



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE
POSGRADO

FUNDACIÓN HOSPITAL NUESTRA SEÑORA DE LA LUZ, I.A.P.

“ANÁLISIS MUTACIONAL DEL GEN *PABPN1* EN DISTROFIA
MUSCULAR OCULOFARÍNGEA”

TESIS

PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

CIRUJANO OFTALMÓLOGO

PRESENTA:

DRA. CRISTINA PLATA PALAZUELOS

ASESORES DE TESIS

DR. HUMBERTO LÓPEZ GARCÍA

DRA. MIRENA ASTIAZARÁN OSORNIO

DR. HÉCTOR PÉREZ CANO

CIUDAD DE MÉXICO, ENERO 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. ALEJANDRO BABAYÁN SOSA
PROFESOR TITULAR ANTE LA UNAM

DRA. ADRIANA SAUCEDO CASTILLO
PROFESOR ADJUNTO - JEFATURA DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN

DR. OSCAR BACA LOZADA
PROFESOR ADJUNTO

DR. JAIME LOZANO ALCÁZAR
DIRECTOR MÉDICO

DRA. STEPHANIE VOORDUIN RAMOS
SUB JEFATURA DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN

DR. HUMBERTO LÓPEZ GARCÍA
ASESOR DE TESIS

DRA. MIRENA AZTIAZARÁN OSORNIO
ASESOR DE TESIS

DR. HÉCTOR PÉREZ CANO
ASESOR DE TESIS

Nombre del protocolo:

Análisis mutacional del gen *PABPN1* en Distrofia muscular oculofaríngea

Identificación de los investigadores:**Dra. Cristina Plata Palazuelos**

Médico residente de Oftalmología 3er año

Fundación Hospital Nuestra Señora De La Luz I.A.P.

Correo electrónico: cristina.plata.palazuelos@gmail.com

Nombre de asesores:

Dr. Humberto López García

Cirujano Oftalmólogo Subespecialista Órbita y Oculoplástica

Médico Adscrito

Fundación Hospital Nuestra Señora De La Luz I.A.P.

Correo electrónico: humbertolopezg58@gmail.com

Dra. Mirena Astiazarán Osornio

Departamento Genética Médica

Fundación Hospital Nuestra Señora De La Luz I.A.P.

Correo electrónico: mirenaa@gmail.com

Dr. Héctor Pérez Cano

Investigador Titular Centro Investigación Biomédica

Fundación Hospital Nuestra Señora De La Luz I.A.P.

Correo electrónico: dr.hectorpc@hotmail.com

*ESTA REVISIÓN FUE REALIZADA EN LA FUNDACIÓN HOSPITAL NUESTRA SEÑORA
DE LA LUZ I.A.P., UBICADA EN LA CALLE EZEQUIEL MONTES #135, COLONIA
TABACALERA, C.P. 06030.
CIUDAD DE MÉXICO*

“La posibilidad de realizar un sueño es lo que hace que la vida sea interesante”

Paulo Coelho

A mis padres, por su amor, motivación y apoyo incondicional

A mis hermanos, por su paciencia

A mis maestros y pacientes, por sus grandes enseñanzas

A mis amigos y compañeros, por convertirse en mí segunda familia

A Dios, por la oportunidad

ÍNDICE

1. Introducción	6
2. Protocolo investigación	
Justificación	11
Planteamiento del Problema.....	11
Pregunta de Investigación	11
Hipótesis	12
Objetivo	12
3. Metodología	
Criterios de Inclusión	13
Criterios de Exclusión	13
Criterios de Eliminación.....	13
Procedimientos.....	14
Recursos Financieros y Factibilidad.....	16
Bioseguridad	17
Cronograma actividades.....	17
4. Resultados	18
5. Discusión	34
6. Conclusiones	36
Bibliografía	39
Anexos.....	40

INTRODUCCIÓN

La distrofia muscular oculofaríngea es una enfermedad autosómica dominante caracterizada por ptosis palpebral de aparición tardía, disfagia y debilidad de extremidades proximales.

La enfermedad está caracterizada por una mutación en el gen de la proteína de unión a poli (A) 1, (*PABPN1*) situado en el brazo largo del cromosoma 14. La mutación es una expansión del trinucleótido GCG y a nivel proteico se traduce como un tracto de polialanina. La proteína mutada se acumula en el interior de las células musculares e impide su función normal. Dentro de los músculos con mayor afección se encuentran los extraoculares y faríngeos que nos dan las principales características de la enfermedad.

El diagnóstico definitivo de esta enfermedad se realiza con el estudio genético a través de la biología molecular.

El objetivo del presente trabajo es estudiar las mutaciones del gen *PABPN1* en pacientes con diagnóstico clínico de distrofia muscular oculofaríngea en un hospital oftalmológico.

EPIDEMIOLOGÍA

Esta enfermedad fue descrita por primera vez en una familia canadiense en el año de 1915; pero fue hasta el año de 1965 que se consideró distrofia muscular oculofaríngea cuando se describieron las características de una familia judía norteamericana de origen europeo. (1)

La distrofia muscular oculofaríngea (DMOF) tiene una distribución mundial; en la población francocanadiense tiene una prevalencia de 1:1000. Los judíos bujara presentan una prevalencia cercana a 1:600 ahora establecidos en Israel. En Europa la prevalencia es de 1: 100, 000. (2,3)

La prevalencia de la enfermedad varía de acuerdo al área geográfica, se han reportado series de casos y solo una cohorte de pacientes origen mexicano; sin embargo la literatura es escasa en nuestra población. (4,5)

PATOGENIA

La mutación en el gen *PABPN1* va a dar como resultado la acumulación de vacuolas e inclusiones intranucleares (insolubles).

Las inclusiones intranucleares están formadas por filamentos tubulares de 8.5nm en su diámetro externo, 3nm en su diámetro interno y 0.25 um en longitud observadas bajo microscopia electrónica; son consideradas el hallazgo histopatológico de la enfermedad, son observadas en el núcleo de las fibras musculares, pueden ocupar menos del 1% del núcleo y no se han observado en el citoplasma. (6, 7)

A diferencia de las otras miopatías, hay una ausencia de necrosis de la fibra; no está claro si los agregados nucleares en este tipo de distrofia juegan un papel de protección o parte de la patogenia como consecuencia del mecanismo celular de defensa. Los cambios observados en las fibras de músculos extraoculares y otros músculos voluntarios varían de acuerdo al estadio de la enfermedad. (8)

CUADRO CLÍNICO

PABPN1 es esencial para la vitalidad celular y se expresa en todas las células, sin embargo las manifestaciones clínicas engloban la musculatura esquelética. El ARN mensajero de *PABPN1* es menos estable en musculo comparado con otros tejidos. (9)

La sintomatología es insidiosa, usualmente se presenta en pacientes durante la quinta o sexta década de la vida. La musculatura ocular y faríngea son inicialmente los músculos con mayor afección, sin embargo es frecuente la debilidad de extremidades superiores;

conformando la triada clásica de la enfermedad. La disfagia resultante de debilitamiento músculos faríngeos y la ptosis palpebral secundaria al elevador del párpado son afecciones frecuentes en población senil; sin embargo en pacientes con distrofia oculofaríngea el inicio es en edades tempranas y afección severa. (9,10)

La ptosis palpebral (caída o desplazamiento hacia abajo del párpado superior en posición primaria de la mirada) es la primera manifestación de la enfermedad, y suele ser inicialmente asimétrica y progresiva resultando en una disminución de la apertura palpebral, para compensar la ptosis los pacientes presentan uso accesorio de la musculatura frontal. (10)

La afección muscular tiene un orden descendente: musculo elevador del párpado, lengua, faringe, psoas- iliaco, músculos aductores, glúteo mayor, deltoides, isquiotibiales. Aunque la musculatura extraocular puede verse gradualmente afectada, la afección de músculos como esfínter del iris o musculo ciliar no se ve comprometida. (11)

La disfagia ocurre primero con alimentos sólidos, posteriormente a líquidos; la debilidad y atrofia de la lengua se ve en la mayoría de los pacientes. Las principales complicaciones asociadas a disfagia son la asfixia, regurgitación, y neumonía por aspiración que representan causa de mortalidad en estos pacientes. (9, 11)

DIAGNÓSTICO

El diagnóstico definitivo se establece con la biología molecular; sin embargo dentro de las características de sospecha clínica encontramos:

- Historia familiar positiva con afección de dos o más generaciones
- Ptosis o antecedentes de cirugía de corrección de ptosis
- Presencia de disfagia definida como deglución superior a 7 segundos al beber 80ml de agua helada. (12)



Fotografía de cara completa a color en paciente quinta década de la vida con sospecha clínica de DMOF

GENÉTICA MOLECULAR

El patrón de herencia más frecuente es autosómica dominante, pero también se ha descrito la forma recesiva en la distrofia muscular oculofaríngea; el patrón recesivo se ha descrito en poblaciones de América del Norte, Europa y Japón en un 1-2%. El gen *PABPN1* se localiza en el brazo largo del cromosoma 14q11.2-q13 (11, 13).

Se caracteriza por una expansión del triplete (GCG)₆ (GCA)₃ (GCG) normal. Al sufrir este en pequeñas expansiones se desarrolla la enfermedad.

