



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
 FACULTAD DE MEDICINA
 DIVISIÓN DE ESTUDIO DE POSGRADO
 HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO FEDERICO GÓMEZ



Relación entre el fenotipo y el estudio de análisis molecular de pacientes mexicanos con Atrofia Muscular Espinal tipo 1 del Hospital Infantil de México Federico Gómez

T E S I S

PARA OBTENER EL TÍTULO DE ESPECIALISTA EN :

NEUROLOGÍA PEDIÁTRICA

P R E S E N T A:

Dra. Rebeca Hernández Resendiz

TUTOR:

Dr Eduardo Barragán Pérez



CIUDAD DE MÉXICO





Universidad Nacional
Autónoma de México



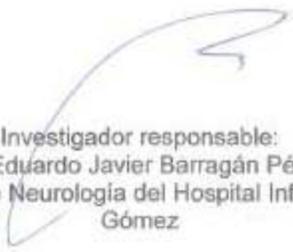
UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

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. Sarbelio Moreno Espinosa
Director de Enseñanza y desarrollo académico



Investigador responsable:
Dr. Eduardo Javier Barragán Pérez
Jefe del Departamento de Neurología del Hospital Infantil de México Federico
Gómez



Investigador Suplente
Dra. Rebeca Choperena Rodríguez
Neurólogo Pediatra
Adscrito al Servicio de Neurología del Hospital Infantil de México Federico Gómez

DEDICATORIA

A Dios

Porque en cada paso que doy siento su presencia y reconozco todos y cada uno de los regalos que me ha hecho a lo largo de la vida, porque confío en su plan siempre; sé con certeza que fue él quien me puso en el camino correcto.

A mis padres Emma y Raúl

Gracias por su amor infinito, por la vida que me dieron y por el apoyo incondicional en todas mis aventuras. Son para ustedes todos mis logros y llenarlos de orgullo es mi más grande satisfacción.

A mis hermanos Raúl, Rodrigo y Rolando

Porque están en todos mis recuerdos, soy lo que soy porque crecí con ustedes y nunca soy tan feliz como cuando estamos juntos. Es uno de los regalos más grandes en mi vida; ser su hermana.

A mi Eliezer

Por ser mi fan número 1, estar ahí en todos mis proyectos y dejarme participar en los suyos, por su presencia de principio a fin, sus cuidados y por escucharme al final del día con paciencia y amor a pesar de la dificultad, sin titubear. Gracias.

A mis amigos Merari, Lindsay, Kathy, Karina, Armani, Manolo e Iván

Porque lejos de mi familia encontré la nuestra. Gracias por todas nuestras memorias, por quererme como soy, por estar siempre, por sanar mis heridas y llenarme de felicidad, por su hermosa compañía, por compartir su vida conmigo y ser parte de la mía.

A mis maestros en el departamento de Neurología pediátrica

En especial a Dr. Eduardo Barragán Pérez y la Dra. Rebeca Choperena Rodríguez por su tutoría, tiempo, paciencia y apoyo para realizar este trabajo. Y al resto de mis maestros también les doy las gracias por su enseñanza y consejos, por su gran ejemplo, todo su conocimiento y por compartirlo conmigo todos los días.

A mis pacientes con Atrofia Muscular Espinal y sus familias

Gracias por toda la confianza a lo largo de este tiempo, por creer en mí y en nuestros proyectos, por el compromiso y todo el esfuerzo que han hecho por sus hijos, por ser un maravilloso ejemplo de amor. Gracias por dejarme ser parte de su historia. El trabajo que he realizado con ustedes le dio un nuevo sentido a mi vida y otro propósito, nunca terminaré de agradecer toda la satisfacción que sus logros me han dado y la forma en que me han cambiado. Gracias a todos y cada uno de mis niños, me han enseñado que ningún obstáculo es tan grande y ningún sueño es inalcanzable, ni siquiera el que alguna vez creímos imposible.

Contenido

NOMENCLATURA Y LOCALIZACIÓN DE GENES.....	5
ANTECEDENTES.....	6
MARCO TEORICO.....	8
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	17
PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	18
JUSTIFICACIÓN.....	19
OBJETIVOS	20
HIPÓTESIS NULA	21
HIPÓTESIS ALTERNA	21
METODOLOGÍA.....	22
DEFINICIÓN DE VARIABLES	23
PROCEDIMIENTOS	25
ANÁLISIS DE LOS DATOS	27
RESULTADOS	28
DISCUSIÓN.....	34
CONCLUSIONES.....	36
CRONOGRAMA.....	37
BIBLIOGRAFÍA.....	38
LIMITACIONES DEL ESTUDIO.....	40
ANEXOS.....	41

NOMENCLATURA Y LOCALIZACIÓN DE GENES

Tabla 1. Nomenclatura oficial de genes según El HGNC, Comité de Nomenclatura de Genes por sus siglas en inglés.

Nombre aprobado	Símbolo aprobado	HGNC ID	Símbolo alias	Localización de cromosómica	Grupo de genes
NLR familia de proteína inhibidora de apoptosis	NAIP	HGNC:7634	NLRB1	5q13.2	Familia NLR
Motoneurona de supervivencia 1 telomérica	SMN1	HGNC:11117	BCD541	5q13.2	Complejo SMN
Motoneurona de supervivencia 2 centromérica	SMN2	HGNC:11118	BCD541; SMNC; GEMIN1; TDRD16B	5q13.2	Complejo SMN
Sub unidad 2 del factor general de transcripción IIH	GTF2H2	HGNC: 4656	BTF2; TFIIH; BTF2P44; T- BTF2P44; p44	5q13.2	Reparación de escisión nucleótido. Factores generales de transcripción.

ANTECEDENTES

A medida que la investigación y la tecnología avanzan, el conocimiento acerca de las enfermedades del sistema nervioso central y periférico de patrón hereditario aumenta, permitiendo plantear nuevas preguntas con una mayor oportunidad de encontrar respuestas.

Aunque la Atrofia Muscular Espinal fue desde 1981 por Werdnig y Hoffman y clasificada según su severidad y edad de inicio de síntomas por Munsat en 1991; fue hasta 1997 cuando Bürglen y colaboradores en el departamento de Investigación genética del Hospital Infantil de Malades en Paris, iniciaron las primeras investigaciones sobre la Atrofia Muscular Espinal y la deleción de la región 5q12.2-13.3 incluyendo otros genes además del SMN1 por medio de múltiples técnicas de análisis genético. ¹ Debido a la alta mortalidad de esta enfermedad en referencia a los casos más severos como son los subtipos 1 y 2; la investigación ha sido limitada en cuanto al volumen de población accesible. Sin embargo, gracias al avance en los métodos diagnósticos y del reconocimiento de la enfermedad en el campo de la neurología pediátrica junto con la aparición de nuevos tratamientos que han aumentado la sobrevivencia de los niños que padecen esta enfermedad, se han logrado un diagnóstico más oportuno y realizar estudios con mayor alcance y profundidad.

Existe una serie de casos en China, en donde Jin He y colaboradores en el año 2012 estudiaron a 157 pacientes con AME tipo 1 a 4 y reportaron el análisis molecular de todos ellos, el tipo de deleción incluyendo el número de copias del gen SMN2 y relacionaron de forma exitosa la ausencia del gen NAIP por una mayor deleción, al inicio de síntomas antes de los 6 meses y por consiguiente y definición estricta con el AME tipo 1. ² Un estudio similar realizó en el 2011 por Abdelbasset y colaboradores en departamento de Citogenética Humana en la Universidad Hospital de Farhat en la Republica Tunecina en el norte de África en una población más reducida con un total de 26 pacientes y demostraron que la deleción homocigota del SMN1 fue más prevalente y encontraron la misma relación con los síntomas de la enfermedad en cuanto al número de copias del gen SMN2 y al gen NAIP. También

buscaron una relación con el gen GTH2F2, sin embargo no encontraron una correlación estadísticamente significativa, recalcando la necesidad de hacer estudios en una población más amplia.³ En el 2016 en Corea, Eun-Ji Ahn y colaboradores en el Centro médico para niños de Asan, replicaron el estudio en una muestra de 33 pacientes y además de obtener resultados similares a los estudios realizados con anterioridad, también relacionaron un peor pronóstico, el fallecimiento a una menor edad y la necesidad de ventilación mecánica invasiva en los pacientes con AME tipo 1 asociado a una delección del gen NAIP y menor número de copias SMN2.⁴

En el 2018 De Sanctis y colaboradores de la Unidad de Neurología pediátrica de la Universidad Católica del Sagrado Corazón en Italia, publicaron un estudio sobre los fenotipos clínicos y la trayectoria del AME tratando de explicar el amplio espectro de la enfermedad, ya que el pronóstico, la progresión y la supervivencia son sumamente diferentes en un solo subgrupo, pregunta que inclusive fue la causa de la creación una clasificación por Victor Dubowitz en 1978 en donde propuso la presentación de los síntomas en grave, intermedio y leve como parte de la división de los subtipos. Sanctis utilizó la escala motora CHOP Intend creada en el 2010 en el Hospital Infantil de Filadelfia como parámetro para medir de manera objetiva la severidad de los síntomas según la clasificación de Dubowitz con el puntaje en la escala motriz y relacionarlo con el número de copias del gen SMN2. Lo más importante es que encontró un mayor puntaje en el CHOP Intend asociado a la categoría leve de los síntomas directamente relacionado con la presencia de 3 copias de SMN2 y un menor puntaje asociado a un inicio de síntomas en el primer mes de vida y de expresión severa en pacientes con 1 copia de SMN2.⁵

En cuanto a población latina se refiere y a pesar de que el primer trabajo de investigación concerniente al tema se publicó hace casi 8 años, aún no existe ningún estudio que caracterice la delección en pacientes con AME y mucho menos la relación con la expresión clínica de la enfermedad.

