una técnica que lleva tres pasos fundamentales que son: a) La lisis de la célula, b) Separación y c) Precipitación del DNA.

Se inició con la lisis de la célula, esto se llevó a cabo transfiriendo 500µl de sangre (previamente homogeneizada), a un tubo Eppendorf, se adicionó con micropipeta el mismo volumen de solución de lisis, se mezcló y se dejó incubando a 4°C por 30 minutos. Una vez transcurrido el tiempo, se centrifugó a 4000 r.p.m por 2 minutos, se decantó el sobrenadante para seguir con los lavados con la solución de lisis (2 son suficientes), terminados los lavados se utilizó cloruro de sodio (para precipitar proteínas y evitar que el DNA se uniera de nuevo a las proteínas), para ello se resuspendió el botón en 570µl de NaCl 5 Mm, se mezcló para después adicionar 40µl de SDS (al 10%), se agitó por 5 minutos hasta que se observó una mezcla homogénea de color café claro y espumosa.

Para el siguiente paso fundamental que es la separación se centrifugó la mezcla anterior por 10 minutos y se manejó con precaución, ya que se transfirió la fase líquida a otro tubo eppendorf, porque se adicionaron 600µl de una mezcla de Cloroformo- Alcohol isoamílico, esto favoreció un cambio de polaridad del DNA y se mezcló por 3 minutos, realmente en este paso se está realizando una extracción por disolventes inmiscibles entre sí, para recuperar el DNA en la fase orgánica, transfiriéndolo a un frasco con alcohol al 100% a una temperatura de

-20°C, para favorecer la precipitación del DNA, así mismo se removió la sal que se añadió anteriormente.

Pasadas 24 horas de la realización de la técnica, se tomó el grumo que se formó (indicó la presencia de DNA), con la micropipeta y se transfirió a un tubo eppendorf con etanol al 70%, se centrifugó por 6 minutos y se dejó evaporar el alcohol. Finalmente se obtuvo un botón blanco en el fondo del tubo y se re-suspendió en agua inyectable, (la cantidad de agua a adicionar depende del tamaño del botón).

### CUANTIFICACIÓN DE LA CANTIDAD DE DNA OBTENIDO

En nuestro caso la concentración optima de DNA fue de 50 ng/μl ó más, menores a esta concentración se repetía la extracción de DNA.

El equipo que se utilizó fue el Nanodrop, este tiene acoplado un miniespectrofotómetro UV, al cual solo se le añadieron 2μl de muestra a un sensor, que absorbe la muestra, para leerla a una longitud de onda de 230 nm, traduciendo la señal en una pantalla de computadora para obtener solo la concentración en ng/μl de la muestra. Como todo equipo de espectroscopia UV se requiere un blanco de agua inyectable, para ajustar el espectrofotómetro a ceros.

### PCR (REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA)

Se realizó la técnica de PCR, para llevar a cabo la amplificación del exón 2 del gen *CD24*, (Ver Foto 1) por lo que fue indispensable buscar la secuencia del gen en la base de datos Genbank, y se localizó dentro de la secuencia el sitio donde se encuentra el polimorfismo, que es en el nucleótido 226 que se da el cambio C → T con la finalidad de que se diseñaran los oligonucleótidos, cuya función es ser los cebadores para poder realizarse la replicación de dos hebras en la región diana.

Oligonucleótidos utilizados:

CD24 Fw	TTG TTG CCA CTT GGC ATT TTT GAG GC
CD24 Rv	GGA TTG GGT TTA GAA GAT GGG GAA A

Condición	Tiempo	Temperatura °C
Pre calentamiento	2 min	95
Desnaturalización	60 s	94
Alineamiento	45 s	62
Elongación	60 s	72
Extensión final	5 min	72

**Tabla 9** Condiciones a las cuales se realizó la PCR para la amplificación del exón 2 del gen *CD24* quedando en 35 ciclos.

### GENOTIPIFICACIÓN POR LA TÉCNICA (RFLP) POLIMORFISMOS EN LA LONGITUD DE LOS FRAGMENTOS DE RESTRICCIÓN

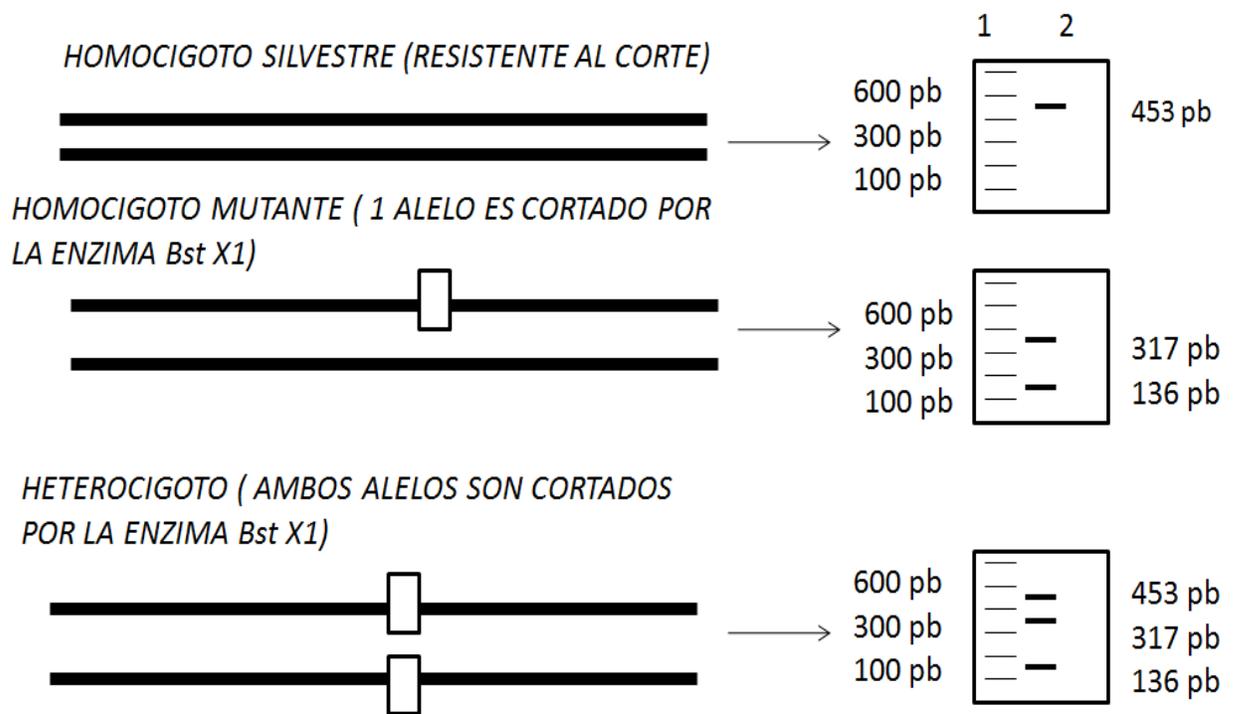
El polimorfismo *CD24<sup>V</sup>* consiste en un cambio de una timina en el nucleótido 226 por una citosina en la región codificante del exón 2 (DNA codificante), que resulta en la sustitución de alanina en el aminoácido 57 por valina.

Para detectar el polimorfismo en el gen *CD24* con la técnica RFLP se utilizó la enzima de restricción Bst XI (*Bacillus stearothermophilus X1*).

Se corroboró la amplificación del producto de PCR en un gel de agarosa al 2% y se procedió a realizar la técnica de RFLP: primero se realizó una mezcla de buffer, agua y la enzima Bst XI, se añadieron 5µl de esta mezcla a cada tubo eppendorf que contenían 10µl del producto de PCR, para un total de 15µl. Se colocaron los tubos eppendorf en el termoblok a 65°C por 3 horas, para la digestión enzimática.

Ya que transcurrió el tiempo señalado, se realizó una electroforesis de las muestras, se observó con cámara de luz UV el resultado del corte de la enzima, esto nos indicó la genotipificación que tuvo la muestra estudiada para este polimorfismo.

Lo que resultó fueron bandas que representaron el corte resultante después de la digestión enzimática (Ver imagen 4 y Foto 2), entonces si se cortaron ambos alelos o cadenas se trató de un alelo heterocigoto, cuando se cortó un alelo es un homocigoto mutante y cuando no hubo corte se trató del homocigoto silvestre.



**Imagen 4** Genotipificación por la técnica RFLP'S

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Con el propósito de conocer si el polimorfismo  $CD24^V$  se encuentra asociado con la disfunción neurológica, al grupo de pacientes se les aplicó la escala de evaluación EDSS para poder relacionarlo con el genotipo presentado. Además se obtuvieron datos socio demográficos y de su evolución clínica, tomados del expediente clínico y a través de un cuestionario (Ver apéndice anexo II).

Se analizaron 102 pacientes y 102 controles mexicanos, el número de mujeres y hombres de cada grupo, así como la edad promedio; se muestra a continuación:

	Controles	Pacientes
Total (n)	102	102
Mujeres (n)	37	65
Edad Promedio Mujeres	36	42
Hombres (n)	65	37
Edad Promedio Hombres	38	40

**Tabla 10** Se muestra de manera detallada el tamaño de la muestra de controles y pacientes de estudio.

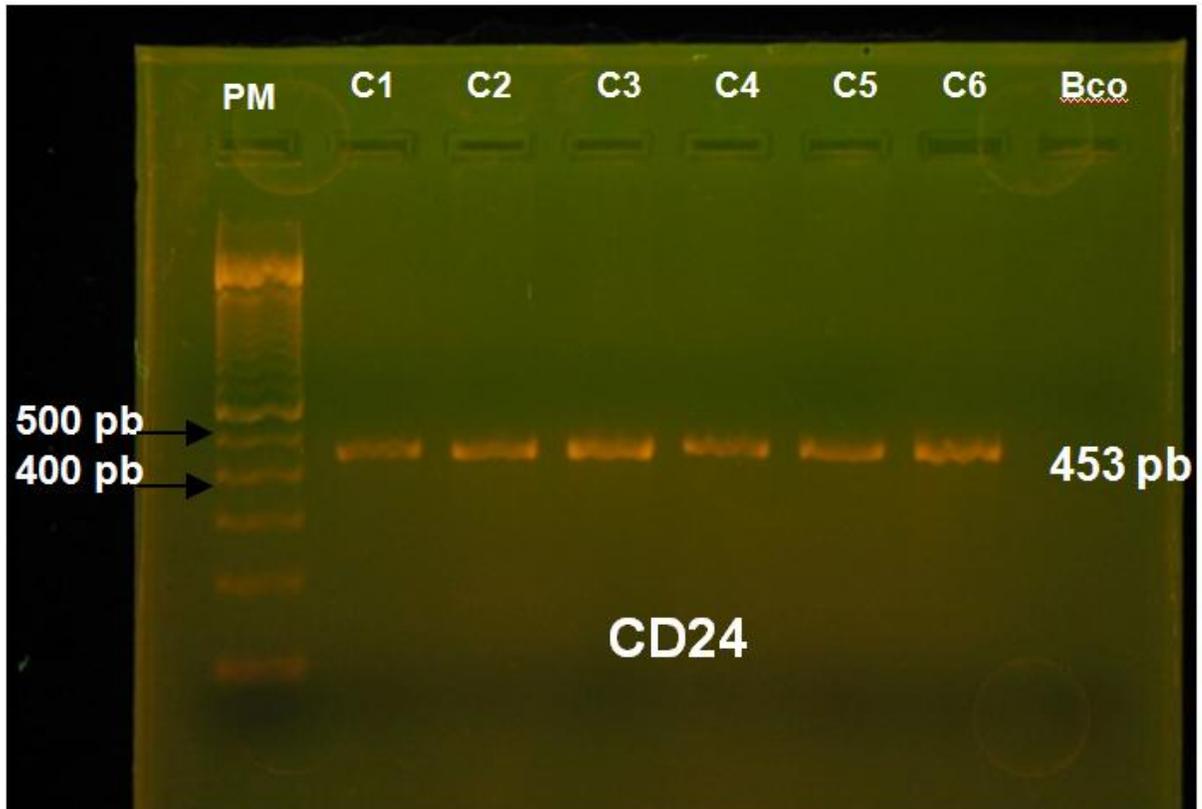
En la tabla 10 se observa que las mujeres dentro del grupo de pacientes tienden a ser mayoría, en cambio los hombres enfermos se presentaron en menor proporción. Si bien la edad promedio de los pacientes es proporcional en ambos géneros.

La EM es una enfermedad discapacitante por lo que aquí es importante recalcar la importancia que tiene estudiar esta enfermedad por su impacto en la salud pública y los costos que implican los tratamientos de los pacientes.

Los voluntarios en cuanto a la edad fueron jóvenes sanos respecto a los pacientes, esto no afectó el estudio ya que los polimorfismos genéticos, son una variable que no se modifica con la edad.

Los resultados obtenidos que responden a los objetivos planteados son la asociación del polimorfismo  $CD24^V$  con la EM y con el grado de discapacidad que se presenta en esta enfermedad, se exponen a continuación:

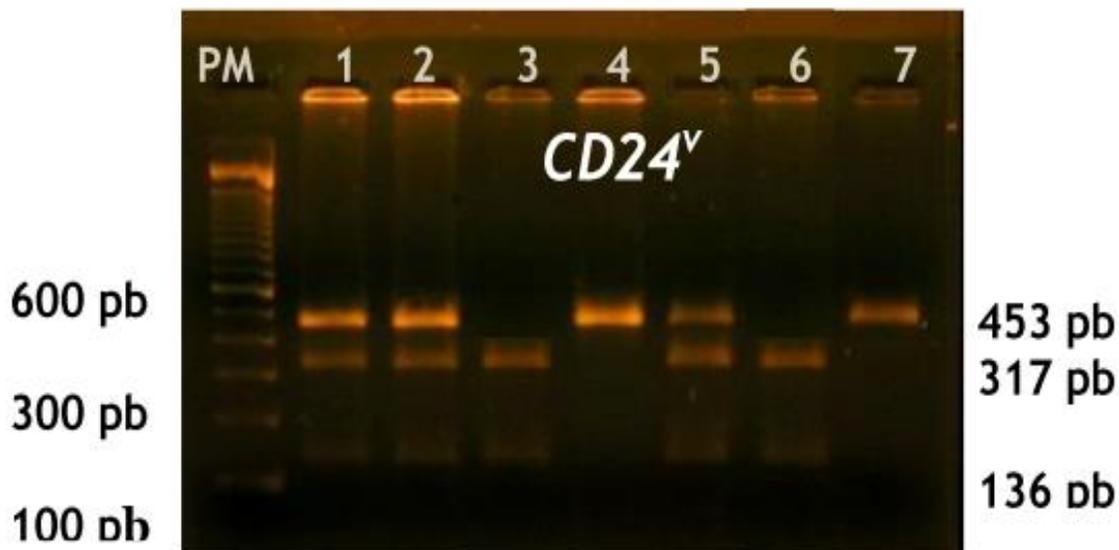
## PRODUCTO DE PCR



**FOTO 1** Producto de PCR del exón 2 del gen *CD24*

Como se mencionó anteriormente es importante llevar a cabo la técnica de PCR para amplificar la zona del exón 2 del gen *CD24*, en la Foto 1 se ilustra un ejemplo de una electroforesis de un producto de PCR, en el primer carril se encontró el marcador de peso molecular (PM), y seis casos de pacientes estudiados, se observó una sola banda en cada carril de 453 pb, que corresponde al fragmento estudiado y en el último carril se colocó un blanco sin DNA.

## GENOTIPIFICACIÓN



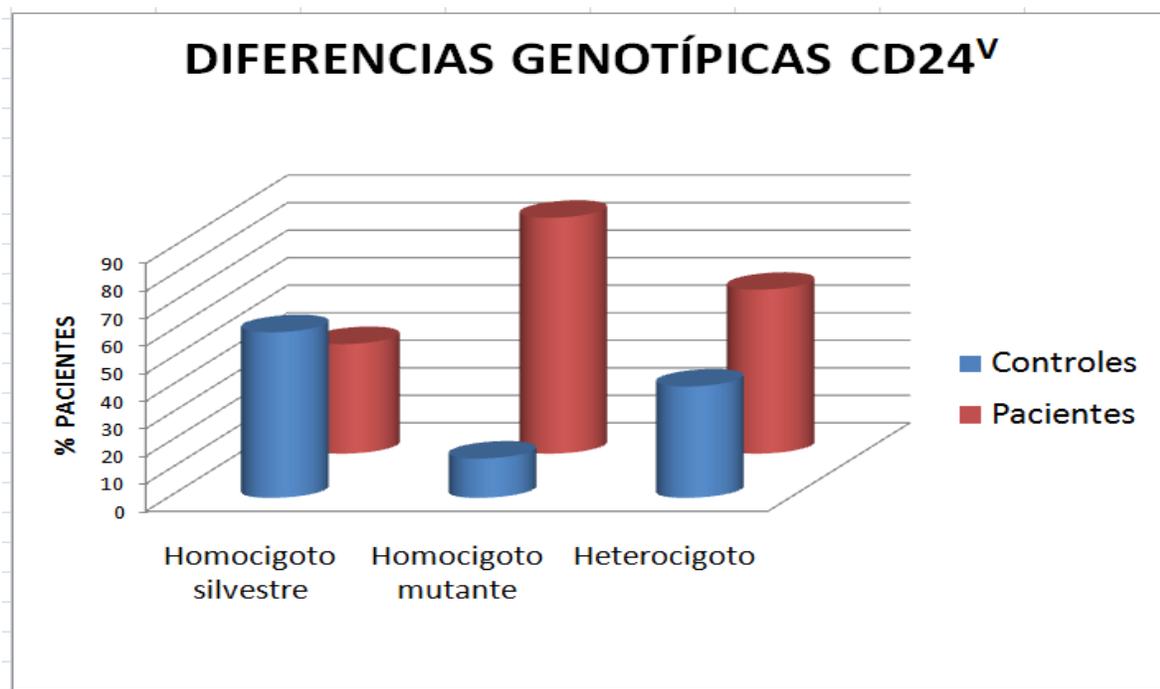
**Foto 2** Genotipificación de CD24<sup>V</sup> PM. Marcador de peso molecular. Muestras 4 y 7, amplificación del segmento silvestre en estado homocigoto:CC, resistente al corte. Muestras 3 y 6 polimorfismo en estado homocigoto:TT. Muestras 1,2 y 5 genotipo heterocigoto: CT.

### DIFERENCIAS GENOTIPICAS CD24<sup>V</sup>

Se realizó la prueba estadística chi cuadrada (representada por:  $X^2$ ) con un 5% de nivel de significancia se obtuvo una diferencia estadística entre el grupo control y pacientes ( $X^2=11.30$ ).

Genotipos en %	Homocigoto silvestre	Homocigoto mutante	Heterocigoto
Controles	60.185	14.285	40.449
Pacientes	39.814	85.714	59.550

**Tabla 11** Se muestra en porcentaje los genotipos obtenidos de CD24<sup>V</sup> de pacientes y controles



**Grafica 1** DIFERENCIAS GENOTÍPICAS DE CD24<sup>V</sup>

Se analiza en la gráfica 1 que el genotipo que prevaleció con mayor frecuencia en los controles fue el homocigoto silvestre y en los pacientes el homocigoto mutante.

### COMPARACIÓN ENTRE GENOTIPOS

Genotipos		X <sup>2</sup>
Homocigoto silvestre vs Homocigoto mutante	A/A vs V/V	5,66
Homocigoto silvestre vs Heterocigoto	A/A vs A/V	7,61
Homocigoto mutante vs Heterocigoto	V/V vs A/V	1,87

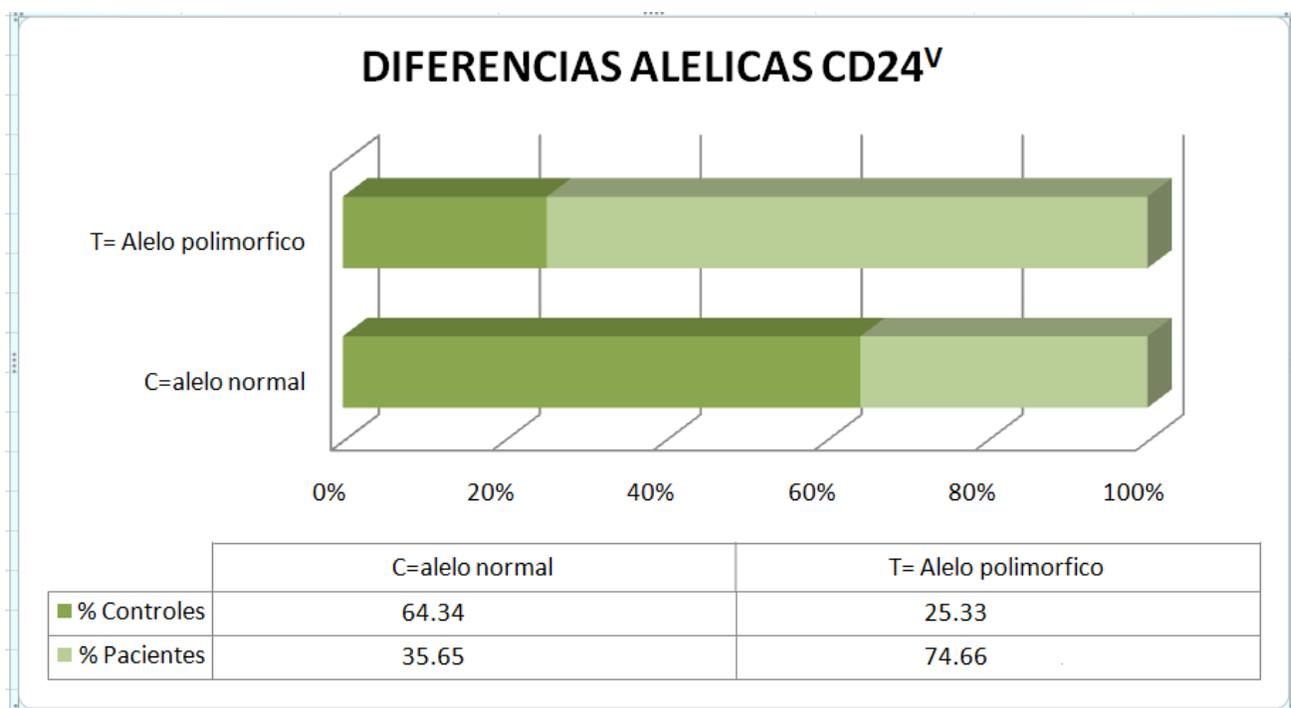
Con 5% de nivel de significancia, la prueba X<sup>2</sup> fue estadísticamente significativa para las comparaciones entre los genotipos homocigoto silvestre vs homocigoto mutante y la de homocigoto silvestre vs heterocigoto, pero no lo fue para homocigoto mutante vs heterocigoto.

En los artículos que existen en la actualidad sobre este polimorfismo reportan que el genotipo CD24 V/V tiene una asociación significativa con la progresión rápida de la EM, esta información concuerda con lo publicado por Zhou et al. (2003), en cambio Otaegui et al. (2006) encontró una asociación no significativa con este genotipo, sin embargo Goris et al. (2006) no encontró diferencia estadísticamente significativa entre el genotipo CD24 V/V y los otros genotipos.

Por lo que toda esta información no sirve para poder establecer que el genotipo homocigoto mutante (V/V), en la muestra estudiada de pacientes mexicanos este asociado a una rápida progresión de la EM.

### DIFERENCIAS ALELICAS

Con un 5% de nivel de significancia se realizó la prueba estadística ( $X^2$ ) en la cual se obtuvo una diferencia estadísticamente significativa ( $X^2= 57.73$ ).

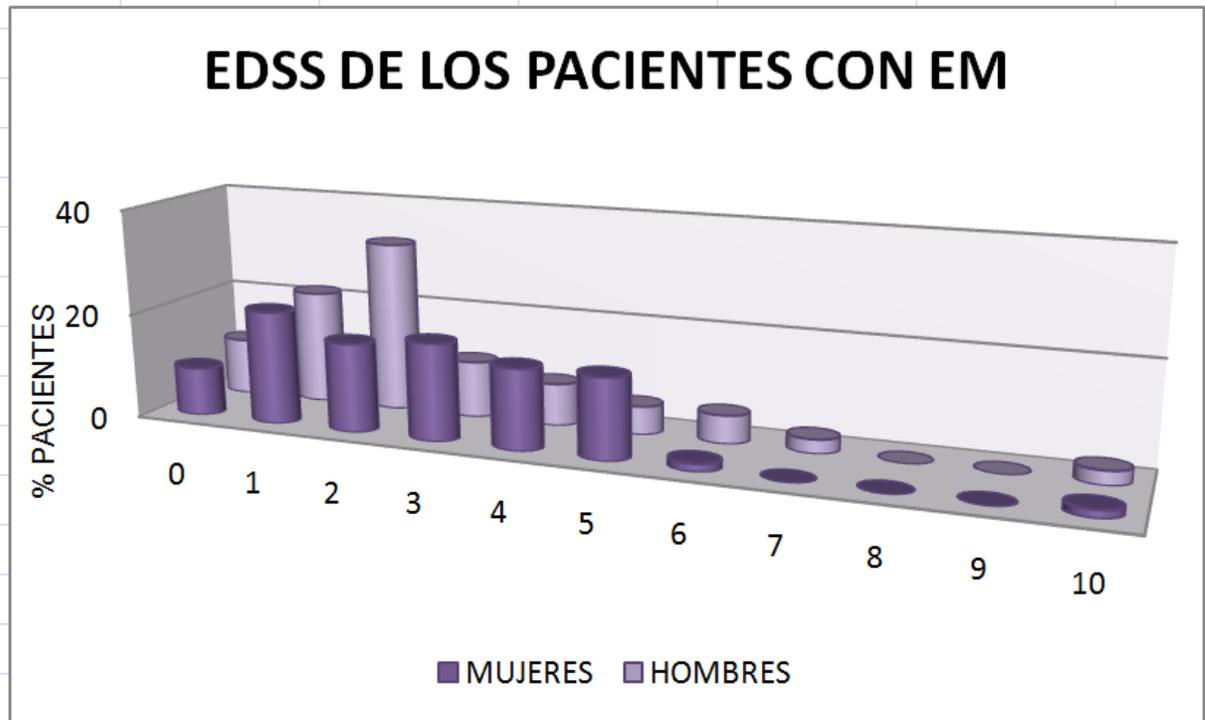


**Gráfica 2 y Tabla 12** Se muestran las diferencias alelicas de CD24<sup>V</sup>

En cuanto a las diferencias alelicas vemos que el alelo polimórfico es el que prevalece en el grupo de pacientes, mientras que el alelo normal es evidente encontrarlo con mayor frecuencia en el grupo control.

### PROGRESIÓN DE LA ENFERMEDAD

En cuanto a su progresión de la enfermedad, el neurólogo hizo uso de la escala EDSS para asignarle un puntaje al paciente, cabe destacar que lo que se presenta a continuación es lo que obtuvieron los pacientes en una consulta llevada a cabo en el año 2009 e inicios del año 2010. Recordando que las recaídas de los pacientes pueden tener intervalos largos o cortos, aunado al tratamiento dado, eso influye en el puntaje del paciente ya sea de una manera favorable en la que haya pasado un largo tiempo sin recaídas el paciente y exista un retardo en la progresión de la enfermedad por el tratamiento entonces eso disminuiría su puntaje o quedaría igual esto es a consideración del neurólogo. O podemos tener el caso inverso en donde la progresión de la enfermedad se de de una manera no tan favorable que implique subir el puntaje del paciente.



**Gráfica 3** El EDSS de los pacientes con EM.

En la gráfica 7 se observa que el EDSS de los pacientes con EM se encuentran en su mayoría menor de 6, es decir que aun son pacientes cuya progresión de la enfermedad no los ha vuelto dependientes de algún instrumento ya sea bastón, silla de ruedas o muletas para trasladarse, aun son independientes y ambulatorios.

ASOCIACIÓN DE LOS GENOTIPOS CON LA DISFUNCIÓN NEUROLÓGICA.

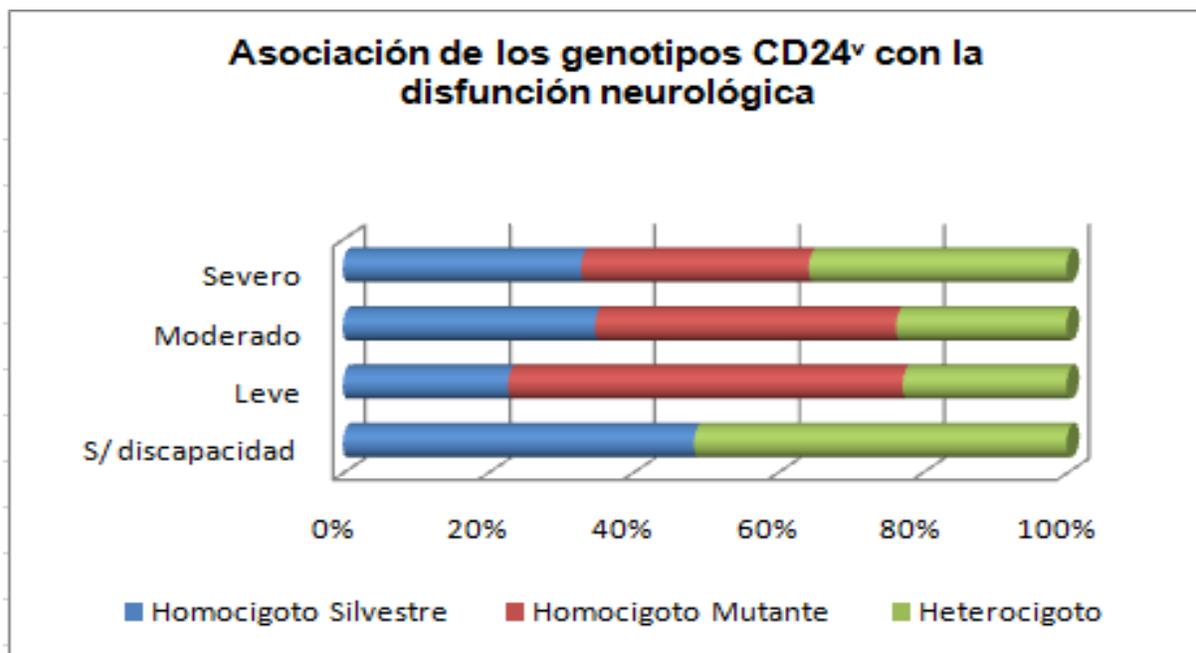
Conforme a los criterios de Kurtze en la escala de disfunción neurológica EDSS (Ver tablas 4 y 5), se establecieron para fines prácticos 4 categorías de la progresión de la enfermedad siendo:

INTERVALO ESCALA EDSS	CATEGORIA
0-1.5	Sin Discapacidad
2-3.5	Discapacidad Leve
4-5.5	Discapacidad Moderada
6-9.5	Discapacidad Severa

Para saber si existe una asociación de los genotipos se realizó una ANOVA de dos vías con un 5% de nivel de significancia obteniendo ( $F=12.62$ ) lo que implica una diferencia estadística entre genotipos y la escala EDSS.

%	Homocigoto Silvestre	Homocigoto mutante	Heterocigoto
S/Discapacidad	30.23	0	32.07
Leve	20.93	50	20.75
Moderado	13.95	16.67	9.43
Severo	34.88	33.33	37.73

**Tabla 13** Asociación de los genotipos con la disfunción neurológica (EDSS) en porcentaje.



**Gráfica 4** Asociación de los genotipos CD24<sup>v</sup> con la disfunción neurológica, destacando que no tenemos presente el genotipo homocigoto mutante en los pacientes sin discapacidad.

Este resultado es crucial debido que a pesar de obtener un dato estadísticamente significativo aun no es posible determinar si realmente el polimorfismo se encuentre asociado a un grado específico de la disfunción neurológica, tampoco es posible saber si es el polimorfismo se relaciona con una evolución más rápida ya que la evaluación EDSS se realizó en un momento y no fue posible determinar con una valoración posterior si existe mayor deterioro o discapacidad de los pacientes, quizás la manera de saberlo es realizando un seguimiento de los pacientes en un tiempo de 6 meses y ver si en ese lapso hubiesen tenido alguna recaída o bien la enfermedad se hubiese desarrollado de una manera más rápida o más lenta, todo esto con el fin de obtener puntos clave que nos permitan realizar una curva de sobrevivencia para confirmar si el polimorfismo se encuentra relacionado con el curso de la EM. Lo que serviría como marcador pronostico de la enfermedad.

Como parte de los resultados se presentan los datos demográficos y clínicos de los pacientes estudiados:

## **ANÁLISIS DEMOGRÁFICO**

### ESCOLARIDAD

Escolaridad en porcentaje (%)	Mujeres	Hombres
Primaria	4.61	2.63
Secundaria	16.92	15.78
Preparatoria	18.46	18.42
Licenciatura	59.92	52.63
Maestría	1.53	5.26
Doctorado	1.53	5.26

**Tabla 14** Se muestra la escolaridad en porcentaje de mujeres y hombres.

Es de destacarse que los pacientes estudiados tienen estudios a nivel de licenciatura, además que es evidente el equilibrio que hay entre ambos géneros, eso es algo bastante destacable, que las mujeres ya tengan la oportunidad de

tener un título y buscar opciones de trabajo. Lo desagradable que trae consigo esta enfermedad es que no puedan ocupar sus puestos hasta una edad que el gobierno ha impuesto ser la adecuada para jubilarse de hecho se espera que para el 2011 la edad sea de 52 años para hombres y de 50 años para las mujeres, y de hecho la estrategia es seguir incrementando la edad de su retiro hasta el 2028 donde los hombres tengan 60 años y las mujeres 58.

Así vemos que la EM podrá adelantar ese retiro, de las personas de su área laboral no por voluntad propia sino por las limitaciones que ira teniendo gradualmente, no se sabe si será de manera rápida o lenta, eso depende de la evolución de la EM en cada uno de los pacientes.

#### ESTADO CIVIL

Tabla del Estado Civil (%)	Mujeres	Hombres
Casados	50.76	54.05
Solteros	35.38	43.24
Unión Libre	3.07	2.70
Divorciados	10.76	0

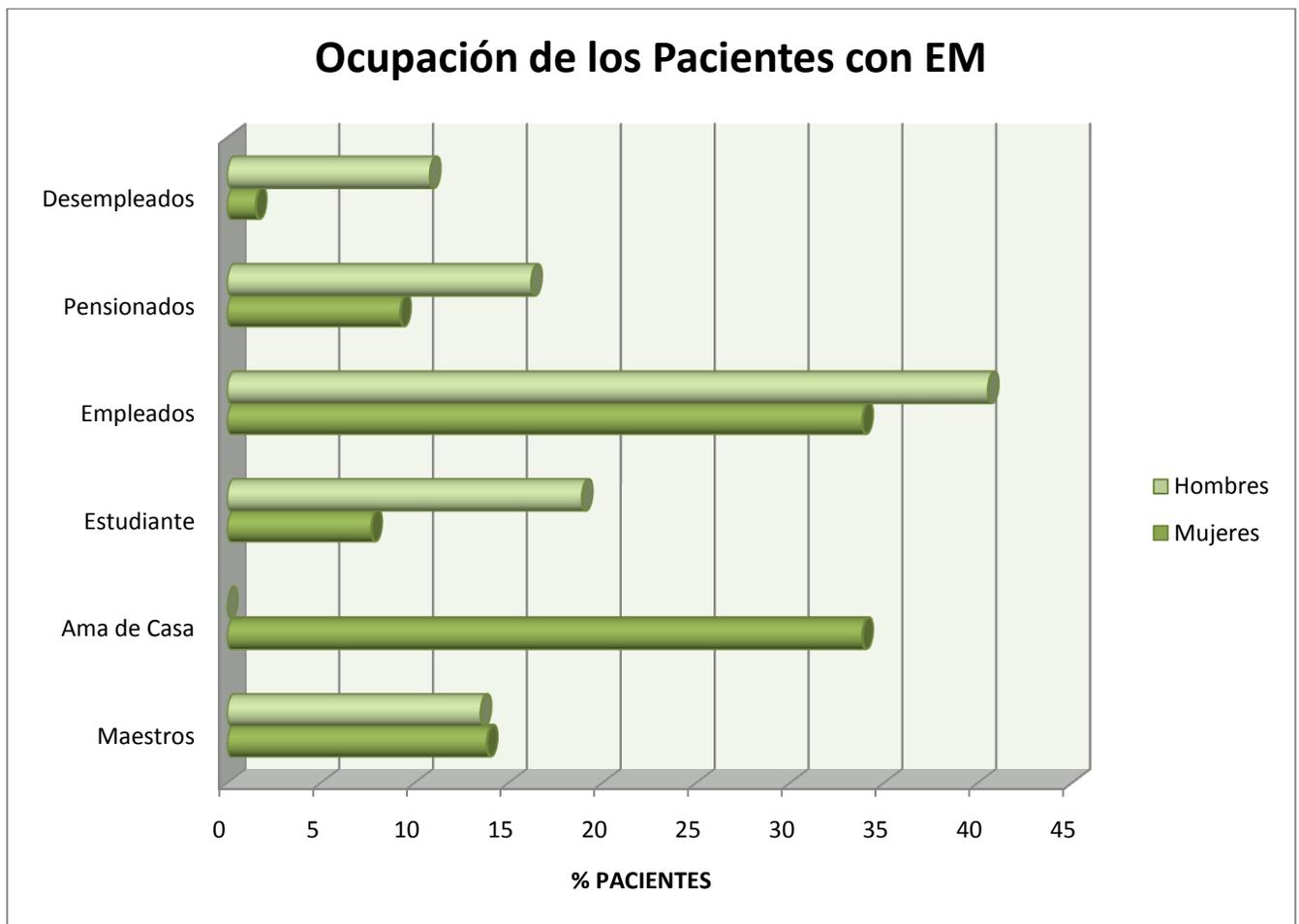
**Tabla 15** Expresado en porcentaje se encuentra el estado civil de los pacientes con EM

La gran mayoría de los pacientes son casados y los demás son solteros esto es importante saberlo porque el aspecto psicológico del paciente, se ve afectado por el simple hecho de saberse enfermo y al no sentirse respaldados por alguien en la evolución de la enfermedad pueden tener cuadros depresivos severos y en casos muy extremistas pueden llegar al suicidio.

## OCUPACIÓN

Tabla Ocupación Pacientes (%)	Mujeres	Hombres
Maestros	13.84	13.51
Ama de Casa	33.84	0
Estudiante	7.69	18.91
Empleados	33.84	40.54
Pensionados	9.23	16.21
Desempleados	1.53	10.81

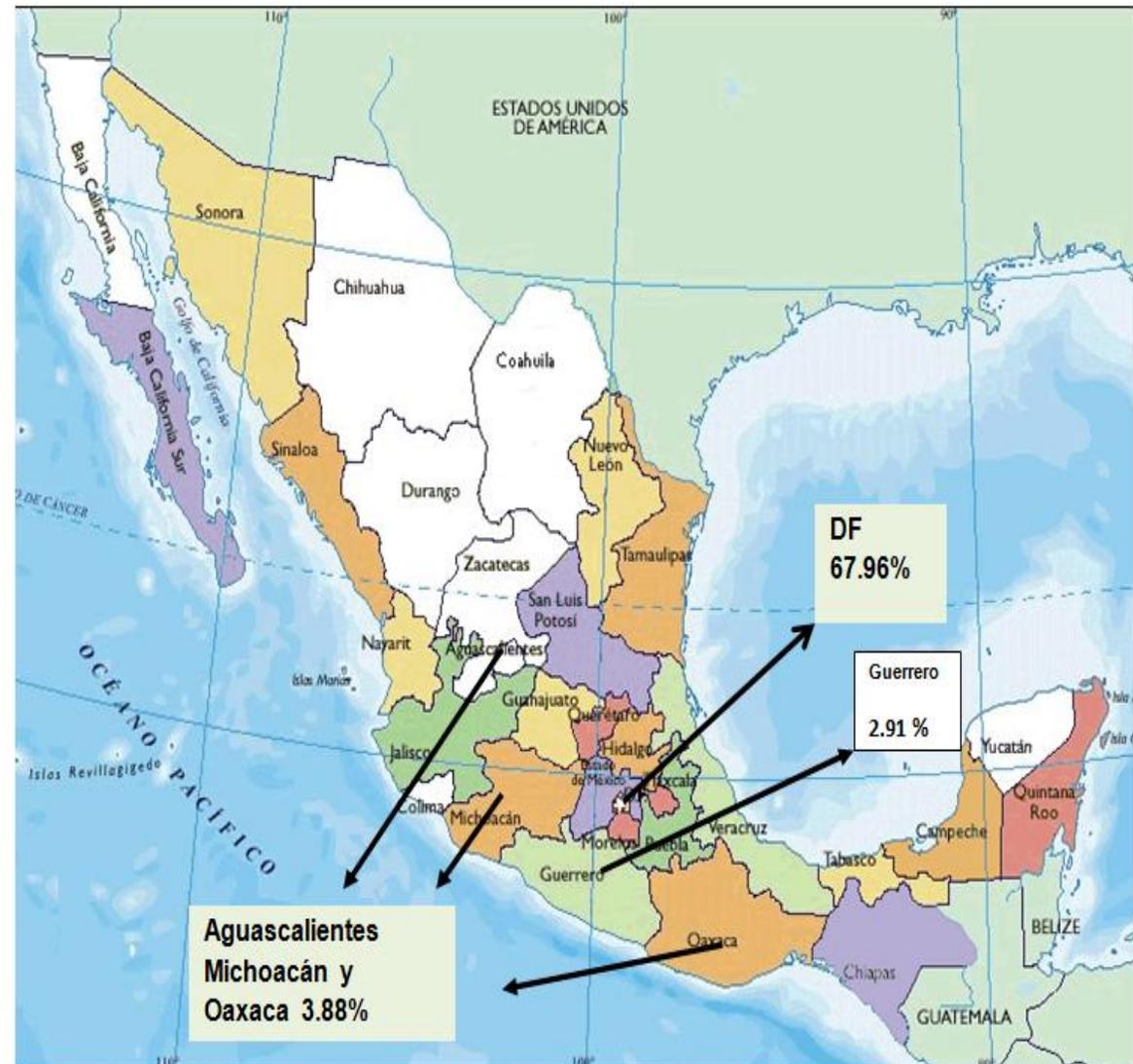
**Tabla 16** Es la Ocupación de los Pacientes con EM, siendo la gran mayoría empleados, y destacando que una parte del sector femenino son amas de casa y ningún hombre que se dedique al hogar.



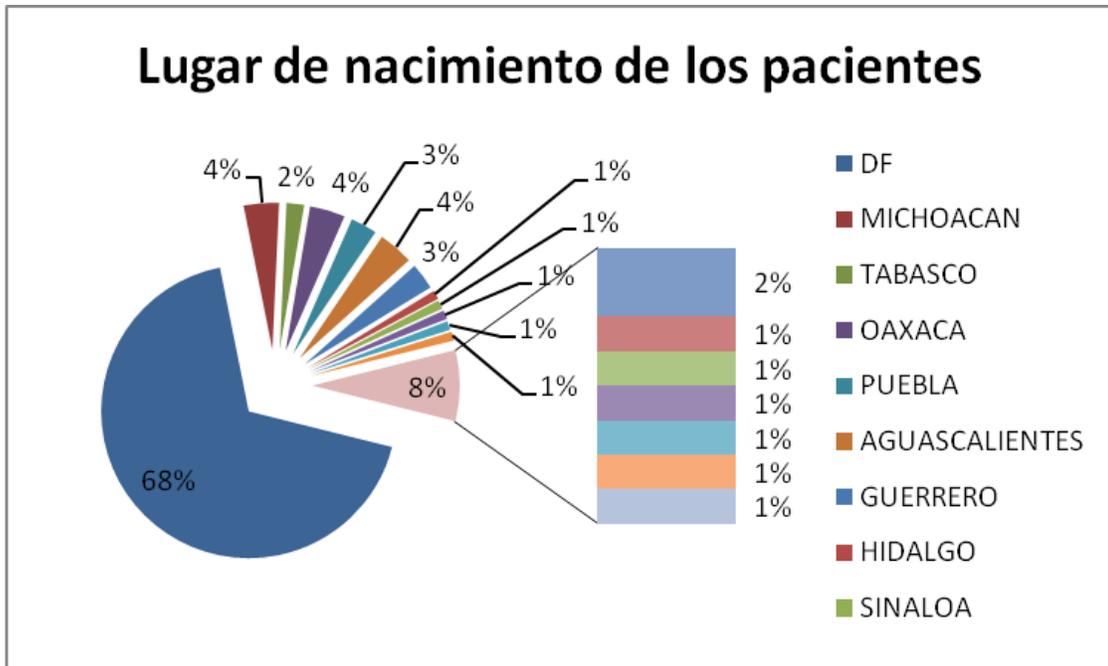
**Grafica 5** En porcentaje de pacientes vs ocupación de los pacientes con EM

## LUGAR DE NACIMIENTO

Mapa 3 República Mexicana



**Mapa 3** Se representan los Estados de la Republica el lugar de nacimiento de los pacientes de EM, siendo la gran mayoría originarios del Distrito Federal, siguiendole los provenientes de Aguascalientes, Michoacán, Oaxaca y Guerrero.



**Gráfica 6** Se muestra que un 68% de los pacientes atendidos en el Centro Médico Nacional “20 de Noviembre” ISSSTE.

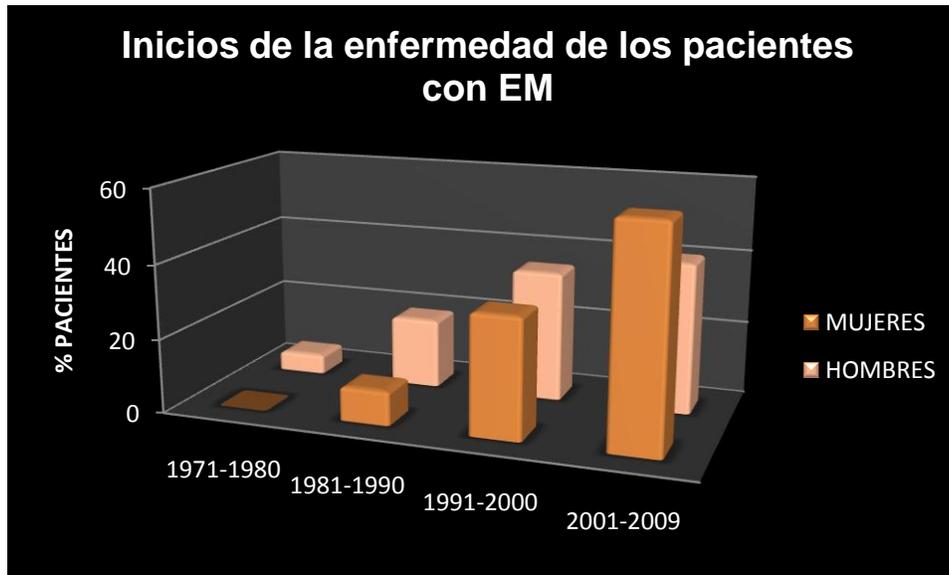
El 68% de los pacientes son originarios del Distrito Federal, es evidente porque dicho Centro se encuentra en este estado y el resto son foráneos procedentes de Sinaloa, Hidalgo, Guerrero, Aguascalientes, Puebla, Tabasco, y Michoacán. Si observamos el mapa 3 se puede ubicar que estos estados son los que están cercanos al D.F.

La probable razón por la que no se hayan tenido pacientes de los estados del Norte o los que están en la península es primero su ubicación y los gastos que implica hacer un viaje.

En un futuro se pudiesen proponer opciones para obtener muestras de los pacientes originarios de estos estados, quizás con los suficientes recursos económicos el investigador pueda viajar a estas entidades o bien financiar el traslado de los pacientes al D.F con el fin de aumentar el banco de muestras de DNA genómico que se tiene en dicho centro.

## ANÁLISIS DE LAS CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DE LA EM

Esta información se obtuvo cuando el paciente respondió un cuestionario (Ver Anexo II) y una pregunta que se diseñó para saber el año en que fueron diagnosticados con la enfermedad.



**Grafica 7** Inicios de la enfermedad de los pacientes con EM

Si bien es un trabajo en equipo con muchas áreas a fines a la enfermedad, para poder dar un diagnóstico definitivo de EM, y con el transcurso de los años se han mejorado las técnicas para dar un resultado con mayor confiabilidad. En la gráfica 6 se observa que las evolucionarias técnicas de diagnóstico de EM sirvieron para darnos cuenta que las mujeres son las más propensas a padecer la enfermedad que los hombres y es más notorio entre los periodos que comprenden de 1991-2000 y 2001-2009.

## CONCLUSIONES

- ✓ En este estudio el polimorfismo *CD24<sup>v</sup>* se encuentra asociado estadísticamente a la EM en los pacientes que fueron analizados, al comparar los genotipos y alelos entre pacientes y controles, se demostró que *CD24<sup>v</sup>* en su estado homocigoto como en el heterocigoto está relacionado con la enfermedad. Lo que sugiere que este polimorfismo participa en el desarrollo de la EM. Si bien se trabajó con una muestra representativa de la población, es necesario ampliar el número de casos y controles para poder establecer si se trata de un marcador de susceptibilidad en la población mexicana.
- ✓ Con respecto a la relación de *CD24<sup>v</sup>* y la disfunción neurológica, encontramos una asociación estadísticamente significativa entre genotipos y la escala de EDSS. Sin embargo, este resultado no establece que *CD24<sup>v</sup>* esté relacionado a la progresión de la EM. Para conocer si la evolución del padecimiento es más rápida o lenta, es necesario tener un seguimiento de las condiciones clínicas de su enfermedad; un herramienta para valorar la evolución son la escalas de disfunción como EDSS o las escalas de sobrevida, valoradas en diferentes momentos de la evolución, lo que no fue posible determinar en este trabajo porque las evaluaciones posteriores requieren del paso de largos lapsos de tiempo.

## PERSPECTIVAS

- Como propuesta a futuro y poder determinar el posible *rol* que juegue  $CD24^V$  en la progresión de la enfermedad habrá que hacer un seguimiento de los pacientes iniciando con la consulta de sus expedientes, para ver si no han tenido recaídas o su EDSS se haya visto modificado. Esto es con la finalidad de trazar una curva de vida para obtener datos que nos permitan monitorear el comportamiento del polimorfismo en el paciente.
- Además que sería interesante en un futuro buscar colaboraciones con los centros donde se estén llevando investigaciones al respecto, más con los países que tienen la mayor tasa de mortalidad a causa de la enfermedad como son Dinamarca, Canadá, Estados Unidos de América porque ellos cuentan con más población afectada y eso pudiese ayudar a determinar la asociación del polimorfismo con la disfunción neurológica.
- También se buscaría colaboraciones en la misma república mexicana con todas las instituciones ya sean del mismo ISSSTE, IMSS, hospitales públicos y privados; con el área de neurología e inmunología para poder obtener más muestras de pacientes mexicanos y con esto ampliar el banco de DNA genómico.
- El conocimiento de marcadores genéticos relacionados con la EM, ayudará a los médicos tratantes de esta condición, como los inmunólogos y neurólogos, a elegir un tratamiento personalizado basado en la inmunomodulación más que en la inmunosupresión; con el propósito de limitar las complicaciones y mejorar la calidad de vida, así como lograr un mejor control y un seguimiento adecuado.

- Finalmente gracias al estudio del ADN hemos visto que no solamente podemos estudiar genes que nos hagan propensos a padecer una enfermedad como es el caso de la EM y el polimorfismo  $CD24^V$  la idea es que en un futuro se puedan hacer de manera personalizada los diagnósticos y tratamientos.

## **BIBLIOGRAFÍA**

1. Alberts B, Bray D.(1996). Biología Molecular de la Célula. 3° ed. Omega. Barcelona.
2. Fernández O, (2005). Esclerosis Múltiple.2°ed. McGraw-Hill. México
3. Cuevas García C. (2007). Fronteras en la Esclerosis Múltiple. Ed. Asociación Medica Mexicana para el estudio de la Esclerosis Múltiple, A.C. México.
4. Horton R, Moran L, Scrimgeour K, Perry M, Rawn D. (2008). Principios de Bioquímica. 4° ed. Pearson Educacion. Mexico.
5. Klug W.S. (2006). Conceptos de Genética. Pearson Educacion. Madrid.
6. Oger J. (2007). Multiple Sclerosis for the Practicing Neurologist. V.5 DEMOS.EUA.
7. Patestas MA, Gartner L. (2008). Neuroanatomía Clínica. El Manual Moderno. México.
8. Rodríguez M. (2008). Advances in Multiple Sclerosis and Demyelinating Diseases. Springer. USA.
9. Salinas Carmona M. (2007). Inmunología Médica. McGraw-Hill. México.
10. Strachan T, P. Read A. (2006). Genética Humana. 3° ed. McGraw-Hill. México.

## **Referencias Hemerográficas:**

- 11.Cervantes A. Genómica, medicina y sociedad. Sociedad Médica del Hospital general de México. 2003; 4 (66): 224-234.
- 12.Compston A, Coles A. Multiple Sclerosis.Lancet. 2008; 372 (9648):1502-17.
- 13.Disanto G, Berlanga A et al. Heterogeneity in Multiple Sclerosis: Scratching the surface of a Complex Disease. Autoimmune Diseases. 2011:1-12.
- 14.Fang X, Zheng P, Tang J, Liu Y. CD24: from A to Z. Cellular & Molecular Immunology 2010; 7: 100-103.

15. Fugger L, Friese M, Bell J et al. "From genes to function: the next challenge to understanding multiple sclerosis". *Nature Rev. Immunol.* 2009; 9: 408-417.
16. Hafler D. Multiple sclerosis. *The Journal of Clinical Investigation.* 2004. 6 (113): 788-95.
17. Hoppenbrouwers I.A, Hinten R.Q. Genetics of multiple sclerosis. *Biochim. Biophys. Acta* 2010.
18. Kurtze JF. Rating neurologic impairment in multiple sclerosis: an expanded disability status scale (EDSS). *Neurology* 1983; 33 (11):1444-1452.
19. Mc Donald WI. Recommended diagnostic criteria for multiple sclerosis: guidelines from the international Panel on the diagnosis of multiple sclerosis. *Ann. Neurol* 2001; 50 (1):121-127.
20. Mohammad R, Sadeq V, Masoud E. CD24 gene polymorphism is associated with the disease progression and susceptibility to multiple sclerosis in the Iranian population. *Psychiatry Research* 2009; 170:271-272.
21. Otaegui D, Sáenz A, Camaño P, Blázquez L, Goicoechea M, Ruíz-Martínez J, Olaskoaga J, Emperanza JA, López de Munain A. CD24 V/V is an allele associated with the risk of developing multiple sclerosis in the Spanish population. *MultScler* 2006;12: 511-514.
22. Pierrot-Deseilligny C, Sourberbielle J et al. Is hypovitaminosis D one of the environmental risk factors for multiple sclerosis?. *Brain* 2010; 133: 1869-1888.
23. Wang L, Citation: Wang L, Lin S, Rammohan KW, Liu Z, Liu JQ. A dinucleotide deletion in CD24 confers protection against autoimmune diseases. *PLoS Genet* 2007; 3(4): 0508-0517.
24. Zhou D, Rammohan K, Lin S, Robinson N, Li O, Liu X. CD24 is a genetic modifier for risk and progression of multiple sclerosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100: 1541-46.

25. Zuvich RL, McCauley JL, Pericak-Vance MA, Haines JL. Genetics and Pathogenesis of Multiple Sclerosis. Semin Immunol 2009; 6: 328-333.

### **Sitios de Internet Consultados**

26. Instituto de Neurología y Neurocirugía <http://www.innn.salud.gob.mx>
27. Organización Mundial de la Salud (OMS) <http://www.who.int/es/>
28. FDA (Food and Drug Administration) <http://www.fda.gov/>
29. REGLAMENTO de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/compi/rlgsmis.html>
30. GACETA EN LÍNEA DE LA UNAM del día 21 de Febrero de 2011 <http://www.dgcs.unam.mx/gacetaweb/>

## **APÉNDICE**

### **ABREVIATURAS**

ADN	Ácido desoxirribonucleico
BO	Banda Oligoclonal
C	Citosina
CMH	Complejo Mayor de Histocompatibilidad
EDSS	Escala de discapacidad extendida de Kurtzke
EM	Esclerosis Múltiple
EMPP	Esclerosis múltiple primaria progresiva
EMRR	Esclerosis múltiple recurrente
EMSP	Esclerosis múltiple secundaria progresiva
GPI	Glicosilfosfatidilinositol
IRM	Imagen por Resonancia Magnética
LCR	Líquido Cefalorraquídeo
MAG	Glicoproteína de la mielina del oligodendrocito
OMS	Organización Mundial de la Salud
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa
RFLP	Polimorfismos en la longitud de los fragmentos de restricción
SNC	Sistema Nervioso Central
SNP	Polimorfismo de nucleótido simple
T	Timina
X <sup>2</sup>	Prueba estadística chí cuadrada

## ANEXO I



CENTRO MEDICO NACIONAL  
"20 DE NOVIEMBRE"



### CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

México D.F. a \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ del 2009

Yo \_\_\_\_\_ de  
manera libre y voluntaria DOY MI CONSENTIMIENTO, para ingresar al estudio  
titulado: **"Identificación de polimorfismos en el gen CD24 y su asociación  
con la disfunción neurológica en pacientes con esclerosis múltiple"**, sin  
que ello afecte la atención médica que recibo del Instituto.

Se me ha informado que el estudio ha sido aceptado y aprobado por el Comité  
Local de Ética e Investigación Clínica del Hospital CMN "20 de Noviembre  
ISSSTE", donde se realizará el estudio, por un período aproximado de 2 años.  
Se me ha explicado el propósito del estudio, la importancia que tiene este  
estudio para la atención de los pacientes con esclerosis múltiple, así como los  
conocimientos generados de este tipo de estudios y también se me ha dado a  
conocer los riesgos implícitos del procedimiento.

Para la realización de esta investigación se tomarán 5 ml de mi sangre, de la  
que se obtendrá DNA (las muestras se almacenaran en el laboratorio de  
Medicina Genómica bajo la responsabilidad de los investigadores relacionados  
al proyecto, por un periodo de 10 años, existiendo la posibilidad de utilizarlas  
posteriormente en otros estudios relacionados con esclerosis multiple) y 10 ml  
más de sangre para la determinación de poblaciones celulares (linfocitos).

El investigador se ha comprometido a darme la información oportuna de los  
resultados obtenidos y de las dudas que de ellos surjan, así como sobre  
cualquier manejo alternativo que pudiera ser ventajoso para mi tratamiento;  
además me ha dado la seguridad de que la realización de este estudio no  
pondrá en riesgo mi integridad física ó mental, y que los datos obtenidos serán  
manejados de forma confidencial y anónima, pero que los resultados agrupados  
que se deriven del mismo, podrán ser presentados en publicaciones o foros  
científicos y médicos.

Nombre del paciente (o representante legal):  
Firma:

Dirección:  
Teléfono (casa):  
Teléfono (trabajo)

Nombre del testigo:  
Firma:

Nombre del testigo:  
Firma:

Nombre del investigador:  
Firma:

En caso de dudas o requerir información adicional en relación con el proyecto de investigación, usted puede contactar con la Dra. María del Carmen Chima G. en el siguiente número telefónico: (55) 52-00-50-03, extensión 14605 y 14507.

Y si usted quisiera discutir su participación con una persona que no este directamente involucrado en el proyecto (delegado del comité de ética o persona autorizada) nosotros lo invitamos a contactar a la Coordinación de Investigación del CMN "20 de Noviembre", ISSSTE al teléfono: (55) 52-00-50-03, ext. 14609.

**ANEXO II**



Centro Médico Nacional  
"20 de Noviembre"  
Subdirección de Enseñanza e Investigación  
Coordinación de Investigación



**CÉDULA DE RECOLECCIÓN DE DATOS  
PROTOCOLO:**

**Identificación de polimorfismos en el gen CD24 y su asociación con la disfunción neurológica observada en pacientes con esclerosis múltiple.**

Iniciales del paciente:

Número:

Fecha:

**Datos generales:**

Nombre \_\_\_\_\_

Número de expediente (ISSSTE): \_\_\_\_\_

Edad: \_\_\_\_\_ Género: F  M

Lugar de nacimiento: \_\_\_\_\_

Domicilio y teléfono: \_\_\_\_\_

Estado civil: \_\_\_\_\_

Ocupación: \_\_\_\_\_

Escolaridad: \_\_\_\_\_

**Antecedentes heredofamiliares:**

Familiar directo con esclerosis múltiple SI  NO

Familiar directo con enfermedades neurológicas o autoinmunes SI  NO

Padecimientos neurológicos SI  NO

¿Cuál o cuáles? \_\_\_\_\_

Enfermedades autoinmunes SI  NO

¿Cuál o cuáles? \_\_\_\_\_

Otros \_\_\_\_\_

**Antecedentes personales:**

- Tabaquismo \_\_\_\_\_
- Alcoholismo \_\_\_\_\_
- Uso de drogas \_\_\_\_\_
- Alergias \_\_\_\_\_
- Transfusiones \_\_\_\_\_
- Infecciones de repetición \_\_\_\_\_
- DM \_\_\_\_\_
- HAS \_\_\_\_\_
- Cardiopatía \_\_\_\_\_
- Cáncer \_\_\_\_\_
- Cirugías \_\_\_\_\_

Otros: \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

**Antecedentes gineco-obstétricos:**

Menarca: \_\_\_\_\_  
Número de embarazos: \_\_\_\_\_ Partos: \_\_\_\_\_ Cesáreas \_\_\_\_\_ Abortos: \_\_\_\_\_  
Padecimientos: \_\_\_\_\_

**Padecimiento actual:**

Fecha de inicio: \_\_\_\_\_ Fecha de diagnóstico: \_\_\_\_\_  
Criterios McDonald: \_\_\_\_\_

Estudios complementarios:

Prueba Figura de Rey: \_\_\_\_\_

Prueba WAIS-III: \_\_\_\_\_

**Patrón linfocitario:**

Subpoblaciones linfocitarias:

CD3 \_\_\_\_\_ CD4 \_\_\_\_\_ CD8 \_\_\_\_\_  
RELACIÓN CD4/CD8 \_\_\_\_\_

**Polimorfismos *CD24*:**

CD24<sup>v</sup> \_\_\_\_\_

P1527<sup>del</sup> \_\_\_\_\_

Recaídas:  
Fecha:

Características:

Tratamiento:

Complicaciones:

**Situación clínica actual:**

Cuestionario MUSIQol: \_\_\_\_\_

Evaluación EDSS: \_\_\_\_\_

## **Glosario**

Ácido desoxirribonucleico (DNA): Macromolécula que normalmente está formada por cadenas polinucleotídicas antiparalelas unidas por puentes de hidrógeno, en la que el residuo de azúcar es la desoxirribosa. Es el portador principal de información genética.

Alelo: Uno de los posibles estados mutacionales de un gen, que se distingue de otros alelos por sus efectos fenotípicos.

Alteración en la vejiga o intestinos: dificultades que presentan algunos enfermos para retener la orina, intentar orinar o defecar.

Alteraciones en el equilibrio: dificultad para mantenerse en pie sin caerse.

Ambiente: Conjunto de factores geográficos, climáticos y bióticos en el que viven los organismos.

Análisis de chi cuadrada ( $X^2$ ): Prueba estadística para determinar si una serie de datos observados se ajusta a los datos esperados teóricamente.

Anticuerpo: Proteína (inmunoglobulina) producida en respuesta a un estímulo antigénico, que tiene la capacidad de unirse específicamente al antígeno.

Antígeno: Molécula, generalmente una proteína de superficie celular, que puede inducir la formación de anticuerpos.

Apoptosis: Programa controlado genéticamente de muerte celular, activado como parte del desarrollo normal o como consecuencia de daño celular.

Ataxia: Puede utilizarse indistintamente para referirse al síntoma de una coordinación defectuosa del movimiento muscular, o para nombrar una enfermedad degenerativa concreta del sistema nervioso de cuantas cursan con tal síntoma

Banda Oligoclonal: Es un examen para buscar proteínas relacionadas con inflamación en el líquido cefalorraquídeo (LCR), el líquido transparente que fluye en el espacio que rodea la médula espinal y el cerebro.

Las bandas oligoclonales son proteínas llamadas inmunoglobulinas que sugieren la presencia de una inflamación del sistema nervioso central. La presencia de estas bandas puede ser un signo de esclerosis múltiple.

Cebador: Oligonucleótido corto, con frecuencia de 15 a 25 bases de largo, con pares de bases específicamente para una secuencia blanco a fin de permitir que la polimerasa inicie la síntesis de un filamento complementario.

Crisis o brotes: recaída más o menos frecuente en una enfermedad.

Crónica: que dura mucho tiempo

Debilidad en las extremidades: pérdida de la fuerza.

Deterioro: Consiste en la pérdida o alteración ya sea psicológica, fisiológica o anatómica.

Disartria: Es un trastorno del habla cuya etiología se atribuye a una lesión del sistema nervioso central y periférico.

Disestesia: Es un trastorno de la sensibilidad superficial táctil.

Discapacidad: Es la disminución o pérdida de habilidad para realizar una actividad considerada normal para un individuo, que conlleva la limitación de la actividad.

Esclerosis: endurecimiento, cicatriz (en este caso del nervio)

Farmacogenética: Estudio de la influencia de los genes alelos individuales en el metabolismo o función de fármacos.

Farmacogenómica: Uso de los recursos del genoma a fin de identificar blancos para nuevos fármacos.

Gen candidato: En clonación posicional, un gen de localización cromosómica apropiada que se sospecha es el gen originario de una enfermedad. La sospecha se estudiaría buscando mutaciones en pacientes.

Hemiplejia: Es un trastorno del cuerpo del paciente en el que la mitad lateral de su cuerpo está paralizada; Es normalmente el resultado de un accidente cerebrovascular, aunque también pueden provocarla patologías que afecten la espina dorsal o los hemisferios cerebrales.

Heterocigoto: Individuo que tiene dos alelos diferentes en un locus particular.

Homocigoto: Individuo que tiene dos alelos idénticos en un locus particular.

Hormigueo: sensación molesta comparable a la producida por las hormigas cuando corren sobre la piel. Se parece también a la sensación de piernas dormidas.

Imagen por resonancia Magnética (IRM): También conocida como tomografía por resonancia magnética (TRM) o imagen por resonancia magnética nuclear (NMRI, por sus siglas en inglés) es una técnica no invasiva que utiliza el fenómeno de la resonancia magnética para obtener información sobre la estructura y composición del cuerpo a analizar. Esta información es procesada por ordenadores y transformada en imágenes del interior de lo que se ha analizado.

Es utilizada principalmente en medicina para observar alteraciones en los tejidos y detectar cáncer y otras patologías. También es utilizada industrialmente para analizar la estructura de materiales tanto orgánicos como inorgánicos.

Locus: Localización cromosómica única que define la posición de un gen individual a la secuencia de DNA.

Mielina: Cubierta de múltiples capas, compuestas básicamente de grasas y proteínas. La mielina aísla las fibras nerviosas unas de otras y ayuda a la conducción del impulso nervioso.

Mielopatía: Es una afección crónica de la médula espinal (generalmente se usa el término cuando la afección no es causada por inflamación o traumatismo aunque existen excepciones). Se puede considerar como un conjunto bien definido de síntomas que afectan específicamente a la médula espinal (sean cuales sean) que pueden ser causados por diversos factores.

Minusvalía: Es la consecuencia del deterioro y la discapacidad. Introduce limitaciones en el cumplimiento de un papel que es normal para el individuo, lo que produce una restricción de su participación en la vida familiar y social.

Múltiple: numerosa, repetida varias veces

Mutación: Proceso que da lugar a una alteración del DNA o en la estructura de un cromosoma; el origen de la mayoría de los alelos.

Mutación puntual: Mutación que se puede cartografiar en un solo locus. A nivel molecular, es una mutación que resulta de la sustitución de un nucleótido por otro.

Neuralgia: Se define como un síntoma provocado por un fallo del sistema nervioso consistente en un trastorno sensitivo o dolor sin que la función motora se vea afectada.

Neurología: rama de la medicina que estudia la estructura, funciones y enfermedades del sistema nervioso central

Neurona: Son un tipo de células del sistema nervioso cuya principal característica es la excitabilidad eléctrica de su membrana plasmática; están especializadas en la recepción de estímulos y conducción del impulso nervioso

Nucleósido: Purina o Pirimidina unida covalentemente a una molécula de azúcar ribosa o desoxirribosa.

Nucleótido: Nucleósido unido covalentemente a un grupo fosfato. Los nucleótidos son las piezas básicas para la construcción de los ácidos nucleicos.

Paraparesia: Pérdida de fuerza, sin llegar a la parálisis, que se localiza en ambos miembros inferiores.

Polimorfismo: Estrictamente, existencia de dos o más variantes (alelos, fenotipos, variantes de secuencia, variantes de estructura cromosómicas) a frecuencias importantes en la población. Los usos laxos entre genetistas moleculares incluyen 1) cualquier variante de secuencia que se encuentra a una frecuencia  $> 1\%$  en una población. 2) cualquier variante de secuencia no patogénica, prescindiendo de la frecuencia.

Polimorfismo de longitud de fragmentos de restricción (RFLP): Variación de la longitud de los fragmentos de DNA generados por endonucleasas de restricción. Estas variaciones están ocasionadas por mutaciones que crean o suprimen sitios de corte para las enzimas de restricción. Los RFLP se heredan de manera codominante y pueden utilizarse como marcadores génicos.

Remisiones: disminución de la intensidad de los síntomas de la enfermedad, mejoría.

Rigidez o espasticidad: contracción involuntaria y persistente de músculo o grupo muscular que disminuye la flexibilidad de las extremidades.

Síntomas: manifestaciones clínicas de una enfermedad. Por ejemplo: dolor de cabeza, mareo, dolor de garganta, etc.

Sistema nervioso central: comprende el cerebro y médula espinal

Temblor involuntario: movimientos involuntarios, rápidos, breves y repetidos.

Trastornos de la sensibilidad: alteraciones de las sensaciones que se reciben a través de la piel, como por ejemplo, frío, calor, dolor.