La secuencia normal del exón 1 del gen *PABPN1* contiene la repetición (GCG)₆ seguida de (GCA)₃ (GCG). Esta secuencia es traducida como 10 residuos consecutivos de alanina en la región N-terminal de la proteína, dado que tanto GCG como GCA codifican para este aminoácido. (11)

La mayoría de los pacientes con Distrofia oculofaríngea presentan alelos expandidos de 8-13 repeticiones del primer triplete GCG, por lo tanto posee un tracto expandido de 12-17 alaninas: (GCG) 8-13 (GCA)₃ (GCG). (14)

La proteína codificada por el gen se localiza en el núcleo de la célula y participa en los mecanismos de poliadenilación del ARN mensajero.

La población con más alta prevalencia como en Europa o Estados Unidos se ha reportado la mutación (GCN) 13. En población mexicana se han encontrado las mutaciones (GCN) 9, (GCN) 11, (GCN) 13 y (GCN) 15. (4, 5, 15)

Múltiples autores han intentado realizar una correlación entre fenotipo y genotipo sin embargo no se ha podido establecer. (13, 16, 17)

JUSTIFICACIÓN PROBLEMA

La importancia del estudio radica en que en nuestro país hay pocos reportes de la literatura sobre los tipos de mutaciones que puede presentar esta rara enfermedad. El impacto en el Hospital Nuestra Señora de la Luz al ser un centro de referencia, sería relevante tanto para el personal médico y los pacientes en estudio el identificar la mutación más prevalente.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Al ser una enfermedad de distribución mundial, ha sido ampliamente estudiada en países con mayor prevalencia de la misma; se han identificado los tipos de mutaciones de acuerdo a grupo étnico.

El presente trabajo pretende el estudio de los pacientes afectados a través de biología molecular y la identificación de la mutación más prevalente en nuestra población. Asimismo correlacionar nuestros resultados con lo reportado en la literatura.

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Cuál es el tipo de mutación más frecuente del gen *PABPN1* en pacientes con distrofia muscular oculofaríngea en un hospital oftalmológico?

HIPÓTESIS

Existen diferentes tipos de mutaciones del gen *PABPN1* en pacientes con distrofia muscular oculofaríngea en pacientes de origen mexicano

OBJETIVOS

Objetivo general

- Realizar un análisis mutacional del gen *PABPN1* en pacientes con distrofia muscular oculofaríngea de origen mexicano

Objetivos específicos

- Identificar cual es la mutación más frecuente del gen *PABPN1* en pacientes con distrofia muscular oculofaríngea de origen mexicano
- Comparar nuestros resultados de la población mexicana con otros grupos étnicos de acuerdo a lo reportado en la literatura.

MATERIAL Y MÉTODOS

El diseño del estudio fue prospectivo, analítico y transversal en pacientes con sospecha clínica de distrofia muscular oculofaríngea y familiares interesados en participar en el estudio en el Departamento de Órbita y Oculoplástica en conjunto con Departamento de Genética y el Centro de Investigación Biomédica de la Fundación Hospital Nuestra Señora de la Luz I.A.P (FHNSL) en el periodo comprendido Mayo 2017- Diciembre 2018.

-Criterios de Inclusión

- Pacientes con género indistinto
- Criterios de sospecha diagnóstica de distrofia muscular oculofaríngea:
 - Historia familiar positiva
 - Ptosis adquirida (bilateral y asimétrica) o antecedente de corrección ptosis
 - Disfagia (puede no estar presente al momento de incluirlo en el estudio)
- Familiares de pacientes interesados en participar en el estudio
- Firmar consentimiento informado para participar en el estudio

-Criterios de Exclusión

- Ptosis de etiología mecánica, aponeurótica, neurogénica

-Criterios de eliminación

- No firmar consentimiento informado para toma de sangre periférica

-Variables

Variable	Tipo de Variable
Edad de presentación	Cuantitativa continua
Género	Cualitativa nominal
Antecedentes familiares	Cualitativa nominal
Patologías asociadas	Cualitativa nominal
Sintomatología asociada	Cualitativa ordinal
Mutación gen <i>PABPN1</i>	Cualitativa nominal
Procedimiento quirúrgico	Cualitativa nominal

El registro de datos físicos se realizó en una bitácora con la información previamente mencionada, con posterior tabulación de datos en una hoja de cálculo del programa Microsoft Office Excel.

-Cálculo de muestra

No aplica en nuestro estudio debido a la baja prevalencia de la enfermedad, no fue necesario realizar un cálculo de muestra.

-Procedimientos

Previo consentimiento informado se obtuvo una muestra de sangre periférica de la región ante cubital. Se utilizó EDTA como anticoagulante.

Extracción de ADN

La extracción de ADN se realizó con el kit QIAamp mini kit® (Qiagen) siguiendo las indicaciones del proveedor.

A 200 µL de la muestra se le adicionó 250µL de la solución de lisis CLS, las muestras fueron incubadas a 56°C/60min, en presencia de 30 µL proteinasa K (1mg/mL) y se agitó en vórtex cada 10min. Posteriormente se adicionó 100 µL de la solución de precipitación para ser incubadas en refrigeración/5 min, las muestras se volvieron a centrifugar y se decantaron en un nuevo tubo Eppendorf para hacer los lavados con 300 µL de isopropanol, se invirtieron 50 veces de manera suave, con una tercera centrifugación por 5 minutos, se decantó el sobrenadante y se precipitó con 300 µL etano al 70% Las muestras se dejaron concentrar a 35°C/12hrs donde finalmente se agregó 100 µL de solución de hidratación; el material genético fue almacenado a -20°C hasta su estudio. Cabe destacar que todo el material que se empleó para esta técnica fue nuevo, estéril y libre de DNAsas – Rnasas.

Reacción en Cadena de la Polimerasa

Se realizó PCR del gen. La amplificación fue realizada utilizando el programa a 95°C/10 min, y 40 ciclos a 95°C/1 min, con una T_m de 62.3°C/1 min para el gen *PABPN1* seguida con una extensión a 72°C/10min. La reacción se realizó en un termociclador AXYGEN MAXYGENE PCR System 2400 (Perkin Elmer Co. Norwalk, Connecticut).

Electroforesis

Los productos de PCR se analizaron por electroforesis en gel de agarosa al 1.5%, a 90V durante 40 minutos y se usó como marcador de pesos moleculares el Track It™100 bp DNA Ladder (Invitrogen, L.T.) y fueron observados bajo luz ultravioleta utilizando el transiluminador de UVP BioLite™ MultiSpectralSource con el programa Launch Vision Works LS.

Las bandas con el amplificado fueron cortadas para su posterior purificación utilizando los reactivos de QIAquick gel extraction kit.

Se colocó la banda a purificar en un tubo Eppendorf de 1.5 mL y se le adicionó 400µL del buffer QG, las muestras fueron incubadas a 56°C en baño María por 15min, mezclando en vórtex cada 3 min, se le adicionó 200 µL de Isopropanol y se pasó a una Columna QIAquick a con tubo colector, que posteriormente se centrifugo a 13 000 RPM/1min y se retiró el sobrenadante para adicionar 500 µL del buffer QG; se concentraron las muestras a 13 000 RPM/1min, se descartó el centrifugado y se lavaron las muestras con 750 µL de Buffer de PE; se centrifugaron a 13 000 rpm/1min dos veces descartando el sobrenadante para eliminar el buffer PE. Se pasó la columna QIAquick a un tubo Eppendorf nuevo para la adición de 30µL H₂O, después de un incubación de 5 minutos a temperatura ambiente, se centrifugó a 13 000 RPM/1min y el producto de amplificación obtenido se utilizó para la secuenciación nucleotídica.

Secuenciación

Se realizó secuenciación automatizada directa por el método de terminadores fluorescentes (Big Dye Terminator V3.1 Cycle Sequencing Kit, Applied Biosystems) utilizando el programa de temperaturas que incluyen 25 ciclos de desnaturalización a 97°C por 30 segundos, una temperatura de alineamiento de 50°C por 15 segundos y una temperatura de extensión de 60°C por 4 minutos. El producto obtenido se analizó en un secuenciador 3130 Genetic Analyzer (Applied Biosystems).

-Aspectos éticos

El protocolo recibió la aprobación por parte del Comité de Ética e Investigación de la Fundación Hospital Nuestra Señora de la Luz I.A.P (FHNSL). Se recabó la firma del consentimiento informado para participar en el estudio.

-Recursos financieros y de factibilidad

Los insumos fueron cubiertos por la Fundación Hospital Nuestra Señora de la Luz I.A.P (FHNSL). Los pacientes estudiados fueron sometidos a estudio de Biología Molecular en el Centro de Investigación Biomédica.

-Declaración de conflictos de intereses de los investigadores

Ninguno

-Bioseguridad

No se utilizaron en este proyecto agentes corrosivos, explosivos o inflamables, ni de radiación ionizante. La sangre fue utilizada en nuestro estudio considerada por la Norma

Oficial Mexicana como residuos peligrosos biológico-infecciosos. Los desechos con peligro biológico infeccioso estuvieron conformados por jeringas y agujas cuyo manejo fue realizado en bolsa roja y contenedor de punzocortantes respectivamente de acuerdo a las normas oficiales mexicanas vigentes (NOM-087 -ECOL-1995). El manejo posterior de dichos residuos estuvo a cargo de una empresa privada apegada a la reglamentación vigente. Se contó con la infraestructura e instalaciones adecuadas para la realización de procedimientos con seguridad.

