



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO

---

---

FACULTAD DE MEDICINA  
DIVISION DE ESTUDIO DE POSGRADO

“CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DEL  
GEN *PABPN1* EN TRES FAMILIAS  
MEXICANAS CON DISTROFIA MUSCULAR  
OCULOFARINGEA”

TESIS DE POSGRADO

PARA OBTENER EL DIPLOMA DE  
ESPECIALIDAD EN GENETICA MÉDICA  
P R E S E N T A:

NANCY XILOTL DE JESÚS



DR. EDUARDO LICEAGA

ASESOR DE TESIS:  
DR. SERGIO A. CUEVAS COVARRUBIAS  
DRA. MARÍA DEL REFUGIO RIVERA VEGA

CIUDAD DE MEXICO

2019



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.



DR. SERGIO ALBERTO CUEVAS COVARRUBIAS  
MEDICO ADSCRITO AL SERVICIO DE GENÉTICA  
HOSPITAL GENERAL DE MÉXICO

DRA. MARÍA DEL REFUGIO RIVERA  
MEDICO ADSCRITO AL SERVICIO DE GENÉTICA  
HOSPITAL GENERAL DE MÉXICO

“CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DEL GEN *PABPN1* EN TRES FAMILIAS  
MEXICANAS CON DISTROFIA MUSCULAR OCULOFARINGEA”

PRESENTA

NANCY XILOTL DE JESÚS

TUTORES:

DR. SERGIO ALVERTO CUEVAS COBARRUBIAS

DRA. MARIA DEL REFUGIO RIVERA VEGA

Ciudad de México, México.

Julio 2019

## II. AGRADECIMIENTO

Le agradezco al universo por darme la posibilidad de vivir esta asombrosa experiencia, al sol por darme energía y fuerza para concluir esta etapa de mi vida, a mi familia por haberme apoyado todo este tiempo de mi carrera profesional.

A la Dra. María del Refugio Rivera Vega, al Dr. Sergio Alberto Cuevas Covarrubias, a la Dra. Gloria E. Queipo García, al Dr. Juan Manuel Valdés Miranda, por su guía y todo el aprendizaje compartido para mi formación profesional, al Dr. Oscar Francisco Chacón C, al Dr. Alejandro Martínez Herrera por la colaboración para la realización de este proyecto.

A todos los médicos de base, compañeros, personal de genética del hospital general de México, por su apoyo durante estos tres años, quienes me ayudaron para formarme de la mejor manera.

### ***III. SIGLAS Y ABREVIATURAS***

DMD: Distrofia muscular de Duchenne

OPMD: Distrofia muscular oculofaríngea

MRC: Medical research council

Hz: Hertz

Ms: Milisegundos

Ck: Creatinina cinasa

VESS: Video endoscópico de deglución

VFSS: Videofluoroscopia de la deglución

EEl: Esfínter esofágico inferior

PABPN1: Proteína nuclear de unión a poli (A) 1

INI: Inclusiones intranucleares tubulofilamentosas insolubles

PAP: Polimerasa poli A

PAS: Sitio de poliadenilación proximal

UPS: Sistema de poliadenilación proximal

APA: Poliadenilación alternativa

EMG: Electromiografía

miARN: Micro ARN

UPR: Proteína no plegada

GA: Acetat de guanabenz

RE: Retículo endoplásmico

AAV: Virus adeno-asociados

shRNAs: ARN de horquilla pequeña

ARNi: ARN de interferencia

## ***IV. INDICE***

II. AGRADECIMIENTO .....	5
III. SIGLAS Y ABREVIATURAS .....	6
IV. INDICE .....	7
V. INTRODUCCIÓN.....	9
VI. ANTECEDENTES .....	11
DEFINICIÓN.....	12
EPIDEMIOLOGÍA .....	12
DIAGNÓSTICO CLÍNICO.....	14
ETIOLOGÍA .....	18
DIAGNÓSTICO.....	23
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	39
PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.....	40
JUSTIFICACIÓN .....	41
HIPÓTESIS.....	42
OBJETIVOS .....	42
OBJETIVO GENERAL.....	42
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	42
DISEÑO DEL ESTUDIO .....	43
TIPO DE INVESTIGACIÓN: .....	43
POBLACIÓN Y TAMAÑO DE LA MUESTRA: .....	43
CRITERIOS DE SELECCIÓN:.....	43
DEFINICIÓN DE VARIABLES Y UNIDAD DE MEDIDA.....	44
METODOLOGÍA.....	45
ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....	46
ASPECTOS ÉTICOS.....	46
RESULTADOS .....	47
REPORTE DE CASOS.....	47
RESULTADOS .....	53
DISCUSIÓN.....	55
CONCLUSIÓN .....	58
BIBLIOGRAFÍA.....	59



## ***V. INTRODUCCIÓN***

Las distrofias musculares son un grupo heterogéneo de trastornos degenerativos hereditarios asociados con debilidad muscular progresiva. Existe una variabilidad significativa en la clínica y la causa genética; pueden afectarse los músculos de las extremidades, axiales y faciales, también los músculos respiratorios, los músculos lisos cardiacos y los de la deglución. En variantes poco menos frecuentes se afectan órganos como cerebro, oído interno, ojos y la piel. La severidad, edad de inicio, tasa de progresión y las complicaciones varían mucho en los diferentes tipos de distrofias musculares y de las mutaciones genéticas que presenten. También hay variabilidad incluso en los pacientes que presenten el mismo trastorno y la misma mutación genética. Se pueden transmitir con herencia autosómica dominante, autosómica recesiva, ligada al X o también surgir como casos esporádicos resultado de una mutación de novo. La presentación temprana durante la infancia es más severa y tradicionalmente el diagnóstico se basa en características clínicas y patológicas. Recientemente, la mayoría de las distrofias musculares se han clasificado en base de la confirmación genética molecular y el conocimiento sobre la base molecular de estos trastornos ha llevado al desarrollo de nuevos enfoques de tratamiento, varios que ya están en ensayos clínicos.

Las distrofias musculares como desórdenes individuales, son relativamente raros, pero como grupo representan una fracción considerable de pacientes con enfermedad neuromuscular. Distrofia muscular de Duchenne (DMD) es la más común de las enfermedades musculares hereditarias que afecta en la infancia, se encuentra en aproximadamente 8.3 por 100,000 niños. En adultos, la distrofia miotónica es la forma más común, que afecta aproximadamente a 10.6 por cada

100,000 personas, seguida de distrofia facioescapulohumeral, que afecta a un estimado de 3 por cada 100,000 personas. La prevalencia de las distrofias musculares varía significativamente según la región. La distrofia muscular congénita de Ullrich es la forma más común de distrofia muscular congénita a nivel mundial, aunque la distrofia muscular de Fukuyama es el tipo más común en Japón debido a una mutación fundadora recesiva en este país.<sup>[1]</sup>

La distrofia muscular oculofaríngea (OPMD, por sus siglas en inglés) es un trastorno neuromuscular de presentación tardía que se caracteriza por ptosis, disfagia y debilidad muscular proximal, con inclusiones de filamento nuclear en las fibras musculares esqueléticas como su sello patológico. La causa subyacente es la expansión anormal del triplete (GCN) mutaciones que conducen a un alargamiento del tracto en el exón 1 del gen de la proteína nuclear de unión a poliadenilato 1 (*PABPN1*) en el cromosoma 14q11.1.

A continuación, se expone a tres familias mexicanas con dos generaciones afectadas de Distrofia Muscular Oculofaríngea y diagnosticados molecularmente mediante secuenciación del gen *PABPN1*.

## ***VI. ANTECEDENTES***

La blefaroptosis (ptosis del párpado superior) es una alteración del margen del párpado superior anormalmente bajo en la mirada primaria, causando el estrechamiento de la abertura y la fisura palpebral, cubriendo parte del ojo. La blefaroptosis puede ser congénita o adquirida y puede afectar a uno o ambos ojos, puede ocurrir como un signo aislado o como un signo acompañante de alguna anomalía de una enfermedad sistémica.

La blefaroptosis de inicio en el adulto puede estar relacionada con varias entidades patológicas y puede surgir por causas miogénicas, neurogénicas, mecánicas o traumáticas. Específicamente la de causa miógena se puede observar como signo patológico inicial en un gran número de enfermedades genéticas y se presentan con ptosis y ausencia del pliegue del párpado superior, mala función de los músculos oculares elevadores del párpado y retraso en la mirada hacia abajo.

Una causa conocida de blefaroptosis miogénica es la distrofia muscular oculofaríngea (OPMD) que es una enfermedad hereditaria que usualmente comienza entre la quinta y sexta década de la vida con ptosis del párpado, disfagia progresiva y debilidad proximal. A pesar de los recientes avances en la comprensión de su base molecular, parece que OPMD permanece subdiagnosticado o el diagnóstico se realiza muy tardíamente. Por esto se ha convertido en un reto diagnóstico y terapéutico por su complejidad. Hoy en día, este padecimiento es una causa frecuente de consulta en diversas especialidades médicas, por lo que es importante realizar un adecuado examen físico y tener los conocimientos para detectar y evaluar la semiología de la

blefaroptosis, disfagia y debilidad muscular proximal progresiva, así como, la capacidad de realizar un buen diagnóstico diferencial para descartar otro padecimiento con clínica similar a OPMD [2].

## **DEFINICIÓN**

La distrofia muscular oculofaríngea (OPMD) es una miopatía hereditaria transmitida de manera autosómico dominante y caracterizada por una tríada clínica: blefaroptosis progresiva, disfagia y debilidad proximal de las extremidades [3], dichos síntomas tienen un inicio en la adultez, típicamente entre la quinta y sexta década de la vida y son presentados de manera progresiva [4]. Tiene una Penetrancia de 99 % a los 70 años Se caracteriza también por la presencia de inclusiones de filamento nuclear único en las fibras musculares esqueléticas como su sello patológico en la biopsia [5]. Con el tiempo, otros músculos voluntarios proximales también pueden verse afectados. La progresión de la enfermedad en OPMD es lenta así que tiene una esperanza de vida normal, aunque la calidad de vida se ve significativamente afectada.

## **EPIDEMIOLOGÍA**

La distrofia muscular oculofaríngea (OPMD) se describió por primera vez en una familia franco-canadiense en 1915 por Taylor y se introdujo el término en 1962. OPMD tiene distribución mundial afectando en al menos 33 países. La enfermedad tiene variaciones sustanciales en la incidencia entre diferentes poblaciones. El mayor grupo de OPMD se encuentra concentrado en la población franco-canadiense donde la incidencia fluctúa de 1 en 1000 en Quebec a 1 en 200.000 en Francia [3]. La prevalencia más alta se encuentra entre los judíos de

Bukhara en Israel (~1: 600) y en Europa, la prevalencia estimada es de 1: 100 000 [4].

Recientemente se han reportado un número significativo de individuos en Nuevo México con la enfermedad, con un ancestría de familias españolas coloniales, actualmente se han reportado 594 individuos, se ha estimado al menos 1000 pacientes afectados aún sin diagnosticar [6].



Figura. 1 Distribución de OPMD en Nuevo México [10]

Cruz- Aguilar y colegas reportaron una cohorte de pacientes mexicanos afectados con esta enfermedad, todos los pacientes eran originarios del área central de México y todos eran mexicanos mestizos; los mexicanos mestizos son individuos que nacieron en México y al menos dos generaciones ascendentes también nacieron en este país, de todos los casos reportados 74 % de ellos tenía al menos un familiar afectado con OPMD, mientras que 26 % se reportaban aparentemente como único caso en la familia [3]. Otros de los únicos dos países latinoamericanos que han reportado molecularmente esta entidad, es Uruguay donde en familias uruguayas se reportó una mutación de efecto fundador para

OPMD, la incidencia fue inusualmente alta y muchas de las familiar manifestadas solían ser descendientes de inmigrantes canarios provenientes de Europa [10-11].