MARCO TEÓRICO

El término “atrofia muscular espinal (AME)” se refiere a un grupo de desórdenes genéticos caracterizados por la degeneración de las células de la asta anterior de la medula espinal, provocando atrofia muscular y debilidad. El tipo más común en el 95% de los casos es un desorden de carácter autosómico recesivo que resulta en una delección homocigota o una mutación en el gen de supervivencia de la motoneurona (SMN1) en el cromosoma 5q12.2-13.3.^{1 4} La AME fue descrita por primera vez por Werdnig y Hoffmann en 1886, la descripción clínico-patológica la realizó Beevor en 1903, la participación del gen SMN por Gilliam y su grupo en Nueva York en 1990 y fue en 1995 cuando Melki y colaboradores identificaron el locus en el brazo largo del cromosoma 5.⁶ La incidencia estimada de la enfermedad es de 1 en 6000 a 10000 nacidos vivos con una frecuencia de portador heterocigoto de 1 en 40 a 60.⁴ La prevalencia del AME en población mexicana aún no ha sido completamente establecida, pero se reportan cifras de 0.5-1 /25000 nacidos vivos con una tasa de portadores entre 1/35 y 1/50.⁷ En 2014 Capetillo y cols., determinaron la delección heterocigota del gen SMN1 en 2 grupos de población mestiza del noreste de México encontrando una frecuencia de portador de 11 en 420 individuos sanos.⁸

CLASIFICACIÓN Y MANIFESTACIONES CLÍNICAS

El AME se caracteriza por la degeneración de las motoneuronas de la medula espinal que resulta en hipotonía y debilidad muscular.⁹ La debilidad usualmente es simétrica con mayor afección de grupos musculares proximales que distales. Los múltiples fenotipos descritos formaron parte de una clasificación formal por el Consorcio internacional de Atrofia Muscular Espinal en la Asociación de Distrofia Muscular en 1991 que los dividió en 3 tipos.¹ Posteriormente se modificó la clasificación y los pacientes con AME se clasifican en 5 tipos de acuerdo con la edad de inicio de los síntomas, la función motora y la severidad clínica que provoca.⁴

Tipo 0

Describe neonatos que presenta debilidad e hipotonía severa con movimientos fetales disminuidos con probable inicio prenatal. A la exploración física se encuentra arreflexia, diplejía facial, defectos atriales septales y contracturas articulares. Se presenta falla respiratoria temprana y la expectativa de vida es menor a 6 meses. ¹

Tipo 1

También conocida como enfermedad de Werdnig-Hoffman; de severidad intermedia.^{1,9} Es la forma más común hasta en un 50% de los casos, con diagnóstico antes de los 6 meses. Han habido múltiples intentos de subdividir al AME tipo 1 en más grupos clínicos. Actualmente se utiliza una clasificación reportada en diferentes versiones; 1a con inicio de síntomas en las primeras 2 semana de vida, 1b con inicio en los primeros 3 meses, y tipo 1c con inicio antes de los 6 meses. ⁵ Presenta hipotonía, pobre sostén cefálico, hiporreflexia o arreflexia. Por definición no logran la sedestación sin ayuda. Se encuentran con postura en “rana”, debilidad de músculos intercostales con disociación diafragmática, tórax en campana y respiración abdominal. Desarrollan debilidad de los músculos de la lengua y dificultad para deglutir con fasciculaciones linguales. Se desarrolla debilidad facial y alto riesgo de aspiración. La cognición es normal y el pronóstico de vida es de 2 años. ¹

Tipo 2

Llamada Enfermedad de Dubowitz, es una forma con síntomas menos severos y se caracteriza por iniciar entre los 7 y 18 meses. ^{9 1} Los pacientes no pueden mantener una sedestación sin ayuda. Algunos pueden levantarse con ayuda, pero no mantenerse de pie ni caminar de forma independiente. Presentan dificultad para deglutir. Existen complicaciones ortopédicas con alteración en el desarrollo óseo y articular, así como escoliosis progresiva y contracturas. La escoliosis y la debilidad de los músculos intercostales provoca restricción respiratoria. La cognición es normal y la esperanza de vida es mayor a 2 años. ^{1 9}

Tipo 3

Llamada enfermedad de Kugelberg-Welander, se presenta después de los 18 meses de edad. Los niños pueden ser capaces de caminar sin ayuda en algún momento de la vida. Presentan mayor debilidad proximal de las extremidades inferiores en comparación con las superiores, con necesidad del uso de silla de ruedas. Tienen comorbilidades óseas como escoliosis y pueden o no tener afección de los músculos respiratorios. El estado cognitivo es normal y la expectativa de vida no está alterada. ¹

Tipo 4

En este rubro se clasifican los individuos que presentan menos del 5% de la expresión de esta enfermedad, la cual es menos severa. Su deambulación es similar a los pacientes con AME tipo 3 a diferencia de la edad de inicio que es en la adultez; mayor a 30 años aproximadamente. ¹

GENETICA MOLECULAR Y PATOGENESIS DE LA ATROFIA MUSCULAR ESPINAL

El locus del gen SMA en el cromosoma 5q13 fue descubierto en 1990.⁹ La clonación de la región de la enfermedad con cromosomas artificiales de levadura permitió la identificación de multicopias de repetición de microsatélites y otras secuencias genéticas. ⁹

En 1994, se encontraron multicopias microsatélites en pacientes con AME, los cuales se relacionaban con el desequilibrio con el locus de la enfermedad. El gen SMN está presente en multicopias en el genoma humano: un SMN1 telomérico y determinante de la enfermedad y varios SMN2 centromérico producto de la duplicación inversa de la región SMN1, presente solo en el homo sapiens. ^{4 10} Los dos genes difieren en solo 5 nucleótidos, solo uno de los cuales está dentro de 1.7kd de la región codificadora, pero ninguno afecta la secuencia de aminoácidos predicha. Los dos genes contienen 9 exones y 8 intrones.

La proteína SMN es expresada en todos los tejidos somáticos, fue llamada de “supervivencia” debido a que su ausencia traduce en letalidad. Su longitud es de 294 aminoácidos con 38 KDa de peso y se transcribe en el gen SMN1. Hay 9 exones en el gen SMN, las personas sanas tienen 1 copia en cada cromosoma para un total de 2 copias. El 5 a 8% de la población tiene más de 1 copia para SMN1 en un cromosoma.⁹

Tiene un rol muy importante en los procesos celulares y su rol en el AME, aunque no totalmente conocido, se relaciona con la susceptibilidad de las células a morir por toxicidad, siendo una proteína de protección y vital para su mantenimiento.¹⁰

La función más estudiada de la proteína SMN, es su rol en el ensamblaje de ribonucleoproteínas pequeñas (snRNP) desde ácidos ribonucleicos pequeños (sRNA) en el citoplasma. También participa en el transporte y transducción de múltiples proteínas y juega un rol integral en el transporte de la transcripción del RNA a lo largo de los axones y las dendritas y su desregulación se asocia a desordenes neurodegenerativos severos incluyendo el Alzheimer y la esclerosis lateral amiotrófica. Así mismo participa en el desarrollo, polarización, crecimiento y maduración de las neuronas motoras, asegurando su buen funcionamiento. Esto es crucial para la expansión física de la motoneurona y explica porque son particularmente susceptibles a su pérdida.¹⁰ Mas del 98% de los pacientes con AME tienen una disrupción homocigota del SMN1 por deleción, re arreglo o mutación.

PROTEINA NO FUNCIONAL POR DUCIDA POR EL GEN SMN2

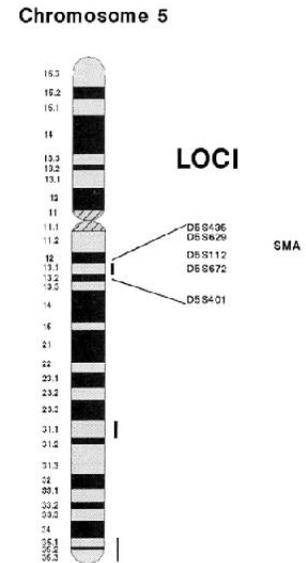
Los seres humanos tienen 2 copias del gen SMN2, localizado} de forma invertida en una repetición de 500kb en la misma región que el SMN1. La diferencia entre ellos es la diferencia de un nucleótido silente transicional, el cual permite un empalme alternativo con una transición de los nucleótidos de citosina (C) a tirosina (T) en la posición 6 del exón 7 (Ex7+6) y produce una isoforma de ácido ribonucleico mensajero (mRNA) en el exón 7 u 8, sin embargo uno o los dos puede estar ausente.

⁹ La proteína resultante SMN Δ 7, no es funcional y se degrada rápidamente por medio de la vía ubiquitina proteasoma. ⁹ ¹⁰ Solo cerca del 10% de esta proteína es empalmada correctamente y convertida en una SMN completa. La eficacia del SMN2 depende de la severidad de la enfermedad y a su vez puede ser modificador de esta dependiendo del número de copias presente, ya que puede transcribir hasta un 50%. Este bajo nivel permite el desarrollo embriológico, pero es insuficiente para asegurar la supervivencia de las motoneuronas de la medula espinal. ⁹ ⁴ Los pacientes con AME pueden tener hasta 4 o más copias de SMN2, siendo la severidad de la enfermedad menor en relación a más copias presentes, ¹⁰ asociando directamente al genotipo de los pacientes con la presentación clínica de la atrofia muscular espinal y estableciendo una relación directa del AME Tipo 1 con un menor número de copias y al AME tipo 3 y 4 con más de 4 copias de SMN2, ³ estableciendo la necesidad de una revisión a corto plazo de la clasificación de la enfermedad de acuerdo al análisis molecular de los pacientes con esta enfermedad.