-Cronograma actividades

ACTIVIDAD 2017	ABR	MAY	JUN	JUL	AGO	SEPT	OCT	NOV	DIC
Registro de protocolo investigación									
Correcciones metodología									
Recolección de Datos									

ACTIVIDAD 2018	ENE	FEB	MAR	ABR	MAY	JUN	JUL	AGO	SEPT	OCT	NOV	DIC
Recolección de Datos												
Extracción DNA												
PCR												
Electroforesis												
Secuenciación												
Análisis resultados												
Conclusiones parciales												
Correcciones												

RESULTADOS

Se incluyeron un total de 20 pacientes (12 mujeres y 8 hombres) de 10 familias con sospecha clínica de distrofia muscular oculofaríngea, los cuales fueron evaluados en una cita de primera vez en el Departamento de Órbita y Oculoplástica y posteriormente referidos a Genética donde se les realizó una historia clínica y asesoramiento genético. Se incluyeron en el estudio de Biología molecular a cuatro familiares asintomáticos y un familiar sintomático. Tres de nuestros pacientes pertenecientes a una familia ya contaban con diagnóstico por Biología molecular en otra institución y decidió participar un familiar asintomático de la familia en el estudio. (Tabla 1)

Todos los pacientes incluidos en el estudio fueron de origen mexicano. Se procesaron 17 muestras en total.

Respecto a los antecedentes heredo-familiares 15 de 17 pacientes (88.23%) tenían abuelos, padres, hermanos o hijos afectados. (Gráfica 1)

El síntoma inicial más frecuente fue la ptosis la cual era bilateral, simétrica con inicio posterior a los 40 años de edad. La disfagia fue el primer síntoma de la enfermedad en 4 de los 13 pacientes sintomáticos (excluyendo a los cuatro familiares asintomáticos) principalmente a alimentos de consistencia sólida y solo un paciente reportaba pérdida de peso reciente atribuible a la disfagia.

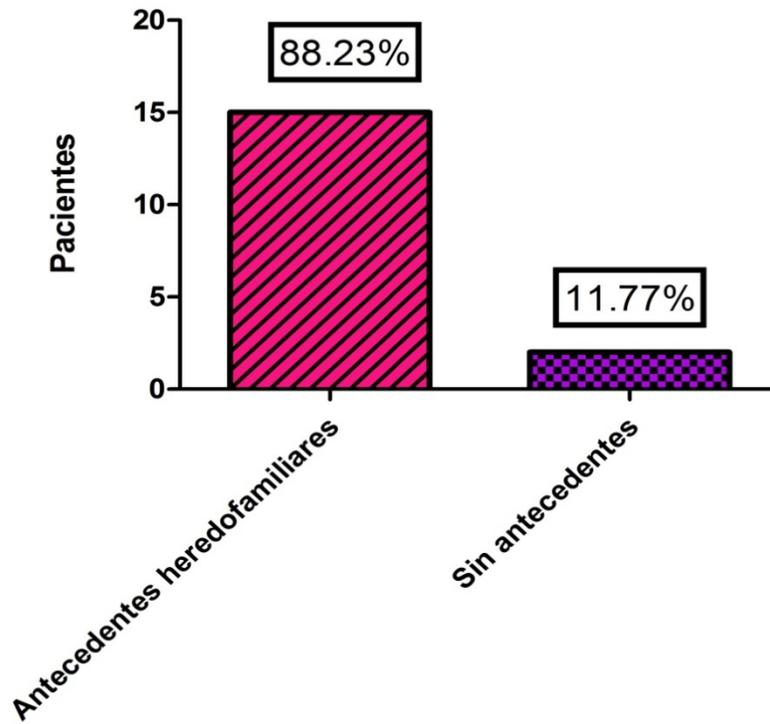
A la primer evaluación de nuestros pacientes en el departamento de Órbita y Genética, las manifestaciones clínicas excluyendo a los familiares asintomáticos fueron ptosis en 13 de 13 (100%), disfagia en 10 de 13 (76.92%) y debilidad de extremidades superiores e inferiores proximales en 5 de 13 pacientes (38.46%). (Gráfica 2)

Se recabó información del expediente electrónico sobre procedimientos quirúrgicos realizados para la corrección de ptosis palpebral siendo la suspensión al músculo frontal (colgajo musculo frontal o con riendas) realizada en 9 de 13 (69.23%) y tres de ellos con re intervenciones.

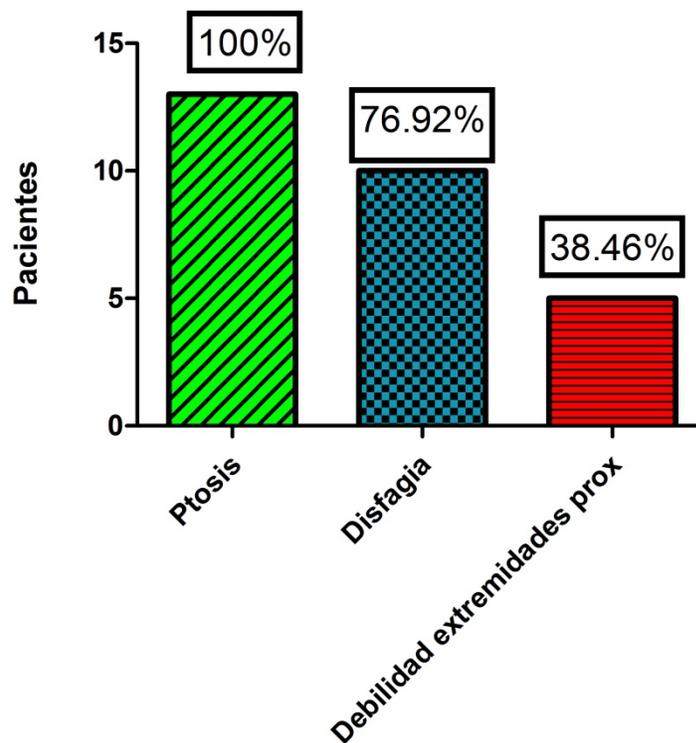
Tabla 1.

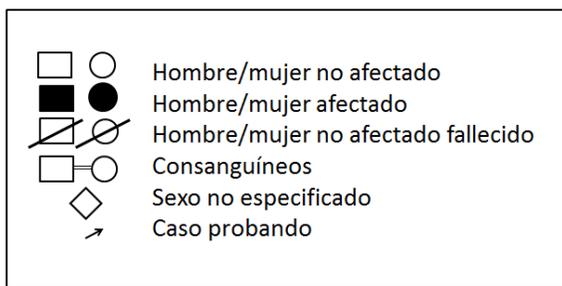
PACIENTE ID	PEDIGREE FAMILIA	NO	GÉNERO	EDAD PRESENTACIÓN	SÍNTOMA INICIAL	MUTACIÓN	OBSERVACIONES
1122	1	III.1	F	55	Ptosis	(GCN) 15	
1046	1	IV.3	F	Familiar asintomático		Ausente	
1047	1	III.1	F	45	Disfagia	(GCN) 15	
1155	2	III.3	F	47	Disfagia	(GCN) 13	
783	3	II.2	M	47	Disfagia	-	
1074	4	II.5	M	40	Ptosis	Ausente	
1077	4	III.8	M	28	Ptosis	Ausente	Familiar sintomático
1085	5	III.2	M	49	Ptosis	(GCN) 15	
1107	6	III.6	F	45	Ptosis	(GCN) 15	
1136	7	II.6	F	40	Ptosis	(GCN) 13	
1041	8	IV.2	F	Familiar asintomático		Ausente	
	8	III.3	F	40	Ptosis	(GCN) 15	Diagnóstico previo
	8	III.4	M	43	Disfagia	(GCN) 15	Diagnóstico previo
	8	III.5	M	40	Ptosis	(GCN) 15	Diagnóstico previo
1090	9	I.2	F	42	Ptosis	(GCN) 15	
1091	9	II.4	M	43	Ptosis	(GCN) 15	
1089	9	III.3	F	42	Ptosis	(GCN) 15	
1090	9	II.1	M	Familiar asintomático		(GCN) 15	
1088	9	II.2	F	Familiar asintomático		Ausente	
1065	10	II.2	F	62	Disfagia	(GCN) 13	