Cabe mencionar que estadísticas de casos reportados en población mexicana de esta institución el Hospital General de México, aún no se han reportado, por lo que esta tesis contribuye para la realización de establecer los datos en la prevalencia e incidencia de Distrofia muscular Oculofaríngea en población mexicana de pacientes del Hospital General de México.

Es muy importante en medicina reconocer esta entidad realizando el diagnóstico en la población, ya que, un diagnóstico apropiado no solamente dirige un tratamiento adecuado para la ptosis y disfagia, también es importante para evaluar y prevenir el manejo de otras comorbilidades como desnutrición y debilidad muscular proximal, que merman la calidad de vida en los pacientes afectados.

## **DIAGNÓSTICO CLÍNICO**

La sintomatología en distrofia muscular oculofaríngea, empieza insidiosamente y se manifiesta entre la quinta y sexta década de la vida, con un curso lentamente progresivo; eventualmente más allá de los 70 años, todos los pacientes son sintomáticos.

El principal de los síntomas es la ptosis, debido a la debilidad del músculo elevador del párpado y disfagia por debilidad de los músculos faríngeos, aunque otros músculos extraoculares pueden involucrarse gradualmente. La oftalmoplejía externa es rara y los músculos intrínsecos del ojo (músculo ciliar) no se ven afectados. La ptosis es siempre bilateral, pero pueden ser asimétrica.

Tras la progresión de la ptosis, los pacientes intentan compensar su limitación del campo visual contrayendo el músculo frontal y reclinando la cabeza.

Los síntomas de disfagia en OPMD generalmente se notan primero para alimentos sólidos, posteriormente los líquidos pueden volverse difíciles de tragar también. Se puede observar debilidad y atrofia de la lengua en la gran mayoría de los pacientes [4].

La progresión de la enfermedad varía de un individuo a otro. Las complicaciones incluyen asfixia, regurgitación, aspiración y neumonías recurrentes. La desnutrición es una de las principales causas de muerte en pacientes con OPMD, sin embargo, estos eventos en su mayoría pueden ocurrir en una edad posterior y la esperanza de vida parece no ser acortada, aunque la calidad de vida puede ser sustancialmente deteriorada durante los últimos años de vida.

El proceso miopático puede manifestarse con varios síntomas distintos a la ptosis y disfagia, como disartrofonía, debilidad proximal en extremidades y debilidad facial. Un pequeño número de pacientes en su años finales después de los 60 años necesitarán una silla de ruedas, mientras que otros en sus 80 años no presentan debilidad significativa de las extremidades [4-6].

Los músculos se van afectando de manera específica, simétrica y por su severidad, se pueden ir mencionando en orden descendente, en la siguiente secuencia: elevador palpebral del ojo, músculos de la lengua, faringe, músculos extraoculares, iliopsoas, aductor femoral, glúteo mayor, deltoides e isquiotibiales.

No hay tratamiento médico actualmente disponible para OPMD. Los tratamientos quirúrgicos se utilizan para corregir la ptosis y mejorar la deglución en moderada

a severamente afectada, sin embargo, la ptosis y la disfagia típicamente se repetirán dentro de cinco a quince años después de la cirugía [6-7].

En estadios avanzados de la enfermedad, los párpados se vuelven muy delgados y transparentes. La frente se vuelve arrugada permanentemente, se elevan las cejas y las crestas supraorbitales aparecen prominentes. Inicialmente, OPMD a menudo está restringida la función del músculo elevador palpebral y los músculos faríngeos. A medida que avanza la enfermedad, puede haber alteración de los movimientos extraoculares, ocasionalmente asociado con diplopía; sin embargo, la oftalmoplejía externa completa es infrecuente. La función de la retina no se ve afectada.

Cuando se cumplen los siguientes tres criterios clínicos, se establece que un paciente se ve afectado por OPMD por razones clínicas (Brais et al., 1995):

1. Historia familiar positiva con participación de dos o más generaciones
2. La presencia de ptosis (definida como separación vertical de al menos una fisura palpebral que mide menos de 8 mm en reposo) o cirugía correctiva previa para ptosis.
3. La presencia de disfagia, definida como tiempo de deglución superior en 7 segundos al beber 80 ml de agua fría. O con algún estudio videoendoscópico de la deglución (VESS) y un estudio de videofluoroscopia de la deglución (VFSS) son esenciales para documentar la disfunción de los músculos faríngeos y del esfínter esofágico superior (EEI).

La penetrancia para la aparición de los síntomas con la edad, varía con la alteración molecular, para los portadores de la expansión molecular (GCN) 13 son: 1% (<40 años), 6% (40-49 años), 31%(50–59 años), 63% (60–69 años), 99% (> 69 años) [9].

Sin embargo la edad de inicio de OPMD es variable y a menudo difícil de determinar con precisión.

Otros signos observados en el avance de la enfermedad son: debilidad de la extremidad superior proximal (38%), debilidad muscular facial (43%), limitación de la mirada superior (61%), disfonía (67%), debilidad proximal de las extremidades inferiores (71%) y atrofia de la lengua (82%). [9]

La gravedad de la enfermedad varía. El fenotipo severo, que representa del 5% al 10% de todas las OPMD, se caracteriza por la aparición de ptosis y disfagia antes de los 45 años; debilidad de extremidades inferiores a nivel proximal puede ser incapacitante y comienza antes de los 60 años. Algunos eventualmente necesitan una silla de ruedas. Aunque la OPMD no parece reducir la duración de la vida, la calidad de vida en años posteriores se ve muy disminuida [10]. Cabe destacar que la gravedad de la disfagia determina el pronóstico, ya que puede producir neumonías por aspiración potencialmente mortal, así como, llegar a una desnutrición importante para el declive de la calidad de vida de los individuos afectados.

## ETIOLOGÍA

Generalmente OPMD se transmite con una herencia autosómico dominante, muy raramente también se ha descrito como herencia autosómica recesiva. En 1998, se pudo mapear el locus del gen *PABPN1* que codifica la proteína de unión a poliadenilato nuclear 1, en el cromosoma 14q11.2-q13. El gen *PABPN1* normal, comprende en su secuencia codificante siete exones, donde en el extremo 5' del primer exón, existe una repetición de (GCN) 10 que codifica un estiramiento de polialanina (poliA), mientras que en OPMD esta repetición se expande a (GCN) 10-17. Curiosamente la homocigosidad para un alelo (GCG) 7 conduce a una forma autosómica recesiva de OPMD. En contraste con la mayoría de las enfermedades de expansión de tripletes, esta representa una de las pocas enfermedades causadas por una expansión de trinucleótido repetida muy corta y meióticamente estable, por lo que no aumenta en el tamaño de la mutación de generación en generación. La proteína resultante de las mutaciones en *PABPN1*, se acumulan como inclusiones intranucleares tubulofilamentosas insolubles resultando ser tóxico para la función celular muscular [14,15].

### Función de PABPN1

A lo largo de los años se han empleado una serie de enfoques para analizar la función de *PABPN1*, los primeros estudios revelaron que modula la poliadenilación a través de la procesividad de la poli (A) polimerasa (PAP). Sin embargo, se han reportado nuevas funciones de *PABPN1* dentro del rol celular que son específicamente importantes para reconocer los procesos celulares que podrían estar implicados en OPMD.

La proteína *PABPN1* se divide en tres dominios principales: un extremo N-terminal ácido, un dominio de unión a ARN de tipo ribonucleoproteína y un dominio C terminal básico rico en arginina. Dentro del dominio N-terminal, la metionina iniciadora es seguida inmediatamente por un tramo de 10 alaninas, en OPMD, este tramo se expande a 11-17 alaninas; el dominio N-terminal también contiene una región de bobina enrollada, esencial para la interacción de *PABPN1* con la PAP, modulando así la poliadenilación.

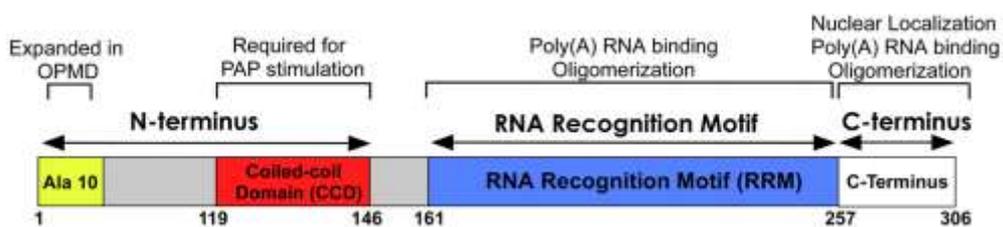


Figura 2. Estructura del gen *PABPN1*

Una función adicional es la acumulación nuclear de ARN poli A, que sugiere un defecto en la exportación de ARN poli A del núcleo. Los defectos de la poliadenilación podrían afectar los pasos de procesamiento del ARN en sentido requerido para la exportación eficiente de ARN poli A, que conduce a la acumulación intranuclear como consecuencia de la disminución de la función del gen *PABPN1*, conduciendo directamente a toxicidad celular y a apoptosis de las células musculares.

Se han reportado para la función de este gen, una poliadenilación alternativa, recientemente se ha demostrado una regulación en las células madres musculares a través de la modulación mediada por miARN de transcripción que codifica un regulador clave miogénico, la poliadenilación alternativa es crítica

para la regulación de la expresión génica y para el mantenimiento y regeneración de los músculos esqueléticos, que contribuye a la patogénesis de OPMD.

La función de *PAPBN1* puede tener mayor importancia en ciertos tipos de músculos que en otros, en particular de los músculos craneofaciales como los extraoculares, la lengua y los músculos faríngeos son particularmente vulnerables a la expansión de alanina <sup>[15]</sup>.

El desgaste muscular asociado con el envejecimiento se caracteriza por una disminución de la fuerza y masa muscular, este proceso está regulado por las vías de catabolismo de proteínas, en particular el sistema ubiquitina-proteasoma (UPS) y los niveles de expresión de los genes UPS se alteran en los trastorno de agregación de proteína de inicio tardío como en OPMD, sin embargo, los niveles de expresión de *PABPN1* se reducen en los músculos durante el envejecimiento normal y más prematuramente en la enfermedad OPMD, no está claro si la leve reducción de *PABPN1* en el envejecimiento, también causa la utilización de poliadenilación alternativa como en OPMD <sup>[16, 17]</sup>.

Debido a la naturaleza insidiosa de la enfermedad, a menudo es difícil identificar una fecha precisa de inicio de la enfermedad, el riesgo de diagnóstico erróneo con una miopatía mitocondrial es alta, por lo que se requiere una estrategia adaptada para el genotipado de la expansión en *PABPN1* <sup>[18]</sup>.

Actualmente una alteración mitocondrial ha sido propuesta como otra posible etiología de la OPMD, se han visto en estudios histológicos, cambios mitocondriales con inclusiones paracrystalinas, así como mitocondrias más grandes con crestas anormales. Se demostró también que los ARNm regulados por *PABPN1*, siguiendo una regulación hacia abajo codifican proteínas

mitocondriales y el deterioro de la poliadenilación, seguida de una inactividad de los ARNm específicos involucrando a Smaug y al complejo CCR4-NOT llevó a la desestabilización mitocondrial en un modelo de *Drosophila* de OPMD. Sin embargo aún no es claro si la anomalía mitocondrial es un desencadenante de la degeneración muscular en la fisiopatología de OPMD. Se ha visto también una localización errónea directamente de *PABPN1* en la membrana interna de mitocondrias y una reducida expresión de proteínas complejas de la cadena respiratoria en miofibras en modelo de ratones de OPMD, la mala localización de *PABPN1* no está asociada con la expansión de poli (A) más bien a una sobreexpresión del propio *PABPN1*, sin embargo se requieren investigaciones adicionales para una mejor comprensión de los roles de la mitocondrial en la patogenia de OPMD [19]

Correlación fenotipo genotipo.