La relación entre la severidad de la enfermedad y el número de copias de SMN2 ha sido descrita de manera repetida a lo largo de los años de acuerdo a los avances tecnológicos y la mejor caracterización génica de las enfermedades hereditarias, sin embargo su asociación a otros genes modificadores de la enfermedad ha sido poco estudiada y ningún estudio se ha reportado en población latinoamericana.

GENES MODIFICADORES DE LA ENFERMEDAD

Además del estudio de la mutación del SMN1, se han cuantificado genes modificadores de la enfermedad en la región 5q12 que incluyen al NAIP, GTF2H2 por medio de longitud de polimorfismo de fragmento restringido de reacción en cadena de polimerasa (PCR-RFLP), amplificación en probeta de múltiples ligando dependientes (MLPA), clonación y PCR de alelo específico. ²



GEN NAIP DE LA PROTEINA INHIBITORIA DE LA APOPTOSIS

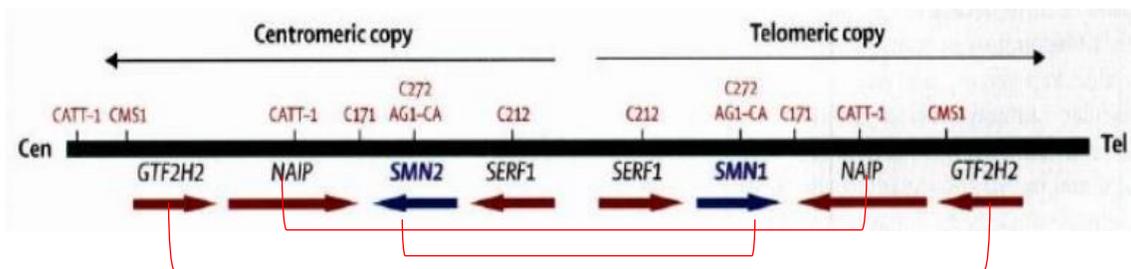
Existe un gen adyacente a la proteína SMN llamado gen de la proteína inhibitoria de la apoptosis (NAIP). El gen NAIP es parte de la familia de inhibidores de la apoptosis (IAP), que son requeridas para múltiples procesos celulares: apoptosis, proliferación celular, citogénesis, transducción de señales, homeostasis de materiales pesados e inmunidad. El gen NAIP participa en la formación del inflammasoma NLRC4, una plataforma señalizadora que por medio de la unión a un patrón molecular patogénico asociado, recluta y activa a la caspasa 1, una enzima proteolítica que procesa precursores de interleucina-1 beta e interleucina 18 para la excreción celular. ¹¹

El gen NAIP también se encuentra localizado en el cromosoma 5q13.2 y su delección se ha encontrado en la mayoría de los pacientes con AME tipo 1 y aunque su función exacta no ha sido clarificada, el análisis en su número de copias puede ser usado para estimar la extensión de la delección aledaña a la región del gen SMA. Se ha identificado mediante estudios en población coreana y turca, que su delección muestra síntomas más severos, mayor riesgo de muerte y menor tiempo de supervivencia.⁴ En un estudio realizado en el Hospital de Tunisia, África; se realizó el estudio molecular de 26 pacientes con AME; 16 con AME tipo I y 6 con AME tipo II. Se encontró que 14 pacientes con AME tipo I, los de presentación más severa,

tenían delección homocigota para el exón 5 del gen NAIP en comparación con solo 2 de los pacientes con Tipo II. ³

GEN GTF2H2

El gen que codifica la p44, una subunidad del factor basal de transcripción del factor TFIIH2, este duplicado en la misma región que el gen SMN. El TFIIH2 es un polipéptido multifuncional cuya principal participación se lleva a cabo durante, la transcripción, reparación del DNA. La mutación de otras subunidades del TFIIH como la p89 y la p80 causan desordenes autosómico recesivos que afectan múltiples sistemas como la Xerodermia pigmentosa, el síndrome de Cockayne y la Trichotiodistrofia. ¹² Este gen se ha reportado ausente en pacientes con delección homocigota del gen NAIP sin relación con el número de copias de SMN2, así como la relación con una forma más severa de AME tipo 1 con inicio de los síntomas al primer mes de vida. ² Todo esto asociado a delecciones más amplias como lo mostrado en un estudio por Bürglen y colaboradores en 1997, en el cual estudiaron a 97 pacientes con AME tipo 1, 2 y 3 sin relación consanguínea en el cual analizaron por medio de amplificación por PCR la presencia o ausencia de este gen en comparación con un grupo control, demostrando que la delección del GTF2H2 se encontraba presente hasta en el 56% de los pacientes con AME Tipo 1. ¹² Sin embargo no se han realizado estudios mas extensos en el cual se relacione no solo al subtipo de atrofia muscular espinal, sino a síntomas específicos, pronostico y sobrevida de los pacientes con AME tipo 1.



Las copias de cada gen modificador de la enfermedad pueden ser hallada una en su porción telomérica y otra en la región centromérica.

EVALUACIÓN CLINICA DEL PACIENTE CON AME TIPO 1.

Las habilidades motoras de un paciente con AME tipo 1 son limitadas, variadas y difícilmente medibles y cuantificables. En el año 2010 el Hospital infantil de Filadelfia en los Estados Unidos de América, desarrollo una escala con el nombre CHOP Intend dirigida a los pacientes con AME tipo 1 en quienes la perdida de hitos motrices se da de forma más acelerada en comparación con el tipo 2 y 3.¹³ Por medio de la exploración física, esta escala permite al explorador dar un puntaje más objetivo en cuanto a la calidad y cantidad de movimientos motores espontáneos y provocados en estos paciente; se incluyen 16 objetivos valorados en cada lado del cuerpo para lograr una calificación total de 0 hasta 64.¹⁴ Normalmente el promedio de un paciente con AME tipo 1 es de 20 puntos con tendencia a la pérdida progresiva en relación con la edad hasta el fallecimiento de los pacientes.

Esta escala motriz puede ser realizada por cualquier especialista de la salud, su acceso es de forma gratuita directo en la publicación completa de la escala realizada en la revista *Neuromuscular Disorders* en Marzo 2010 o de las guías de evaluación clínica continua para los pacientes con Atrofia muscular espinal tipo 1 e incluye un manual extendido que explica cada punto a evaluar.¹³

CHOP INTEND
CHILDREN'S HOSPITAL OF PHILADELPHIA INFANT TEST OF NEUROMUSCULAR DISORDERS

Name: _____
MR: _____
DOB: _____
DOB: _____

Diagnosis: _____
Gestational age: _____
Time since last feeding: _____

Current health: UR Grube BIPAP HRS/Day _____ HRS/Day _____ HRS/Day _____

Item	Position	Test Procedure	Global Response	Score	Side
1 Spontaneous movement (Upper extremity)	Supine	Observe throughout testing. May unweight limb as stimulate infant to facilitate response	Antigravity shoulder movement (achieves elbow off surface)	4	L
			Antigravity elbow movement (achieves hand and forearm off surface)	3	R
			Wrist movement	2	R
			Finger movement	1	R
			No movement of limbs	0	R
2 Spontaneous movement (Lower extremity)	Supine	Observe throughout testing. May unweight limb as stimulate infant to facilitate response	Antigravity hip movement (achieves feet and knees off surface)	4	L
			Antigravity hip abduction/external rotation (chairs off surface)	3	R
			Active gravity eliminated knee movement (chairs)	2	R
			Ankle movement	1	R
			No movement of limbs	0	R
3 Hand grip	Supine	Grip strength: place finger on palm and lift until shoulder comes off surface observe when infant loses grasp May use toy of similar diameter for older children.	Maintains hand grip with shoulder off bed	4	L
			Maintains grip with elbow off surface (shoulder on surface)	3	R
			Maintains grip with forearm off surface (elbow supported on surface)	2	R
			Maintains grip only with no traction	1	R
			No attempt to maintain grip	0	R
4 Head in midline with visual stimulation*	Supine head midline	Visual stimulation is given with toy. If head is maintained in midline for 3 seconds. Place head in maximum available rotation and provide visual stimulation to encourage midline.	Rotates from maximum rotation to midline	4	L>R
			Turns head part way back to midline	3	R>L
			Maintains midline for 3 or more seconds	2	R>L
			Maintains midline, less than 3 seconds	1	R>L
			Head falls to side, no attempts to regain midline	0	R>L
5 Hip adduction	Supine, no diaper	Hips flexed and abducted Feet hip width apart and thighs parallel, knees slightly apart	Keeps knee off surface of bed > 5 sec or lifts feet off surface	4	L
			Keeps knees off surface of bed 1-5 sec	2	R
			No attempt to maintain knees off surface	0	R
			When traction is applied at the end of the maneuver, rolls to prone with lateral head midline	4	To R
			Rolls through ABC lying into prone without lateral head righting, clears weight-bearing arm to complete roll	3	To L
6 Rolling elicited from legs*	Supine (arms at sides) Keep side tested up roll away from the side tested	1. Hold infant's lower thigh, flex hip and knee and abduct across midline bringing pelvis vertical maintain traction and prone in this position. 2. If infant rolls to side apply traction at a 45° diagonal to body and prone to allow infant to attempt to deviate body	Pelvis, trunk and arm lift from support surface, head turns and rolls onto side, arm comes into front of body	2	To L
			Pelvis and trunk lift from support surface and head turns to side. Arm remains behind trunk	1	To L
			Pelvis lifted passively off support surface	0	To L
			Rolls to prone with lateral head righting	4	To R
			Rolls into prone without lateral head righting; most clear weight-bearing arm completely to finish roll	3	To R
7 Rolling elicited from arm*	Supine (arms at side) Keep side tested up roll away from the side tested	1. Hold infant at the elbow arm toward opposite shoulder maintain traction on limb and prone with the shoulders vertical allow infant to deviate. 2. If the pelvis achieves	Rolls onto side, leg comes thru and abducts, bringing the pelvis vertical	2	To L
			Head turns to side and shoulder and trunk lift from surface	1	To L
			Rolls to prone with lateral head righting	4	To R
			Rolls into prone without lateral head righting; most clear weight-bearing arm completely to finish roll	3	To R
			Rolls onto side, leg comes thru and abducts, bringing the pelvis vertical	2	To R