Grafica 1. Antecedentes Heredo familiares



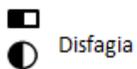
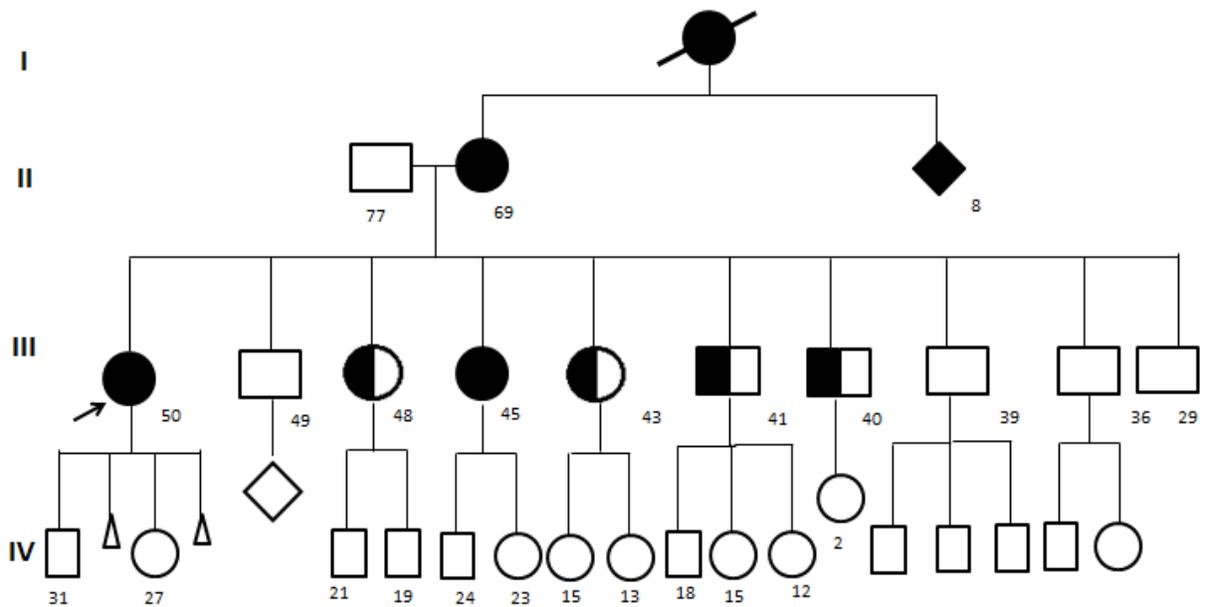
Grafica 2. Cuadro clínico presente cita 1vez Genética





Pedigree Familia 1

Esta familia presenta tres generaciones sucesivas con afección por DMOF.



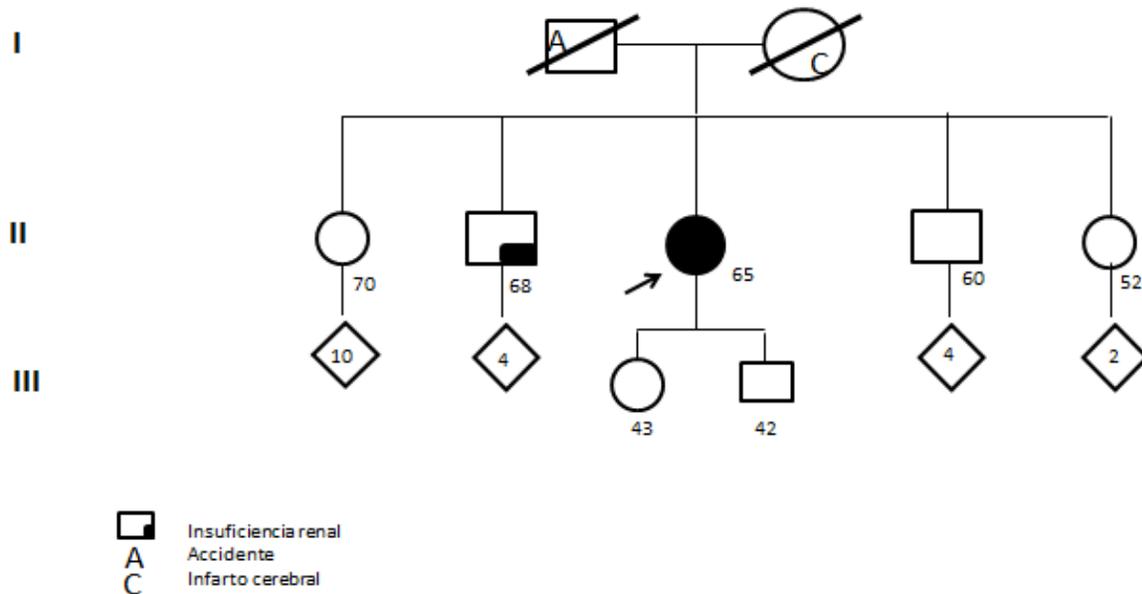
Primera generación: Femenino finado con DMOF (I.1)

Segunda generación: Femenino 69 (madre de probando e incluida en estudio con disfagia y ptosis desde los 45 años **II.2**)

Tercera generación: Probando femenino de 50 años **(III.1)** y 4 hermanos con sintomatología de disfagia (III.3, III.5, III.6, III.7)

Cuarta generación: Femenino de 27 años asintomática, hija de probando y se incluye en estudio **(IV.3)**.

Pedigree Familia 2

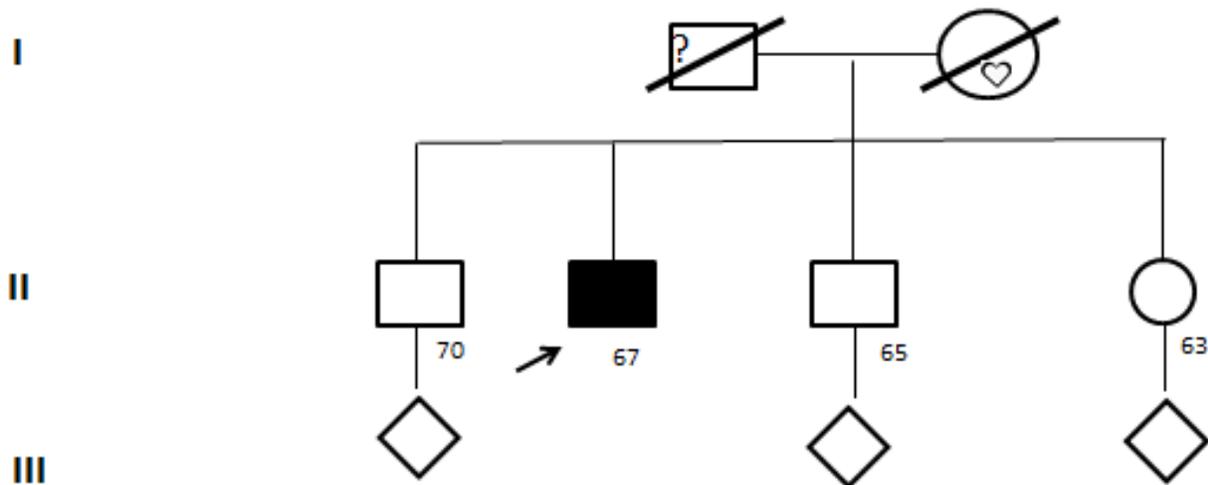


En esta familia no presenta generaciones previas afectadas por DMOF.

Primera generación: Masculino finado por un accidente (I.1), femenino finada por infarto cerebral (I.2)

Segunda generación: Probando femenino de 65 años con disfagia desde los 47 años y ptosis desde los 50 años (II.3).

Pedigree Familia 3



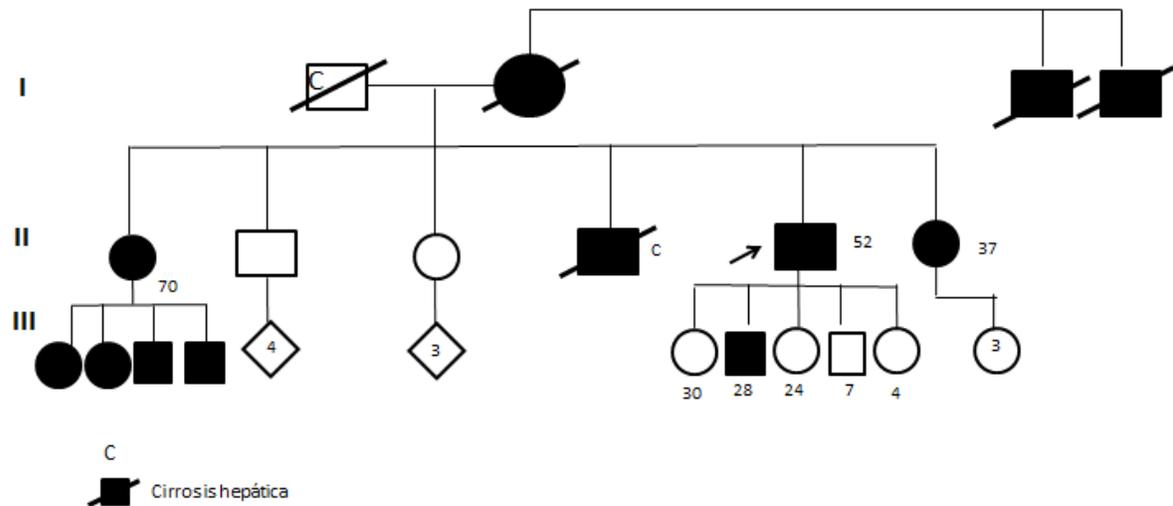
En esta familia no presenta generaciones previas afectadas por DMOF.

Primera generación: Se desconoce antecedentes del padre (I.1); femenino finada por enfermedad cardiovascular (I.2)

Segunda generación: Probando masculino de 67 años con disfagia desde los 47 años con pérdida de peso de 5 años evolución y debilidad de extremidades proximales superiores e inferiores (II.2)

No consanguíneos.