Entre las enfermedades de expansión de triplete, OPMD es uno de los pocos causados por una corta expansión de repetición de trinucleóticos y no se observa anticipación dentro de las familias, pues es meióticamente estable. Son pocos los registros para establecer correlaciones fenotipo-genotipo, debido a la naturaleza rara de esta enfermedad.

Se ha visto que pacientes heterocigotos y homocigotos con OPMD, la edad media en el momento del diagnóstico y la gravedad de los síntomas clínicos se correlacionan con el número de repeticiones (GCN), sin embargo, hay una correlación negativa entre los tamaños de repetición y las puntuaciones neuropsicológicas.

Los pacientes homocigotos mostraron el peor fenotipo, lo que sugiere un efecto de dosis de genes además de la expansión del número de repetición, por lo que la determinación del tamaño de la expansión del triplete es una prueba muy importante para realizar a los pacientes con OPMD. <sup>[18]</sup>

Los alelos autosómicos dominantes tienen de 12 a 17 repeticiones GCN, las frecuencias encontradas de los alelos son:

5% (GCN) 12 / Ala12

40% (GCN) 13 / Ala13

26% (GCN) 14 / Ala14

21% (GCN) 15 / Ala15

7% (GCN) 16 / Ala16

1% (GCN) 17 / Ala17

Se han reportado pacientes portadores de mutaciones homocigotas para el gen *PABPN1* siendo esta extremadamente rara, teóricamente tiene una incidencia de 1:10,000 para la forma autosómica recesiva en Norte América, Europa y Japón, sin embargo esta forma de herencia parece estar infradiagnosticada. Esto puede tener diferentes razones ya que el fenotipo podría ser demasiado leve y manifestarse demasiado tarde en la vida, se ha visto también que la repetición de trinucleótidos es altamente heterogéneo.

Se ha reportado una microexpansión (GCN)11 encontrándose en el 2 % de personas sanas, considerada previamente como polimorfismo, sin embargo,

puede actuar como un modificador de fenotipo cuando es llevada a una expansión clásica heterocigota que contenga dicho polimorfismo, (GCN)11/(GCN) 12-17 o como mutación homocigota que presenta fenotipo de OPMD (GCN)11 / (GCN)11.

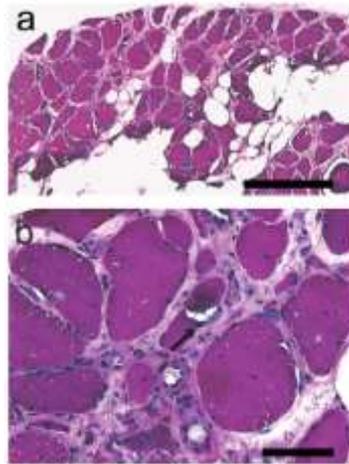
Se ha visto que los heterocigotos compuestos que contengan el polimorfismo, se manifestaban como un fenotipo más severo con inicio temprano de la enfermedad, por el contrario los homocigotos al polimorfismo (GCN)11 / (GCN)11 manifiestan un fenotipo leve con aparición tardía de la enfermedad. [26]

Los alelos autosómicos recesivos tienen 11 repeticiones de GCN, hasta el momento solo se ha observado en 8 casos de homocigosidad en (GCN) 11 / Ala11. [24, 26]

### **DIAGNÓSTICO**

La histología en las biopsia musculares de pacientes con OPMD muestra algunos cambios particulares, pequeñas fibras anguladas que representan un proceso de denervación concomitante relacionado con el envejecimiento, vacuolas bordeadas dentro de las fibras musculares, que probablemente se deriven de un proceso autofágico, similares en algunas miositis. Al microscopio electrónico se revelan inclusiones tubulofilamentosas de aproximadamente 8,5 nm en diámetro y de hasta 250 nm de longitud, dentro de los núcleos de las fibras musculares, que corresponden a las inclusiones intranucleares (INI) y parece ser el signo diagnóstico más específico en OPMD, después de las pruebas genéticas, el porcentaje de INI se estimó entre el 2 % y el 15 % de los mionucleos en los músculos con OPMD. Otros cambios histológicos comunes en distrofias musculares, son la pérdida de fibras musculares, variación anormal en el tamaño

de la fibra muscular, aumento en el número de núcleos, acumulación de tejido conjuntivo fibroso y tejido graso [4].



*Figura 3. A. Biopsia de músculos cuádriceps revelando variaciones de diámetro de fibra, fibrosis y degeneración grasa. B. fibras con núcleos centrales y vacuolas con borde basofílico (H&E, barra de escala 100  $\mu$ m).*

Se ha reportado la presencia de agregados nucleares y vacuolas bordeadas, en pacientes portadores de la mutación y aún presintomáticos. Se encuentran también hallazgos adicionales en la posible alteración de la función mitocondrial, ya que también se han encontrado acumulación de proteínas mitocondriales en biopsia muscular de esternocleidomastoideo en pacientes con OPMD, en un curso muy temprano de la enfermedad. Dion et al. Mostraron la presencia de agregados intranucleares en las neuronas cerebelosas de secciones cerebrales en la autopsia de un paciente con OPMD. Se han encontrado también una alta variabilidad en los músculos histológicamente más afectados, reforzando la sugerencia de variabilidad también en los patrones de debilidad muscular que presentan los pacientes con OPMD [21].

Se disponen de pocos datos sobre la histología y ultraestructura en pacientes afectados con OPMD recesivo, son solo dos reportes que han proporcionado cambios miopáticos inespecíficos sin vacuolas, mientras que el estudio ultraestructural se encontraron inclusiones paracristalinas dentro de la mitocondrial, pero no se encontraron las típicas inclusiones intranucleares. [26]

La electromiografía (EMG) generalmente revela signos discretos de un proceso miopático. Se han reportado hallazgos neuropáticos muy leves, pero se cree que están relacionados en la mayoría de los casos con la vejez o enfermedad concomitante. La EMG no es necesaria para el diagnóstico de OPMD porque es clínicamente inespecífica.

Se han visto concentraciones séricas elevadas de CK entre dos y siete veces por encima de valor normal en individuos con OPMD con debilidad severa en las piernas. En la mayoría de los casos, sin embargo, la concentración sérica de CK es normal o hasta el doble del valor normal superior. El nivel de CK no es relevante para el diagnóstico o seguimiento de los pacientes con OPMD [9].

## **DIAGNÓSTICO MOLECULAR**

El diagnóstico genético de la OPMD constituye una prueba valiosa para establecer acciones preventivas o terapéuticas; sin embargo, esto supone un desafío técnico debido al contenido de pares G/C extremadamente alto (hasta el 87%) de la región implicada. Para confirmar el diagnóstico en pacientes clínicamente sospechosos, se realiza la secuenciación de Sanger del DNA como el estándar de oro analítico, siendo este un método enzimático que permite determinar la secuencia del molde del gen *PABPN1* a medida que se sintetiza su hebra complementaria.

Las aproximaciones al uso para el genotipado del microsatélite (GCN)<sub>n</sub> en el gen *PABPN1* incluyen la estima de la longitud de amplicones mediante PCR o su secuenciación. En cualquier caso, se requieren condiciones especiales de PCR, como el uso de cebadores con elevada temperatura de fusión ( $T_m \approx 90 \text{ }^\circ\text{C}$ ), y la incorporación de aditivos (DMSO y 7-deaza-dGTP) que debilitan los dúplex de ADN, evitando la amplificación preferente del alelo normal en los heterocigotos, especialmente cuando el alelo mutante supera las 13 repeticiones (GCN)<sub>13</sub>.

## Algoritmo diagnóstico

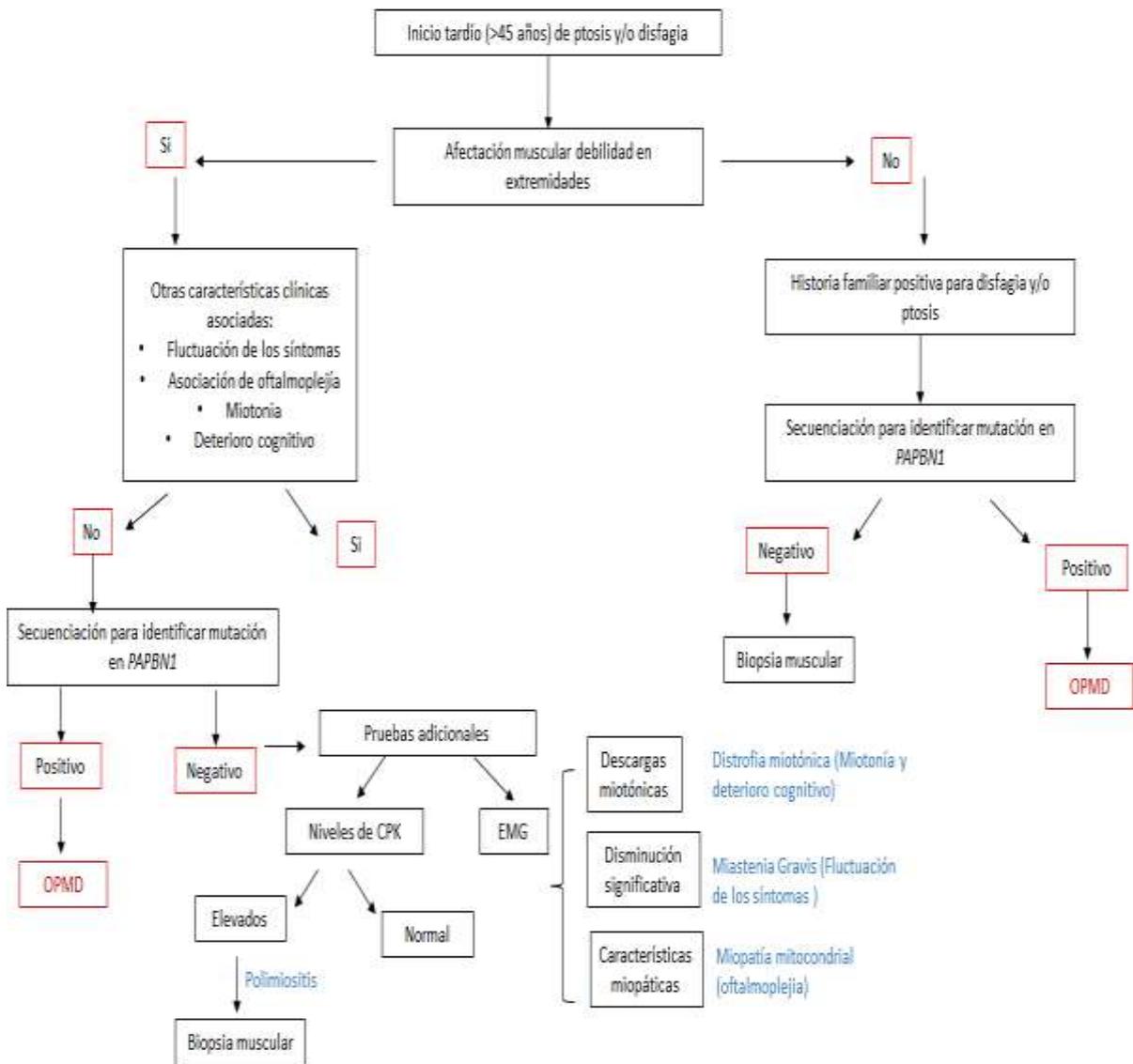


Figura 4. Algoritmo diagnóstico de OPMD.

## DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

El diagnóstico diferencial debe incluir todas las enfermedades neuromusculares de inicio tardío caracterizadas por dificultades para tragar y / o ptosis.

La enfermedad de Steinert, también conocida como distrofia miotónica de tipo 1, es una enfermedad muscular caracterizada por miotonía y daño multiorgánico que combina diversos grados de debilidad muscular, arritmias y/o trastornos de conducción cardíaca, cataratas, daños endocrinos, trastornos del sueño y calvicie. Es la más frecuente de las distrofias musculares de aparición en la edad adulta y su prevalencia se estima en 1/20 000 habitantes. La enfermedad está asociada con anomalías en el locus 19q13-2 (repetición anormalmente elevada del triplete CTG). La transmisión es autosómica dominante y puede ocurrir anticipación, es decir, la enfermedad puede ser más grave y aparecer antes en la descendencia.

Distrofia muscular miotónica tipo 2 (causada por una expansión de repetición de tetranucleótidos CCTG en el intrón 1 de CNBP y heredada de manera autosómica dominante) La miopatía miotónica proximal es una enfermedad multisistémica caracterizada por 1) déficit motor proximal (que afecta a las cinturas pélvica y escapular, asociado con mialgia frecuente que suele sugerir el diagnóstico; un 75% de los casos presenta miotonía y sólo un 12% de los pacientes desarrolla afectación de los músculos faciales; 2) temblores que se manifiestan en un 20-30% de los casos; 3) manifestaciones cardíacas con arritmia y anomalías de conducción y, en algunos casos, miocardiopatía, haciendo necesaria la vigilancia cardiológica en todos los pacientes; 4) opacificación de la cápsula posterior; 5) anomalías endocrinas con hiperhidrosis,

atrofia testicular, resistencia a la insulina y diabetes; 6) anomalías infrecuentes del sistema nervioso central (defectos visuoespaciales); 7) alteraciones bioquímicas (hipogammaglobulinemia, colestasis). La enfermedad se transmite de forma autosómica dominante y está causada por la expansión de una repetición CCTG en el intrón 1 del gen *CNBP* (3q21). Se ha descrito anticipación en algunas familias, pero no es un rasgo constante. No existe correlación entre el número de repeticiones CCTG y la edad de aparición de la enfermedad. La miopatía miotónica proximal puede distinguirse de la distrofia miotónica de Steinert mediante los siguientes criterios: 1) ausencia de forma congénita; 2) afectación mínima del sistema nervioso central (ausencia de hipersomnia); 3) topografía del déficit motor: déficit proximal sin afectación facial o bulbar; 4) mialgia frecuente; y 5) afectación cardíaca menos severa.

#### Miopatía distal autosómicas dominantes

Neuropatía motora hereditaria distal tipo VII (HMN7A; miopatía de Harper-Young), causada por la mutación del gen *SLC5A7*. En estas familias, la atrofia muscular está acompañada de afeción en cuerdas vocales y debilidad faríngea sin ptosis. Es parte de un grupo heterogéneo de trastornos neuromusculares causados por la degeneración selectiva de las neuronas motoras en el asta anterior de la médula espinal, el cuadro clínico se caracteriza por atrofia muscular distal en las piernas sin pérdida clínica sensorial, se comienza en la segunda década de la vida con atrofia progresiva de músculos distales y debilidad en extremidades resultando posteriormente una incapacidad para caminar, el trastorno se asocia con paresia de las cuerdas vocales debido a la alteración del décimo nervio craneal.

Miopatía distal 2 con un fenotipo similar de cuerda vocal y disfunción faríngea, causada por la mutación del gen *MATR3*. Comienza en la edad adulta, es una forma de distrofia muscular que involucra específicamente los músculos de la garganta, la parte inferior de las piernas y los antebrazos, la debilidad en los tobillos suele ser el primer síntoma de la miopatía distal, esta debilidad puede empeorar lentamente y dificultar la deambulaci3n. Otro rasgo característico de esta miopatía es la debilidad de las cuerdas vocales y la garganta, haciendo que la voz suene débil o entrecortada (hipofónica), con el tiempo la voz se convierte en nasal y ronca, la debilidad muscular también puede causar dificultad para tragar.

Miopatía mitocondrial con o sin oftalmoplejía externa progresiva (OEP), incluida la enfermedad de la encefalomiopatía neurogastrointestinal mitocondrial (síndrome MNGIE). La miopatía mitocondrial pura es una enfermedad mitocondrial poco frecuente caracterizada por una afectaci3n exclusiva en musculatura esquelética, manifestándose con debilidad progresiva de las extremidades, atrofia de los músculos proximales de las extremidades y anomalías de los músculos oculares (restricci3n de la motilidad ocular, ptosis). Los afectados pueden presentarse con acidosis láctica, mialgia difusa y fatiga generalizada (especialmente durante/después de realizar una actividad física), disfagia y una disminuci3n de los reflejos tendinosos profundos. El diagnóstico de miopatía mitocondrial se sugiere por presentar un historial de afecci3n de múltiples 3rganos, particularmente los que tienen un alto nivel de gasto aeróbico, como cerebro, coraz3n y músculo esquelético, se corrobora a la genealogía fenotipos similares con una herencia exclusivamente materna.

Miastenia gravis. La ausencia de antecedentes familiares y la fluctuación de los síntomas en la miastenia grave generalmente distinguen las dos condiciones. Es uno de los diagnósticos que muchos de los pacientes suelen tener, antes de confirmarse OPMD, por lo que la diferenciación entre miastenia gravis y OPMD es importante.

En caso de duda, la electromiografía y las pruebas de neostigmina pueden confirmar el diagnóstico de miastenia gravis y las pruebas de genética molecular pueden confirmar el diagnóstico de OPMD.

La MG puede manifestarse a cualquier edad, aunque suele tener dos picos: uno temprano en la segunda-tercera década (de predominio femenino) y otro tardío en la octava década (de predominio masculino). Actualmente se sabe que la MG puede asociarse con otras enfermedades autoinmunes como la neuromielitis óptica, la enfermedad tiroidea autoinmune, la artritis reumatoide o el lupus eritematoso sistémico.

Hay dos formas clínicas de la miastenia gravis:

- MG ocular: la debilidad se limita a los párpados y los músculos extraoculares.
- MG generalizada: la debilidad afecta tanto a los músculos oculares como a las funciones bulbares (masticación, disartria, disfagia), de los miembros o los músculos respiratorios.

Miastenia gravis ocular OMG

Es una forma localizada del trastorno autoinmune de miastenia gravis (MG) en la que los anticuerpos dirigidos contra los receptores de acetilcolina (AChR)

bloquea o destruye los receptores en la unión neuromuscular postsináptica. En muchos pacientes con OMG no es posible detectar anticuerpos contra AChR (MG seronegativa). A la clínica se caracteriza síntomas oculares como ptosis y/o diplopía indolora al afectar uno o más músculos extraoculares, la debilidad ocular es a menudo variable y aumenta con el uso muscular repetido a lo largo de día (fatigabilidad) y mejora con el descanso, el sueño y la temperatura fría. Tiene una incidencia de 5 por cada 100,000 por año y afecta en todas las edades, géneros y etnia, sin embargo muestra una predilección por los hombres. La MG generalizada también se debe considerar en todos los pacientes que presentes síntomas sistémicos como dificultad para tragar, dificultad para masticar alimentos, cambio en la voz y debilidad en las extremidades.

Blefarofimosis, ptosis y epicanto inverso (BPES). En esta afección, la ptosis suele ser congénita, siempre se asocia con epicanto inverso y la disfagia no es una característica. La prevalencia, aunque no ha sido evaluada de forma precisa, es probablemente menor de 1:5,000. BPES está caracterizado por blefarofimosis (reducción general de la abertura palpebral), ptosis, telecanto (incremento de la distancia entre los ángulos internos del ojo), epicanto inverso (piel plegada y elevada del párpado inferior y extendiéndose hacia arriba, revistiendo parcialmente el ángulo ocular interno). Se han observado dos subtipos de BPES. En el tipo 1, las anomalías palpebrales están asociadas con infertilidad femenina debido a anomalías en los ovarios y menopausia prematura. En el tipo 2, solamente se observan anomalías palpebrales. Los dos tipos presentan una transmisión autosómica dominante y el gen afectado es *FOXL2* en 3p23. Alrededor del 50% de los casos están causados por mutaciones de novo.

Fibrosis congénita de los músculos extraoculares (CFEOM). En esta afección, la ptosis es congénita y la disfagia no es una característica.

La miopatía oculofaringodistal sigue siendo una afección poco caracterizada en la cual la disfagia, la ptosis y la debilidad distal aparecen antes, se estima que en la segunda década de la vida. El modo de transmisión aún no está claro; Se han propuesto modos tanto dominantes como recesivos. Patológicamente, no se observan inclusiones intranucleares y no se observan variantes patógenas de *PABPN1* (GCN).

## **TRATAMIENTO**

Hasta el momento no hay tratamiento curativo, el tratamiento consiste en medidas para reducir el impacto de la ptosis y la disfagia, previniendo la desnutrición que influye de manera severa en la calidad de vida de los pacientes afectados. La optimización de proceso de deglución comienza con la rehabilitación, terapia que incluye orientación sobre la consistencia de los alimentos o el posicionamiento de la cabeza durante la deglución. Una dieta rica en proteínas se recomienda para un equilibrio nutricional óptimo.

La neumonía debida a la aspiración es una complicación frecuente que debe de ser prevenido. Si el estudio manométrico muestra hipertonia del esfínter esofágico superior el tratamiento de elección es comenzar con nifedipina (40 mg) o dinitrato de isosorbida (5mg).

La inyección de toxina botulínica en el musculo cricofaríngeo, bajo endoscopia, con 50 a 100 U por sesión logra la relajación del músculo y mejora la deglución, la desventaja es que el efecto gradualmente desaparece, pero las sesiones

pueden repetirse, esta opción terapéutica se indica en pacientes con alto riesgo de cirugía.

Dos técnicas quirúrgicas son empleadas principalmente para corregir la ptosis, la resección del elevador de la aponeurosis palpebráica y la cirugía de suspensión frontal de los párpados, generalmente se recomiendan cuando la ptosis interfiere con la visión o debido al incremento de las molestias causadas por las posturas compensatorias del cuello.

Alrededor del 80 % de los pacientes se puede beneficiar con la miotomía cricofaríngea, la presencia de disartria es un factor pronóstico para la respuesta deficiente a la miotomía cricofaríngea, a pesar de tener un cierto beneficio, este procedimiento no es repetible y no logra prevenir la degradación de la musculatura faríngea.

La dilatación cricofaríngea tiene una ventaja inherente en que el procedimiento es repetible en caso de recurrencia de los síntomas, pudiéndose repetir de manera segura durante varios años para proporcionar una mejora significativa en la disfagia. [35]

La gastrostomía percutánea constituye un tratamiento definitivo e invasivo para la disfagia, altera definitivamente la alimentación del paciente a través de la vía oral atrofiando esta misma, además de que la gastrostomía no impide completamente la aspiración, por lo que el uso de un catéter de yeyunostomía durante la gastrostomía, disminuye el riesgo de aspiración con respecto a un catéter de gastrostomía estándar. [30,31]

Se han desarrollado algunas terapias innovadoras, incluyendo una terapia celular en fase I/IIa que incluye un trasplante de mioblastos autólogos que ha mostrado una mejora en la capacidad de deglución de los pacientes con OPMD, disminuyendo el efecto de toxicidad celular.