Item	Position	Test Procedure	Global Response	Score	Side
8 Shoulder and elbow flexion And horizontal abduction	Side-lying with upper arm at 30° of shoulder extension and supported on body (restrain lower arm if needed)	Prompt reach for a toy presented at arm length at shoulder level and elbow flexion (may provide stimulation and observe spontaneous movement)	Clears hand from surface with antigravity arm movement	4	L
			ABLE to flex shoulder to 45 degrees, without antigravity arm movement	3	R
			Flexes elbow after arm comes off body	2	R
			ABLE to get arm off body	1	R
			No response	0	R
9 Shoulder flexion & Elbow flexion	Sitting in lap or on mat with head and trunk support (20° recline)	Percent stimulus at midline and at shoulder level at arm length (may provide stimulation and observe spontaneous movement)	Abducts or flexes shoulder to 60 degrees	4	L
			Abducts or flexes shoulder to 30 degrees	3	R
			Any shoulder flexion or abduction	2	R
			Flexes elbow only	1	R
			No attempt to lift arm	0	R
10 Knee extension	Sitting in lap or over edge of mat with head and trunk support (20° recline) High horizontal to ground	Tickle plantar surface of foot Or gently pinch toe	Extends knee to > 45 degrees	4	L
			Extends knee 15 to 45 degrees	2	R
			Any visible knee extension	1	R
			No visible knee extension	0	R
			No response	0	R
11 Hip flexion and foot dorsiflexion	Side-lying upper arm on back with hip flexed and abdomen with the child's head resting between feet and feet flexed	Stroke the foot or pinch the toe	Hip flexion or knee flexion > 30°	4	L
			Any hip flexion or knee flexion	3	R
			Ankle dorsiflexion only	2	R
			No active hip, knee or ankle motion	0	R
			No response	0	R
12 Head control*	Sitting with support at the shoulders and trunk erect	Place the infant in ring sit with head erect and assistance given at the shoulders (floor and back). (may allow reaching a grade of 1 and 4 until end of test)	Attains head upright from flexion and turns head side to side	4	L
			Maintains head upright for > 15 sec. (for holding head control score a 2)	3	R
			Maintains head in midline for > 9 sec. with the head erect in an 8-10° of forward flexion or extension	2	R
			Active lift or raises head twice from flexion within 15 seconds. (do not credit if movement is in time with breathing)	1	R
			No response, head lumps	0	R
13 Elbow flexion Score with item 14	Supine	Traction response: pull to all extend arms at 45 degree angle, to point of nearly lifting head off surface	Flexes elbow	4	L
			Visible biceps contraction without elbow flexion	2	R
			No visible contraction	0	R
			Lifts head off bed	4	R
			Visible muscle contraction of SCM	2	R
14 Neck flexion Score with item 13	Supine	Traction response: hold in neutral position to wrist and shoulder at 45° to point of nearly lifting head off surface	Visible muscle contraction of SCM	4	L
			No muscle contraction	0	R
			Extends head to horizontal plane or above	4	R
			Extends head partially, but not to horizontal	2	R
			No head extension	0	R
15 Head/Neck Extension (Landsau)	Vertical suspension: Prone, held in one hand upper abdomen	Stroke along spine from neck to sacrum. The central axis of the head when parallel to the bed surface - 0 degrees (horizontal)	Extends head to horizontal plane or above	4	L
			Extends head partially, but not to horizontal	2	R
			No head extension	0	R
			Twists pelvis towards stimulus off axis	4	L
			Visible paraspinal muscle contraction	2	R
16 Spinal Incursion (Goltz)	Vertical suspension: Prone, held in one hand upper abdomen	Stroke right then left iliothoracic paraspinal or table abdomen to foot or sit on table with straight (clasp) for 10 sec over 10 hip knees and head over trunk	No response	0	R
			Visible paraspinal muscle contraction	2	R
			Twists pelvis towards stimulus off axis	4	L
			Visible paraspinal muscle contraction	2	R
			No response	0	R

Total score, best score on each side for each item (maximum 64 points)

* Adapted from the Test of Infant Motor Performance, Campbell, SK, et al, 2001
 2. Adapted from the Test of Infant Motor Performance, Campbell, SK, et al, 2001
 3. Adapted from the Test of Infant Motor Performance, Campbell, SK, et al, 2001
 4. Adapted from the Test of Infant Motor Performance, Campbell, SK, et al, 2001
 5. Adapted from the Test of Infant Motor Performance, Campbell, SK, et al, 2001
 6. Adapted from the Test of Infant Motor Performance, Campbell, SK, et al, 2001
 7. Adapted from the Test of Infant Motor Performance, Campbell, SK, et al, 2001
 8. Adapted from the Test of Infant Motor Performance, Campbell, SK, et al, 2001
 9. Adapted from the Test of Infant Motor Performance, Campbell, SK, et al, 2001
 10. Adapted from the Test of Infant Motor Performance, Campbell, SK, et al, 2001
 11. Adapted from the Test of Infant Motor Performance, Campbell, SK, et al, 2001
 12. Adapted from the Test of Infant Motor Performance, Campbell, SK, et al, 2001
 13. Adapted from the Test of Infant Motor Performance, Campbell, SK, et al, 2001
 14. Adapted from the Test of Infant Motor Performance, Campbell, SK, et al, 2001
 15. Adapted from the Test of Infant Motor Performance, Campbell, SK, et al, 2001
 16. Adapted from the Test of Infant Motor Performance, Campbell, SK, et al, 2001

Se anexa la escala completa legible en el area de Anexos.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El diagnóstico de la atrofia muscular espinal se realiza en base al resultado molecular que demuestra la delección heterocigota del gen SMN, sin embargo, la clasificación se realiza de acuerdo con la edad de inicio de los síntomas clínicos, aunque la clasificación no explica la diferencia entre la severidad y curso de la enfermedad, los cuales varían entre cada paciente. Los últimos avances en investigación genética han demostrado que el número de copias de SMN2 así como la presencia de otras delecciones de genes ubicados en esa misma región cromosómica; gen NAIP y GTF2H2, son determinantes modificadores de la enfermedad, siendo su presencia o ausencia la explicación a estas preguntas.

Estos estudios se han realizado en distintas poblaciones del mundo, pero nunca en población mexicana. No hay descripciones previas sobre el fenotipo de los pacientes mexicanos con AME tipo I y por lo tanto tampoco existen estudios sobre la relación entre la presencia de estas mutaciones genéticas y la severidad de los síntomas. Actualmente no existe un entendimiento total de la enfermedad, guías diagnósticas, planes de referencia ni tratamiento guiado para nuestra población.

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Existe una relación entre el fenotipo (expresión clínica de la enfermedad) y los resultados de análisis molecular (número de copias del gen SMN2, delección de los genes NAIP y GTF2H2) en los pacientes mexicanos con atrofia muscular espinal tipo 1 del Hospital Infantil de México Federico Gómez?

JUSTIFICACIÓN

La atrofia muscular espinal tipo 1 es una enfermedad de alta prevalencia en población mundial, sin embargo, la falta de conocimiento, de investigación y a su letalidad a corta edad, no es conocida ni diagnosticada en comparación con otras enfermedades genéticas. Hoy en día, junto con el crecimiento poblacional, el número de pacientes aumenta y los avances tecnológicos y de divulgación científica han permitido el crecimiento en el conocimiento y un mayor diagnóstico oportuno de estos pacientes en que los síntomas son puramente motores y el coeficiente intelectual es integro.

En población de otros países se ha demostrado que, si existe una relación entre la expresión génica con síntomas más severos, mayor riesgo de muerte y menor tiempo de sobrevivida en relación con la presencia del gen NAIP el que funciona como factor protector en el curso de la enfermedad.

Por lo tanto, esta determinación no solo es importante para el consejo genético sino también para el establecimiento de bases de datos que abran las puertas para futuras investigaciones.

OBJETIVOS

Objetivo general

Describir la relación entre la expresión clínica de la atrofia muscular espinal tipo 1 y los resultados de análisis molecular en pacientes mexicanos del Hospital Infantil de México Federico Gómez.

Objetivos secundarios

- Describir las características clínicas de los pacientes con atrofia muscular espinal tipo 1 del Hospital Infantil de México Federico Gómez.
- Reportar el resultado de análisis molecular de los pacientes con atrofia muscular espinal tipo 1 del Hospital Infantil de México Federico Gómez.
- Determinar la relación entre las características clínicas y el reporte de análisis molecular de los pacientes con atrofia muscular espinal tipo 1.
- Determinar la relación entre la severidad de los síntomas con el número de copias del gen SMN2 en los pacientes con atrofia muscular espinal tipo 1.
- Determinar la relación entre la severidad de los síntomas con la presencia o ausencia de la delección del gen NAIP en los pacientes con atrofia muscular espinal tipo 1.
- Comparar las características clínicas de los pacientes con atrofia muscular tipo 1 entre sí.