Pedigree Familia 4



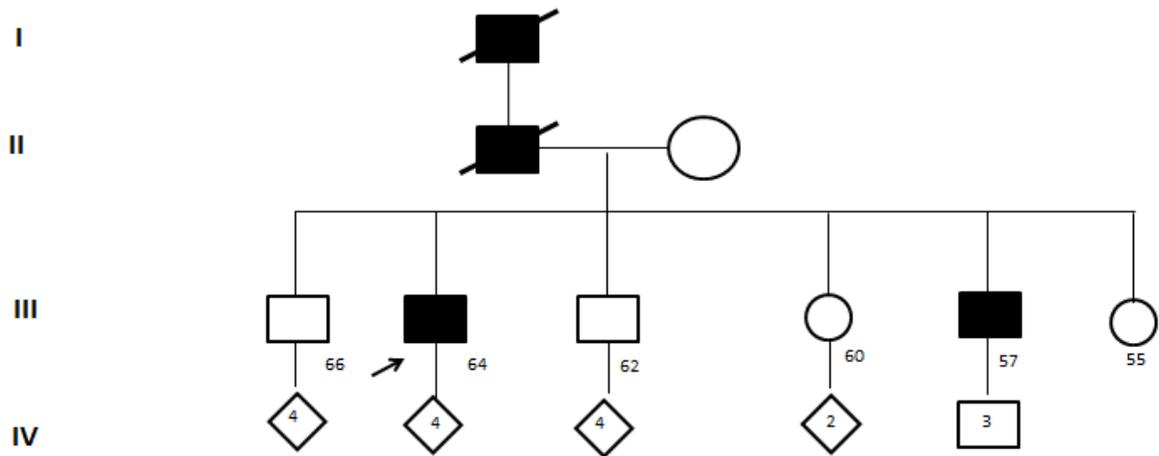
Esta familia presenta tres generaciones sucesivas con afección por DMOF.

Primera generación: Masculino finado por cirrosis hepática (I.1) otros tres familiares finados sin antecedentes especificados (I.2, I.3, I.4)

Segunda generación: Femenino 70 años con DMOF (II.1), masculino finado por cirrosis hepática (II.4), probando masculino de 52 años con ptosis, disfagia y debilidad de extremidades inferiores (II.5), femenino 37 años con DMOF (II.6)

Tercera generación con cinco familiares afectados (III.1, III.2, III.3, III.4, III.8). Masculino de 28 años con ptosis (hijo de probando e incluido en estudio III.8).

Pedigree Familia 5



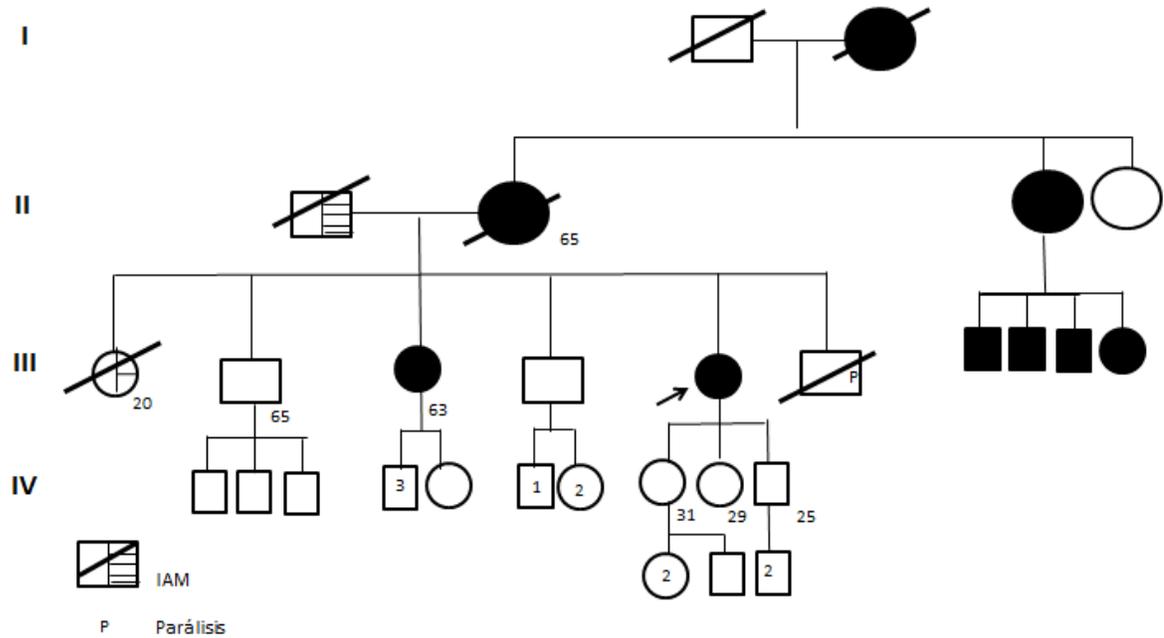
Esta familia con tres generaciones sucesivas con DMOF.

Primera generación: Masculino finado con DMOF (I.1)

Segunda generación: Masculino finado con DMOF (II.1)

Tercera generación: probando masculino de 64 años con ptosis, disfagia y debilidad proximal de extremidades superiores e inferiores (III.2); un hermano de 57 años con DMOF, resto de hermanos asintomáticos.

Pedigree Familia 6



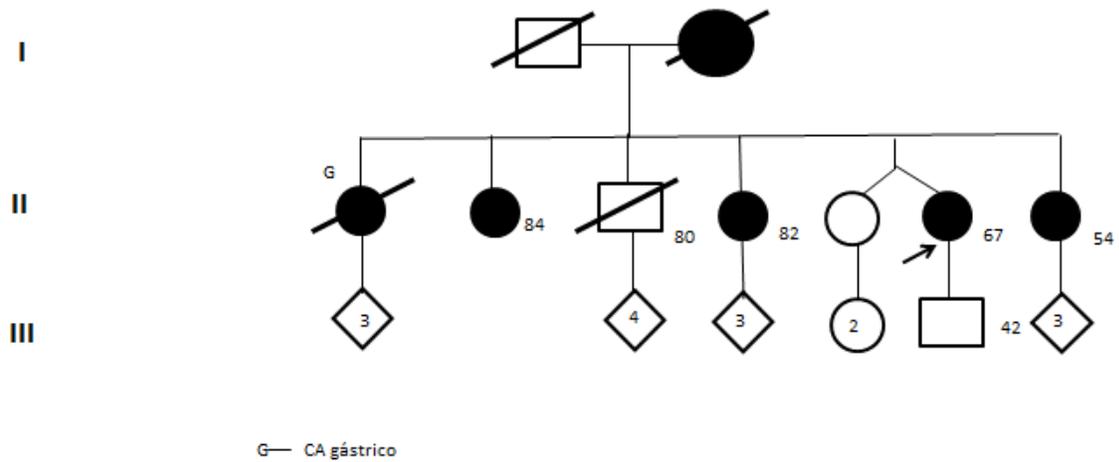
En esta familia tres generaciones sucesivas afectadas.

Primera generación: Femenino finado por infarto agudo miocardio con DMOF (I.1)

Segunda generación: Masculino finado por infarto agudo al miocardio (II.1), femenino 65 años finado con DMOF (II.2), femenino con DMOF (II.3)

Tercera generación: Femenino 20 años finado por infarto agudo al miocardio (III.1), femenino 63 años con DMOF (III.3), probando femenino 55 años con disfagia y ptosis (III.5), otros cuatro familiares por rama materna con ptosis (III.7, III.8, III.9, III.10).

Pedigree Familia 7

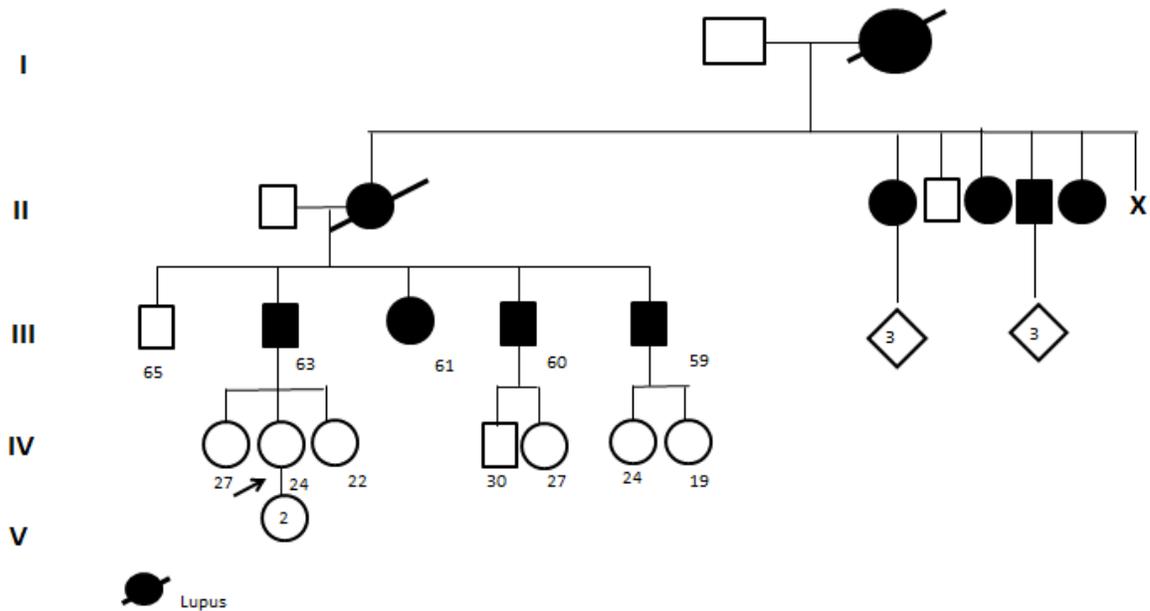


Esta familia con dos generaciones afectadas.