Las estrategias farmacológicas de antriagregación han mostrado resultados positivos tanto in vitro como in vivo, una inyección intravenosa de trehalosa está actualmente en fase II de un ensayo clínico, encontrando mejora significativa en modelos de OPMD.

El Acetato de guanabenz (GA) es un antihipertensivo aprobado por FDA, se clasifica dentro de los receptores agonistas alfa 2 adrenérgicos y fue identificado recientemente para mostrar inhibición de la actividad de plegamiento de la proteína mediada por el dominio V del ARN ribosomal (PFAR) que es un componente de la subunidad mayor de los ribosomas. GA mostró efectividad en modelo de *Drosophila* para OPMD, mejorando la disfagia, pues disminuye la degeneración muscular reduciendo el tamaño de agregados intranucleares.

Se ha demostrado también que GA desempeña un papel beneficioso en los modelos de enfermedades neurológicas (por ejemplo esclerosis lateral amiotrófica) actuando sobre la respuesta de la proteína no plegada (UPR). Se ha propuesto que GA podría disminuir la carga de proteínas en el retículo endoplásmico (ER) y aumentar así la eficiencia de las chaperonas en el RE prolongando la atenuación de la traducción de proteínas durante el estrés del RE.

El desarrollo de moléculas farmacológicas dirigidas a estos agregados nucleares puede, por lo tanto, proporcionar un enfoque válido para el tratamiento de la

OPMD. Varios fármacos han demostrado efectos positivos en modelos preclínicos de OPMD, como 6-aminofenanthridine (6AP) y GA en modelo de *Drosophila* (24), doxiciclina (25), cistamine (27) y trehalose en ratones, este último progresó a ensayos clínicos en pacientes con OPMD (NCT02015481 [onclinicaltrial.gov](https://clinicaltrials.gov)). [34,35]

A pesar de todas estas estrategias propuestas, ninguna corrige directamente el defecto genético de los pacientes con OPMD. Un reciente ensayo clínico que empleó trasplante de mioblastos autólogos sanos en combinación con la miotomía cricofaríngea, mejoró la clínica de los pacientes con OPMD.

El modelo murino más comúnmente usado de OPMD, es el modelo de ratón A17, expresa un expPABPN1 bovino con 17 residuos de alanina bajo el control del promotor específico de músculo alfa actina humano. En ratones heterocigotos, este modelo simula la mayoría de las características de los pacientes OPMD humanos, incluyendo atrofia progresiva y debilidad muscular asociada con agregados nucleares insoluble de PABPN1.

El virus adeno-asociado (AAV) es actualmente el vector viral más prometedor para aplicaciones de terapia génica in vivo debido a la disminución de su patogenicidad, la infección natural eficiente en primates para algunos serotipos y el riesgo insignificante de inserción de mutagénesis. Dentro de la capacidad de empaquetamiento del vector de 4.7 kb, los vectores AAV pueden alojar transgenes y moléculas de expresión de shRNA / miRNA. Los estudios clínicos recientes basados en la administración localizada o sistémica de vectores de AAV para la expresión génica en humanos han demostrado potencial para el tratamiento de enfermedades monogénicas humanas, como hemofilia,

degeneración de la retina, trastornos metabólicos, distrofias musculares y enfermedades degenerativas.

El uso de terapias de ARNi mediadas por AAV está recibiendo una gran atención en una amplia gama de patologías, incluidos los trastornos genéticos dominantes que implican mecanismos de ganancia de función y trastornos de agregados de proteínas para los cuales un enfoque de silenciamiento ha mostrado cierta promesa en estudios preclínicos.

La terapia génica tiene la promesa de proporcionar una cura permanente para enfermedades que no tiene tratamiento, o quizá lo tengan pero que no se pueden curar con medicamentos convencionales. Como lo sugirieron otros, una estrategia que podría impactar específicamente en el alelo mutante sería adecuada para OPMD, pero la pequeña expansión anormal y rica en GC al 100% en el gen *PABPN1* mutante no se puede apuntar fácilmente sin impactar la función *PABPN1* normal .

Como consecuencia, las enfermedades hereditarias autosómicas dominantes, como la OPMD, requieren un enfoque de terapia génica que inhibe la proteína patógena (es decir, *expPABPN1*) y también tiene la capacidad de inducir la expresión de una versión funcional normal del mismo gen. Se ha reportado un enfoque de terapia génica basado en Virus adeno-asociado (AAV) utilizando una combinación de interferencia de ARN dirigida por ADN (ddRNAi) para tener formar mutantes del alelo *PABPN1*, y la adición de genes para reemplazar la transcripción con un ARNm optimizado del codón humano normal de *PABPN1* resistente a la patogenicidad inducida el ARN de interferencia.

Respecto a las distrofias musculares, el AAV es actualmente el vector viral más prometedor para la terapia génica in vivo, sin embargo, el tratamiento de la mayoría de las distrofias musculares se ha obstaculizado por la necesidad de tratar a toda la musculatura que engloba el 40 % del peso corporal. OPMD es particularmente adecuada para este enfoque de terapia génica, ya que, la musculatura afectada es un tanto restringida, lo que hace que las inyecciones intramusculares locales sean más efectivos para la mejoría clínica.

Se demostró en un modelo animal en ratón (A17) para OPMD, que la terapia génica elimina eficazmente la formación de agregados nucleares, normaliza el transcriptoma muscular y mejora las características esenciales de la enfermedad, como la fibrosis y la atrofia muscular normalizando la funcionalidad muscular. [36]

Se ha utilizado también terapia mediante miRNA, ARN de silenciamiento que ha tenido buena respuesta en OPMD, debido a que el ARNm de *PABPN1* expandido es patogénico, se introdujo simultáneamente un gen opt-PAPBN1 wild type resistente a la escisión de miRNAs, disminuyendo sustancialmente la cantidad de agregados insolubles, desacelerando la fibrosis muscular en un modelo de ratón de OPMD, es entonces que la terapia de reemplazo de ARN representa un enfoque prometedor para el tratamiento de OPMD. [37]

## ***PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA***

Debido al avance en el área tecnológica y biomolecular en los últimos años ha sido posible identificar los genes causantes o asociados a la mayoría de las entidades comprendidas dentro de la neurogenética y se ha puesto en evidencia la complejidad de los mecanismos implicados en su patogénesis. Hasta el momento no existen estudios de caracterización clínico-molecular de pacientes con algunas enfermedades neurodegenerativas donde la distrofia muscular oculofaríngea se encuentra dentro de las menos estudiadas mediante estudios moleculares para poder caracterizar mutaciones más frecuentes en población mexicana.

Debido a esto se desconocen el tipo y frecuencia de mutaciones que provocan la distrofia muscular oculofaríngea, por lo que, en esta investigación, se quiere dar la importancia a este gen *PABPN1* como un agente causal de distrofia muscular oculofaríngea, pacientes que clínicamente se distinguen por presentar ptosis bilateral, debilidad muscular y disfagia progresiva, que impactan de manera sustancial en la calidad de vida de los pacientes afectados y que por falta de estudios moleculares para confirmar el diagnóstico, muy frecuentemente este padecimiento queda subdiagnosticado, siendo imposible tener un registro y reporte epidemiológico sobre las mutaciones que frecuentemente presenta la población mexicana en OPMD.

## ***PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN***

En este trabajo se pretende dar respuesta a la siguiente pregunta:

¿Cuáles son las variantes patogénicas identificadas mediante análisis molecular del gen *PAPBN1* en casos clínicamente compatibles con Distrofia muscular oculofaríngea?

## ***JUSTIFICACIÓN***

El determinar oportunamente el diagnóstico molecular en pacientes con distrofia muscular oculofaríngea es importante no solo para el diagnóstico certero, pues tiene un gran impacto en el seguimiento y la vigilancia del paciente para evitar complicaciones, así como búsqueda intencionada de otras alteraciones que puedan estar relacionadas al padecimiento, todo esto para mejorar la calidad de vida en los pacientes afectados, ayudando no solamente para proporcionar un manejo multidisciplinario y adecuado de nuestros pacientes, también influye de manera sustancial en un apropiado asesoramiento genético, pudiendo así contribuir para que los pacientes afectados comprendan su padecimiento y aprendan a adquirir herramientas para enfrentar de la mejor manera su afección, así como otorgar a la familia de primer grado la posibilidad de realizar el estudio molecular concediendo así un riesgo de recurrencia en las descendencia y conocer si así lo desean la posibilidad de ser portadores o no de esta entidad genética, comenzando con el inicio de adecuadas valoraciones para evitar las complicaciones que afectan de manera importante la calidad de vida en estos pacientes.

La identificación de variantes patogénicas con OPMD a nivel molecular, contribuirá con el mayor entendimiento de la fisiopatología de la enfermedad, contribuyendo a las líneas de investigación en las nuevas terapias innovadoras, como terapia génica, para desarrollarlas y sean más eficaces en la detención de la progresión de la enfermedad.

## **HIPÓTESIS**

El gen *PABPN1* tiene normalmente en el exón 1 un triplete de repetidos (GCN)<sub>10</sub>, cuando se sobrepasa de este número de repetidos, se manifiesta la distrofia muscular oculofaríngea, entonces al analizar las variantes patogénicas del gen *PABPN1* se determinará un número de repetidos mayor a 10 en los individuos con clínica y genealogía compatible a OPMD.

## **OBJETIVOS**

### **OBJETIVO GENERAL**

Realizar secuenciación de Sanger para caracterizar al gen *PABPN1* en casos clínicamente compatibles con Distrofia muscular oculofaríngea.

### **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Describir la genealogía de los individuos afectados en los que se buscó la variante patogénica.
- Describir las características clínicas de pacientes afectados con Distrofia muscular oculofaríngea (OPMD).
- Reportar las variantes patogénicas en el gen *PABPN1* encontradas en los individuos estudiados.
- Identificar a los familiares con alto riesgo de heredar la variante.

## ***DISEÑO DEL ESTUDIO***

### ***TIPO DE INVESTIGACIÓN:***

El presente trabajo será un estudio, descriptivo, observacional y transversal.

### ***POBLACIÓN Y TAMAÑO DE LA MUESTRA:***

La población en estudio está constituida por individuos con diagnóstico de Distrofia muscular oculofaríngea, del servicio de neurología y oftalmología del Hospital General de México "Dr. Eduardo Liceaga", los cuales fueron referidos al servicio de genética médica para completar su estudio. El tamaño de la muestra se integró por tres individuos no relacionados los cuales presentan distrofia muscular oculofaríngea con al menos dos generaciones afectadas.

### ***CRITERIOS DE SELECCIÓN:***

1. Criterios de inclusión: Individuos con clínica compatible de Distrofia muscular oculofaríngea vistos en el servicio de Genética Médica del Hospital General de México.
2. Criterios de exclusión: Pacientes que no cumplieron con los criterios clínicos de distrofia muscular oculofaríngea.
3. Criterios de eliminación: Pacientes en los que no se pudo realizar valoración clínica y tengan otra etiología de ptosis y disfagia progresiva.