HIPÓTESIS NULA

No existe una relación entre la expresión clínica de la atrofia muscular espinal tipo 1 con el resultado de análisis molecular de los pacientes mexicanos del Hospital Infantil de México Federico Gómez.

HIPÓTESIS ALTERNA

Existe una relación entre la expresión clínica de la atrofia muscular espinal tipo 1 con el resultado de análisis molecular de los pacientes mexicanos del Hospital Infantil de México Federico Gómez.

METODOLOGÍA

Tipo de estudio: Estudio transversal, observacional, descriptivo

Universo: pacientes con diagnóstico de Atrofia muscular espinal tipo 1 captados en la consulta externa de Neurología

Tamaño de muestra: 10 pacientes

CRITERIOS DE SELECCIÓN

Criterios de inclusión:

- Pacientes de ambos sexos, sin importar edad con diagnóstico molecular de atrofia muscular espinal tipo 1.

Criterios de exclusión:

- Padres que no estén dispuestos a firmar el consentimiento informado para el uso de los resultados de análisis molecular con fines de investigación y divulgación científica.

Criterios de eliminación

- Ninguno

DEFINICIÓN DE VARIABLES

VARIABLE	DEFINICIÓN OPERACIONAL	CLASIFICACIÓN METODOLÓGICA	ESCALA DE MEDICIÓN
GENERO	Condición orgánica que distingue a los hombres de las mujeres.	Cualitativa nominal discreta	Femenino o masculino
EDAD AL INICIO DE LOS SINTOMAS	Tiempo de vida a partir del nacimiento en el cual iniciaron los síntomas relacionados a atrofia muscular espinal.	Cuantitativa ordinal discreta	Edad en meses de 30 días
SOSTEN CEFALICO	Habilidad motriz para sostener la cabeza en un plano lineal.	Cualitativa nominal	Presente Ausente
DIFICULTAD PARA LA DEGLUCIÓN	Alteración en la capacidad para transportar alimentos desde la cavidad oral hasta el estómago.	Cualitativa nominal	Presente Ausente
RESPIRACIÓN ABDOMINAL	Uso de músculos abdominales durante la respiración debido a debilidad de músculos torácicos.	Cualitativa nominal	Presente Ausente
Puntaje de escala CHOP Intend	Puntaje de escala motora en números enteros desde 0 hasta 64	Cuantitativa nominal discreta	Números enteros
Ventilación mecánica invasiva	Dependencia al ventilador mecánico antes de 18 meses de edad.	Cualitativa nominal	Presente Ausente

Diagnostico molecular de AME tipo 1	Delección heterocigota u homocigota de las sondas localizadas en exones 1,4,6 y 8 de la copia telomerica del gen SMN, el gen SMN1 en el cromosoma 5q11.1-13.	Cualitativa nominal	Presente Ausente
Numero de copias presentes del gen SMN2	Numero de copias del gen SMN2 presentes por medio de análisis molecular.	Cuantitativa nominal discreta	Números enteros
Mutación del gen NAIP	Delección en exones relacionadas al gen NAIP.	Cuantitativa nominal	Presente Ausente
Delección del gen GTF2H2	Delección en exones relacionados al GTF2H2.	Cuantitativa nominal	Presente Ausente

PROCEDIMIENTOS

Captamos 10 pacientes sin distinción de sexo y de cualquier edad del Hospital Infantil de México Federico Gómez con diagnóstico de Atrofia muscular espinal tipo 1 con estudio molecular con resultado de delección heterocigota en los exones 1, 4, 6 y 8 del gen SMN1, el número de copias del gen SMN2, así como delecciones homocigotas de los genes NAIP y GTF2H2. La técnica del estudio molecular fue establecida y hecha por medio de la obtención del DNA genómico del paciente a partir de leucocitos totales de sangre periférica con EDTA como anticoagulante y mediante la técnica de digestión de proteinasa K-sales caotrópicas y adsorción de DNA en columna de sílica. El DNA genómico obtenido es sometido al análisis de número de copia por tecnología MLPA (Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification) dirigida que logra amplificar a los exones 7 y 8, tanto del gen funcional SMN1, como el pseudo gen no funcional aledaño (SMN2), NAIP y GT2H2 (kit PO21 de MRC-Holland). Tras secuenciación mediante un secuenciador de capilar (SeqStudio, Life Technologies) de la muestra, los fragmentos obtenidos fueron analizados mediante el software Coffalyzer (MRC-Holland). Todo este procedimiento se realizó en el laboratorio externo *New Integrated Medical Genetics* en Madrid, España, por medio de un contacto directo con la familia de los pacientes sin ninguna intervención médica o monetaria por parte del Hospital Infantil de México Federico Gómez.

Por medio de un consentimiento informado se solicitó el permiso a los padres para el uso de los datos con fines de investigación para este trabajo y futura divulgación científica relacionada.

No se realizó recolección de muestra sanguínea dentro de la institución, el resultado del análisis molecular fue facilitado de manera voluntaria por el familiar en la consulta externa como opción para completar el abordaje diagnóstico del paciente.

Por medio de interrogatorio y exploración física en la primera consulta, se determinaron las variables a estudiar y se realizó la escala de medición CHOP Intend del *Children's Hospital of Philadelphia Infant Test of Neuromuscular*

Disorders para pacientes menores de 1 año con AME tipo 1 con una puntuación máxima de 64 de acuerdo al manual de procedimientos establecido.

Se documentaron los signos incluidos en las variables, así como la puntuación de la escala CHOP Intend en una hoja de recolección de datos individual y personalizada.

Las características clínicas de los pacientes fueron organizadas en tablas, graficas por medio de estadística descriptiva para obtener porcentajes y datos absolutos.

ANÁLISIS DE LOS DATOS

Para el análisis se realizó estadística descriptiva con medidas de tendencia para la descripción de las características clínicas en Microsoft Excel Office 365 2019.

Los datos se reportaron mediante tablas con porcentajes y gráficos.

RESULTADOS

Durante nuestro estudio, logramos captar un total de 12 pacientes en 16 meses, de los cuales 10 cumplieron todos los criterios de inclusión. El 50% de género femenino (n=5), todos con promedio de inicio de síntomas a los 2.7 meses y de 12.3 meses en la primera consulta. A cada paciente se le asignó un número del 1 al 10 por medio de la denominación.

Del total de pacientes, un 40% (n=3) ya contaba con ventilación mecánica invasiva durante la primera consulta y todos tenían una edad menor a 18 meses. El síntoma inicial en todos los pacientes fue hipotonía.

De manera indirecta se logró obtener un promedio de inicio de síntomas de

Tabla de recolección de datos y variables

Datos	Características clínicas de pacientes mexicanos con AME tipo 1									
Paciente	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10
Genero	M	F	M	F	M	F	M	M	F	F
Edad inicio síntomas en meses	3	4	2	2	3	1	5	1	2	4
Síntoma inicial	HIP	HIP	HIP	HIP	HIP	HIP	HIP	HIP	HIP	HIP
Edad primera consulta en meses	11	15	15	3	10	10	14	28	12	5
Chop intend	38	8	10	15	12	19	33	2	26	18
Sostén cefálico	Si	No	No	No	No	No	Si	Si	Si	Si
Deglución	Si	No	Si	Si	Si	No	Si	Si	Si	Si
Respiración abdominal	Si	Si	Si	Si	Si	Si	Si	Si	Si	Si
Ventilación mecánica > de 18 meses	NO	SI	SI	SI	NO	SI	NO	NO	NO	NO
Copias SMN exón 7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Copias SMN exón 8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Número de copias SMN2	3	2	2	2	2	2	3	2	2	2

Deleción gen NAIP exón 5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Deleción gen NAIP exón 13	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
Deleción gen GTF2H2 exón 5 y 8	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-
Deleción gen GTF2H2 exon 11	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-

Tabla 1. Datos en números enteros y símbolos. +: presente, -: ausente. CHOP Intend: Childrens Hospital Of Philadelphia Intend scale. HE: Heterocigota. HO: Homocigota. SMN: Survival motoneuron protein en ingles. SMN2 Survival motoneuron protein 2 en ingles. NAIP: Neuronal apoptosis inhibitory protein, símbolo aprobado para NLR familia de proteína inhibidora de apoptosis. GTF2H2 símbolo aprobado para gen de Sub unidad 2 del factor general de transcripción IIH.

Características clínicas

El sostén cefálico estaba presente en el 50% (n=5), la deglución se reportó ausente en el 20% (n=2), con respiración abdominal en el 100% asociado al tórax en campana y la debilidad de músculos intercostales.

CARACTERISTICAS	TOTAL (n=10) AME Tipo 1
Sexo, masculino: femenino	5:5
Edad al inicio de síntomas en meses	2.7 (1-5)
Edad primera consulta	12.3 (5-28)
Síntomas en 1° consulta	
Respiración abdominal	100% (n=10)
Sostén cefálico	50% (n=5)
Deglución alterada	20% (n=2)
Ventilación mecánica invasiva antes de 18 meses	40% (n=4)

Tabla 2. Datos en porcentaje %. AME: Atrofia muscular espinal

Escala motora

La escala motora de CHOP Intend mostro un puntaje mínimo de 2 hasta un máximo de 38 con una media de 18.1. Los puntajes por arriba de 30 pertenecen a pacientes menores de 18 meses (n=29). No encontramos una relación directa con la edad ni el género, aunque el paciente con mayor edad presento el menor puntaje.