Primera generación: Masculino finado sin antecedentes especificados (I.1), femenino con DMOF finada (I.2)

Segunda generación: Cuatro hermanas afectadas con DMOF, una de ellas finada por cáncer gástrico (II.1), probando femenino de 67 años con disfagia, ptosis, y debilidad proximal extremidades superiores inferiores (II.6).

Pedigree Familia 8



En esta familia dos generaciones afectadas.

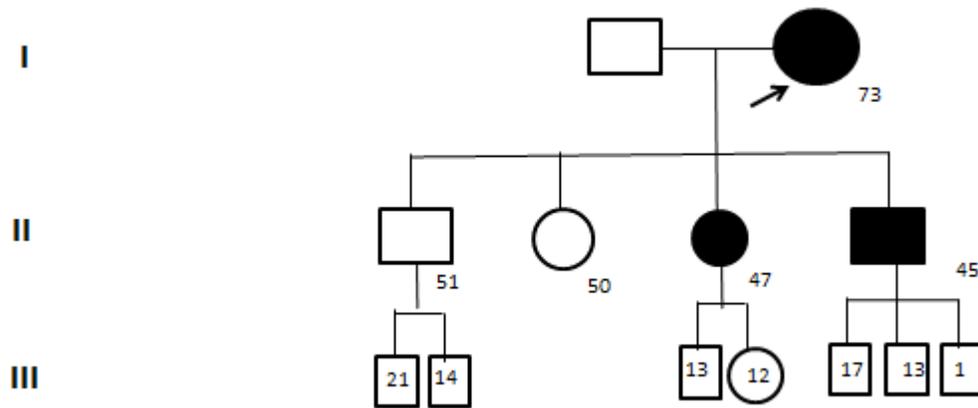
Primera generación: Femenino finada con antecedentes de lupus y DMOF (I.2)

Segunda generación: Femenino finada con antecedentes de lupus y DMOF (II.2),
cuatro familiares con DMOF (II.3, II.5, II.6, II.7)

Tercera generación: Cuatro hermanos con DMOF: (III.2, **III.3, III.4, III.5**)

Cuarta generación: Probando femenino de 24 años (familiar asintomático incluido en estudio **IV.2**).

Pedigree Familia 9

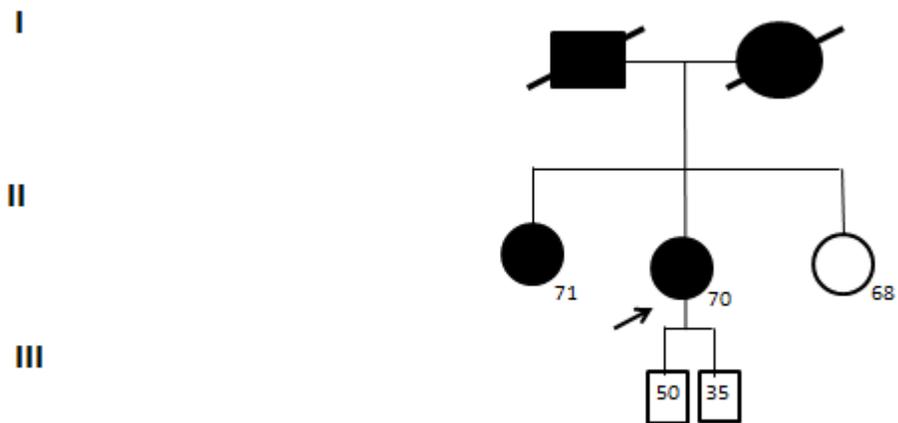


En esta familia presenta dos generaciones afectadas.

Primera generación: Probando femenino de 73 años con ptosis, disfagia y debilidad extremidades proximales superiores e inferiores (I.2)

Segunda generación: Masculino 51 años asintomático (II.1), femenino 50 años asintomático (II.2), femenino 47 años con ptosis y disfagia (II.3) y masculino de 45 años con ptosis y disfagia (II.4).

Pedigree Familia 10



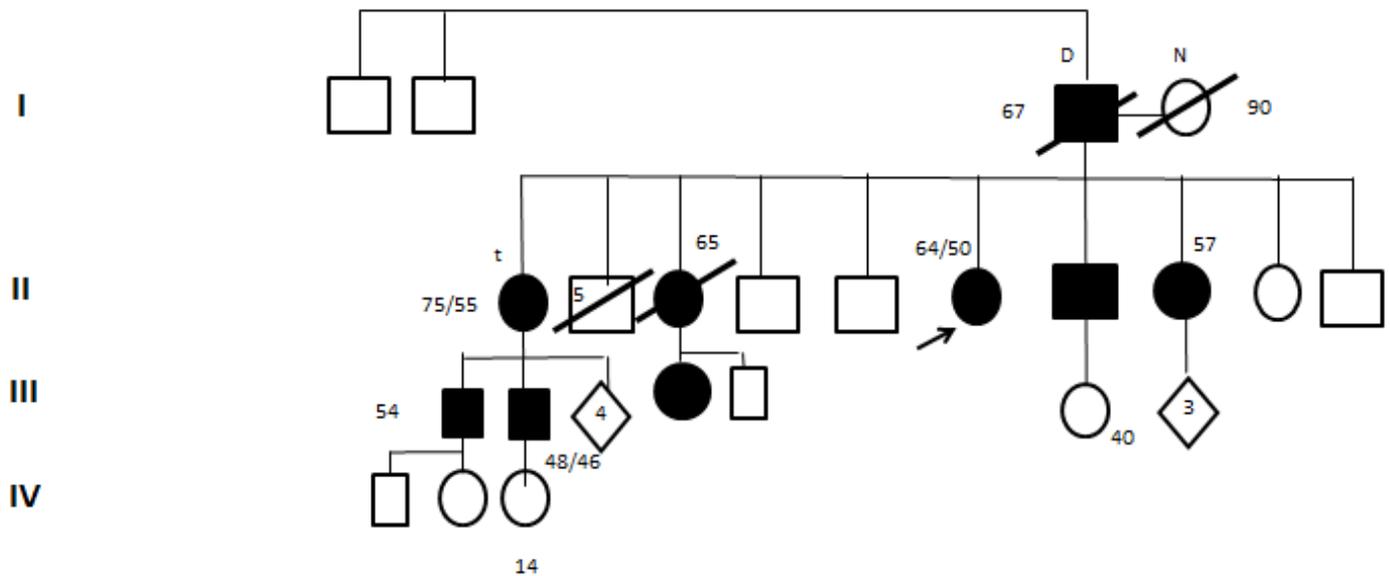
En esta familia presenta dos generaciones afectadas.

Primera generación: Madre finada a los 25 años por muerte materno fetal (I.1), masculino finado a los 65 años por infarto agudo miocardio

Segunda generación: Femenino 71 años con ptosis (II.1), probando femenino de 70 años con ptosis y disfagia (II.2), femenino de 68 años asintomática (II.3)

Tercera generación: Masculino de 50 y 35 años asintomáticos.