## ***DEFINICIÓN DE VARIABLES Y UNIDAD DE MEDIDA***

Cuadro I. Variables

<b>Variable</b>	<b>Definición conceptual</b>	<b>Tipo</b>	<b>Unidad de medida</b>
Distrofia muscular oculofaríngea	Trastorno neurogenético que se caracteriza por ptosis, disfagia y debilidad muscular proximal progresiva, con un patrón de herencia autosómico dominante	Nominal dicotómica	Presente/Ausente
Género	Se refiere a la identidad sexual de los seres vivos en términos biológicos y a la distinción que se hace entre femenino y masculino	Nominal dicotómica	Masculino/Femenino
Edad de diagnóstico	Tiempo transcurrido desde nacimiento al diagnóstico de la enfermedad	Numérica continua	Años
Tiempo de evolución de la enfermedad	Tiempo transcurrido desde los primeros síntomas al diagnóstico de la enfermedad	Numérica continua	Meses/Años
Variante patogénica	Cualquier alteración o variación en el código genético deletérea que puede ser heredada	Nominal dicotómica	Presente/Ausente

## ***METODOLOGÍA***

Se tomó una muestra de sangre periférica de los pacientes, almacenada en tubo con EDTA. Se enviaron las muestras al laboratorio de biología molecular de esta institución donde se realizó extracción de DNA y realización de secuenciación tipo Sanger del gen *PABPN1* de los pacientes, familiares afectados y familiares sanos. Todo lo anterior mediante la siguiente metodología:

1. Se extrajo de forma aséptica 5 ml de sangre periférica y se colocó en un tubo de ensayo con EDTA. Posteriormente se identifica la muestra con el nombre completo del paciente, diagnóstico clínico y número de caso.

2. Extracción de DNA. Se utilizó el Kit Wizard® SV Genomic DNA Purification System, siguiendo las recomendaciones del proveedor, se extrajo el DNA de sangre periférica.

3. Una región del gen *PABPN1* de 245 pb (exón 1) que abarca el triplete relacionado con OPMD (GCN) se amplificó por PCR usando los oligonucleótidos forward y reverse pertinentes, con 30 ciclos de amplificación en las siguientes condiciones descritas, desnaturalización inicial (94°C; 3 min), alineamiento (62°C; 30 min), amplificación (72°C; 3 min).

3. Purificación de DNA para la secuenciación.

4. La secuenciación directa de Sanger de los amplicones obtenidos de *PABPN1* se logró utilizando el kit de secuenciación de ciclos de terminación BigDye (Applied Biosystems, Foster City, California, EE. UU.). Las muestras se procesaron en un analizador genético 310 o 3130 (Applied Biosystems) y se examinaron manualmente los datos obtenidos de la secuencia.

## ***ANÁLISIS ESTADÍSTICO***

Los resultados obtenidos se analizaron mediante estadística descriptiva, comparándolos con las bases de datos mundiales.

## ***ASPECTOS ÉTICOS***

Se realizó una carta de consentimiento informado a todos los pacientes afectados, ya que se le tomo muestra sanguínea para realizar análisis de DNA, informando sobre los riesgos existentes en la toma de muestra de sangre, mismos que se consideran mínimos. (Anexo 1).

## ***RESULTADOS***

### ***REPORTE DE CASOS***

#### **PACIENTE 1**

Paciente del sexo femenino, valorada por primera vez el 07 de marzo del 2019, con 64 años de edad, originario y residente del estado de México, casada, de ocupación ama de casa, escolaridad primaria.

**Antecedentes heredo familiares:** Padre fallecido por homicidio a los 45 años, originario y residente del Estado de Michoacán, refieren misma presentación de sintomatología ocular que la paciente. Madre viva de 80 años, originaria y residente del Estado de Michoacán con hipertensión arterial.

**Antecedentes personales patológicos:** Paciente quirúrgicos positivos colecistectomía hace 20 años, histerectomía hace 10 años, blefaroplastia hace 8 años, toxicomanías positivas tabaco desde los 19 años de edad, crónicos, alérgicos, transfusionales negados.

**Padecimiento actual:** Inicia su padecimiento desde hace 11 años con ptosis bilateral, de manera progresiva, disfagia de 5 años de evolución que ha ido en aumento, actualmente aún con posibilidad de la deglución a sólidos blandos.

Paciente refiere acudir con médico general en su localidad, donde le refieren el diagnóstico de ptosis palpebral bilateral. Es referido a nuestro Hospital al Servicio de Oftalmología para valoración ocular, donde encuentran alteración en la fuerza de músculos palpebrales en ambos ojos. Se refiere al departamento de Genética Médica, siendo valorada por primera vez el 07 de marzo de 2019, al interrogatorio y exploración cuadro clínico compatible con distrofia muscular

oculofaríngea, por lo que se toma muestra de sangre periférica para confirmar diagnóstico mediante estudio molecular.

A continuación, se presenta el árbol genealógico de la paciente:

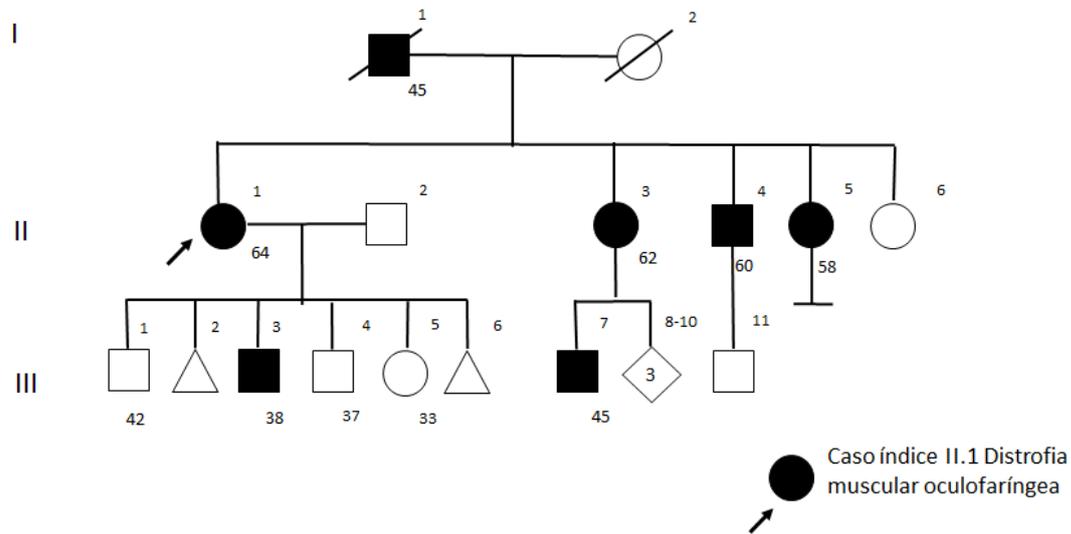


Figura 5. Genealogía del paciente

Se realiza medición de Creatinfosfoquinasa sérica con resultado de 215 (IU/L; 50 – 250). La variante del paciente 1 se determinó como patogénica (GCG)11 en estado heterocigoto confirmando OPMD, hace 11 años al inicio de la sintomatología se diagnosticó solamente como oftalmoplejia de etiología a determinar, la ptosis fue progresiva y hace 8 años se realiza blefaroplastia, actualmente predomina la sintomatología ocular con ptosis y diplopía, la disfagia se ha presentado más tardíamente hace 5 años que ha sido progresiva y actualmente con disfagia para alimentos sólidos. Presenta debilidad de extremidades superiores pero no de extremidades inferiores.

## PACIENTE 2

Paciente del sexo masculino valorado por primera vez el 04 de abril del 2019, con 57 años de edad, originario y residente de la ciudad de México, soltero, de ocupación como contador, escolaridad licenciatura.

**Antecedentes heredo familiares:** Padre fallecido por cáncer de próstata a los 78 años, originario y residente del Estado de Guanajuato, Torimoro. Madre fallecida de 69 años a causa de complicaciones de Diabetes Mellitus tipo 2, originaria y residente del Estado de Guanajuato, Torimoro. Ptosis bilateral en 6 de 11 hermanos.

**Antecedentes personales patológicos:** Paciente quirúrgicos positivos rinoplastia en 2006, blefaroplastia en junio de 2018, toxicomanías positivas tabaco ocasional, crónicos, alérgicos, transfusionales negados.

**Padecimiento actual:** Inicia su padecimiento desde hace 7 años al presentar ptosis bilateral, de manera progresiva, dificultando la visión por lo que inclina la cabeza hacia atrás para la correcta visualización, actualmente posoperado de blefaroplastia bilateral en junio del año pasado. Paciente refiere acudir con directamente a esta institución a valoración por Oftalmología donde se refiere al departamento de Genética Médica, por presentar mismo cuadro clínico en 6 de 11 hermanos; siendo valorado por primera vez el 04 de abril de 2019, al interrogatorio y exploración cuadro clínico compatible con distrofia muscular oculofaríngea, por lo que se toma muestra de sangre periférica para confirmar diagnóstico mediante estudio molecular.

A continuación, se presenta el árbol genealógico del paciente:

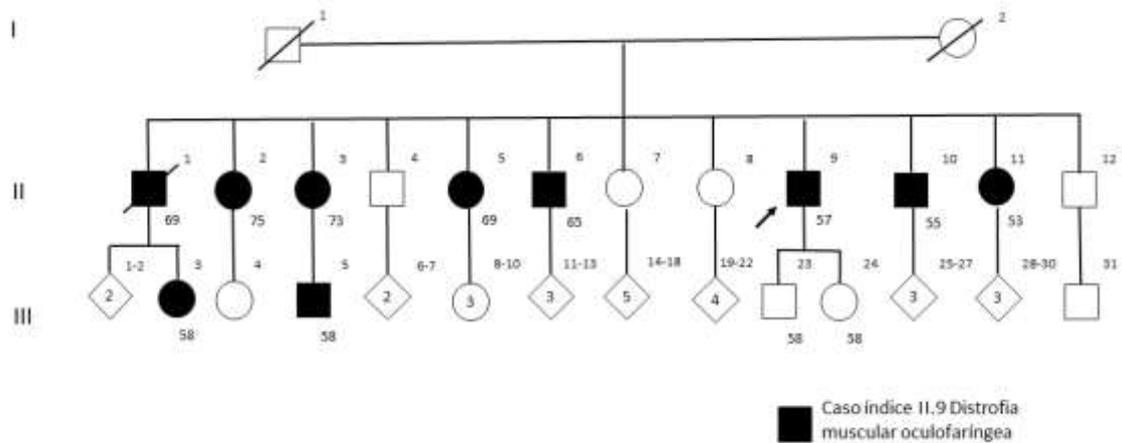


Figura 6. Genealogía del paciente

Se realiza medición de Creatinfosfoquinasa sérica con resultado de 110 (IU/L; 50 – 250). La variante del paciente 2 se determinó como patogénica (GCG)11(GCA)3(GCG) ó (GCN)13 en estado heterocigoto confirmando OPMD, hace 7 años al presentar ptosis por lo que acude a oftalmología realizando posteriormente blefaroplastía, no refiere disfagia ni debilidad muscular.

### PACIENTE 3

Paciente del sexo femenino valorada por primera vez el 30 de mayo del 2019, con 58 años de edad, originaria y residente de la ciudad de México, viuda, de ocupación masajista, escolaridad secundaria.

**Antecedentes heredo familiares:** Padre fallecido a los 92 años de edad por infarto agudo al miocardio, originario y residente del Estado de México. Madre fallecida a los 86 años a causa de desnutrición, presentó ptosis y disfagia progresiva, originaria y residente del Estado de México. Ptosis bilateral y disfagia

progresiva en 3 tíos maternos, una hermana de 55 años y un hermano de 64 años.

**Antecedentes personales patológicos:** Paciente con quirúrgicos positivos histerectomía a los 49 años por presentar múltiples miomas, blefaroplastia hace 1 año, transfusionales positivos en histerectomía, toxicomanías, crónicas, alérgicos negados.

**Padecimiento actual:** Inicia su padecimiento desde hace 8 años con dificultad para tragar alimentos, se agrega ptosis bilateral así como debilidad muscular proximal superior, actualmente postoperada de blefaroplastia bilateral el año pasado, refiere inicio de diplopía y disminución de agudeza visual.

Paciente que es referida por el servicio de neurología de esta institución por presentar ptosis bilateral y debilidad muscular de manera importante, así como disfagia; siendo valorada por primera vez el 30 de mayo de 2019, al interrogatorio y exploración cuadro clínico compatible con distrofia muscular oculofaríngea, por lo que se toma muestra de sangre periférica para confirmar diagnóstico mediante estudio molecular.

A continuación, se presenta el árbol genealógico de la paciente:

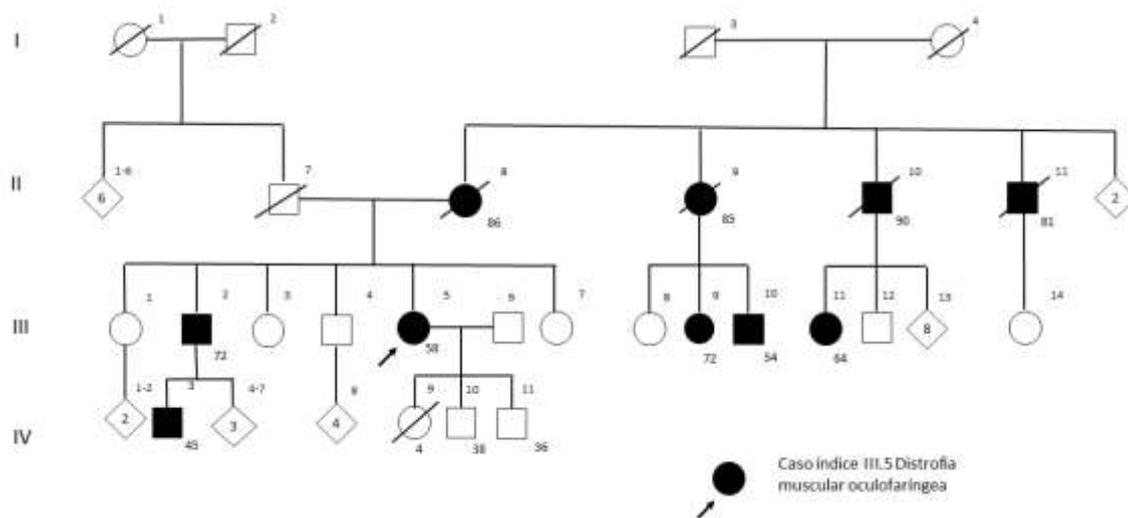


Figura 7. Genealogía del paciente

Se realiza medición de Creatinfosfoquinasa sérica con resultado de 147 (IU/L; 50 – 250). La variante del paciente 3 se determinó como patogénica (GCG)9(GCA)3(GCG) ó (GCG)9 en estado heterocigoto confirmando OPMD, hace 3 años empezó con disfagia y un año después se agrega ptosis, pos operada de blefaroplastia, acude a neurología para valoración donde la primer sospecha diagnóstica fue miastenia gravis, se tenía como antecedente que la madre de paciente fue diagnosticada con miastenia gravis, sin mejoría al tratamiento, progresando a un estado de desnutrición importante por presentar disfagia a sólidos y líquidos, con el fallecimiento a los 86, se refiere también un hermano con inicio de ptosis y disfagia.

## **RESULTADOS**

Se realizó secuenciación de Sanger. En las muestras, se ha identificado la presencia de las siguientes variantes en el gen *PABPN1* cuyos fenotipos asociados son compatibles, a priori, con el cuadro clínico descrito en el paciente:

PACIENTE	TRANSCRITO	UBICACIÓN	VARIANTE	CIGOSIDAD	CLASIFICACIÓN	HERENCIA
1	ENST00000216727 NM_004643	EXON 1	(GCG)11	Heterocigoto	Patogénica	Autosómica dominante
2	ENST00000216727 NM_004643	EXON 1	(GCG)11(GCA)3(GCG) ó (GCN)13	Heterocigoto	Patogénica	Autosómica dominante
3	ENST00000216727 NM_004643	EXON 1	(GCG)9(GCA)3(GCG) ó (GCG)9	Heterocigoto	Patogénica	Autosómica dominante

*Tabla3. Variantes patogénicas encontradas en el gen PABPN1.*

El resultado genómico, se corroboró con las bases de datos ya establecidos, dentro de la cual se encuentra la base de datos en línea y de acceso libre NCBI (National Center for Biotechnology Information).

<b>Variante</b>	<b>Caso 1</b>	<b>Caso 2</b>	<b>Caso 3</b>
Edad de inicio de síntomas	64 años	57 años	58 años
Género	Femenino	Masculino	Femenino
Primer síntoma	Ptosis	Ptosis	Ptosis
Tiempo para diagnóstico confirmatorio	>20 años	>7 años	>8 años
Ptosis	Sí	Sí	Sí
Disfagia	Sí	No	Sí
Debilidad de extremidades	Sí	No	No
Síntoma predominante	Ptosis	Ptosis	Ptosis
Sospecha diagnóstica previo a OPMD	Oftalmoplejía externa progresiva	Miastenia Gravis	Miastenia Gravis
Historia familiar similar a síntomas	Sí	Sí	Sí
Prueba molecular <i>PABPN1</i>	(GCG)11	(GCG)11(GCA)3(GCG) ó (GCN)13	(GCG)9(GCA)3(GCG) ó (GCG)9
CK sérica (IU/L; 50 – 250)	215	110	147

## ***DISCUSIÓN***

Se ha determinado en esta revisión que el primer síntoma de todos nuestros pacientes afectados con distrofia muscular oculofaríngea ha sido la blefaroptosis, todos ellos con comienzo entre la quinta y sexta década de la vida; hemos mencionado algunas de las causas de la blefaroptosis adquirida en el adulto, específicamente hablando de las miogénicas se engloban varias etiologías y debido al curso fluctuante de la clínica de los pacientes con distrofia muscular oculofaríngea a lo largo de su vida, suelen tener diagnósticos incorrectos dentro de un tiempo considerable, sometiéndose incluso a intervenciones innecesarias, por lo que la calidad de vida indudablemente se ve mucho más afectada, es por esto que llegar a un diagnóstico confirmatorio de OPMD, es un reto de suma importancia para ofrecer un diagnóstico y seguimiento adecuado en este tipo de pacientes, mejorando la calidad de vida de manera importante.

Así pues la distrofia muscular oculofaríngea, muy probablemente se encuentre subdiagnosticada y los registros de pacientes afectados con esta patología aún no son del todo completos ni concluyentes sobre la incidencia y prevalencia real de pacientes afectados en México; las incidencias reportadas en la literatura de OPMD fluctúan entre diferentes poblaciones, estimándose entre 1 en 1000 en Quebec a 1 en 200,000 en Francia.

Se han reportado cohortes de pacientes mexicanos afectados con OPMD, donde se encontró que la variante patogénica más frecuente de una cohorte de 102 pacientes fue la expansión del alelo (GCN)15 y difieren de datos en otras poblaciones donde (GCN)13 es la variante patogénica más común, se ha demostrado efecto fundador para las expansiones (GCN)15 y (GCN)13 en

población mexicana [3]. Sin embargo el registro de pacientes afectados con distrofia muscular oculofaríngea no ha sido satisfactorio en México, esto debido muy probablemente al comienzo sutil de la sintomatología, el inicio de esta patología no es tan clara y es una limitante para un correcto y acertado diagnóstico.

En esta revisión se encontraron las siguientes tres variantes patogénicas en el gen *PABPN1* confirmando el diagnóstico de distrofia muscular oculofaríngea, (GCG)<sup>11</sup>, (GCG)<sup>11</sup>(GCA)<sup>3</sup>(GCG) ó (GCN)<sup>13</sup>, (GCG)<sup>9</sup>(GCA)<sup>3</sup>(GCG) ó (GCG)<sup>9</sup>.

Se determinó una edad de diagnóstico entre los 57 a 64 años de edad, se observó que los pacientes afectados tuvieron que pasar al menos más de 7 años para llegar a un diagnóstico confirmatorio, pasando algunos de ellos con terapias innecesarias, sin ninguna mejoría en un tiempo significativo de su vida, 2 de ellos con diagnóstico erróneo de miastenia gravis y uno de ellos con diagnóstico erróneo de oftalmoplejia externa progresiva.

Todos los pacientes tienen en la genealogía un patrón de herencia autosómico dominante, con al menos dos generaciones afectadas, se realizará el estudio molecular a los familiares afectados de primer grado, para corroborar si presentan o no la variante patogénica encontrada en el gen *PABPN1*.

Como se ha mencionado la ptosis fue el primer síntoma con el que debutaron los pacientes, progresando con disfagia en cada uno de ellos, mientras que la debilidad muscular en extremidades solo estuvo presente en 2 de los 3 pacientes, se pudo hacer una asociación con respecto a los niveles de cpk, los pacientes con un nivel más elevado de cpk presentaban debilidad muscular de extremidades, mientras que los niveles más bajos concordaron con los pacientes

que no presentaban debilidad muscular en extremidades, sin embargo los niveles de cpk estuvieron por el límite superior sin sobrepasar el rango normal, como se ha mencionado en OPMD no se suele elevar los niveles de cpk.

La limitante de esta revisión es que no se logró concluir una relación genotipo fenotipo, ya que es necesario una número mayor de pacientes para poder llegar a establecerse, sin embargo, es la primera vez que se reportan tres familias mexicanas no relacionadas de esta institución tan importante como lo es el Hospital General de México.

## ***CONCLUSIÓN***

Con el presente estudio se confirma la importancia del diagnóstico molecular de distrofia muscular oculofaríngea, este método diagnóstico permite identificar y caracterizar las variantes patogénicas en el gen *PABPN1* de la población mexicana con OPMD, contribuyendo de manera importante en el adecuado asesoramiento genético, permitiéndonos otorgar el riesgo de recurrencia para familiares de primer grado de los afectados y dar un seguimiento multidisciplinario oportuno, mejorando así la calidad de vida de los pacientes.

La distrofia muscular oculofaríngea tiene un alto grado de expresividad variable, sin embargo, se pudo observar en los pacientes reportados que el síntoma inicial fue la ptosis y que la edad de diagnóstico osciló entre los 57 a los 64 años, la edad de inicio de la sintomatología fue entre 7 a 10 años previos al diagnóstico. Los pacientes con distrofia muscular oculofaríngea reportados pasaron en promedio más de 10 años con un diagnóstico incorrecto, es concluyente que la OPMD es un reto diagnóstico, el tiempo transcurrido entre el inicio de los síntomas y el diagnóstico influye notablemente en la calidad de vida de los afectados, además la realización del diagnóstico molecular de OPMD mediante la secuenciación del gen *PAPBN1* favorecerá también para el entendimiento de la fisiopatología molecular y aportar registros de pacientes mexicanos afectados con OPMD.

## ***BIBLIOGRAFÍA***

- [1] Carter, J.C. et al. Muscular dystrophies. *Clinics in chest Medicine*, 39(2), 377-389. 2018 Elsevier.
- [2] Omid Aryani et al. Oculopharyngeal muscular dystrophy misdiagnosed as myasthenia gravis: Case report and review of literature. *Iran J Neuro* 2017; 16(2):98-9
- [3] Cruz-Aguilar, M. et al. Characterization of PABPN1 expansion mutations in a large cohort of mexican patients with oculopharyngeal muscular dystrophy (OPMD). 2016, *Journal of Investigate Medicine*, 65(3), 705-708.
- [4] Aida Abu-Baker, Guy A. Rouleau. Oculopharyngeal muscular dystrophy: Recent advances in the understanding of the molecular pathogenic mechanism and treatment strategies. *Biochimica et biophysica acta* 1772 (2007) 173-185.
- [5] Shan, J. et al. Oculopharyngeal muscular dystrophy: Phenotypic and genotypic studies in a chinese population. *NeuroMolecular Medicine*, 2016(4), 782-786.
- [6] Allen, R.C. et al. Clinical characterization and blepharoptosis surgery outcomes in hispanic new mexicans with oculopharyngeal muscular dystrophy. *Ophthalmic plastic & reconstructive surgery*, 25(2), 103-108.
- [7] Lauren C. Tabor et al. Oropharyngeal dysphagia profiles in individuals with oculopharyngeal muscular dystrophy. *Neurogastroenterol Motil*. 2018. 30(4): e13251.
- [8] Youssof S, Romero-Clark C, Warner T, Plowman E. Dysphagia-Related Quality of Life in Oculopharyngeal Muscular Dystrophy: Psychometric Properties of the SWAL-QOL Instrument. *Muscle Nerve*. 2016

- [9] Trollet CGT, Klein P, et al. Oculopharyngeal Muscular Dystrophy. GeneReviews. 2014
- [10] Rodríguez M, Camejo C, Bertoni B, et al. (GCG)11 founder mutation in the PABPN1 gene of OPMD Uruguayan families. *Neuromuscul Disord* 2005;15:185–90
- [9] Allen, R.C. et al. Clinical characterization and blepharoptosis surgery outcomes in hispanic new mexicans with oculopharyngeal muscular dystrophy. *Ophthalmic plastic & reconstructive surgery*, 25(2), 103-108.
- [10] Becher MW, Morrison L, Davis LE, Maki WC, King MK, Bicknell JM, Reinert BL, Bartolo C, Bear DG. Oculopharyngeal muscular dystrophy in Hispanic New Mexicans. *JAMA*. 2001;286:2437–40. .
- [11] Rodríguez. M. et al. (GCG)11 founder mutation in the PABPN1 gene of OPMD Uruguayan families. *Neuromuscular Disorders*,2005, 15(2), 185-190.
- [12] Ibarra Lúzar J. et al. Electromiografía clínica. *Rehabilitación*. 2005, 39(6), 265-276.
- [13] Eva L. Fieldman et al. Atlas of neuromuscular diseases, a practical guideline. 1.3 History and general physical examination. 2014, 24-41.
- [14] P. Richard et al. PABPN (GCN) 11 as a dominant allele in oculopharyngeal muscular dystrophy- consequences in clinical diagnosis and genetic counselling. *Journal of neuromuscular diseases* 2 (2015) 175-180.
- [15] Ayan Banerjee et al. PABPN1: molecular function and muscle disease. National Institute of health. *FEBS J*. 2013; 280(17): 4320-4350.
- [16] Muhammad Riaz. Et al. PABPN1 dependent mRNA processing induces muscle wasting. *PLoS genetics*, 2016, 12(5)

- [17] Yotam Raz, Vered Raz. Oculopharyngeal muscular dystrophy as a paradigm for muscle aging. *Frontiers in aging neuroscience*, 2015, volumen 6, article 317.
- [18] Pascale Richard et al. Correlation between PABPN1 genotype and disease severity in oculopharyngeal muscular dystrophy. *American Academy of Neurology*, 24, 2017.
- [19] Tsukasa Doki et al. Mitochondrial localization of PABPN1 in oculopharyngeal muscular dystrophy. *Laboratory Investigation*. 2019
- [20] E. Vest Katherine e al. Novel mouse models of oculopharyngeal muscular dystrophy (OPMD) reveal early onset mitochondrial defects and suggest loss of PABPN1 may contribute to pathology. *Human molecular genetics*, 2017, Vol.26, no. 17.
- [21] B.M. van der Sluijs et al. Intranuclear aggregates precede clinical onset in oculopharyngeal muscular dystrophy. *Journal of neuromuscular diseases* 3(2016) 101-109
- [22] Zamora-Jordán N, et al. Optimización del diagnóstico genético de la distrofia muscular oculofaríngea y su aplicación en el análisis de un pedigrí familiar de la isla de La Palma (Canarias, España). *Med Clin (Barc)*. 2017
- [23] HM Luk et al. Oculopharyngeal muscular dystrophy: underdiagnosed disease in Hong Kong. *Hong Kong Med J* Vol 19 No 6. 2013
- [24] Semmler, A., Kress, W., Vielhaber, S., Schröder, R., & Kornblum, C. (2007). Variability of the recessive oculopharyngeal muscular dystrophy phenotype. *Muscle & Nerve*, 35(5), 681–684.
- [25] Pulkes, T., Papsing, C., Busabaratana, M., Dejthevaporn, C., & Witoonpanich, R. (2011). Mutation and haplotype analysis of oculopharyngeal

muscular dystrophy in Thai patients. *Journal of Clinical Neuroscience*, 18(5), 674–677.

[26] Garibaldi, M et al. Dropped-head in recessive oculopharyngeal muscular dystrophy. *Neuromuscular Disorders*, 2015. 25(11), 869–872

[27] Mark A. Tarnopolsky. (2005). Mitochondrial Myopathies: Diagnosis, Exercise Intolerance, and Treatment Options. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 37(12), 2086–2093.

[28] Smith, S. V., & Lee, A. G. (2017). Update on Ocular Myasthenia Gravis. *Neurologic Clinics*, 35(1), 115–123.

[29] Martínez Torre, S., Gómez Molinero, I., & Martínez Girón, R. (2018). Puesta al día en la miastenia gravis. *Medicina de Familia. SEMERGEN*, 44(5), 351–354.

[30] Restivo, D. A., & Marchese-Ragona, R. (2014). Safety of botulinum toxin for dysphagia in oculopharyngeal muscular dystrophy. *Muscle & Nerve*, 50(5), 869–870.

[31] Gómez-Torres, A., Abrante Jiménez, A., Rivas Infante, E., Menoyo Bueno, A., Tirado Zamora, I., & Esteban Ortega, F. (2012). Cricopharyngeal Myotomy in the Treatment of Oculopharyngeal Muscular Dystrophy. *Acta Otorrinolaringologica (English Edition)*, 63(6), 465–469.

[32] Harish, P., Malerba, A., Lu-Nguyen, N., Forrest, L., Cappellari, O., Dickson, G. (2019). Inhibition of myostatin improves muscle atrophy in oculopharyngeal muscular dystrophy (OPMD). *Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle*.

[33] Malerba, A., Roth, F., Harish, P., Dhiab, J., Lu-Nguyen, N., Cappellari. (2019). Pharmacological modulation of the ER stress response ameliorates oculopharyngeal muscular dystrophy. *Human Molecular*.

- [34] Harish, P., Malerba, A., Dickson, G., & Bachtarzi, H. (2015). Progress on Gene Therapy, Cell Therapy, and Pharmacological Strategies Toward the Treatment of Oculopharyngeal Muscular Dystrophy. *Human Gene Therapy*, 26(5), 286–292.
- [35] Manjaly, J. G., Vaughan-Shaw, P. G., Dale, O. T., Tyler, S., Corlett, J. C. R., & Frost, R. A. (2011). Cricopharyngeal Dilatation for the Long-term Treatment of Dysphagia in Oculopharyngeal Muscular Dystrophy. *Dysphagia*, Springer 27(2), 216–220.
- [36] Malerba, A., Klein, P., Bachtarzi, H., Jarmin, S. A., Cordova, G., (2017). PABPN1 gene therapy for oculopharyngeal muscular dystrophy. *Nature Communications*, 8, 14848.
- [37] Aida Abu-Baker, Nawwaf Kharma. RNA-Based Therapy Utilizing Oculopharyngeal Muscular Dystrophy Transcript Knockdown and Replacement. *Molecular Therapy: Nucleic Acids* Vol. 15 April 2019

## **ANEXO 1**

### **CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO ESTUDIO MOLECULAR DE PADECIMIENTOS NEUROGENÉTICOS EN UNA MUESTRA DE PACIENTES MEXICANOS**

#### **PROCEDIMIENTOS DEL ESTUDIO.**

Lo que vamos a hacer en este estudio es aislar su ADN (información genética) a partir de su muestra de sangre (10ml) equivalente a dos cucharas soperas. Dicha muestra se someterá a un procedimiento de laboratorio que nos permitirá identificar si existe o no un cambio de la información genética.

Su participación en el estudio consiste en permitir una sola toma de muestra de dos tubos de 5ml de sangre periférica que no requiere ayuno.

#### **RIESGOS E INCONVENIENTES.**

El reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud, señala que la obtención de muestras biológicas representa un riesgo mínimo dentro de la investigación. Los riesgos de la toma de muestra sanguínea son: posibilidad de sangrado ligero o moretón en el sitio de la punción, raramente se puede presentar mareo. El personal que extraerá la muestra sanguínea está entrenado para ello, lo que minimizará los riesgos de complicaciones.

Los datos acerca de su identidad y su información médica no serán revelados en ningún momento como lo estipula la ley.

#### **BENEFICIOS.**

El resultado que se obtenga del laboratorio generará la posibilidad de darle la información lo más completa posible en conjunción con los servicios de neurología y genética, si se requiere una asesoría genética a Ud. y/o sus familiares. Así mismo, gracias a su participación altruista, la comunidad de puede beneficiar significativamente con los hallazgos nuevos que se deriven de esta investigación.

#### **CONSIDERACIONES ECONÓMICAS Y COMPENSACIÓN.**

El estudio, ni la toma de muestra generarán ningún gasto económico para Ud. Así mismo le hacemos de su conocimiento que no se le hará pago ni compensación económica por su participación.

#### **ALTERNATIVAS A SU PARTICIPACIÓN:**

Su participación es voluntaria. Dado que el estudio consiste en toma de muestra de sangre usted puede elegir no participar en el estudio. En este caso, usted seguirá recibiendo el manejo habitual.

#### **ACCIONES A SEGUIR DESPUÉS DEL TÉRMINO DEL ESTUDIO:**

Se plantea el análisis de los resultados que se obtengan en el laboratorio y derivado de ello, la asesoría genética.

#### **PARTICIPACIÓN Y RETIRO DEL ESTUDIO:**

Recuerde que su participación es voluntaria. Si usted decide no participar, tanto su relación habitual con el HGM como su derecho para recibir atención médica o cualquier servicio al que tenga derecho no se verán afectados. Si decide participar tiene la libertad para retirar su consentimiento e interrumpir su participación en cualquier momento sin perjudicar su atención en el HGM. Se le informará a tiempo si se obtiene nueva información que pueda afectar su decisión para continuar en el estudio.

**CARTA DE CONSENTIMIENTO  
INFORMADO  
ESTUDIO MOLECULAR DE  
PADECIMIENTOS NEUROGENÉTICOS  
EN UNA MUESTRA DE PACIENTES  
MEXICANOS**

**DECLARACIÓN DEL CONSENTIMIENTO INFORMADO**

He leído con cuidado este consentimiento informado, he hecho todas las preguntas que he tenido y todas han sido respondidas satisfactoriamente, para poder participar en el estudio.

\_\_\_\_\_  
Firma/Nombre de la paciente

\_\_\_\_\_  
Fecha

\_\_\_\_\_  
Testigo 1 Nombre/Firma

\_\_\_\_\_  
Parentesco/Fecha

\_\_\_\_\_  
Testigo 2 Nombre/Firma

\_\_\_\_\_  
Parentesco/Fecha

\_\_\_\_\_  
Nombre/Firma de Investigador que explico consentimiento informado

\_\_\_\_\_  
Fecha