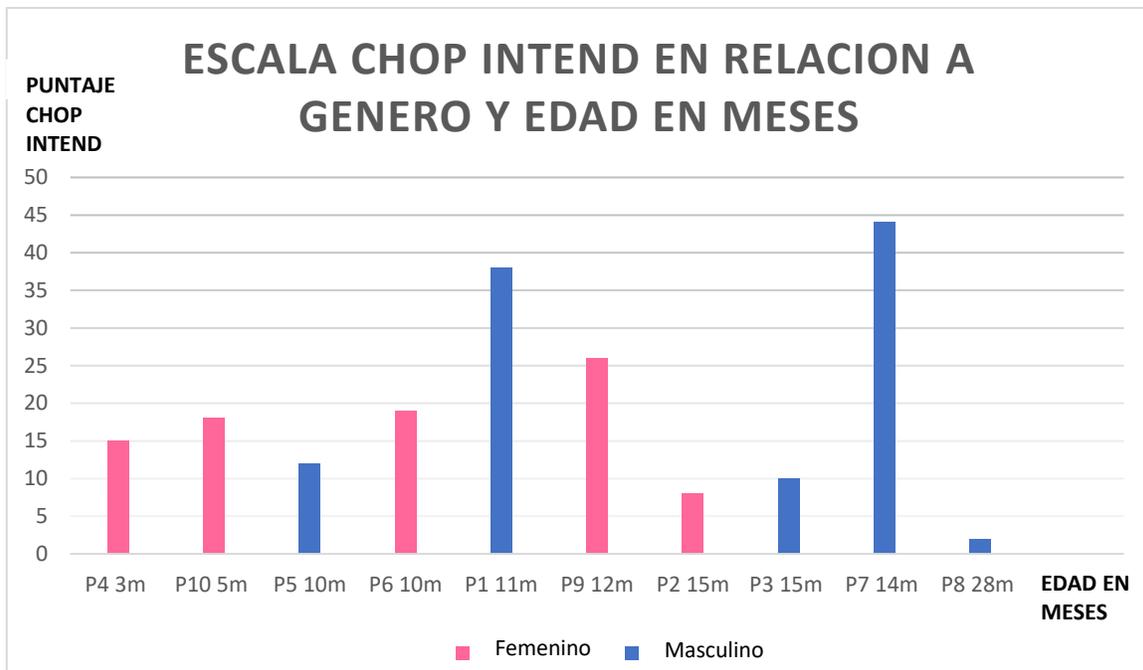


Gráfico 1. P: Paciente **m:** meses. Se ordenaron las edades de los pacientes al momento de la evaluación clínica desde 3 hasta 28 meses y se graficó su puntaje en la escala motora. El genero se reporta en diferente color.

Resultado de análisis molecular

El 100% (n=10) de los pacientes mostró delección homocigota del exón 7 y 8 para el gen SMN1 en el cromosoma 5.

El 80% (n=8) de los pacientes mostro 2 copias del gen SMN2 y el 20% (n=2), 3 copias.

En cuanto a la delección del gen NAIP, todos los pacientes mostraron delección del gen 5 y el 10% (n=1) solo del exón 5 y no del 13.

En cuanto a la delección de los exones 5, 8 y 11 del gen GTF2H2, esta se reportó positiva en el 70% (n=7).

MUTACIÓN	TOTAL (n=10)
Delección homocigota exón 7/8	100% (n=10)
Delección homocigota exón 7/8 + delección NAIP	100% (n=10)
Delección homocigota exón 7/8 + delección NAIP y GTF2H2	70% (n=7)
2 copias de SMN2	80% (n=8)
3 copias de SMN2	20% (n=2)

Tabla 3. Datos en valor de porcentaje %. NAIP: siglas en ingles para *Neuronal apoptosis inhibitory protein*, símbolo aprobado para NLR familia de proteína inhibidora de apoptosis. GTF2H2 símbolo aprobado para gen de Sub unidad 2 del factor general de transcripción IIH. SMN: Survival motoneuron protein en ingles.

Se relacionó el número de copias SMN2 y las deleciones de los genes modificadores de la enfermedad con la edad al inicio de síntomas y la necesidad de ventilación mecánica invasiva antes de 18 meses en el 100% (n=10) de los pacientes. Ya que todos los pacientes presentaron delección del gen NAIP en el exón 5, se compararon los pacientes con 2 y 3 copias de SMN2 con y sin la delección GTF2H2 agregada.

Características	2 copias SMN2 + Delección NAIP	2 copias + delección NAIP + GTF2H2	3 copias SMN2 + Delección NAIP	3 copias SMN2 + Delección NAIP + GTF2H2
Numero de pacientes	8	3	2	2
Edad al inicio de síntomas	2.7 (1-5)	2.7(2-4)	4 (3-5)	4 (3-5)
Ventilación mecánica antes de 18 meses	50% (n=4)	100%(n=3)	0%	0%

Tabla 4. Correlación clínica con genero y edad al inicio de síntomas en el 100% de pacientes. IC: Intervalo de confianza.

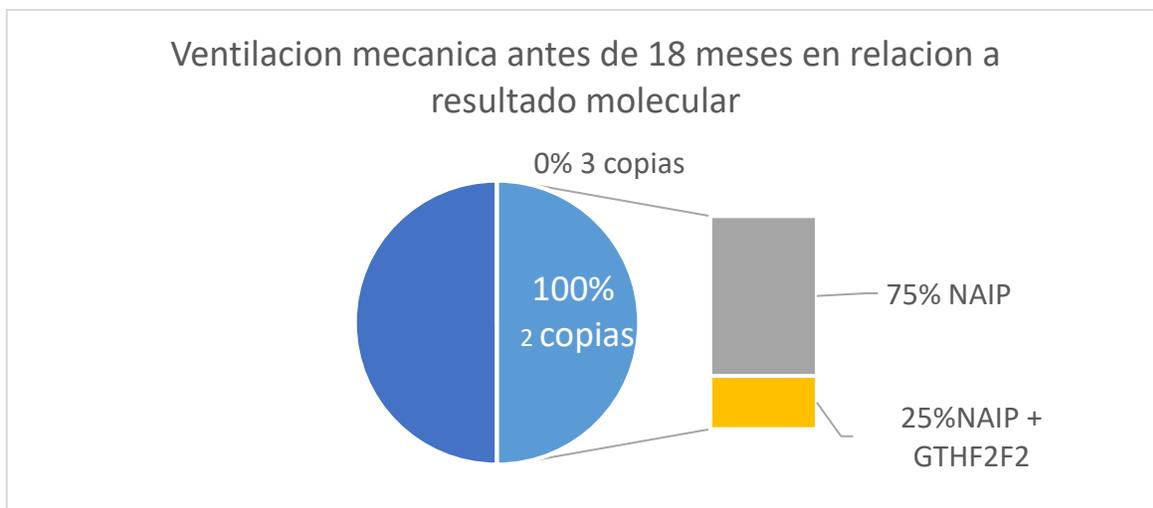


Grafico 2. Relación proporcional entre pacientes con necesidad de ventilación mecánica antes de 18 meses de edad con 2 copias de SMN2 y 3 copias de SMN2.

Debido a la variabilidad de la edad de los pacientes al momento de realizar la primera evaluación clínica, separamos a los pacientes evaluados entre los 10 y 18 meses de edad (n=7) y comparamos las características clínicas, el puntaje CHOP Intend y el uso de ventilación mecánica con el numero de copias SMN2 y la delección de genes modificadores de la enfermedad.

Características	Todos	2 copias SMN2 + NAIP	2 copias SMN2 + NAIP +GTF2H2	3 copias SMN2 + NAIP	3 copias SMN2 +Delección NAIP + GTF2H2
Numero de pacientes	7	5	2	2	0
Edad al inicio de síntomas	2.7 (1-5)	2.4(1-4)	2 (2-4)	4 (3-5)	-
Sostén cefálico presente	42%(n=3)	20%(n=1)	50%(n=1)	100%(n=2)	-
Deglución presente	71%(n=5)	60%(n=3)	100%(n=2)	100%(n=2)	-
Respiración abdominal	100%(n=7)	100%(n=5)	100%(n=2)	100%(n=2)	-
Ventilación mecánica	42%(n=3)	60%(n=3)	50%(n=1)	0%(n=0)	-
Promedio escala de CHOP Intend	18.1	13.7	18	35.5	-

Tabla 5. Correlación clínica de 7 pacientes entre 10 y 18 meses entre análisis molecular y síntomas clínicos, necesidad de ventilación mecánica invasiva y promedio en la escala CHOP Intend.

DISCUSIÓN

La Atrofia Muscular Espinal es una enfermedad considerada rara por su baja incidencia, sin embargo, no hay estudios en población mexicana que nos permita establecer un aproximado actual y verdadero. Al estudiar al AME tipo 1, que cursa con una alta mortalidad en los primeros años de vida, es menos probable poder captar un mayor número de pacientes tomando en cuenta que el promedio de diagnóstico reportado en otros estudios es de 12.5 meses con una supervivencia en promedio sin tratamiento de 24 meses.

El número limitado de la población asociado a variables cualitativas impide reportar resultados estadísticamente significativos, sin embargo, se lograron revisar estudios moleculares con técnicas exactas que reporten el número de copias SMN2 y deleción de genes modificadores de la enfermedad.

Al igual que en la literatura internacional, no encontramos un predominio de género en los pacientes y tampoco encontramos relación entre la edad con el puntaje de escala CHOP Intend; lo que apoya la hipótesis de que las características clínicas tienen mayor relación con el tamaño de la deleción en el cromosoma 5q. Cabe destacar que este estudio no incluyó a los pacientes con otro subtipo de AME aparte del 1, lo cual influye en el número el tamaño de muestra y la correlación significativa de síntomas con el estudio molecular como se ha realizado en otros estudios.

Encontramos que el 100% de los pacientes cursaron con deleción del gen NAIP a diferencia del estudio realizado en población coreana por Ahn Eun-Ji en donde se reportó solo en el 40% de sus pacientes.⁴ Es importante determinar si el tamaño de la deleción en la población mexicana tiene una tendencia a ser más amplia incluyendo a este gen modificador de la enfermedad, así como identificar y reportar el número de copias del NAIP para comparar el tipo de herencia de cada gen. No logramos comparar pacientes con y sin esta deleción entre sí, pero es importante recalcar su presencia inclusive en pacientes con 3 copias del gen SMN2.

Solo 3 equivalente al 30% de los pacientes no cursaron con delección del gen GTF2H2; 2 de ellos equivalente al 66%, si lograron sostén cefálico y escalas motrices con puntajes mayores a 30. Este resultado nos hace preguntarnos si en muestras mas grandes se repetiría esta misma tendencia. Estos resultados son similares a los reportados en estudios de población china por Jin He.²

La valoración de los pacientes en diferentes épocas de la vida limita los resultados. Es difícil dejar en claro si los hitos motrices se lograron y posteriormente se perdieron o si nunca se establecieron; razón por la cual decidimos acortar el rango de edad entre los 10 y 18 meses. Lo más relevante es que ningún paciente con 3 copias de SMN2 tenía apoyo con ventilación mecánica invasiva en la primera valoración y el promedio en puntaje de CHOP Intend fue hasta 2 veces mayor que en los pacientes con 2 copias de SMN2. También el promedio en la escala fue mayor en los pacientes solo con delección del gen NAIP que en aquellos con delección de NAIP y GTF2H2. Nuestros resultados son compatibles con los reportados por De Sanctis en el 2018,⁵ con una diferencia importante; debido al retraso en el diagnóstico de los pacientes en México, no logramos captar ninguno con edad menor a 1 mes.

CONCLUSIONES

Este estudio es el primero en reportar el genotipo y las características clínicas de los pacientes con AME tipo 1 en población mexicana. Al igual que en otros estudios de este tipo, realizar una correlación fue difícil por el número de muestra, sin embargo, nos permite una mayor predisposición a presentar 2 números de copias SMN2 y más hitos motrices medibles al momento de la evaluación en aquellos con 3 números de copias SMN2 sin delección de gen NAIP y GTH2F2.

Nuestro estudio implica que entre más grande sea la delección incluyendo el gen GTH2F2, asociada a un menor número de copias SMN2, la necesidad de ventilación mecánica invasiva tiende a mostrar un mayor porcentaje y los síntomas de la enfermedad se presentan con mayor severidad en niños mexicanos con AME Tipo 1.

Consideramos que la descripción detallada de la delección 5q12.2-13.3, incluidos los genes modificadores de la enfermedad y el número de copias de cada uno, el cual puede implicar una herencia específica, es de gran importancia debido al cuadro clínico y pronóstico asociado.

Aunque no es el fin de este estudio, queda claro que el diagnóstico precoz de la Atrofia Muscular Espinal y cualquiera de sus subtipos, en especial el tipo 1 es esencial para poder profundizar más en el comportamiento de la enfermedad desde edades más tempranas, para la valoración de la actual oferta terapéutica, para el manejo multidisciplinario, la consejería genética y el establecimiento más claro del porvenir individual de cada paciente.

CRONOGRAMA

ACTIVIDAD / MES 2018-2019	SEPTIEMBRE	OCTUBRE	NOVIEMBRE	DICIEMBRE	ENERO	FEBRERO	ABRIL	MAYO
Diseño del protocolo								
Revisión bibliográfica								
Definición de variables								
Análisis de datos								
Presentación de resultados								
Presentación de Tesis								

BIBLIOGRAFIA

1. Kolb SJ, Kissel JT. Spinal Muscular Atrophy. *Neurol Clin.* 2015;33(4):831-846. doi:10.1016/j.ncl.2015.07.004
2. He J, Zhang QJ, Lin QF, et al. Molecular analysis of SMN1, SMN2, NAIP, GTF2H2, and H4F5 genes in 157 Chinese patients with spinal muscular atrophy. *Gene.* 2013;518(2):325-329. doi:10.1016/j.gene.2012.12.109
3. Amara A, Adala L, Ben Charfeddine I, et al. Correlation of SMN2, NAIP, p44, H4F5 and Occludin genes copy number with spinal muscular atrophy phenotype in Tunisian patients. *Eur J Paediatr Neurol.* 2012;16(2):167-174. doi:10.1016/j.ejpn.2011.07.007
4. Ahn EJ, Yum MS, Kim EH, et al. Genotype-Phenotype Correlation of SMN1 and NAIP Deletions in Korean Patients with Spinal Muscular Atrophy. *J Clin Neurol.* 2017;13(1):27-31. doi:10.3988/jcn.2017.13.1.27
5. De Sanctis R, Pane M, Coratti G, et al. Clinical phenotypes and trajectories of disease progression in type 1 spinal muscular atrophy. *Neuromuscul Disord.* 2017;28(1):24-28. doi:10.1016/j.nmd.2017.09.015
6. Dubowitz V. Ramblings in the history of spinal muscular atrophy. *Neuromuscul Disord.* 2009;19(1):69-73. doi:10.1016/j.nmd.2008.10.004
7. Zárate-Aspiros R, Rosas-Sumano AB, Paz-Pacheco A, Fenton-Navarro P, Chinas-López S, López-Ríos JA. www.medigraphic.org.mx Atrofi a muscular espinal tipo 1: enfermedad de Werdnig-Hoffmann Type I spinal muscular atrophy: Werdnig-Hoffmann disease. *Bol Med Hosp Infant Mex.* 2013;7070(1):43-47.
8. Contreras-Capetillo SN, Blanco HLG, Cerda-Flores RM, et al. Frequency of SMN1 deletion carriers in a Mestizo population of central and northeastern Mexico: A pilot study. *Exp Ther Med.* 2015;9(6):2053-2058. doi:10.3892/etm.2015.2436
9. Lunn MR, Wang CH. Spinal muscular atrophy. *Lancet.* 2008;371(9630):2120-2133. doi:10.1016/s0140-6736(08)60921-6
10. Chaytow H, Huang YT, Gillingwater TH, Faller KME. The role of survival motor neuron protein (SMN) in protein homeostasis. *Cell Mol Life Sci.* 2018;(0123456789):1-18. doi:10.1007/s00018-018-2849-1
11. Romero-pinedo S, Moro V, Rojas-barros DI, et al. Inhibitor of apoptosis proteins , NAIP , cIAP1 and cIAP2 expression during macrophage differentiation and M1 / M2 polarization. 2018:1-19. doi:10.1371/journal.pone.0193643
12. Bürglen L, Seroz T, Miniou P, et al. The gene encoding p44, a subunit of the transcription factor TFIIH, is involved in large-scale deletions associated with Werdnig-Hoffmann disease. *Am J Hum Genet.* 1997;60:72-79.
13. Glanzman AM, Mazzone E, Main M, et al. The Children's Hospital of Philadelphia Infant Test

of Neuromuscular Disorders (CHOP INTEND): Test development and reliability.
Neuromuscul Disord. 2010;20(3):155-161. doi:10.1016/j.nmd.2009.11.014

14. Pane M, Palermo C, Messina S, et al. Nusinersen in type 1 SMA infants, children and young adults: Preliminary results on motor function. *Neuromuscul Disord.* 2018;28(7):582-585. doi:10.1016/j.nmd.2018.05.010

LIMITACIONES DEL ESTUDIO

El número de muestra muy limitado y no lanza resultados estadísticamente significativos debido a la dificultad para el diagnóstico y a la alta mortalidad de la enfermedad a corta edad. El alto costo monetario de los estudios moleculares que reporten el número de copias de SMN2 y otros genes modificadores de la enfermedad nos impide incluir un mayor número de pacientes al estudio. Es importante establecer lazos entre los laboratorios de genómica en el país y el mundo para ofrecer resultados certeros a los pacientes para su estudio y consejo genético y no solo con relación al alcance de sus y nuestras posibilidades.

CONSIDERACIONES ÉTICAS

El estudio se llevó a cabo de acuerdo con el Artículo 103, del título quinto, capítulo único de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud. Los pacientes incluidos en el estudio no fueron ni serán privados en ningún momento de las mejores medidas terapéuticas para su padecimiento. Se trata de un estudio sin riesgo sin embargo debido a la intención de divulgación de resultados moleculares se solicitó aprobación por parte del Comité de Investigación, Ética y Bioseguridad de nuestra institución, el cual fue favorable y definitivo por lo que se otorgó el número **HIM 2018-089**. Se firmó un consentimiento informado para ceder los derechos del uso de la información por parte de los padres.

La información proporcionada por el paciente y sus familiares son de manejo exclusivo de los investigadores y se mantuvo y mantendrá en reserva en el expediente clínico y formatos de recolección de datos del estudio.

ANEXOS



HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO FEDERICO GÓMEZ

DEPARTAMENTO DE NEUROLOGÍA

**HOJA DE RECOLECCIÓN DE DATOS DE
PACIENTES CON ATROFIA MUSCULAR ESPINAL
TIPO 1 EN MÉXICO**



Nombre de paciente:

Edad:

Expediente:

Datos	
Paciente	
Genero	
Edad inicio síntomas en meses	
Síntoma inicial	
Edad primera consulta en meses	
Chop intend	
Sostén cefálico	
Deglución	
Respiración abdominal	
Ventilación mecánica > de 18 meses	
Copias SMN exón 7	
Copias SMN exón 8	
Número de copias SMN2	
Delección gen NAIP exón 5	
Delección gen NAIP exón 13	
Delección gen GTF2H2 exón 5 y 8	
Delección gen GTF2H2 exón 11	



**Hospital Infantil de México
Federico Gómez
Instituto Nacional de Salud**

**Departamento de
Neurología pediátrica**



**CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA LA AUTORIZACIÓN DE USO Y
DIVULGACIÓN DE INFORMACIÓN Y RESULTADOS DE LABORATORIO.**

Ciudad de México, fecha: ____/____/____

Nombre del paciente: _____ Registro: _____. Nombre padre,
tutor o representante legal del paciente:

_____.

Identificación: _____.