Pedigree Familia 11



S Esquizofrenia
t Disfagia
D Diabetes
N Neumonía

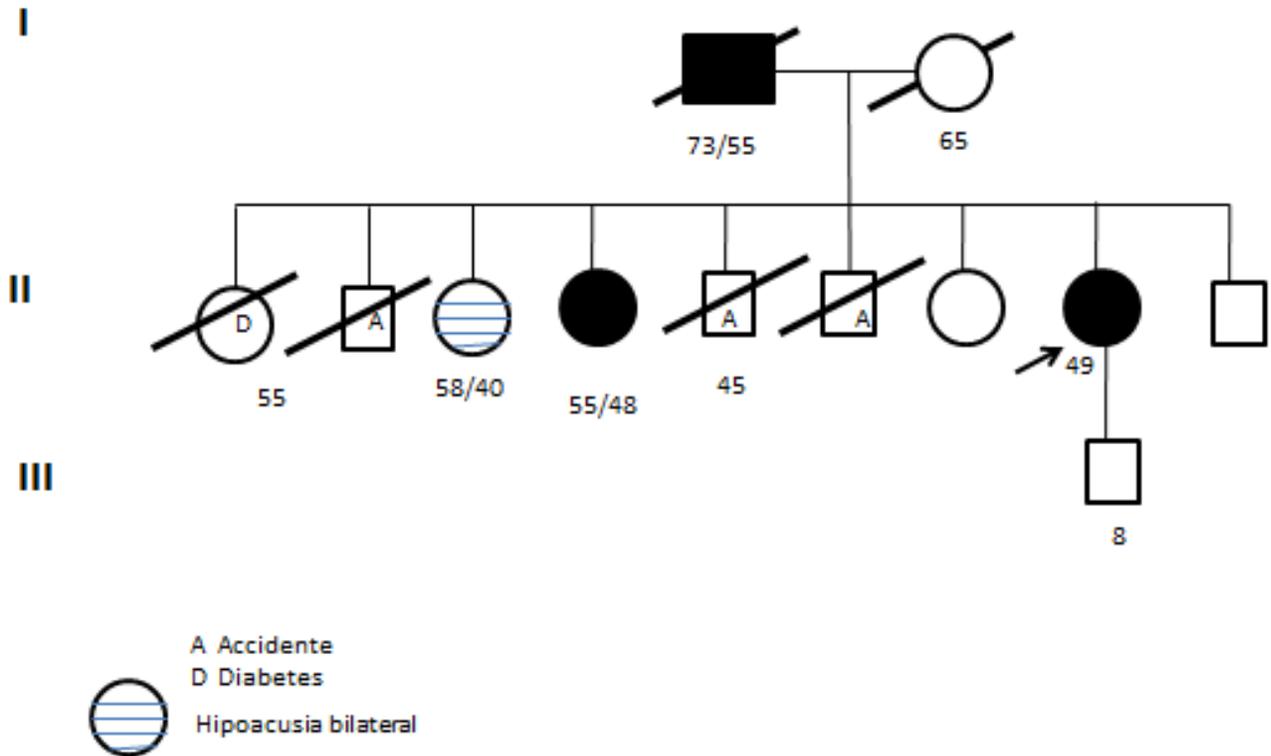
En esta familia presenta tres generaciones afectadas.

Primera generación: Hombre finado a los 67 años por diabetes (I.1)

Segunda generación: Probando femenino de 64 años con ptosis, disfagia y debilidad extremidades inferiores proximales (II.6)

Tercera generación: Masculino de 54 y 48 años afectados.

Pedigree Familia 12



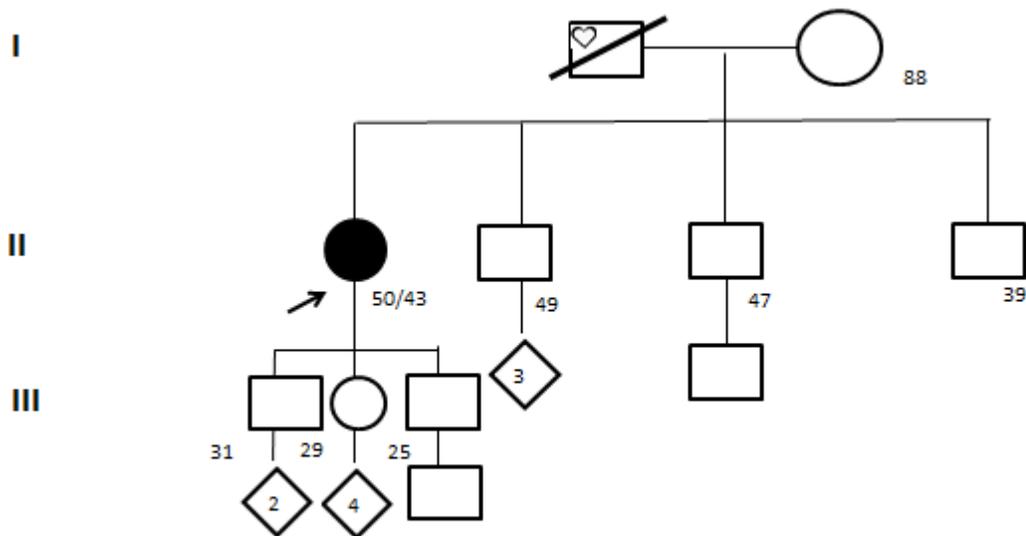
En esta familia presenta dos generaciones afectadas.

Primera generación: Hombre finado a los 73 años (I.1)

Segunda generación: Femenino de 58 años con hipoacusia bilateral, femenino de 55 años con ptosis, probando femenino de 49 años con ptosis (II.8)

Tercera generación: No presenta familiares afectados.

Pedigree Familia 13



En esta familia presenta una generación afectada.

Segunda generación: Probando femenino de 50 años con ptosis de inicio a los 43 años

(II.1)

DISCUSIÓN

La blefaroptosis es un signo clínico que se refiere a caída o desplazamiento hacia abajo del párpado superior en la posición primaria de la mirada resultando en una disminución de la apertura palpebral. Dentro de su etiología puede ser congénita o adquirida. En las ptosis congénitas simples existe una distrofia del músculo elevador sin alteración inervacional donde encontramos infiltración grasa y fibrosis del músculo elevador, sin antecedentes familiares, sin cambios a lo largo del tiempo y sin anomalías oculares o sistémicas. En las ptosis adquiridas engloba las no congénitas. (18, 19)

La distrofia muscular oculofaríngea (DMOF) es una enfermedad de distribución mundial de herencia autosómica dominante; al ser una enfermedad con este tipo de herencia cada uno de los hijos de la persona afectada tienen un riesgo de 50% de heredar la enfermedad. Se caracteriza por la triada clásica de ptosis, disfagia y debilidad extremidades proximales.

Dentro de la clasificación de las ptosis adquiridas encontramos la aponeurótica, mecánica, neurogénica y miogénica; siendo la distrofia muscular oculofaríngea (DMOF) una ptosis miogénica. (20)

Dentro de los principales diagnósticos diferenciales la oftalmología externa crónica progresiva que ocurre en individuos más jóvenes alrededor de la segunda década de la vida y la miastenia gravis también caracterizada por ptosis, alteraciones de la musculatura extraocular, disfagia y debilidad de las extremidades superiores e inferiores; siendo las fluctuaciones diurnas y fatigabilidad un marcador para miastenia gravis versus lenta progresión en DMOF; y frecuentemente la historia familiar que se pasa por alto durante el interrogatorio. (21, 22)

La DMOF pertenece al grupo de enfermedades por expansión de triplete y resulta de expansiones cortas del repetido GCN en el extremo 5' del gen *PABPN1* situado en el cromosoma 14q11.1.

Sujetos sanos exhiben un tracto de 10 tripletes de GCN no interrumpidos: (GCG)6(GCA)3(GCG) ó (GCN)10; mientras en los individuos enfermos el alelo afectado puede ir desde 12 hasta 17 repetidos, siendo los más frecuentes (GCG)9(GCA)3(GCG) ó (GCN)13; (GCG)10(GCA)3(GCG) ó (GCN)14; y (GCG)11(GCA)3(GCG) ó (GCN)15.

Se han realizado cohortes pequeñas desde 17-86 pacientes en distintas poblaciones, una de las cohortes más grandes se realizó en población francesa donde hay una alta prevalencia en la cual se estudiaron 354 pacientes (Periodo 1999-2014) siendo (GCN) 13 la mutación más frecuente. (23)

En población mexicana hay pocos reportes de literatura de la enfermedad; Rivera et al., en el 2008 estudio a 22 pacientes en el Instituto Conde de Valenciana encontrando la mutación (GCN) 15 en 15 pacientes y (GCN) 13 en los 7 pacientes restantes. Posteriormente Pérez-Torres et al., en el 2009 publica reporte de caso de manejo quirúrgico de un paciente estudiado en el Hospital General de México. Por ultimo Cruz-Aguilar et al., en el 2016 estudio a 102 pacientes en el Instituto Conde de Valenciana siendo la cohorte más grande en nuestra población donde el repetido más frecuente fue (GCN) 15 en un 65% de los sujetos con DMOF estudiados seguido de (GCN) 13 en 35% de los sujetos; lo cual se corrobora con los hallazgos en nuestro estudio siendo la mutación (GCN) 15 la más encontrada y en un sujeto encontramos (GCN) 13.

Dentro de las debilidades de nuestro estudio tenemos una muestra pequeña; y algunos de nuestros pacientes continúan en estudio de Biología molecular, no se eliminaron por los antecedentes heredo familiares positivos y sintomatología asociada que apoya a la sospecha clínica de la enfermedad; se reportaran resultados al término de la lectura de la secuenciación de los mismos.

Una fortaleza que cabe destacar de nuestro trabajo es que el estudio molecular del gen *PABPN1* es de utilidad en ptosis adquirida de inicio tardío y en alta sospecha de ptosis etiología miogénica apoyado de nuestra evaluación clínica y corresponde al diagnóstico definitivo para distrofia muscular oculofaríngea y se debe ofrecer en estos pacientes.

Es complicado establecer una relación genotipo fenotipo sin embargo se ha encontrado que sujetos con repeticiones mayores se diagnostican a edad más temprana que con menor número de repeticiones. (23)

Es una enfermedad que continúa en estudio por el campo de terapia génica por las inclusiones intranucleares características de la enfermedad llamadas “agregopatias”; se han realizado solo estudios en modelos murinos a través de vectores virales pero en humanos no hay terapia médica disponible aun. (24)

Se sugiere en estos pacientes interconsulta a los servicios de Órbita para la corrección de ptosis la cual puede requerir de múltiples intervenciones por la etiología de la misma. Otros servicios de los que nos debemos de apoyar son Gastroenterología con especialidad en esófago, Neurología y Genética para consejo genético del afectado y sus familiares de primer grado.