Diagnóstico: _____.

Por medio del presente documento y en plena capacidad de mis facultades como responsable del paciente arriba señalado. A los médicos del departamento de Neurología pediátrica del Hospital Infantil de México Federico Gómez, AUTORIZO Y CEDO EL DERECHO de uso de toda la información recabada en el expediente clínico, de resultados de laboratorio y estudio molecular, así como su divulgación nacional e internacional en cuanto a carácter científico se trate.

AUTORIZA _____
(nombre y firma)

MÉDICO _____
(nombre y firma)

TESTIGO _____
(nombre y firma)

TESTIGO _____
(nombre y firma)

ESCALA MOTORA CHOP INTEND

AM. Glanzman et al./Neuromuscular Disorders 20 (2010) 155-161

The Children's Hospital of Philadelphia Infant Test of Neuromuscular Disorders						
CHOP INTEND						
Name: _____ Diagnosis: _____ Gestational age: _____ weeks						
Medical Record Number: _____ Date of Birth: _____ Age _____						
Date of Evaluation: ____/____/____ Time of evaluation: _____ Time since last feeding: _____						
Current health: Good health <input type="checkbox"/> URI <input type="checkbox"/> Other illness <input type="checkbox"/> : _____ Recent surgery <input type="checkbox"/> : _____						
Feeding support: None <input type="checkbox"/> Nasogastric Tube <input type="checkbox"/> Gastrostomy Tube <input type="checkbox"/>						
Respiratory support: None <input type="checkbox"/> BiPAP <input type="checkbox"/> for _____ hours/day _____ Time off BiPAP at testing _____						
	Position	Test Procedure	Graded Response		Score	
1 Spontaneous movement (Upper extremity)	Supine	<u>Observe throughout testing</u> May unweight limb or stimulate infant to facilitate response	Antigravity shoulder movement (achieves elbow off surface)	4	L R	Best side: Brazelton State:
			Antigravity elbow movement (achieves hand and forearm off surface)	3		
			Wrist movement	2		
			Finger movement	1		
			No movement of limbs	0		
2 Spontaneous movement (Lower extremity)	Supine	<u>Observe throughout testing</u> May unweight limb or stimulate infant to facilitate response	Antigravity hip movement (achieves feet and knees off surface)	4	L R	Best side: Brazelton State:
			Antigravity hip adduction/internal rotation (knees off surface)	3		
			Active gravity eliminated knee movement	2		
			Ankle movement	1		
			No movement of limbs	0		
3 Hand grip	Supine	Grip strength: place finger in palm and lift until shoulder comes off surface observe when infant loses grasp May use toy of similar diameter for older children	Maintains hand grip with shoulder off bed	4	L R	Best side: Brazelton State:
			Maintains grip with elbow off surface (shoulders on surface)	3		
			Maintains grip with forearm off surface (elbow supported on surface)	2		
			Maintains grip only with no traction	1		
			No attempt to maintain grasp	0		
4 Head in midline with visual stimulation*	Supine head midline	Visual stimulation is given with toy. <i>If head is maintained in midline for 5 seconds:</i> Place head in maximum available rotation and provide visual stimulation to encourage midline.	Rotates from maximum rotation to midline	4	L>R R>L	Best side: Brazelton State:
			Turns head part way back to midline	3		
			Maintains midline for 5 or more seconds	2		
			Maintains midline, less than 5 seconds	1		
			Head falls to side, no attempts to regain midline	0		
5 Hipadductors	Supine, no diaper	Hips flexed and adducted Feet hip width apart and thighs parallel, knees slightly apart	Keeps knee off surface of bed > 5 sec or lifts foot off surface	4	L R	Best side: Brazelton State:
			Keeps knees off surface of bed 1-5 sec	2		
			No attempt to maintain knees off surface	0		

6 Rolling: elicited from legs*	Supine (arms at side) Keep side tested up roll away from the Side tested	1. Holding infant's lower thigh, flex hip and knee and adduct across midline bringing pelvis vertical maintain traction and <i>pause in this position.</i> 2. If infant rolls to side apply traction at a 45° diagonal to body and pause to allow infant to attempt to derotate body	When traction is applied at the end of the maneuver, rolls to prone with lateral head righting	4	To R	Best side: Brazelton State:
			Rolls through side lying into prone without lateral head righting, clears weight-bearing arm to complete roll	3	To L	
			Pelvis, trunk and arm lift from support surface, head turns and rolls onto side, arm comes thru to front of body	2		
			Pelvis and trunk lift from support surface and head turns to side. Arm remains behind trunk	1		
			Pelvis lifted passively off support surface.	0		
7 Rolling: elicited from arms*	Supine (arms at side) Keep side tested up roll away from the Side tested	1. Hold infant at the elbow move toward opposite shoulder maintain traction on limb and <i>pause with the shoulders vertical</i> allow infant to derotate 2. If the pelvis achieves vertical continue to provide traction	Rolls to prone with lateral head righting	4	To R	Best side: Brazelton State:
			Rolls into prone without lateral head righting; must clear weight-bearing arm completely to finish roll	3	To L	
			Rolls onto side, leg comes thru and adducts, bringing the pelvis vertical	2		
			Head turns to side and shoulder and trunk lift from surface	1		
			Head turns to side; body remains limp or shoulder lifts passively	0		
8 Shoulder and elbow flexion And horizontal abduction	Side-lying with upper arm at 30° of shoulder extension and elbow flexion and supported on body (restrain lower arm if needed)	Prompt reach for a toy presented at arms length at shoulder level (may provide stimulation and <i>observe spontaneous movement</i>)	Clears hand from surface with antigravity arm movement	4	L R	Best side: Brazelton State:
			Able to flex shoulder to 45 degrees, without antigravity arm movement	3		
			Flexes elbow after arm comes off body	2		
			Able to get arm off body	1		
			No attempt	0		
9 Shoulder flexion & Elbow flexion	Sitting in lap or on mat with head and trunk support (20° recline)	Present stimulus at midline and at shoulder level at arms length (may provide stimulation and <i>observe spontaneous movement</i>)	Abducts or flexes shoulder to 60 degrees	4	L R	Best side: Brazelton State:
			Abducts or flexes shoulder to 30 degrees	3		
			Any shoulder flexion or abduction	2		
			Flexes elbow only	1		
			No attempt to lift arm	0		
10	Sitting in lap or over edge of mat with head and trunk support (20° recline) thigh horizontal to ground	Tickle plantar surface of foot Or gently pinch toe	Extends knee to > 45 degrees	4	L R	Best side: Brazelton State:
			Extends knee 15 to 45 degrees	2		
			Any visible knee extension	1		
			No visible knee extension	0		

11 Hip flexion and foot dorsiflexion	Hold infant against your body with legs free, facing outward. Support at the abdomen with the child's head resting between your arm and thorax.	Stroke the foot or pinch the toe	Hip flexion or knee flexion > 30°		Best side: Brazelton State:		
			4				
			Any hip flexion or knee flexion	3		L	
			Ankle dorsiflexion only		2		
			No active hip, knee or ankle motion		0		R
12 Head control*	Sitting with support at the shoulders and trunk erect	Place the infant in ring sit with head erect and assistance given at the shoulders (front and back). <i>(may delay scoring a grade of 1 and 4 until end of test)</i>	Attains head upright from flexion and turns head side to side		Score: Brazelton State:		
			4				
			Maintains head upright for >15 sec (for bobbing head control score a 2)	3			
			Maintains head in midline for >5 sec, with the head tipped in up to 30° of forward flexion or extension	2			
			Actively lifts or rotates head twice from flexion within 15 seconds (do not credit if movement is in time with breathing)	1			
			No response, head hangs		0		
13 Elbow flexion Score with item 14	Supine	Traction response: pull to sit extend arms at 45 degree angle, to point of nearly lifting head off surface	Flexes elbow		Best side: Brazelton State:		
			4				
			Visible biceps contraction without elbow flexion	2		L	
			No visible contraction		0		R
14 Neck Flexion Score with item 13	Supine	Traction response: hold in neutral proximal to wrist and shoulder at 45°, to point of nearly lifting head off surface	Lifts head off bed		Score: Brazelton State:		
			4				
			Visible muscle contraction of SCM	2			
			No muscle contraction		0		
15 Head/Neck Extension (Lanlan)	Vertical suspension: Prone, held in one hand upper abdomen	Stroke along the spine from neck to sacrum. The coronal axis of the head when parallel to the bed surface = 0 degrees (horizontal)	Extends head to horizontal plane or above		Score: Brazelton State:		
			4				
			Extends head partially, but not to horizontal	2			
			No head extension		0		
16 Spinal Incurvation (Galant) Spinal Incurvation (Galant)	Vertical suspension: Prone, held in one hand upper abdomen	Stroke Right then Left thoracolumbar paraspinals or nuchle abdomen or foot or tilt in infants with integrated Galant For infant over 10 kg knees and head may touch	Twists pelvis towards stimulus off axis		Best side:		
			4	L			
			Visible paraspinal muscle contraction	2			
			No response		0		R

Total score, best score on each side for each item (maximum 64 points):