Dentro de las propuestas a futuro para nuestro estudio es ampliar la muestra y tener una cohorte más grande para apoyar nuestros resultados.

CONCLUSIONES

En nuestro estudio corroboramos nuestra hipótesis que existen diferentes mutaciones para el gen *PABPN1* en pacientes de origen mexicano y que corresponde a lo reportado en la literatura, siendo la más frecuente (GCN) 15.

REFERENCIAS

1. Chien Y. Oculopharyngeal muscular dystrophy. An under- diagnosed disease in China . Report a China-born Chinese with PABPN1 mutation and epidemiology review of the literature. *J Formos Med Assoc*; 2012; 111(7): 397–402.
2. Saini M, Tan Nigel CK, Chai J. Oculopharyngeal Muscular Dystrophy in Singapore : Not So Rare. *Annals Academy of Medicine*. 2018; (1): 349–52.
3. Fan X, Rouleau GA. Progress in Understanding the Pathogenesis of Oculopharyngeal Muscular Dystrophy. *Can. J. Neurol. Sci*. 2003; (30): 8-14
4. Pérez TE, Rocío M, Zavala SM, Abdo FJ. Manejo quirúrgico de la distrofia oculofaríngea. *Rev Med Hosp Gen Mex*. 2009; 72 (3): 155-159.
5. Cruz AM, Ferran CG, Tovilla-canales JL, Nava CA, Zenteno JC. Characterization of PABPN1 expansion mutations in a large cohort of Mexican patients with oculopharyngeal muscular dystrophy. *J Investig Me.d* 2016; (0): 1–4.
6. Tomé FM, Chateau D, Helbling-Leclerc A, Fardeau M. Morphological changes in muscle fibers in oculopharyngeal muscular dystrophy. *Neuromuscul. Disord*. 1997; (7): \$63-\$69.
7. Harish P, Malerba A, Dickson G, Bachtarzi H. Progress on gene therapy, cell therapy and pharmacological strategies towards the treatment of Oculopharyngeal Muscular Dystrophy. *Hum Gene The*. 2015; 26 (5): 286-92.
8. Brais B, Bouchard JP, Xie YG, Rochefort DL, Chrétien N. Short GCG expansions in the PABP2 gene cause in oculopharyngeal muscular dystrophy. *Nat Genet*. 1998; (18): 164-167.
9. Raz Y, Raz V. Oculopharyngeal muscular dystrophy as a paradigm for muscle aging. *Frontiers in aging neuroscience*. 2014; (6): 1–5.
10. Pou Serradel A, Lloreta Trull J, Corominas Torres J, Hom- mouda E, Urtizbera J, Richard P, et al. Distrofia muscular oculofaríngea: estudio de pacientes

pertencientes a siete familias españolas con diferentes expansiones GCG en el gen PABP2. *Neurología* 2004; (19): 239-47.

11. Abu-baker A, Rouleau GA. Oculopharyngeal muscular dystrophy: Recent advances in the understanding of the molecular pathogenic mechanisms and treatment strategies. *Biochimica et Biophysica Acta*. 2007; (1772): 173–185.
12. Brais B. Oculopharyngeal muscular dystrophy. *Handbook of Clinical Neurology*. 2011; (101): 181-192.
13. Tondo M, Gámez J, Gutiérrez RE, Medel JR, Martorell L. Genotype and phenotype study of 34 Spanish patients diagnosed with oculopharyngeal muscular dystrophy. *J Neurol*. 2012; (259): 1546–1552.
14. Politei JM, Herrera M, Bernath V, Igarreta P, Zalar A. Distrofia muscular oculofaríngea: Primeros casos confirmados por Biología molecular en la República Argentina. *Revista Neurológica Argentina*. 2008; (33): 74-79.
15. Rivera D, Mejía LH, Pompa ME, Villanueva MC, Nava CA, Zenteno JC et al. Two different PABPN1 expanded alleles in a Mexican population with oculopharyngeal muscular dystrophy arising from independent founder effects. *Br J Ophthalmol*. 2008; (9): 998–1002.
16. Shan J, Chen B, Lin P. Oculopharyngeal Muscular Dystrophy : Phenotypic and Genotypic Studies in a Chinese Population. *Neuromol Med*. 2014; (16): 782–786.
17. Hill ME, Creed GA, McMullan TFW, Tyers AG, Robinson DO, Hammans SR. Oculopharyngeal muscular dystrophy Phenotypic and genotypic studies in a UK population. *Brain*. 2001; (124): 522–6.
18. Rasiah S, Hardy TG, Elder JE, Ng CY, Lenake M, McNab A. Etiology of acquired blepharoptosis in young adults. *Orbit*. 2017; (0): 1–6.
19. Galal AH , Eldin AA , Soliman FA. Genetic study of blepharoptosis among Egyptians. *Bratisl Lek Listy* 2005; 106 (10): 307-312.
20. Clauser L, Tieghi R, Galiè M. Palpebral ptosis: clinical classification, differential diagnosis, and surgical guidelines: an overview. *J Craniofac Surg*. 2006; 17(2):246-54.

21. Mensah A, Witting N, Duno M, Milea D, Vissing J. Delayed diagnosis of oculopharyngeal muscular dystrophy in Denmark: from initial ptosis to genetic testing. *Acta Ophthalmologica*. 2014; (1): 247–50.
22. Aryani O, Akbari M, Aghsaei-fard M. Oculopharyngeal muscular dystrophy misdiagnosed as myasthenia gravis : Case report and review of literature. *Iran J Neurol*. 2017; 16(2): 98–9.
23. Pascale R, Trollet C, Stojkovic T, Perie S, Pouget J, Eymard B. Correlation between PABPN1 genotype and disease severity in oculopharyngeal muscular dystrophy. *Neurology*. 2017; (0): 359–65.
24. Malerba A, Klein P, Bachtarzi H, Jarmin SA, Cordova G, Ferry A, et al. PABPN1 gene therapy for oculopharyngeal muscular dystrophy. *Nat Commun*. 2017; (8): 1–14.

ANEXOS



CARTA DE CONSENTIMIENTO BAJO INFORMACIÓN PARA PARTICIPAR EN PROTOCOLO DE INVESTIGACIÓN

En esta institución se desarrollan investigaciones que forman parte de nuestro quehacer científico. Las características de su padecimiento son consideradas de interés para participar en este estudio de acuerdo a las especificaciones siguientes:

Datos generales

Datos del paciente	Nombre: Fecha de nacimiento:	
Expediente clínico No.		
Médico informante (investigador principal):	Dra. Cristina Plata Palazuelos	Firma:
Diagnóstico		

Datos de la investigación

Nombre del protocolo	“Análisis mutacional del gen <i>PABPN1</i> en Distrofia muscular oculofaríngea”
Investigadores	Dra. Cristina Plata Palazuelos; Dr. Humberto López; Dra. Mirena Astiazaran; Dr. Héctor Pérez Cano
Justificación y objetivos	Determinar mutación más frecuente del gen <i>PABPN1</i> en pacientes con distrofia muscular oculofaríngea
Periodo de estudio o duración	
Cantidad de sujetos que participarán	
Descripción de los métodos a emplear y su propósito	
Beneficios esperados:	Estudio genético
Alternativas:	No participar en el estudio
Riesgos o molestias:	Dolor en sitio de punción, equimosis, infección
Grupo de control	En caso de que la presente investigación incluya un grupo de control, la selección de los participantes se sujetará a un proceso estrictamente aleatorio e imparcial, privilegiando la prevención de cualquier riesgo o daño para sus integrantes.

Gastos	Los gastos de la investigación serán cubiertos por la institución.
Confidencialidad	Su identidad y la información que proporcione como parte de esta investigación serán tratadas bajo criterios de confidencialidad. En caso de que los resultados exijan su identificación, previamente se le solicitará la autorización correspondiente.
Dudas, aclaraciones y actualización	El participante tendrá derecho a recibir respuesta a cualquier pregunta y aclaración a cualquier duda acerca de los procedimientos, riesgos, beneficios y otros asuntos relacionados con la investigación y su tratamiento. Asimismo, durante el presente estudio le proporcionaremos información actualizada sobre su estado de salud para que esté en posibilidad de decidir si continua participando. Es importante que sepa que retirar su participación no afectará su atención en el hospital.

Consentimiento

Por este medio manifiesto mi satisfacción con la información recibida y, consciente de las especificaciones y en qué consiste la investigación descrita en este documento, sus beneficios, riesgos y consecuencias, **otorgo mi consentimiento para incorporarme a ella, asumiendo el compromiso de (1) asistir puntualmente a las citas que se me indiquen y (2) proporcionar verazmente la información de mi evolución en la forma y periodicidad que se requiera.**

Asimismo, entiendo que puedo retirarme de esta investigación voluntariamente en cualquier momento sin mayor requisito que la manifestación al investigador principal o a la Dirección Médica de este hospital.

México D.F. a ___ de _____ de ____.

Firma del paciente

Testigos

Nombre y firma

Nombre y firma

Domicilio:

Domicilio:

Relación con el paciente:

Relación con el paciente:

