

USO DEL TEST DE CUANTIFICACION SENSITIVA PARA EL ESTUDIO DE LA NEUROPATIA DE FIBRA PEQUEÑA

Autores

Andrés Díaz Campos

Universidad del Rosario, Facultad de Medicina, Programa de formación en Neurofisiología
Clínica.

Hospital Universitario Fundación Santa Fe de Bogotá, Departamento de Neurología,
Sección de Neurofisiología Clínica.

José Castro

Hospital Universitario Santa María, Lisboa, Portugal, Departamento de Neurología, área de
Neurofisiología
Instituto de Medicina Molecular, Lisboa, Portugal.

Isabel Conceição

Hospital Universitario Santa María, Lisboa, Portugal, Departamento de Neurología, área de
Neurofisiología
Instituto de Medicina Molecular, Lisboa, Portugal.



UNIVERSIDAD DEL ROSARIO

Escuela de Medicina y Ciencias de la Salud
2013

USO DEL TEST DE CUANTIFICACION SENSITIVA PARA EL ESTUDIO DE LA NEUROPATIA DE FIBRA PEQUEÑA

Instituciones participantes

Hospital Universitario Fundación Santa Fe de Bogotá, Departamento de Neurología,
Sección de Neurofisiología Clínica.
Hospital Universitario Santa María, Lisboa, Portugal.
Instituto de Medicina Molecular, Lisboa, Portugal.

Tipo de Investigación: Postgrado, para optar el título de especialista en Neurofisiología
Clínica

Investigador Principal
Andrés Díaz Campos

Investigadores Asociados
José Castro,
Isabel Conceição.

Asesor Temático
Ángela Gómez

Asesor Metodológico



UNIVERSIDAD DEL ROSARIO

Escuela de Medicina y Ciencias de la Salud
2013

“La Universidad del Rosario no se hace responsable de los conceptos emitidos por los investigadores en su trabajo, solo velará por el rigor científico, metodológico y ético del mismo en aras de la búsqueda de la verdad y la justicia”.

Agradecimientos

Al Profesor Mamede de Carvalho, por aceptarme en el laboratorio de neurofisiología del Instituto de Medicina Molecular, vinculado a la Universidad de Lisboa y al Hospital Santa María (Lisboa Portugal), como investigador asociado.

A la Doctora Isabel Conceição, neurofisióloga clínica, líder mundial en el estudio y manejo de la variante portuguesa de la Polineuropatía Amiloidótica Familiar, por permitir mi ligación a la línea de investigación en neuropatía de fibra pequeña.

A José Castro, técnico de la unidad de neurofisiología, experto en el manejo y aplicación de los equipos y software, necesarios para el estudio de la neuropatía de fibra pequeña en Polineuropatía Amiloidótica Familiar.

A la International Federation of Clinical Neurophysiology, por hacer posible la profundización de mis estudios en el laboratorio de neurofisiología del Hospital Santa María y en el Instituto de Medicina Molecular, Lisboa, Portugal, como Becario 2012.

Tabla de Contenido

1.	Introducción.....	9
1.1.	Planteamiento del Problema	10
1.2.	Justificación.....	10
2.	Marco Teórico	12
2.1.	Estudio de las Neuropatías de Fibra Pequeña.....	14
2.1.1.	Métodos neurofisiológicos útiles en el diagnóstico	14
2.1.2.	Estudios paraclínicos complementarios.....	16
2.2.	Polineuropatía Amiloidótica Familiar	16
2.3.	Test de Cuantificación Sensitiva (QST)	19
2.4.	Métodos de evaluación de los pacientes.....	20
3.	Propósito	21
4.	Objetivo General.....	21
4.1.	Objetivos Específicos	21
5.	Hipótesis	21
6.	Metodología.....	22
6.1.	Tipo de Estudio.....	22
6.2.	Población de referencia y muestra	22
6.3.	Criterios de Selección.....	22
6.3.1.	Criterios de Inclusión	22
6.3.2.	Criterios de Exclusión.....	23
6.4.	Control de Sesgos	23
6.4.1.	Sesgos de Selección.....	23
6.4.2.	Sesgos de información.....	23
6.5.	Definición de Variables	23
6.6.	Instrumentos	26
6.7.	Materiales y Métodos	26
6.7.1.	Metodología para el test de cuantificación sensitiva.....	27
6.8.	Plan de Análisis.....	27
7.	Aspectos Éticos	28
8.	Organigrama.....	29
9.	Cronograma	29
10.	Presupuesto.....	30
11.	Resultados.....	32

12.	Discusión.....	38
13.	Conclusiones.....	40
14.	Recomendaciones.....	41
15.	Referencias Bibliográficas	42
16.	Anexos	44

Introducción

La mutación genética Val30Met de la proteína transtiretina (TTR) es causante de la polineuropatía amiloidótica familiar, comprometiendo en fases iniciales las fibras nerviosas pequeñas (mielinizadas A δ y amielínicas tipo C), involucradas en funciones autonómicas, nocicepción, percepción térmica y sudoración. Los métodos neurofisiológicos convencionales, no logran detectar dichas anormalidades, retardando el inicio de tratamientos específicos para la enfermedad.

Metodología

El objetivo principal fue evaluar el test de cuantificación sensitiva (QST) como método de detección temprana de anormalidades de fibra pequeña, en individuos Val30Met, seguidos en el Hospital Universitario Santa María, Lisboa. Se clasificaron los pacientes en 3 grupos, según sintomatología y examen neurológico. Se analizaron los umbrales para percepción de frío, dolor con el calor y vibración en los grupos, en correlación con controles sanos.

Resultados

18 registros de controles sanos y 33 de individuos con la mutación, divididos en asintomáticos (24,2%), sintomáticos con examen neurológico normal (42,4%) y sintomáticos con examen neurológico anormal (33,3%).

No se encontraron diferencias entre los pacientes asintomáticos y los controles. Los umbrales para frío ($p=0,042$) y en el dolor intermedio con el calor (HP 5) ($p=0,007$) se encuentran elevados en individuos Val30Met sintomáticos con examen normal. En los pacientes sintomáticos con alteraciones al examen, también se presentaron alteraciones en el intervalo entre el inicio y el dolor intermedio con el calor (HP 5-0,5) ($p=0,009$).

Discusión

Los umbrales de frío y de percepción de dolor con el calor, permiten detectar anormalidades en personas con la mutación TTR Val30Met, sintomáticos, incluyendo aquellos sin cambios objetivos al examen neurológico.

Palabras claves

Polineuropatía amiloidótica familiar, fibra pequeña, umbral, calor, frío, vibración.

Introduction

The small fiber neuropathies alter myelinated A δ fibers and non-myelinated type C fibers, involved in autonomic functions, nociception, thermal perception and sweating. Genetic mutation TTR-Val30Met a most common etiology of Familial Amyloid Polineuropathy, compromised earlier the small nerve fibers. Conventional neurophysiological studies are unable to detect those abnormalities, delaying specific treatments.

Methods

The main goal of the present study was to evaluate the Quantitative Sensory Testing –QST, as an early diagnostic tool, identifying abnormalities in patients with the genetic mutation Val30Met in transthyretin (TTR) gene, followed at Santa María Hospital, Lisbon, Portugal. Patients were classified in 3 groups according to symptoms and neurological examination. Thresholds for cold perception, heat-pain and vibration were assessed in the different groups, compared to healthy controls.

Results

33 cases and 18 controls, divided in asymptomatic (24.2%), symptomatic with normal neurological examination (42.4%) and symptomatic with abnormal neurological examination (33.3%). There were no differences between asymptomatic patients and healthy controls. The abnormalities on cold threshold detection ($p=0,042$) and intermediate severity of heat-pain response (HP5) ($p=0,007$), can occur before changes in the neurological examination. In patients with abnormal neurological examination differences also include the stimulus-response slope (HP 5-0,5) between intermediate severity (HP 5.0) and onset perception of pain with heat (HP 0.5) ($p=0,009$).

Discussion

The Quantitative Sensory Testing showed to be a useful tool in the detection of earlier abnormalities in patients with TTR Val30Met mutation.

Key words: familial amyloidotic polyneuropathy, small fiber, threshold, heat, cold, vibration.

1. Introducción

A través del tiempo, las técnicas neurofisiológicas han ayudado a la identificación de problemas relacionados con la función del nervio periférico, los músculos, la unión neuromuscular y de las vías aferentes y eferentes tanto corticales como subcorticales. La mayor parte de las técnicas, involucran la evaluación del funcionamiento de fibras mielinizadas grandes ($A\alpha$ y $A\beta$), sin embargo cuando las enfermedades afectan las fibras mielinizadas pequeñas ($A\delta$ y C) su diagnóstico es un reto, ya que implica la utilización de métodos que no son usados como rutina en los laboratorios neurofisiológicos (1).

En algunas enfermedades que atacan el nervio periférico, puede observarse una alteración inicial en el funcionamiento de las fibras pequeñas, precediendo las anomalías en fibras mielinizadas grandes, las cuales se relacionan con un decremento funcional importante, con efecto en la calidad de vida e inducen discapacidad a largo plazo. Dentro de las patologías que pueden presentar este patrón, se incluyen algunas metabólicas, como la diabetes, así como algunas de origen autoinmune, como ocurre con las vasculitis de pequeño y mediano vaso (1). Existen enfermedades que a partir de la aparición de mutaciones genéticas, inducen fenómenos similares, tal como ocurre en la Polineuropatía Amiloidótica Familiar (PAF), en donde, mutaciones en tres tipos de proteínas (transtiretina, Apolipoproteína A, Gelsolina) generan depósitos de amiloide a nivel epi y perineural.(2)

En Portugal se describió por primera vez la Paramiloidosis Familiar (3), asociada a la presencia de una mutación (Val30Met) autosómica dominante en el gen que codifica para la proteína transtiretina (TTR). La enfermedad se manifiesta como una polineuropatía axonal con patrón dependiente de longitud, alterando en inicio las fibras distales en las extremidades inferiores (pies), seguido por un ascenso proximal (piernas – rodillas) con posterior compromiso del tronco anterior, para luego alterar distal (manos) y luego proximalmente (antebrazo-brazos) las extremidades superiores.(2)

La enfermedad en fases iniciales, se caracteriza por un compromiso de las fibras nerviosas pequeñas, manifestado como alteración de la discriminación de temperatura, dolor neuropático con hiperestesia y alodinia, cambios en los mecanismos de regulación de la sudoración y trastornos disautonómicos, que incluyen alteraciones gastrointestinales (diarrea/constipación, sensación de plenitud ó vómitos posprandiales), alteraciones en la conducción cardíaca (bloques AV) ó pérdida de la regulación postural de la tensión arterial (hipotensión ortostática y/ó síncope). En fases más avanzadas, se evidencia pérdida del control de esfínteres, ataxia, articulaciones de Charcot y debilidad muscular. La progresión de la enfermedad evoluciona a discapacidad en la deambulación (pie caído) y luego a uso de silla de ruedas con necesidad de asistencia permanente. (2, 4)

Esta enfermedad, con una alta morbimortalidad dentro de los primeros 10 años de inicio de los síntomas, presentó una importante modificación de la historia natural de la enfermedad al realizar trasplante hepático, el cuál retira el principal órgano productor de la proteína TTR mutante, causante del depósito de amiloide. En la actualidad existen alternativas farmacológicas (tafamidis ó diflunisal) que permiten estabilizar la proteína TTR, disminuyendo la tendencia a formar monómeros, causa principal del acúmulo patológico de amiloide. La disponibilidad de tratamientos (invasivos ó farmacológicos) refuerzan la necesidad de usar métodos objetivos para reconocer el inicio de la enfermedad en sus fases más tempranas.

1.1. Planteamiento del Problema

¿Puede la técnica del test de cuantificación sensitiva (QST) que ha sido utilizada para detectar anomalías de neuropatía de fibra pequeña en enfermedades como diabetes mellitus, ser utilizada para detectar las anomalías de las fases iniciales de la polineuropatía amiloidótica familiar, en especial en aquellos individuos cuya función de las fibras mielinizadas grandes se encuentra indemne?

1.2. Justificación

Varias enfermedades tienen como órgano blanco los nervios periféricos, muchas de ellas comprometen en forma temprana las fibras pequeñas mielinizadas (A δ) así como las no mielinizadas (C), mientras que el compromiso de fibras mielinizadas gruesas (A β) motoras y sensitivas, ocurre en las etapas más avanzadas de la enfermedad. El diagnóstico en fases iniciales tiene un impacto en la calidad de vida de los pacientes, evitando la discapacidad y las complicaciones secundarias relacionadas con la pérdida de la función nerviosa (ataxia, úlceras, amputaciones, incontinencia, arritmias, entre otras). La enfermedad metabólica que más se relaciona con este patrón de neuropatía es la diabetes mellitus, sin embargo existe una entidad de origen genético, denominada polineuropatía amiloidótica familiar, que comparte el mismo patrón de presentación.

El momento de alteración de las fibras nerviosas pequeñas es usualmente difícil de objetivar, debido a que los síntomas sensitivos y autonómicos involucran fibras que no son evaluadas a través de las técnicas neurofisiológicas convencionales (neuroconducciones motoras y sensitivas). Por lo tanto, la implementación de técnicas que permitan evaluar los umbrales de percepción del calor, del frío ó de la vibración, podría ser útil como método diagnóstico de las neuropatías de fibra pequeña.

La polineuropatía amiloidótica familiar es una enfermedad que aunque podría estar presente en la población, no ha sido diagnosticada en Colombia. Su estudio en uno de los países con las mayores prevalencias de la enfermedad, permite aprender todas las manifestaciones del compromiso de la neuropatía de fibra pequeña durante la progresión de la enfermedad. No hay laboratorios de neurofisiología en Colombia que hayan implementado las técnicas para evaluación de fibras nerviosas pequeñas, por lo cual es importante entrenarse en laboratorios internacionales para aprender y desarrollar estos métodos en nuestro medio.

El test de cuantificación sensitiva ha sido utilizado en la detección de las alteraciones funcionales de fibras nerviosas pequeñas. En relación con su implementación en el estudio de la polineuropatía amiloidótica familiar, existe poca información disponible. El grupo de la clínica Mayo en Rochester, describió 22 pacientes recolectados durante 10 años. Describieron que la amplitud media de los potenciales de acción motores de los nervios peroneos y tibiales eran de 0,3 y 0,8 mV. Entre tanto las amplitudes medias de los potenciales sensitivos de los nervios mediano, cubital y sural, eran 3,0 – 3,0 y 0 μ V respectivamente. Lo anterior indica que la media de pacientes ya cumplía con criterios de

polineuropatía axonal sensitiva y motora, con predominio en miembros inferiores (incluyendo ausencia de respuesta sensitiva en los nervios surales). Realizaron los análisis incluyendo: $\Sigma 3QST$, el cuál es un score compuesto a partir de la suma de desviaciones normales de los umbrales de detección de vibración (VDT), frío (CDT) y del nivel intermedio de dolor al estímulo de calor (HP5,0). Reportaron que todos los valores de VDT, CDT y HP 5,0 en los pies estaban por encima del percentil 95 indicando una pérdida sensitiva severa en todas las modalidades. Los más sensibles indicadores de anormalidad en el QST fueron: $\Sigma 3QST >95th$ en el 86%, HP 5,0 $>95th$ en el 76%, VDT $>95th$ en el 67% y CDT $>95th$ en el 57%. (5).

El actual estudio permite el desarrollo de instrumentos para la recolección de datos, implementando escalas clínicas validadas, que evalúen la progresión de la enfermedad tanto subjetiva como objetivamente.

2. Marco Teórico

Se les denomina fibras nerviosas pequeñas a las fibras mielinizadas tipo A δ (< 7 μ m de diámetro) y a las fibras no mielinizadas tipo C (1 - 1,6 μ m de diámetro), cuya función está vinculada con la transmisión nociceptiva primaria y secundaria, al igual que con funciones autonómicas viscerales a nivel gastrointestinal, cardíaco, genitourinario, entre otros. A nivel periférico dichas fibras se encargan de la percepción térmica, las fibras C median la discriminación de calor, con un rol menor en la percepción de frío. Esta función es realizada en forma preferencial por las fibras tipo A δ .(6)

Las fibras nerviosas pequeñas actúan como receptores sensitivos polimodales mecano sensibles y mecano insensibles, de los cuales hacen parte las fibras postganglionares simpáticas y las colinérgicas parasimpáticas.

Las postganglionares se dividen según su relación con la inervación de las glándulas sudoríparas. Las fibras no sudomotoras son adrenérgicas, mientras que las sudomotoras, son colinérgicas y acompañan a otros nervios periféricos.(1)

Existen datos de prevalencia relacionados con la sospecha clínica de neuropatía de fibra pequeña, sin embargo ninguno es confirmado por estudios neurofisiológicos. Los datos de prevalencia de neuropatía diabética varían de 10.5% a 48.1% (7), sus diferencias radican en el tipo de población y el método utilizado. No existen datos que discriminen la presencia de neuropatía de fibra pequeña y los de fibra mielinizada grande en la población diabética.

Hay enfermedades tales como diabetes y vasculitis, en donde estas fibras nerviosas son particularmente vulnerables, incluso los fenómenos de pies quemantes ó el síndrome de boca quemante, involucran déficits en el funcionamiento de las fibras nerviosas pequeñas.

El daño de las fibras pequeñas generan síntomas predominantemente positivos, los cuáles pueden ser espontáneos ó inducidos por estímulos. Sus manifestaciones incluyen: hiperestesia (hipersensibilidad a los estímulos nociceptivos), alodinia (percepción dolorosa de estímulos no nociceptivos, ej: tacto) y ardor. En ocasiones el dolor puede empeorar en las noches y alterar la conciliación del sueño, considerándose como causa sintomática del síndrome de piernas inquietas. (8)

Para considerar que el dolor puede tener un origen neuropático, debe incluir los siguientes criterios:

1. La anamnesis debe indicar el carácter y distribución del dolor, en donde una lesión ó enfermedad del sistema nervioso pueda ser el más probable origen.
2. El examen clínico va a determinar la presencia de signos negativos (pérdida de la función) y signos positivos (hiperalgesia y/ó alodinia), los cuales involucran una o más modalidades del sistema somatosensorial y su relevancia con la lesión o enfermedad subyacente.

3. Los exámenes diagnósticos documentan la presencia de una enfermedad neurológica subyacente (lesión cerebral confirmada en un caso con sospecha de dolor post ACV) ó confirman la lesión sensitiva dentro de la distribución del dolor (Ejemplo: Pérdida de fibras nerviosas pequeñas a partir de la biopsia de piel, en casos con neuropatía de fibra pequeña) (8).

Las parestesias e hipoestusias son usualmente asociadas a disfunción de fibras nerviosas mielinizadas grandes, por lo cuál no se incluyen como síntomas típicos de las neuropatías de fibra pequeña. En algunas ocasiones, los pacientes refieren calambres en miembros inferiores, lo cual sugiere un proceso de hiperexcitabilidad de la membrana muscular inducida por disfunción de los nociceptores musculares.

En algunos casos pueden aparecer síntomas autonómicos periféricos, como edema, enrojecimiento y pérdida de la termoregulación, reportándose como ataques de dolor, calor y enrojecimiento, sugestivos de eritromelalgia. Esta enfermedad se ha correlacionado con la presencia de enfermedades mieloproliferativas, diabetes, infecciones, medicamentos e intoxicación por hongos. (1).

Las causas de neuropatía de fibra pequeña son diversas, existen neuropatías periféricas hereditarias y adquiridas relacionadas con este problema, las cuales se resumen en la tabla 1.

Metabólica	-Diabetes. -Intolerancia a la glucosa. -Hiperlipidemia.
Medicamentos y Tóxicos	-Agentes antiretrovirales. -Estatinas. -Metronidazol. -Agentes antineoplásicos. -Abuso de alcohol. -Toxinas marinas, industriales y ambientales.
Infecciones	-VIH. -Virus de Epstein–Barr. -Lepra. -Difteria. -Enfermedad de Chagas. -Botulismo.
Idiopática	-Neuropatía de fibra pequeña idiopática. -Eritromelalgia. -Síndrome de boca quemante. -Urgencia fecal e hipersensibilidad rectal. -Síndrome doloroso regional complejo. -Síndrome de Ross.
Inmunológicamente mediado	-Anticuerpos anti-sulfadite. -Anticuerpos anti-trisulfate heparina disacaridasa. -Gamapatía monoclonal de origen indeterminado. -Síndrome de Guillain-Barré. -Enfermedad Celiaca. -Síndrome de Sjogren. -Vasculitis.

	<ul style="list-style-type: none">-Sarcoidosis.-Lupus eritematoso sistémico.-Amiloidosis sistémica.-Neuropatía paraneoplásica.-Enfermedad intestinal inflamatoria.
Hereditaria	<ul style="list-style-type: none">-Polineuropatía Amiloidótica Familiar-Enfermedad de Fabry.-Enfermedad de Tangier.-Síndrome de pies quemantes familiar.-Neuropatía autonómica sensorial hereditaria.-Charcot-Marie-Tooth tipo 2B.-Anhidrosis generalizada.

2.1. Estudio de las Neuropatías de Fibra Pequeña

2.1.1. Métodos neurofisiológicos útiles en el diagnóstico

Los exámenes neurofisiológicos convencionales (neuroconducciones y electromiografía), logran evaluar el funcionamiento de fibras nerviosas mielinizadas ($A\alpha$ y $A\beta$) pero no el de las fibras nerviosas mielinizadas pequeñas tipo $A\delta$ y las fibras no mielinizadas tipo C. Dichos estudios se realizan para descartar el compromiso de estas fibras como causa de los síntomas, los cuales pueden afectar el diagnóstico, el pronóstico y el plan de tratamiento.

Se han descrito diversas técnicas electrofisiológicas enfocadas en la detección de cambios sensitivos térmicos y vibratorios a partir del test cuantitativo sensitivo estandarizado. Los cambios en las respuestas autonómicas se pueden evaluar partir de mudanzas en la variabilidad RR, en la respuesta simpática cutánea refleja y en la cuantificación de la respuesta sudomotora tanto en latencia como en volumen. Estos son métodos indirectos para evaluación de la función de las fibras nerviosas pequeñas; De igual forma, existen técnicas especiales de patología que, a partir de biopsias de piel logran cuantificar la densidad intraepidérmica de las fibras nerviosas pequeñas.

a) Test sensitivo cuantitativo estandarizado (“standardized QST“):

Involucra la medición de los siguientes parámetros, los cuáles pueden ser evaluados bilateralmente y pueden efectuarse en cara, brazos, manos, piernas y pies:

- Detección de los umbrales térmicos para la percepción de frío, calor y sensaciones paradójicas de calor.
- Detección de los umbrales térmicos de dolor para estímulos calientes y fríos.
- Detección de los umbrales para la percepción mecánica de tacto y vibración.
- Detección de la sensibilidad de dolor mecánico, incluyendo:
 - o Umbrales para estímulos afilados ó estímulos romos.
 - o Sensibilidad a estímulos afilados y alodinia mecánica dinámica: Función estímulo/respuesta.
 - o Sumación del dolor al estímulo afilado repetitivo. (8)

b) Test reflejo axonal sudomotor cuantitativo (QSART):

Es un estudio autonómico que mide la producción de sudor en respuesta a acetilcolina, reflejando la función de las fibras nerviosas no mielinizadas sudomotoras colinérgicas. Los electrodos son colocados en brazos y piernas para registrar el volumen de sudor producido por iontoforesis de acetilcolina, en donde un pequeño estímulo eléctrico en la piel, permite que la acetilcolina sea liberada y estimule las glándulas sudoríparas. La producción de sudor se compara con valores normativos. Algunos estudios han mostrado anomalías en el QSART en pacientes con sospecha de neuropatía de fibra pequeña, que oscilan entre el 62 y el 72.8%.

Las limitaciones del test incluyen la necesidad de equipos especializados y que la respuesta sudomotora pueda alterarse con el uso de medicamentos tales como antihistamínicos y antidepresivos, los cuales deben ser suspendidos 48 horas antes de realizar el test. (9)

c) Potenciales Evocados por Láser (LEP):

Es un método aceptado para investigar vías nociceptivas. La estimulación de algunas áreas de piel a partir del láser infrarrojo de dióxido de carbono, el cuál excita selectivamente las terminales nerviosas libres mientras se evocan las sensaciones dolorosas. Los LEP tardíos y ultratardíos se generan por fibras A δ y C respectivamente. (8)

d) Microneurografía:

Esta técnica detecta potenciales de acción a partir de fibras sensitivas individuales. Involucra el uso de microelectrodos insertados a nivel subcutáneo, sin complicaciones. Su uso se ha aprobado tanto en humanos como en animales. Requiere equipos neurofisiológicos de última generación, con el fin de obtener registros múltiples consecutivos de fibras tipo C. (10)

e) Biopsia de piel:

La biopsia de piel para la evaluación de fibras nerviosas de la epidermis requiere la adquisición de una muestra de piel de 3 mm de diámetro y 3-4 mm de grosor. Las muestras para evaluar glándulas sudoríparas, folículos capilares y anastomosis arteriovenosas, requieren muestras de piel de 6-8 mm de grosor.

Las muestras son tomadas usualmente de 2 regiones, la primera de la región de los músculos gastrocnemios laterales, 10 cm por encima del maléolo lateral; la segunda se extrae a nivel lateral del muslo, 20 cm por debajo de la espina iliaca anterior.

La interpretación de la biopsia de piel debe realizarse a partir de la densidad de fibras nerviosas intraepidérmicas (IENFD), después de realizar la inmunohistoquímica utilizando un anticuerpo contra el producto génico proteico 9.5, el cuál sirve como marcador panaxonal (útil tanto en fibras A δ y C). Solo las fibras nerviosas intraepidérmicas que cruzan la unión dermis-epidermis deben ser son contadas. Los rangos normativos y valores de corte de IENFD en pacientes con neuropatía se han reportado a partir del uso de inmunohistoquímica de campo brillante ó con la técnica de microscopia confocal.(11)

El diagnóstico definitivo en algunos estudios incluye la presencia de anomalías en al menos 2 de los siguientes ítems: 1. signos clínicos de compromiso de fibra nerviosa pequeña (pérdida de la sensibilidad térmica, alodinia ó hiperalgesia). 2. Umbral térmico de calor ó de frío anormal en el pie definido con el test de cuantificación sensitiva (QST). 3. Biopsia de piel con disminución de la IENFD en la pierna distal. El valor de corte para IENFD es 7.63 IEFND/mm, dicho valor tiene una sensibilidad de 82% y una especificidad del 90%. Se ha

mostrado una mayor sensibilidad para el diagnóstico de NFP usando la combinación de examen clínico anormal y biopsia anormal de piel (43.3%). Biopsia de piel con QST anormal (37.3%) y examen clínico con QST anormal (11.9%). (11)

Un estudio utilizó esta metodología para el diagnóstico de neuropatía de fibra pequeña (NFP), encontrando que de 124 pacientes que presentaban neuropatía sensitiva, 67 cumplían con los criterios para NFP. De este grupo, sólo el 58.2% tuvieron una etiología específica, siendo la diabetes mellitus y la intolerancia a la glucosa las principales causas, seguidas de la gamapatía monoclonal de significado indeterminado, el hipotiroidismo, las enfermedades autoinmunes (Síndrome de Sjogren), la artropatía psoriásica y la enfermedad celiaca. (12)

2.1.2. Estudios paraclínicos complementarios

El estudio etiológico de las neuropatías de fibra pequeña debe incluir los siguientes exámenes: hemograma, panel metabólico completo (incluyendo vitamina B12), perfil lipídico, TSH, T4 libre, VSG, Anticuerpos antinucleares, antígenos nucleares extraíbles, nivel sérico de enzima convertidora de angiotensina (ACE), tests de inmunofijación en suero/orina y test de tolerancia a la glucosa. En algunos casos se pueden recomendar otros estudios complementarios; Ante la presencia de síntomas gastrointestinales ó rash herpetiforme, deben buscarse anticuerpos antigliadina y anticuerpos transglutaminasa tisular, así como realizar biopsia de intestino delgado, con el fin de descartar la posibilidad de un sprue celiaco. En pacientes con factores de riesgo debe incluirse la pesquisa para VIH ó hepatitis C. Biopsia de médula ósea ó de mucosa oral debe ser considerado en casos con sospecha de síndrome de Sjogren, Síndrome sica seronegativo ó amiloidosis. La sensibilidad y especificidad de la ACE es bajo, por lo tanto en pacientes con alta sospecha de sarcoidosis, debe realizarse TAC de tórax a pesar de una ACE normal. (9)

2.2. Polineuropatía Amiloidótica Familiar

La polineuropatía amiloidótica familiar (PAF) es una entidad hereditaria rara, con prevalencia elevada en algunas regiones del mundo. Esta enfermedad se describe según la proteína precursora de amiloide que la produzca: transtiretina (TTR), apolipoproteína A-1 y gelsolina, siendo más frecuente la que se encuentra relacionada con la proteína TTR.

La PAF se relaciona con el depósito de sustancia amiloide en el endoneurium y en fibras nerviosas viscerales de múltiples órganos, siendo el corazón, el tracto gastrointestinal y los órganos sexuales, los más afectados.

Clásicamente produce una polineuropatía axonal dependiente de longitud que inicia con pérdida de la sensibilidad al dolor y a la temperatura en los pies, asociado a disfunción autonómica (disfunción sexual, constipación, diarrea, pérdida de peso, vómito, bloqueos auriculoventriculares). Los pacientes fallecen en promedio, 10 años después de iniciados los primeros síntomas. (1)

En las fases iniciales, se compromete la función de las fibras nerviosas amielínicas y las mielinizadas de pequeño calibre (dolor, temperatura y funciones autonómicas). En estados más avanzados ocurre progresión a fibras mielinizadas de gran calibre, con deterioro de las manifestaciones iniciales, culminando en un estado grave de desnutrición y discapacidad severa.

En relación con las proteínas causales de la enfermedad, las mutaciones de la Apo-1 fueron descritas en familias en Iowa, mientras que las de gelsolina, se han relacionado con grupos familiares en Finlandia, Holanda, Dinamarca y Japón. Entre tanto, las mutaciones de la TTR, se presentan con mayor frecuencia y los síntomas exhiben mayor severidad. Esta variante es típicamente la forma portuguesa de la enfermedad, presentándose también altas frecuencias en Suecia y Japón. La prevalencia en el norte de Portugal alcanza una tasa de 1/1000 y la frecuencia de portadores puede ser de 1/538. En promedio, se han registrado en todo el país cerca de 1500 pacientes con PAF. (3, 13)

La transtiretina (TTR) es una proteína plasmática de transporte para hormona tiroidea y la proteína unida a retinol (RBP)/vitamina A. La TTR es una cadena polipeptídica simple con 127 residuos de aminoácidos. El monómero de TTR (de 14,000 Da), presenta un 60% de estructura β . La asociación no covalente de 4 monómeros forman la proteína tetramérica de transporte plasmático (56,000 Da), la cuál tiene los sitios de unión para tiroxina (T4) en el canal central y receptores en la superficie para la RBP/Vitamina A.

El gen de la transtiretina (TTR) se localiza en el cromosoma 18. Presenta una longitud de 7 kb y tiene 4 exones. El primer exón codifica para la señal peptídica de 20 residuos de aminoácido y solo 3 aminoácidos de la proteína madura. El segundo exón, codifica para los residuos aminoácidos 4-47. El tercer exón, codifica los residuos aminoácidos 48-92 mientras el cuarto exón se encarga de los aminoácidos 93-127. Se han descrito más de 100 mutaciones en la estructura primaria de la TTR y la mayoría se asocia con amiloidosis.

No hay mutaciones patológicas relacionadas con el exón 1. En el exón 2 se han reportado 37 mutaciones patogénicas, en el tercer exón 45 y en el cuarto exón 16 mutaciones. La mayoría de mutaciones resultan en una substitución sencilla de un nucleótido en el gen TTR. (2,6).

La amiloidosis asociada a transtiretina es una enfermedad autosómica dominante, con lo que solo necesita de la mutación de uno de los alelos para desarrollar la enfermedad. La mayoría de las personas afectadas son heterocigotos y expresan la variante patológica TTR y la normal. La mutación más frecuente a nivel mundial es la Val30Met, sin embargo su fenotipo varía según la región geográfica donde se presente. En Portugal usualmente se asocia con un inicio temprano (30-35 años), sin embargo en Suecia, esta misma mutación presenta un inicio clínico más tardío (55-60 años). Se considera que el desarrollo de la amiloidosis se debe a un cambio en la estructura primaria de la proteína, sin embargo la enfermedad podría ser modulada por otros factores genéticos y ambientales, explicando las diferentes presentaciones según la región geográfica afectada. La TTR mutante está presente desde el nacimiento, sin embargo la enfermedad usualmente se manifiesta en la vida adulta. Los factores que explican este fenómeno probablemente se ligan a la bioquímica del envejecimiento más que a la mutación per se. (14)

La mayor parte de la TTR es sintetizada en el hígado, pero también se expresa en pequeñas cantidades a partir de los plexos coroides del cerebro y del epitelio pigmentario de la retina. (15)

La neuropatía autonómica tiende a aparecer en estadios tempranos de la enfermedad, produciendo impotencia sexual en los hombres, problemas en el peristaltismo intestinal y retención urinaria. Las arritmias cardíacas ocurren en relación con bloqueos auriculoventriculares y con disfunción sinusal. La fibrilación auricular puede ocurrir en estadios tardíos de cardiomiopatía restrictiva y falla cardíaca. (14)

Pueden existir otras manifestaciones concomitantes, tales como síndrome de túnel del carpo, cardiomiopatía restrictiva, nefropatía y compromiso ocular, con opacidad del vítreo, queratoconjuntivitis, glaucoma y alteraciones pupilares. El depósito de amiloide en los nervios ciliares genera deformidad de la pupila dando forma de vieira ("scalloped"). Las opacidades vítreas pueden ser parte del síndrome oculoleptomeningeo ó pueden asociarse con cardiomiopatía amiloide sin compromiso leptomenígeo. La amiloidosis leptomenígea se restringe a depósito fibrilar intracraneano y espinal, pudiendo presentar accidentes cerebrovasculares, convulsiones, hidrocefalia, isquemia de la medula espinal o hemorragias intracraneanas. (12)

El diagnóstico de la neuropatía relacionada con la presencia de amiloide en la biopsia tisular, la cual se puede realizar a partir de cualquier órgano clínicamente afectado: nervio, corazón, riñón ó hígado. También se pueden realizar biopsias en sitios inespecíficos, tales como en la mucosa rectal, la grasa abdominal ó en las glándulas salivares.

Los estudios neurofisiológicos convencionales de neuroconducción, electromiografía y respuestas tardías (ondas F/reflejo H), evalúan la función de las fibras nerviosas mielinizadas de gran calibre y no son sensibles para detectar las anomalías en la función de las fibras nerviosas de pequeño calibre. Dentro de los estudios neurofisiológicos disponibles para evaluar la función de las fibras de pequeño calibre se encuentran: la respuesta cutánea simpática refleja, el test cuantitativo sensitivo (quantitative sensory testing- QST), el test cuantitativo sudomotor axonal reflejo (quantitative sudomotor axon reflex test - QSART), los potenciales evocados con estímulo láser y la biopsia de piel con cuantificación de la densidad de las fibras intraepidérmicas (IENDF). (16)

El test del reflejo axonal sudomotor cuantitativo (QSART) mide cuantitativamente la respuesta sudomotora mediada por el reflejo axonal y evalúa la función sudomotora postganglionar. Típicamente, para evaluar la distribución del déficit postganglionar, se hace el registro en el antebrazo y en tres áreas de piel en la pierna. Este tiene una alta sensibilidad, especificidad y reproductibilidad, con un coeficiente de variación del 20%. (17).

La respuesta cutánea simpática refleja, es un potencial registrado en piel, derivado de la activación de las glándulas sudoríparas ecninas. La amplitud y la configuración es modulada por el epitelio glandular sudoríparo y en la epidermis subyacente. El test tiene una sensibilidad relativamente baja con poca certeza de la especificidad y con gran tendencia a la habituación. Su gran ventaja es que es relativamente fácil de realizar en un laboratorio estándar de EMG. El test tiene algo de valor como parte de la batería de exámenes autonómicos. Como una extensión del laboratorio de EMG, tiene un valor significativo y los laboratorios de neurofisiología tienen ahora una considerable experiencia (18).

El tratamiento de la polineuropatía amiloidótica hereditaria involucra medidas específicas e inespecíficas. Las medidas inespecíficas incluyen el manejo de los síntomas neuropáticos dolorosos, con medicamentos como gabapentin, amitriptilina ó pregabalina. Los casos de retención urinaria ocasionalmente requieren cateterismos vesicales intermitentes, mientras que los pacientes con disfunción eréctil requieren estrategias medicamentosas vasodilatadoras con efecto a nivel de los cuerpos cavernosos.

En los últimos 15 años, el único tratamiento específico de la enfermedad era el trasplante hepático, el cuál retardaba o estabilizaba la progresión de la enfermedad, pero requería de manejo inmunosupresor crónico, al igual que un tiempo prolongado en lista de espera hasta

obtener un donante. Se estableció como medida para mejorar los tiempos de espera, la implementación de los trasplantes hepáticos dominó, los cuáles mejoraron la supervivencia de los pacientes con enfermedades hepáticas terminales (cirrosis hepática aguda, carcinoma hepatocelular, etc.), al recibir el hígado del paciente con polineuropatía amiloidótica familiar, el cuál por su parte, recibía el hígado del donante sano sin mutación TTR. (2,9,12)

En la actualidad hay un creciente interés en las terapias dirigidas a estabilizar el tetrámero precursor de los monómeros beta que conforman las fibrillas de amiloide, así como de las terapias genéticas basados en RNA interferencial y oligonucleótidos.

2.3. Test de Cuantificación Sensitiva (QST)

Los sistemas CASE fueron implementados por Dyck en 1978, como un sistema automatizado que incluye un computador personal y un software. El sistema genera el estímulo, lo envía al paciente, quien registra la respuesta y se determina el umbral sensitivo de acuerdo con los algoritmos seleccionados. Desde 1978, se han realizado diversas modificaciones en las características de los estímulos, el número de niveles de estímulo y de las técnicas para detectar el umbral sensitivo, obteniendo la última versión del sistema: CASE IV.

El estimulador vibratorio es un galvanómetro que está montado en un brazo en balance, que permite a la sonda de estimulación (9 mm de diámetro) descansar en la base de la uña del dedo índice ó en el hallux, con una fuerza de 30 gramos.

El estimulador genera una vibración a 125 Hz. La amplitud es controlada por computador, para variar desde 0,1 a 576 micrómetros en 25 niveles (Just Noticeable Difference (JND)). El sistema del equipo, informa al sujeto del envío del estímulo y el paciente responde presionando el botón (si/no) en la caja de respuesta. (19)

La sonda para evaluación de temperatura (térmodo) es un instrumento que hace parte del sistema automatizado CASE IV, el cuál en contraste con el térmodo del CASE III, es enfriado con agua, permitiendo cambios más rápidos en la temperatura. La superficie de estimulación que queda en contacto con la piel, es una base en cerámica (10 cm²) con alta conductancia. El térmodo consiste en dos unidades termoelectricas (TEU-1 y TEU-2) y una termocupla unida a la base de cerámica. Un bloque en aluminio separa las dos TEU. Otro bloque de aluminio es montado en el TEU-2, con el agua circulando alrededor para disipar el calor. TEU-1 provee los cambios de calor y frío, mientras que el TEU-2 mantiene el bloque de aluminio a la temperatura cutánea.

La temperatura cutánea es usada como línea de base. La temperatura del térmodo es mantenida por el computador, oscila entre 5°C y 50°C, con cambios en la intensidad del estímulo en 25 niveles (JND). (19)

Los cambios de temperatura se realizan en 4 °C/s. Los límites máximos de temperatura son: 9°C x 10 segundos para el umbral de percepción de frío, 45°C x 10 segundos para el umbral de percepción de calor y de 49°C x 10 segundos para la percepción de dolor con el estímulo de calor (Heat Pain (HP)). (19)

Se ha descrito en un estudio de neuropatía de fibra pequeña dolorosa, que de 20 pacientes estudiados, la investigación del test de cuantificación sensitiva con el equipo CASE IV, fue anormal en el umbral de detección de frío en el 82% y en vibración en el 60% (evidencia clase II). El QST fue anormal en el 17% de los controles sanos. En otro estudio en el que

se incluía como criterio de inclusión la reducción de la densidad de fibras nerviosas intraepidérmicas (IENF), el 57% presentó umbrales anormales para frío y el 30% fue anormal para vibración (evidencia clase III). (20)

Las principales limitaciones incluyen: importante consumo de tiempo para completar el estudio además de ser un test psicofísico subjetivo, que requiere cooperación por parte del paciente. (21)

2.4. Métodos de evaluación de los pacientes

Las polineuropatías se desarrollan a partir del compromiso sensitivo, motor y/o autonómico de las fibras nerviosas tanto de pequeño como de gran calibre, implicando la aparición de diversos síntomas, que en términos generales dependen de la idiosincrasia de cada paciente, ya que cada cuál valoriza de forma diferente las sensaciones que presenta. Por la subjetividad de los síntomas, es importante implementar el uso de escalas que evalúen tanto objetiva como subjetivamente los síntomas y los hallazgos al examen neurológico.

Se desarrolló y validó el Norfolk Quality of Life Questionnaire–Diabetic Neuropathy (QOL-DN), conformado por 47 preguntas relacionadas con los síntomas y el impacto en la función de fibras nerviosas grandes, pequeñas y autonómicas, así como su relación con actividades de la vida diaria. Fue desarrollado para el estudio y seguimiento de la neuropatía diabética. Cuando la escala presenta un score < 1 no hay neuropatía, de 2 a 9 es leve, de 10 a 19 es moderada y cuando es > de 20 puede asociarse con una neuropatía severa. El score de 0, corresponde a ausencia de síntomas.(22).

El Michigan Neuropathy Screening Instrument fue desarrollado para evaluar tanto subjetiva como objetivamente los pacientes con neuropatía diabética tipo 1. Este instrumento incluye dos partes, la parte A corresponde a un cuestionario de 15 preguntas diligenciadas por el paciente, las cuales al correlacionarse con el diagnóstico confirmado de neuropatía, tienen sensibilidades bajas (entre 4,2% y 42%) y especificidad alta (entre 74,1% y 99,5%). La parte B, corresponde al examen objetivo de las extremidades inferiores, incluyendo inspección, evaluación de la sensibilidad vibratoria y de los reflejos aquilianos; en relación con el diagnóstico confirmado de neuropatía, presenta sensibilidades variables, (desde 2,0% hasta 71,8%), con especificidades altas (entre 65,8% y 99,5%). La parte A presenta un valor máximo de 13 puntos, el score de 0 implica que el paciente no refiere ninguna sintomatología. La parte B presenta un valor máximo de 10 puntos, el score de 0 corresponde a la no presencia de anomalías en los ítems examinados. (23)

El Utah Early Neuropathy Scale, es una escala basada en los hallazgos del examen físico. Evalúa específicamente la polineuropatía sensitiva en fases tempranas, realizando énfasis en la pérdida de la sensibilidad táctil afilada (pinprick sensation) tanto en su distribución espacial como en severidad. También incluye hallazgos de la sensibilidad vibratoria, dolor neuropático (alodinia/hiperestesia) y con un menor valor las anomalías relacionadas con la fuerza del músculo extensor hallucis longus y del reflejo aquiliano. El score máximo es 42 puntos, donde el valor de 0 indica que no hay hallazgos anormales en el examen neurológico. (24)

3. Propósito

Implementar la técnica de cuantificación sensorial en el estudio de la neuropatía de fibra pequeña causada por la polineuropatía amiloidótica familiar. Esta técnica podría utilizarse en otras causas de neuropatía de fibra pequeña, más prevalentes en la población colombiana.

4. Objetivo General

Evaluar los indicadores de cuantificación sensitiva (quantitative sensory testing-QST) en individuos que presentan la mutación genética TTR Val30Met sintomáticos y asintomáticos comparando los resultados con un grupo control sano.

4.1. Objetivos Específicos

- Evaluar los umbrales de detección de frío, detección de dolor con el calor y detección de vibración de individuos que presentan mutación genética TTR Val30Met sintomáticos y asintomáticos
- Evaluar los parámetros de cuantificación sensitiva en un grupo que no presentan la mutación.
- Comparar los resultados obtenidos con ambos grupos.

5. Hipótesis

La medición de los umbrales de detección de frío, dolor con el calor y vibración, permite identificar anormalidades en el funcionamiento de las fibras nerviosas pequeñas, en personas que tienen la mutación Val30Met del gen de la transtiretina (TTR), causante de la polineuropatía amiloidótica familiar.

6. Metodología

6.1. Tipo de Estudio

Estudio comparativo descriptivo de corte transversal.

6.2. Población de referencia y muestra

Los casos corresponden a individuos con la mutación autosómica dominante Val30Met de la transtiretina (TTR), que son seguidos en la clínica especializada de polineuropatía amiloidótica familiar (PAF), en la unidad de neurofisiología del Hospital Universitario Santa María, en Lisboa (Portugal).

Los pacientes fueron estudiados genéticamente por presentar antecedentes familiares de PAF en primer ó segundo grado. Algunos que no presentaban antecedentes, fueron estudiados por la presencia de síntomas ó signos clínicos sugestivos de la enfermedad.

Los estudios relacionados con neuropatía de fibra pequeña en polineuropatía amiloidótica familiar, tienen usualmente dificultades para alcanzar un tamaño de muestra adecuado para conseguir el mejor resultado estadístico posible, especialmente por la baja prevalencia de la enfermedad. La población a estudio es finita, teniendo en cuenta que se ha reportado la presencia de cerca de 1500 personas con la enfermedad en Portugal (4), de las cuales 200 (aprox) en diferentes estadios de la enfermedad, son seguidas en la unidad de neurofisiología del Hospital Universitario de Santa María, en Lisboa. No hay información suficiente en la literatura que provea datos relacionados con la sensibilidad y especificidad de la técnica de cuantificación sensitiva en la detección de alteraciones que sugieran neuropatía de fibra pequeña, lo cuál limita el cálculo de la muestra.

Debido a que el universo de pacientes es limitado, dentro de los cuales existen personas con enfermedad avanzada con compromiso motor y de esfínteres, la población a incluir se ubica en las primeras fases de la enfermedad y debe ser seleccionada a partir de tener un estudio neurofisiológico convencional normal, por lo tanto se decidió realizar un muestreo no probabilístico de tipo intencional, el cuál no permitirá realizar estimaciones inferenciales generales de la población, pero logra obtener una muestra de la cual se puedan realizar comparaciones.

6.3. Criterios de Selección

6.3.1. Criterios de Inclusión

Pacientes: Son todos los individuos con la mutación Val30Met, sin anormalidades en la evaluación neurofisiológica convencional (neuroconducciones y respuesta cutánea simpática refleja dentro de límites normales).

Controles sanos: Son personas mayores de edad, voluntarias, pertenecientes al personal sanitario del hospital, sin comorbilidades médicas, ni consumo crónico de medicamentos.

6.3.2. Criterios de Exclusión

Se excluyeron personas que presentaran comorbilidades que potencialmente puedan afectar el funcionamiento de fibras nerviosas pequeñas, se incluyeron las siguientes patologías: diabetes, VIH, lepra, vasculitis, tóxicos (alcohol), antineoplásicos, enfermedades autoinmunes.

6.4. Control de Sesgos

6.4.1. Sesgos de Selección

La población a estudio se toma de los pacientes que son seguidos en la consulta especializada en Polineuropatía Amiloidótica Familiar de la unidad de neurofisiología del Hospital Santa María en Lisboa, Portugal. En dicha unidad se realiza un seguimiento anual a las personas que tienen la mutación genética pero que no presentan síntomas, entre tanto, las personas que presentan síntomas con ó sin alteraciones al examen neurológico, tienen un seguimiento cada 3 a 6 meses, según el criterio de la jefe de la línea de investigación y tratamiento en PAF (Dra. I. Conceição). Lo anterior supone un posible sesgo de selección, en el cuál es menos probable que hayan sido estudiados los pacientes asintomáticos, en comparación con los sintomáticos.

6.4.2. Sesgos de información

La información va a ser recolectada manualmente, a partir de las historias en físico y en medio electrónico, así como a partir de los cuestionarios en donde se evalúan los pacientes con las escalas clínicas subjetivas y objetivas descritas. Existen sesgos en el cuestionario de Norfolk, el cuál es diligenciado por los pacientes, con la posibilidad de omitir algunas respuestas. Para control de este tipo de sesgo, se revisaron todos los cuestionarios antes de finalizar la consulta, con el fin de completar la información en caso que faltase.

Los datos de las escalas de Michigan parte A y parte B, se diligencian por alguno de los miembros de la línea de investigación, durante la realización de la consulta, en donde se incluyen los datos del examen neurológico, en los ítems específicos validados para cada escala.

Los datos clínicos y paraclínicos (neurofisiológicos incluyendo los QST) de las historias, son extraídos por los investigadores (A. Díaz y J. Castro) y son incluidos en el instrumento construido en Excel para este fin. Posteriormente, los datos son revisados por los investigadores y por la jefe de la línea de investigación (I. Conceição) para verificar datos erróneos ó faltantes.

6.5. Definición de Variables

Variable	Tipo y escala	Operacionalización	Indicadores	Ítems
Edad en el momento de la	Cuantitativa en escala razón	Medido en años. (Fecha de realización del QST – Fecha de	Media, con su rango (valor mínimo y	

realización del QST		nacimiento) / 365.	máximo).	
Género	Cualitativa en escala nominal	1: Femenino. 2: Masculino.	Frecuencia en porcentaje.	
Peso	Cuantitativa continua en escala razón	Medido en kilogramos, con 1 decimal	Media, con su rango (valor mínimo y máximo).	
Altura	Cuantitativa continua en escala razón	Medido en metros, con 2 decimales.	Media, con su rango (valor mínimo y máximo).	
Índice de Masa Corporal (IMC)	Cuantitativa continua en escala razón	Peso en Kg / (Altura en mt) ²	Media, con su rango (valor mínimo y máximo).	
Mutación	Cualitativa nominal	1: Si 2: No		
Herencia	Cualitativa, nominal.	1: Materna. 2: Paterna.	Frecuencia en porcentaje.	
Síntomas	Cualitativa, nominal.	0: Sin Síntomas 1: Sensitivo. 2: Autonómico. 3: Sensitivo y Autonómico.	Frecuencia en porcentaje.	
Tiempo de inicio de los síntomas	Cuantitativa, continua.	En meses; (Fecha de realización del QST – Fecha de inicio de los síntomas) / 12		
Norfolk	Cualitativa, nominal.	0: Norfolk 0. 1: Norfolk >1.	Frecuencia en porcentaje.	
MichiganA	Cualitativa, nominal.	0: MichiganA 0. 1: MichiganA >1.	Frecuencia en porcentaje.	
MichiganB	Cualitativa, nominal.	0: MichiganB 0. 1: MichiganB >1.	Frecuencia en porcentaje.	
Utah	Cualitativa, nominal.	0: Utah 0. 1: Utah >1.	Frecuencia en porcentaje.	
Grupos	Cualitativa, nominal.	0: Norfolk 0. 1: Norfolk > 0, Michigan y Utah: 0. 2: Norfolk > 0, Michigan/Utah > 0.	Frecuencia en porcentajes.	
Biopsia Glándulas Salivares	Cualitativa, nominal.	0: Sin biopsia. 1: Positivo. 2: Negativo.	Frecuencia en porcentajes.	
Respuesta Cutánea Simpática Refleja Pie (Latencia)	Cuantitativa, continua	Medido en milisegundos (ms).	Media, con su rango (valor mínimo y máximo).	
Respuesta Cutánea Simpática Refleja Pie (Amplitud)	Cuantitativa, continua	Medido en microvoltios (µV)	Media, con su rango (valor mínimo y máximo).	
Cold Threshold	Cuantitativa, continua	Medido en JND. Pie derecho e izquierdo.	Media, con su rango (valor mínimo y	

			máximo).	
Cold Threshold Promedio	Cuantitativa, continua	Medido en JND. (Cold T Pie derecho + Cold T pie izquierdo) / 2.	Media, con su rango (valor mínimo y máximo).	
Cold	Cualitativa, nominal	0: Normal bilateral. 1: Anormal unilateral. 2: Anormal bilateral.	Frecuencia en porcentajes.	Se considera anormal, cuando el umbral promedio de detección de frío, es mayor que el percentil 97.5 de los valores de los controles, calculado con la siguiente fórmula: Media + (2 x Desviación estándar).
Heat Pain (HP) 5 Threshold	Cuantitativa, continua	Medido en JND. Pie derecho e izquierdo.	Media, con su rango (valor mínimo y máximo).	
Heat Pain (HP) 5 Threshold Promedio	Cuantitativa, continua	Medido en JND. (Heat Pain 5 Pie derecho + Heat Pain 5 pie izquierdo) / 2.	Media, con su rango (valor mínimo y máximo).	
Heat Pain (HP) 0,5 Threshold	Cuantitativa, continua	Medido en JND. Pie derecho e izquierdo.	Media, con su rango (valor mínimo y máximo).	
Heat Pain (HP) 0,5 Threshold Promedio	Cuantitativa, continua	Medido en JND. (Heat Pain 0,5 Pie derecho + Heat Pain 0,5 pie izquierdo) / 2.	Media, con su rango (valor mínimo y máximo).	
Heat Pain (HP) 5-0,5 Threshold	Cuantitativa, continua	Medido en JND. Pie derecho e izquierdo.	Media, con su rango (valor mínimo y máximo).	
Heat Pain (HP) 5-0,5 Threshold Promedio	Cuantitativa, continua	Medido en JND. (Heat Pain 5-0,5 Pie derecho + Heat Pain 5-0,5 pie izquierdo) / 2.	Media, con su rango (valor mínimo y máximo).	
Heat Pain (HP) N-A	Cualitativa, nominal	0: Normal bilateral. 1: Anormal unilateral. 2: Anormal bilateral.	Frecuencia en porcentajes.	Se considera anormal cuando: 1. El umbral promedio de HP5 y de HP5-0,5 es mayor que el percentil 97.5 de los valores de los controles. Calculado con la siguiente fórmula: Media + (2 x Desviación estándar). 2. Cuando el umbral promedio de HP 5 ó el de HP 5-0,5, son menores que el percentil 2.5 de los valores de los

				controles. Calculado con la siguiente fórmula: Media - (2 x Desviación estándar).
Vibration Threshold	Cuantitativa, continua	Medido en JND. Pie derecho e izquierdo.	Media, con su rango (valor mínimo y máximo).	
Vibration Threshold Promedio	Cuantitativa, continua	Medido en JND. (Vibration T pie derecho + Vibration T pie izquierdo) / 2.	Media, con su rango (valor mínimo y máximo).	
Vibration N-A	Cualitativa, nominal	0: Normal bilateral. 1: Anormal unilateral. 2: Anormal bilateral.	Frecuencia en porcentajes.	Se considera anormal, cuando el umbral promedio de detección de vibración, es mayor que el percentil 97.5 de los valores de los controles, calculado con la siguiente fórmula: Media + (2 x Desviación estándar).

6.6. Instrumentos

Se utilizaron en físico, las escalas de evaluación clínica (Norfolk, Michigan y Utah) permitiendo su rápido diligenciamiento durante la consulta especializada de PAF. Se construyó una tabla de Excel 2011 para Mac, versión 14.3.2, donde se incluyeron todas las variables a estudio (Ver Anexo).

6.7. Materiales y Métodos

A partir de las historias clínicas de la clínica de PAF tanto físicas como electrónicas (incluidos en el sistema THAOS (base de datos web, internacional observacional, con registro de 10 años) abierto a todos los pacientes con amiloidosis TTR y portadores asintomáticos con mutación TTR), se obtuvieron los datos de síntomas motores, sensitivos y/o disautonómicos, así como las variables de fecha de nacimiento, sexo, peso, herencia y mutación genética. Todos los pacientes completaron los datos del cuestionario de Norfolk y durante la consulta los datos fueron ingresados en el cuestionario Michigan parte A y parte B, al igual que en los de la escala de Utah.

Los enfermos se agruparon de acuerdo a los scores obtenidos a partir de las escalas de Norfolk, Michigan y Utah, de las cuales con las escalas Norfolk y el Michigan parte A se evaluaron subjetivamente las quejas de los pacientes, mientras que con las escalas Michigan parte B y Utah, se evaluaron objetivamente algunos puntos del examen neurológico en relación con la función del nervio periférico.

Durante la evaluación, se realizó el estudio neurofisiológico convencional incluyendo: respuesta cutánea simpática refleja, neuroconducciones de los nervios mediano (motor y sensitivo), sural (sensitivo), peroneo (motor y sensitivo), evaluando latencia, amplitud y velocidad de conducción en cada uno de los nervios, con el fin de descartar la presencia de anomalías en la función de las fibras mielinizadas grandes.

Los enfermos se dividieron en 3 grupos:

- G1 -asintomáticos (Norfolk = 0 y Michigan A =0).
- G2 -sintomáticos (Norfolk >1, Michigan A >1) con hallazgos normales en el examen neurológico (Michigan B=0, Utah=0).
- G3 -sintomáticos (Norfolk >1, Michigan A >1) con hallazgos anormales en el examen neurológico (G3) (Michigan B >1, Utah >1).

6.7.1. Metodología para el test de cuantificación sensitiva

Para la realización del test de cuantificación sensitiva, se utilizó el equipo automatizado CASE IV (19), usando la sonda (térmodo) con una base en cerámica para evaluación de temperatura (calor/frío) y un galvanómetro montado en un brazo en balance, que permite a la sonda de estimulación (9 mm de diámetro) descansar en la base de la uña del dedo índice ó en el hallux, con una fuerza de 30 gramos, generando una vibración a 125 Hz. La intensidad de los estímulos fue controlada por computador, variando en 25 niveles, denominados “Just Noticeable Difference“ (JND).

Se efectuó la medición de los umbrales para la sensibilidad al frío, al dolor con el calor y a la vibración, en los pies de forma bilateral, tanto en los enfermos como en los sanos. Para cada una de estas variables del QST, se realizó un promedio entre el valor obtenido en el pie izquierdo con el del pie derecho, con el fin de facilitar el análisis estadístico. El resultado serán las siguientes variables: umbral promedio de detección de frío, umbral promedio del nivel intermedio al dolor con el estímulo de calor (HP5), umbral promedio del inicio en la percepción de dolor con el estímulo de calor (HP0,5), umbral promedio del incremento entre el inicio y el nivel intermedio de percepción de dolor al calor (HP 5-0,5) así como el umbral promedio para la detección de vibración. (25-27)

6.8. Plan de Análisis

Las variables categóricas fueron expresadas en frecuencia a partir de porcentajes. Las relaciones entre variables categóricas dependientes e independientes se efectuaron a partir de las tablas de contingencia, las cuáles fueron bidimensionales ó multidimensionales, según el caso.

Se utilizó el análisis de Chi-cuadrado (X^2) para evaluar los grupos de individuos con la mutación y los controles sanos, determinando las asociaciones entre las variables categóricas, tales como sexo, edad al momento de realización del QST, herencia, índice de masa corporal ó síntomas.

En el grupo de individuos con la mutación, se realizó la prueba de correlación de Pearson para evaluar las diferencias entre los umbrales obtenidos en cada pie, para cada una de las variables cuantitativas independientes del test de cuantificación sensitiva, lo cual incluyó los umbrales para: detección de frío, vibración, inicio de la detección de la sensibilidad dolorosa al estímulo con calor (HeatPain0,5), detección del nivel intermedio de la sensibilidad dolorosa con el estímulo de calor (HeatPain5) y del intervalo desde el inicio en la percepción dolorosa hasta el nivel intermedio al dolor (HeatPain5-0,5).

Se realizaron pruebas no paramétricas de tipo Mann-Whitney para el análisis de las variables de comparación entre el grupo con la mutación Val30Met y el grupo de controles sanos. Se compararon los valores de latencia y amplitud de la respuesta simpática cutánea refleja y los umbrales para: detección de frío, vibración, inicio de la detección de la sensibilidad dolorosa al estímulo con calor (HeatPain0,5), detección del nivel intermedio de la sensibilidad dolorosa con el estímulo de calor (HeatPain5) y del intervalo desde el inicio en la percepción dolorosa hasta el nivel intermedio al dolor (HeatPain5-0,5).

Para los análisis estadísticos se usó el sistema SPSS para Windows versión 21.0

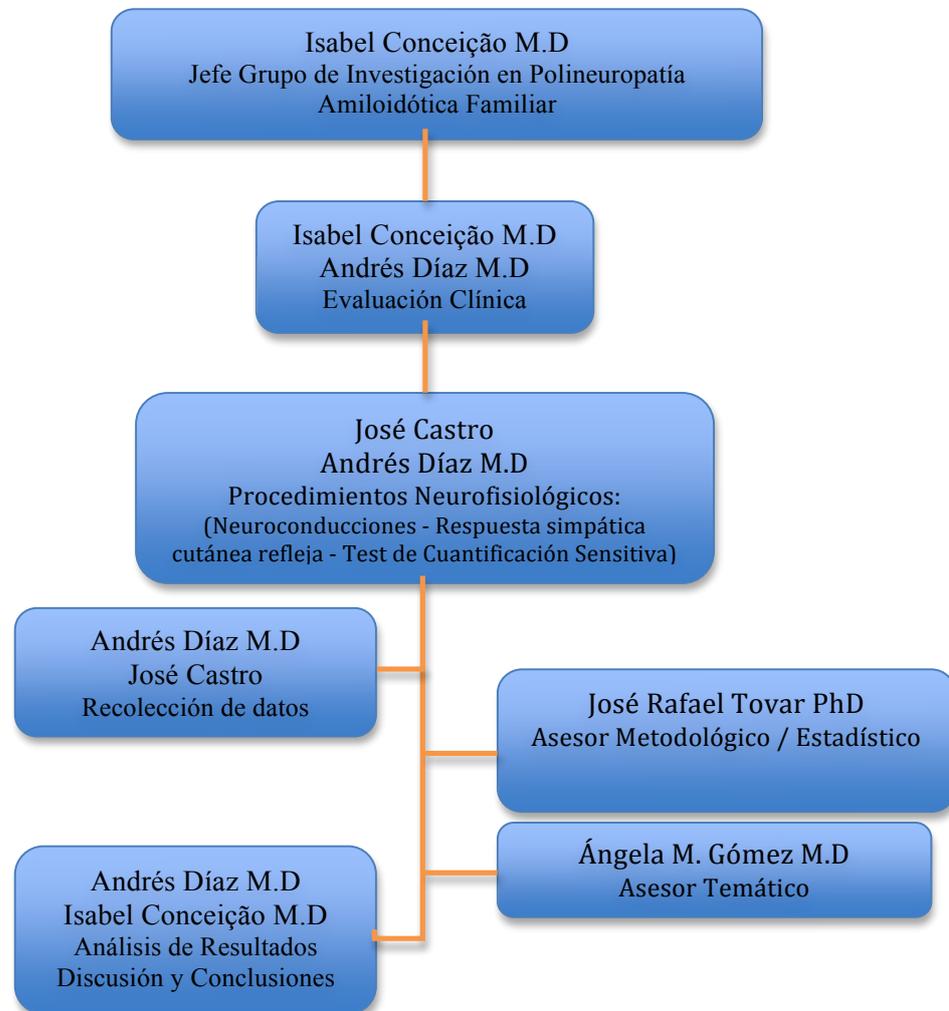
7. Aspectos Éticos

El estudio y los procedimientos realizados, se efectuaron de conformidad con las normas éticas establecidas por el comité de ética del Hospital Santa María en Lisboa, Portugal y con la declaración de Helsinki en su última versión.

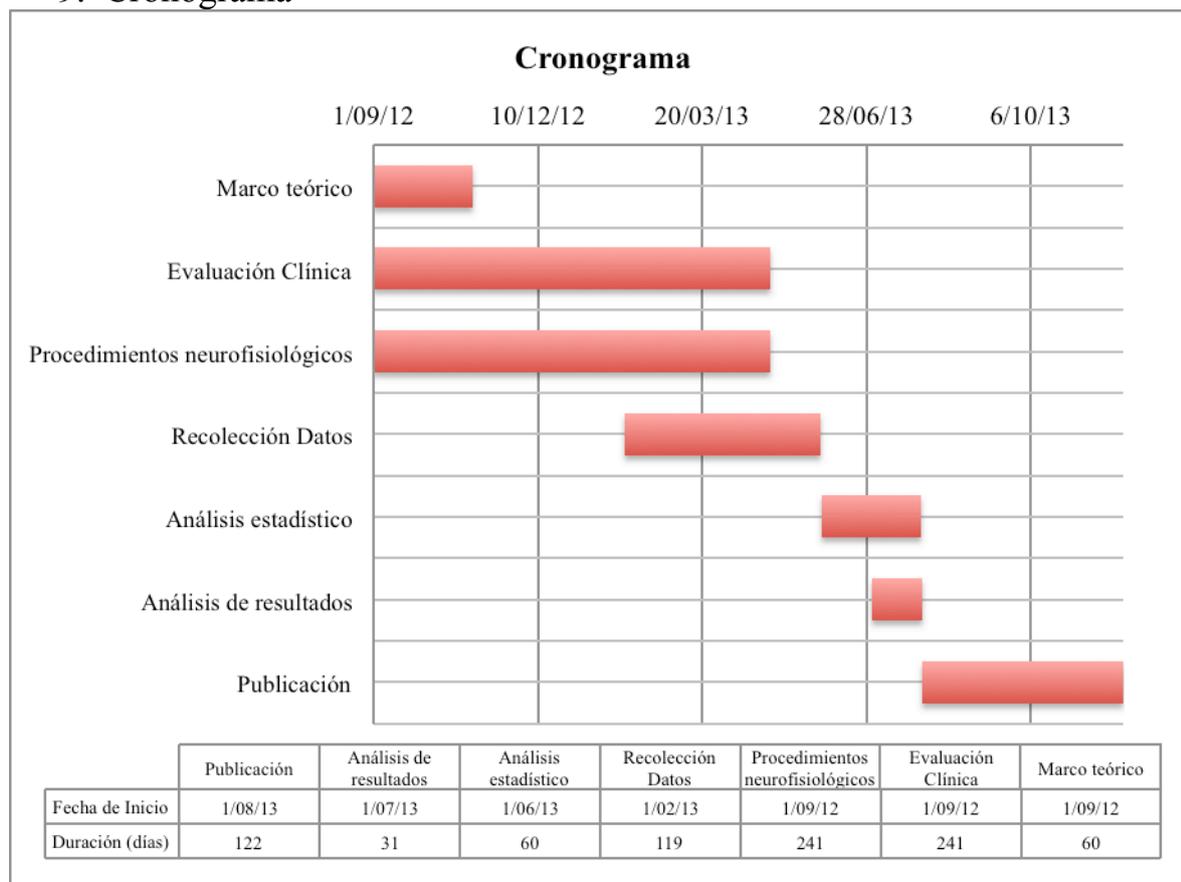
El actual estudio hace parte del proyecto denominado "Marcadores precoces de involucramiento das pequenas fibras nervosas na Polineuropatia Amiloidótica Familiar" aprobado el 9 de Octubre del 2008 por el comité de ética del Hospital Santa María en Lisboa, Portugal.

Los casos y los controles, firmaron un consentimiento informado para ser incluidos en el estudio. No se realizaron exámenes en personas menores de edad, mujeres embarazadas, ni tampoco en personas mayores de 65 años.

8. Organigrama



9. Cronograma



10. Presupuesto

La financiación del estudio se realizó a partir de recursos propios del grupo de investigación y con la financiación del autor principal a través de una beca de estudios de la Federación Internacional de Neurofisiología Clínica. Debido a que no hay ninguna participación ni financiación por parte de la industria farmacéutica, el actual estudio no presentó ningún conflicto de intereses.

Tabla 10.1. *Presupuesto global (en miles de \$)*

RUBROS	FUENTES		TOTAL
	RECURSOS GRUPO DE INVESTIGACION	BECA	
PERSONAL	\$ 30'000	\$ 50'000	\$ 80'000
SOFTWARE	\$ 80'000		\$ 80'000
MATERIALES Y SUMINISTROS	\$ 300		\$ 300
GASTOS DE DIFUSIÓN Y PUBLICACIÓN	\$ 600		\$ 600
SERVICIOS TÉCNICOS	\$ 0		\$ 0
TOTAL	\$ 110'900	\$ 50'000	\$ 160'900

Tabla 10.2. Descripción de los gastos de personal (en miles de \$)

INVESTIGADOR	FORMACIÓN ACADÉMICA	FUNCIÓN DENTRO DEL PROYECTO	DEDICACIÓN (Hrs/sem)	RECURSOS		TOTAL
				GRUPO DE INVESTIGACION	BECA	
Andrés Díaz	Médico Neurólogo – Fellow neurofisiología Clínica	Dirección, coordinación, diseño y ejecución del estudio	20	\$ 0	\$ 50'000	\$ 50'000
Isabel Conceição	Médica Neuróloga-Neurofisióloga	Dirección, coordinación y diseño del estudio	10	\$ 200000	\$ 0	\$ 20'000
José Castro	Técnico de Neurofisiología	Ejecución del estudio	10	\$ 10'000	\$ 0	\$ 10'000
TOTAL				\$ 30'000	\$ 50'000	\$ 80'000

Tabla 8.3. Descripción del software (en miles de \$)

SOFTWARE	JUSTIFICACIÓN	TOTAL
CASE IV	Software y aparatos para medir y cuantificar los umbrales sensitivos.	\$ 40'000
TOTAL		\$ 40'000

Tabla 8.4. Descripción de los gastos de difusión y publicación en revista indexada (en miles de \$)

DESCRIPCIÓN	JUSTIFICACIÓN	TOTAL
Poster	Difusión y presentación de los resultados del estudio en congresos y revistas indexadas	\$ 100
Edición de artículo para publicación en revista indexada		\$ 300
Copias (100)		\$ 200
TOTAL		\$ 600

11. Resultados

Se obtuvo una muestra de 33 registros, de 29 individuos con la mutación Val30Met que cumplieron con los criterios de inclusión y exclusión propuestos para el estudio. Cuatro individuos tuvieron dos evaluaciones con un intervalo de tiempo entre 5 y 6 meses. El grupo de individuos sanos estuvo compuesto por 18 personas.

Del grupo de personas que presentaron la mutación, el 60,6% eran mujeres (n=20) mientras que en el grupo de individuos sanos, la proporción del género femenino fue de 0.667. (p=0,669).

A la fecha de realización del Test de Cuantificación Sensitiva (QST), el grupo con la mutación, tuvo una media de edad de 44,8 años (23,7 - 60,4). Los individuos del grupo control presentaron una edad media de 42,2 años (27,2-56,8). No se presentaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos (p=0,744).

El índice de masa corporal tuvo una media de 26,09 (17,3 – 38,1) en las personas con la mutación y de 23,7 (20,5-36,5) en los sanos. No se identificaron diferencias entre los grupos (p=0,433).

Las distribuciones del grupo de personas con la mutación Val30Met, por síntomas, herencia, resultado de la biopsia de glándulas salivares y la clasificación según escalas, se describen en la tabla 1. Los síntomas fueron: sensitivos (parestias, disestesias, dolor neuropático), síntomas disautonómicos (vómitos posprandiales, diarrea/constipación, ortostatismo) y mixta (sensitiva y autonómica).

Tabla 1. Pacientes con mutación Val30Met, distribuciones por frecuencias.

Variable		n	Porcentaje (%)
Herencia	Materna	13	39,4
	Paterna	18	54,5
	No conocida	2	6,1
Biopsia de Glándulas Salivares	Amiloide +	13	39,4
	Amiloide -	9	33,3
	Sin Biopsia	11	27,3
Síntomas	Asintomáticos	8	24,2
	Sensitivos (S)	14	42,4
	Autonómicos (A)	6	18,2
	Mixtos (S + A)	5	15,2
Grupos de acuerdo a: -Escala Síntomas: Norfolk. -Escala E. Neurológico: Michigan B – Utah	G1: Norfolk = 0	8	24,2
	G2: Norfolk > 0 Michigan B y Utah = 0	14	42,4
	G3: Norfolk > 0 Michigan B y Utah > 0	11	33,3

Al estudiar la asociación entre síntomas y el resultado de la biopsia, se encontró que un 50% (n=4) de los pacientes asintomáticos presentaron depósito de amiloide. De las personas que refirieron síntomas sensitivos, se reportó la presencia de amiloide en el 50% (n=7), en el 16,7% (n=1) de los que presentaron síntomas disautonómicos y en el 20% (n=1) de los que presentaron tanto síntomas sensitivos como disautonómicos.

En el grupo de personas con la mutación Val30Met, los tiempos de inicio de los síntomas, el tiempo desde el diagnóstico genético hasta el inicio de los síntomas y el tiempo desde el diagnóstico genético hasta la fecha de realización del test de cuantificación sensitiva (QST), se describen en la tabla 2. En el tiempo desde el diagnóstico genético hasta el inicio de los síntomas presentó valores negativos, indicando la presencia de síntomas previo al diagnóstico genético.

El estudio neurofisiológico de neuroconducciones, identificó una función normal de las fibras nerviosas mielinizadas, los valores se resumen en la tabla 2.

Tabla 2. Características cuantitativas en individuos con mutación Val30Met, incluyendo el estudio neurofisiológico convencional.

Variable	n	Mediana	Mínimo	Máximo
Tiempo de inicio de los síntomas (días)	25	668	9	1652
Tiempo desde el diagnóstico genético hasta el inicio de los síntomas (días) *	25	609	-730	5022
Tiempo desde el diagnóstico genético hasta la fecha del QST (días)	25	1468	54	5211
Estudio Neurofisiológico: Neuroconducciones				
Nervio Mediano Motor Izquierdo	29			
• Latencia (mseg)		2,9	2,0	4,0
• Amplitud (mV)		15,2	7,5	27,7
• Velocidad (m/seg)		54,7	43,6	61,4
Nervio Peronero Motor Derecho	28			
• Latencia (mseg)		3,9	2,8	5,3
• Amplitud (mV)		8,1	4,5	17,8
• Velocidad (m/seg)		46,3	38,2	52,5
Nervio Sural Izquierdo	28			
• Latencia (mseg)		1,9	1,4	2,6
• Amplitud (μ V)		25,9	11,0	54,0
• Velocidad (m/seg)		50,3	40,9	63,1
Nervio Mediano Sensitivo Izquierdo	29			
• Latencia (mseg)		2,9	2,3	3,9
• Amplitud (μ V)		43,4	10,0	82,0
• Velocidad (m/seg)		54,1	42,9	62,5
Nervio Peronero Sensitivo Derecho	28			
• Latencia (mseg)		2,1	1,4	4,8
• Amplitud (μ V)		14,2	5,6	27,0
• Velocidad (m/seg)		47,1	39,0	53,7

* En el tiempo desde el diagnóstico genético hasta el inicio de los síntomas, se documentaron individuos con valores negativos, indicando la presencia de síntomas previo al diagnóstico genético.

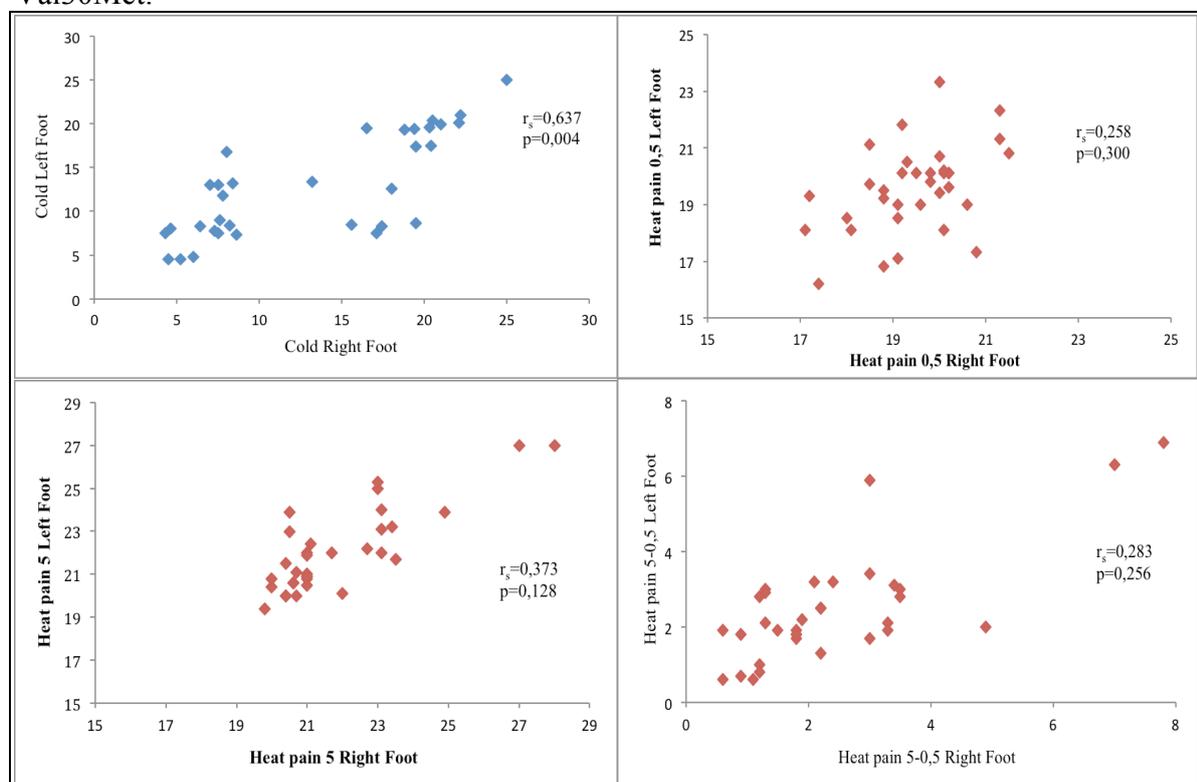
El test de cuantificación sensitiva entre las personas con la mutación Val30Met y los individuos sanos, incluyó el análisis de los umbrales para la detección de frío, de dolor con el calor y de vibración, en la tabla 3, se describen los hallazgos según normalidad y anormalidad uni o bilateral.

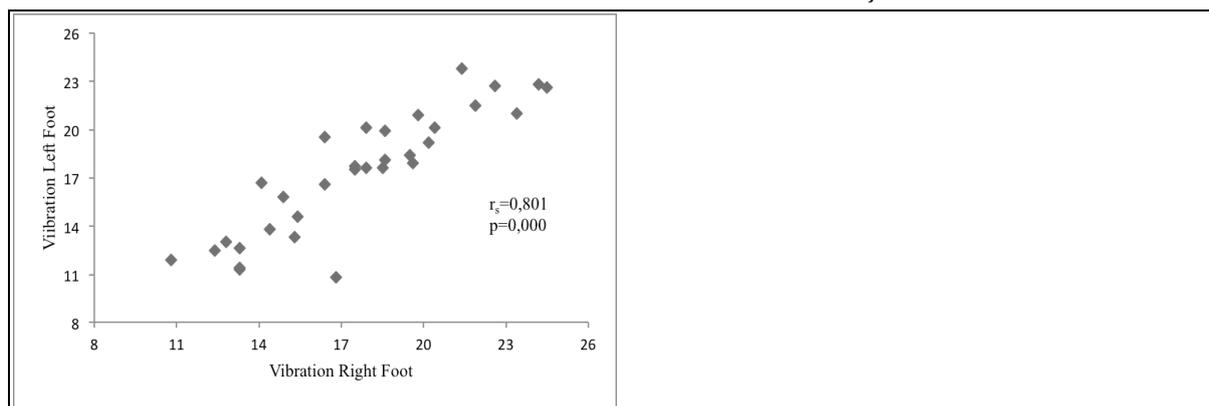
Tabla 3. Resultados del Test de Cuantificación Sensitiva, en individuos con presencia y ausencia de la mutación Val30Met.

		Mutación Val30Met				p
		Presente N=33		Ausente N=18		
		F	%	f	%	
Frío	Normal bilateral	16	48,5	17	94,4	0.0029
	Anormal unilateral	6	18,2	1	5,6	
	Anormal bilateral	11	33,3	-	-	
	Anormal	17	51,5	1	5,6	
Dolor con el calor (Heat Pain)	Normal bilateral	15	45,5	17	94,4	0.000
	Anormal unilateral	18	54,5	1	5,6	
Vibración	Normal bilateral	26	78,8	18	100	0.057
	Anormal unilateral	6	18,2	-	-	

El test de cuantificación sensitiva (QST) se realizó en el dorso de ambos pies en todos los pacientes. Se realizó un análisis de correlación entre ambos lados (pie izquierdo/pie derecho) para cada una de las variables, las cuales se muestran en la figura 1.

Figura 1. Correlación entre lados (pie izquierdo vs pie derecho) para cada una de las variables del Test de Cuantificación Sensitiva (QST) en pacientes con la mutación Val30Met.





Las correlaciones entre lados (pie izquierdo vs pie derecho), demostraron que en las personas con la mutación Val30Met, los umbrales para frío y para vibración, presentaban una alta correlación, permitiendo el uso del promedio como variable de comparación.

Los umbrales para el dolor con el calor, incluyendo el inicio del dolor, el nivel intermedio de percepción del dolor y el intervalo entre el inicio y el nivel intermedio de dolor, no presentaron correlaciones tan marcadas, implicando que podían presentarse umbrales asimétricos, sin embargo ninguno tuvo una relación inversa y mantuvieron una correlación positiva.

Los umbrales de las variables estudiadas en el test de cuantificación sensitiva así como las latencias y amplitudes de la respuesta simpática cutánea refleja del pie, se presentan en la tabla 4, tanto para el grupo con la mutación Val30Met como para el grupo de individuos sanos.

Tabla 4. Test de Cuantificación Sensitiva y Respuesta Simpática Cutánea Refleja, en pacientes con mutación Val30Met vs personas control sanas.

Variables		Mutación Val30Met		Sanos		p
		Mediana	Mín.-Máx	Mediana	Mín.-Máx	
Respuesta Simpática Cutánea Refleja (Pie)	Latencia (ms)	2,1	1,7-2,7	1,9	1,6-2,2	0,21
	Amplitud (μ V)	0,7	0,3-2,8	1,1	0,8-2,3	0,31
Umbral de Detección de Frío	Derecho (JND)	13,2	4,3-25,0	7,8	4,5-16,7	0,083
	Izquierdo (JND)	12,6	4,5-25,0	7,6	5,7-15,0	0,001
	Promedio (JND)	12,3	4,5-25,0	7,7	5,7-14,7	0,012
Umbral de inicio de dolor con el calor (Heat Pain 0,5)	Derecho (JND)	19,6	17,1-21,5	19,2	17,3-21,7	0,374
	Izquierdo (JND)	19,7	16,2-23,3	18,9	16,8-21,0	0,046
	Promedio (JND)	19,8	16,8-21,8	18,9	17,8-20,8	0,073
Umbral intermedio de dolor con el calor (Heat Pain 5)	Derecho (JND)	21,0	19,8-28,0	20,8	19,9-23,6	0,104
	Izquierdo (JND)	21,7	19,4-27,0	20,7	19,0-22,5	0,010
	Promedio (JND)	21,4	19,6-27,5	20,7	19,5-22,2	0,017
Intervalo entre los umbrales de inicio y el nivel intermedio de dolor con el calor (Heat Pain 5 - 0,5)	Derecho (JND)	1,9	0,6-7,8	1,2	0,9-2,8	0,058
	Izquierdo (JND)	2,1	0,6-6,9	1,8	0,9-3,3	0,072
	Promedio (JND)	2,1	0,6-7,4	1,5	1,1-2,6	0,026
Umbral de Detección de Vibración	Derecho (JND)	17,7	10,8-24,5	15,0	11,3-19,7	0,016
	Izquierdo (JND)	17,6	10,8-23,4	15,5	8,9-20,6	0,040
	Promedio (JND)	17,8	11,4-23,6	15,6	10,8-20,2	0,024

Los umbrales de las variables del test de cuantificación sensitiva, se resumen en la tabla 5, incluyendo todos los grupos de individuos con la mutación Val30Met, asintomáticos (G1), sintomáticos sin alteraciones al examen neurológico (G2) y los sintomáticos con alteraciones al examen neurológico (G3). Las diferencias entre los grupos se describen en la tabla 5 y se grafican en la figura 2.

Tabla 5. Test de Cuantificación Sensitiva, en los grupos de pacientes con mutación Val30Met.

Variables		G1	G2	G3	p	p	p
		Media	Media	Media	G1 vs G2	G1 vs G3	G2 vs G3
Umbral de Detección de Frío	Derecho	7,288	14,714	15,555	*0,014	**0,004	0,569
	Izquierdo	8,413	13,579	15,091	*0,019	*0,013	0,736
	Promedio	7,850	14,146	15,323	*0,042	**0,004	0,697
Umbral de inicio de dolor con el calor (Heat Pain 0,5)	Derecho	18,813	19,393	20,045	0,632	0,105	*0,015
	Izquierdo	19,138	19,886	19,682	0,428	0,931	0,328
	Promedio	18,975	19,639	19,864	0,545	0,067	*0,025
Umbral intermedio de dolor con el calor (Heat Pain 5)	Derecho	20,963	21,836	22,527	**0,007	*0,045	0,308
	Izquierdo	21,500	21,900	22,691	0,401	*0,016	*0,036
	Promedio	21,231	21,868	22,609	0,051	*0,038	0,156
Intervalo entre el umbral de inicio y el nivel intermedio de dolor con el calor (HP 5 - 0,5)	Derecho	2,150	2,457	2,491	0,147	*0,038	0,055
	Izquierdo	2,488	2,014	3,018	0,975	**0,010	*0,001
	Promedio	2,319	2,236	2,775	0,153	**0,009	*0,005
Umbral de Detección de Vibración	Derecho	14,212	18,407	19,220	0,454	0,174	0,515
	Izquierdo	14,400	17,636	19,110	0,774	0,782	0,579
	Promedio	14,306	18,021	19,165	0,927	0,426	0,477

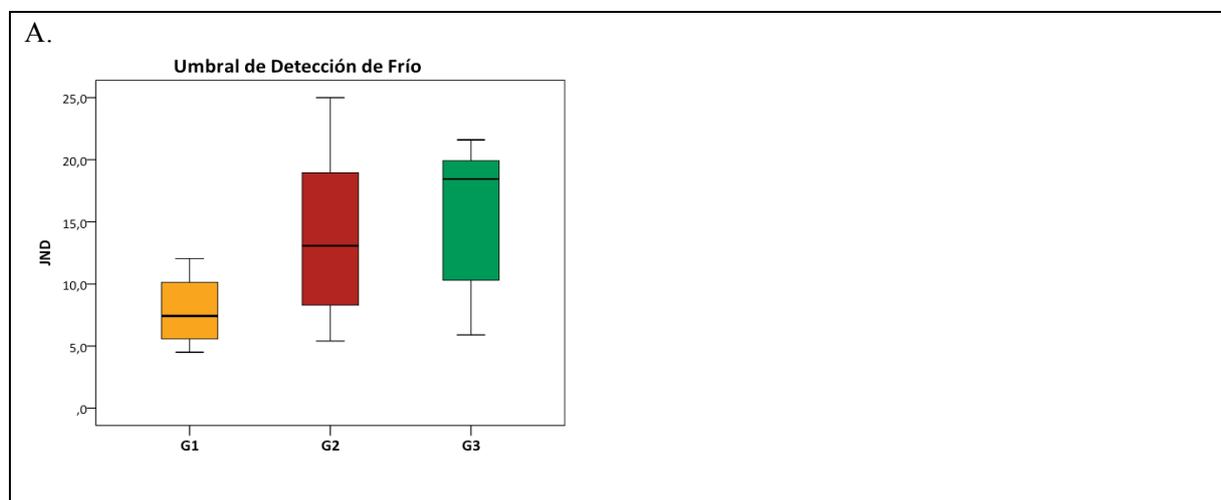
* p < 0,05 ** p < 0,01

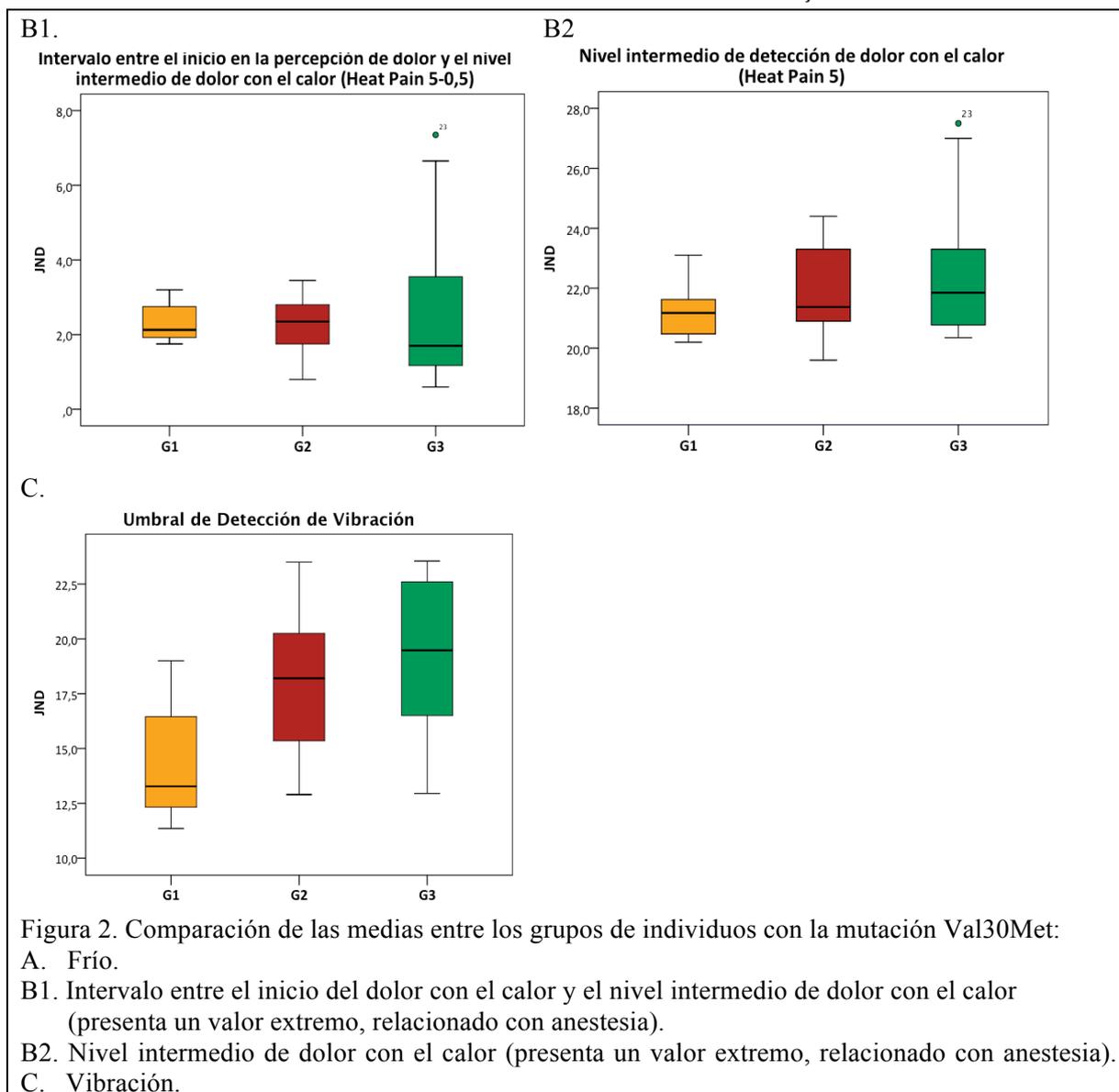
G1: Asintomáticos (Norfolk = 0)

G2: Sintomáticos, examen neurológico normal (Norfolk >0, Utah – Michigan B = 0)

G3: Sintomáticos, examen neurológico anormal (Norfolk >0, Utah – Michigan B > 0)

Figura 2. Test de Cuantificación Sensitiva en individuos con la mutación Val30Met, diferencias entre las medias de los grupos de asintomáticos (G1), sintomáticos con examen neurológico normal (G2) y sintomáticos con examen neurológico anormal (G3).





El análisis entre los diferentes grupos de individuos con la mutación y los individuos sanos, evidenció que el grupo de asintomáticos (G1) no presentó cambios estadísticamente significativos en relación con los sanos.

Entre los grupos de casos sintomáticos sin alteraciones en el examen neurológico (G2) y los controles, se registró una diferencia estadísticamente significativa en el umbral para frío ($p=0,002$) y en el umbral promedio para el nivel intermedio de sensibilidad dolorosa al calor (HP5) ($p=0,0001$). En el promedio del intervalo desde el inicio de la percepción dolorosa hasta el nivel intermedio al dolor con el estímulo de calor (HP 5-0,5), no se registraron diferencias significativas ($p=0,14$).

Entre los grupos de casos sintomáticos con alteraciones en el examen neurológico (G3) y los controles, se registró una diferencia estadísticamente significativa en el umbral para frío ($p=0,0001$), en el umbral promedio para el nivel intermedio de sensibilidad dolorosa al calor (HP5) ($p=0,0001$) y en el promedio del incremento desde el inicio de la percepción dolorosa hasta el nivel intermedio al dolor con el estímulo de calor (HP 5-0,5) ($p=0,001$).

12. Discusión

Los pacientes con la mutación Val30Met, presentaron síntomas sensitivos y/o autonómicos como las primeras manifestaciones de la enfermedad polineuropática relacionada con el depósito de amiloide. No se evidenció una correlación directa entre la presencia de síntomas con la aparición de amiloide en las glándulas salivares, es posible que la tendencia a generar depósito varíe de persona a persona y en algunos casos se acumule primero en tejidos diferentes al nervio periférico.

Las personas que tienen la mutación genética pueden presentar con más frecuencia, anormalidades en los umbrales de detección de frío, de dolor con el calor y con la vibración, especialmente cuando ya se encuentran sintomáticos. A pesar que los fenómenos polineuropáticos generan alteraciones simétricas en los nervios de ambas extremidades, se ha evidenciado que algunas de las anormalidades en la detección de dolor con el calor y en vibración, son asimétricas en fases iniciales de la enfermedad, entre tanto las anormalidades en los umbrales de detección de frío pueden ser bilaterales ó unilaterales.

Dentro de las técnicas que han mostrado algunas anormalidades en relación con personas sanas, un estudio previo de nuestro grupo (18), demostró cambios en la amplitud de la respuesta cutánea simpática refleja en personas con polineuropatía amiloidótica familiar, sin embargo en el actual estudio ese hallazgo no fue reproducible, lo cuál podría ser explicado por el pequeño tamaño de la muestra.

En polineuropatía amiloidótica familiar, no hay estudios que hayan reportado en forma objetiva los umbrales sensitivos con el test de cuantificación sensitiva (QST), los estudios realizados por el grupo que desarrollo la técnica (Dyck y colaboradores), utilizan los umbrales que se encuentran en porcentajes extremos (>97,5%) para determinar que un umbral es anormal, al comparar los resultados con los obtenidos en una población control en Estados Unidos (28-29), sin embargo este método no fue acogido en nuestro estudio, debido a que la observación de los reportes tanto en individuos sanos como con la mutación, demostró que las poblaciones no eran equiparables y la medición de porcentajes no tenía validez.

La medición de los umbrales de frío demostró diferencias entre los asintomáticos (G1) y los grupos de pacientes sintomáticos (G2 y G3), lo cuál puede servir como un parámetro de disfunción temprana en las fibras nerviosas pequeñas relacionadas con temperatura.

Los umbrales de dolor con el calor presentaron discretas diferencias asimétricas (pie derecho) entre el grupo de asintomáticos (G1) y el grupo de sintomáticos con examen neurológico normal (G2), especialmente en el nivel intermedio de percepción de dolor. Estas diferencias fueron más dramáticas en el grupo de sintomáticos con examen neurológico anormal (G3), con alteraciones tanto en el nivel intermedio de dolor como con el intervalo entre el inicio en la percepción de dolor y el nivel intermedio de dolor.

El umbral para el inicio de dolor con el calor (HP 0,5) mostró diferencias significativas entre los grupos G2 y G3, indicando que puede ser un parámetro que cuando se encuentra anormal, se puede relacionar con cambios objetivos al examen neurológico.

En el nivel intermedio de detección de dolor con el estímulo de calor (HP 5) se presentaron medias más altas en el grupo con anormalidades al examen neurológico (G3).

En el intervalo entre el inicio en la percepción de dolor y el nivel intermedio de dolor con el calor, se observaron dos tipos de características: en la primera, las medias entre los grupos de asintomáticos (G1) y sintomáticos sin alteraciones al examen neurológico (G2), son similares, sin embargo en el grupo de sintomáticos se observó la tendencia a que las medias fueran más bajas, indicando que al tener intervalos más cortos se presenta cierto grado de hiperestesia. El segundo, en el grupo sintomático con alteraciones al examen neurológico (G3), se presentan intervalos con medias más bajas que los sanos (tendencia a la hiperestesia y alodinia), pero también se evidencian intervalos más prolongados, lo cuál se relaciona con hipoestesia e incluso anestesia al calor.

Los umbrales de las variables del test de cuantificación sensitiva son más altos en personas que presentan la mutación y cursan con síntomas, aún sin presentar cambios objetivos al examen neurológico.

La polineuropatía amiloidótica familiar presenta una clara predisposición a que la función de las fibras nerviosas mielinizadas pequeñas y las amielínicas se vean afectadas en las fases iniciales de la enfermedad, la detección de los umbrales vibratorios, que estarían en relación con funciones de fibras mielinizadas grandes, también muestran diferencias en comparación con personas sanas control, documentándose medias más altas en los grupos de personas sintomáticas (con y sin alteraciones al examen neurológico) pero sin diferencias estadísticamente significativas. Esto no implica pérdida de la función, pero sí que las fibras mielinizadas pequeñas podrían estar vinculadas en algún grado con este tipo de sensibilidad, tal vez en la inervación distal (unión osteoarticular) donde se encuentran los mecanorreceptores que perciben la vibración.

Dentro de las limitaciones más importantes en la aplicación de esta técnica, se incluye la necesidad de colaboración por parte del paciente, demandando un tiempo importante en su ejecución y no siempre se logra obtener resultados fiables en una primera sesión. Esta limitación de tiempo, genera retardos en el proceso de inclusión tanto de personas con la mutación y especialmente en individuos sanos, quienes deben voluntariamente destinar entre 60 a 90 minutos de sus ocupaciones, en la ejecución del test.

Uno de los más importantes beneficios de este estudio, es que este tipo de técnicas son aplicables a todas las causas que producen daño de las fibras nerviosas pequeñas, lo cuál ha sido reportado en estudios en síndrome metabólico (9), diabetes (30), vasculitis, entre otras, por lo tanto podría ser aplicable para este tipo de enfermedades más prevalentes en nuestra población colombiana.

13. Conclusiones

La medición de umbrales en el test de cuantificación sensitiva (QST) demostró que los umbrales para el frío, para el nivel intermedio de sensibilidad dolorosa al calor (HP 5) y el intervalo desde el inicio en percepción hasta el nivel intermedio al dolor con el estímulo de calor (HP 5-0,5), fueron los que mostraron mayores cambios.

El umbral de detección de frío es útil para objetivar alteraciones en las personas que presentan la mutación y comienzan a tener síntomas, aún sin presentar cambios objetivos en el examen neurológico. Los umbrales de percepción de dolor con el calor, proveen la mayor cantidad de información para diferenciar asintomáticos de los grupos de individuos sintomáticos, el primer parámetro que muestra diferencias es el nivel intermedio de percepción de dolor, lo cual indica mayor tolerancia a estímulos más altos, hallazgo que aparece por primera vez en el grupo de sintomáticos con examen neurológico normal (G2). En las personas con alteraciones al examen neurológico (G3), los tres parámetros, inicio de percepción de dolor, el nivel intermedio de percepción de dolor y el intervalo entre el inicio y el nivel intermedio de dolor, tuvieron diferencias que implicaban hiperestesia ó hipoestesia. El intervalo entre el inicio en la percepción de dolor y el nivel de intermedio de dolor con el calor, permiten realizar esta diferenciación, ya que presenta los intervalos más cortos indican hiperestesia con el calor, mientras que los intervalos más amplios, demuestran hipoestesia ó anestesia al calor.

Los umbrales para detección de frío, nivel intermedio de dolor con el calor, el intervalo entre el inicio de dolor y el nivel intermedio de dolor con el calor, así como el umbral de detección de vibración, son diferentes en los pacientes presentan la mutación Val30Met, cursando con mayores anormalidades cuando se encuentran sintomáticos, aún sin tener cambios objetivos en el examen neurológico.

Los umbrales de detección de vibración son más elevados en todos los individuos con la mutación Val30Met, indicando una buena sensibilidad para detectarlos, sin embargo no permite identificar diferencias entre ninguno de los grupos (G1, G2, G3).

El grupo de pacientes sintomáticos con anormalidades al examen (G3), presentan los umbrales más elevados en todas las variables medidas.

Se puede concluir que el Test de Cuantificación Sensitiva (QST) demostró ser un método útil para detectar anormalidades tempranas en pacientes que tienen la mutación TTR Val30Met, especialmente en pacientes sintomáticos que tengan o no alteraciones objetivas al examen neurológico. A pesar de los resultados favorables, se necesitan estudios complementarios que comparen el QST con la técnica "gold estándar" en el diagnóstico de la neuropatía de fibra pequeña: la biopsia de piel, con cuantificación de la densidad de fibras intraepidérmicas.

14. Recomendaciones

El test de cuantificación sensitiva (QST) es un método útil de seguimiento en los pacientes con la mutación Val30Met, ya que la inestabilidad de la proteína transtiretina que induce depósito de amiloide en los nervios periféricos, altera en sus fases más tempranas la función de fibras nerviosas pequeñas, cuya función involucra la percepción termoalgésica, la cuál es cuantificada por el método propuesto.

Esta enfermedad aunque no ha sido diagnosticada en nuestro medio, sus manifestaciones podrían ser semejantes a otro tipo de enfermedades sistémicas más prevalentes en nuestra población, como la polineuropatía diabética ó las que se encuentran relacionadas con enfermedades autoinmunes tales como el síndrome de Sjogren.

Igualmente existe una importante cantidad de personas que presentan neuropatías cuya etiología no ha podido ser dilucidada y que pueden tener como origen la polineuropatía amiloidótica familiar, por lo cuál se implementará un estudio para realizar el test genético diagnóstico. Los estudios neurofisiológicos especiales tales como el test de cuantificación sensitiva, tendrían un valor agregado para intentar identificar los posibles candidatos a estudio.

15. Referencias Bibliográficas

1. Lauria G. Small fiber neuropathies. *Curr Opin Neurol*, 2005; 18: 591-597.
2. Planté-Bordeneuve V, Said G. Familial amyloid polyneuropathy. *Lancet Neurol*. 2011;10(12):1086-97
3. Andrade C. A peculiar form of peripheral neuropathy; familiar atypical generalized amyloidosis with special involvement of the peripheral nerves. *Brain*. 1952; 75 (3): 408-27.
4. Conceição I. Clinical features of TTR-FAP in Portugal. *Amyloid*, 2012; 19(S1): 71-72.
5. Kim DH, Zeldenrust SR, Low PA, Dyck PJ. Quantitative sensation and autonomic test abnormalities in transthyretin amyloidosis polyneuropathy. *Muscle Nerve*. 2009; 40 (3): 363-70.
6. Lacomis D. Small-fiber neuropathy. *Muscle Nerve*, 2002; 26: 173-188.
7. Raman R, Gupta A, Krishna S, Kulothungan V, Sharma T. Prevalence and risk factors for diabetic microvascular complications in newly diagnosed type II diabetes mellitus. Sankara Nethralaya Diabetic Retinopathy Epidemiology and Molecular Genetic Study (SN-DREAMS, report 27). *J Diabetes Complications*. 2012; 26(2):123-8.
8. Cruccu G, Sommer C, Anand P, Attal N, Baron R, Garcia-Larrea L, Haanpaa M, Jensen TS, Serra J, Treede RD. EFNS guidelines on neuropathic pain assessment: revised 2009. *Eur J Neurol*. 2010;17 (8):1010-8.
9. Tavee J, Zhou L. Small fiber neuropathy: A burning problem. *Cleve Clin J Med*. 2009; 76(5):297-305. Review
10. Schmelz M, Schmidt R. Microneurographic single-unit recordings to assess receptive properties of afferent human C-fibers. *Neurosci Lett*. 2010;470(3):158-61
11. Hlubocky A, Wellik K, Ross MA, Smith BE, Hoffman-Snyder C, Demaerschalk BM, Wingerchuk DM. Skin biopsy for diagnosis of small fiber neuropathy: a critically appraised topic. *Neurologist*. 2010;16(1):61-3
12. Devigili G, Tugnoli V, Penza P, Camozzi F, Lombardi R, Melli G, Broglio L, Granieri E, Lauria G. The diagnostic criteria for small fiber neuropathy: from symptoms to neuropathology. *Brain*. 2008;131(Pt 7):1912-25
13. Sousa A, Sousa A, Coelho T, Barros J, Sequeiros J. Anticipation in familial amyloid neuropathy type I (FAP-I): the possible role of a genetic modifier. *J Neurol* 1995;S1:48
14. Planté-Bordeneuve V, Said G. Transthyretin related familial amyloid polyneuropathy. *Curr Opin Neurol*, 2000; 13: 569-573
15. Benson MD, Kincaid JC. The molecular biology and clinical features of amyloid neuropathy. *Muscle Nerve*. 2007;36(4):411-23. Review
16. England JD, Gronseth GS, Franklin G, Carter GT, Kinsella LJ, Cohen JA, Asbury AK, Sziget K, Lupski JR, Latov N, Lewis RA, Low PA, Fisher MA, Herrmann D, Howard JF, Lauria G, Miller RG, Polydefkis M, Sumner AJ; American Academy of Neurology; American Association of Neuromuscular and Electrodiagnostic Medicine; American Academy of Physical Medicine and Rehabilitation. Evaluation of distal symmetric polyneuropathy: the role of autonomic testing, nerve biopsy, and skin biopsy (an evidence-based review). *Muscle Nerve*. 2009;39(1):106-15.
17. Low VA, Sandroni P, Fealey RD, Low PA. Detection of small-fiber neuropathy by sudomotor testing. *Muscle Nerve*. 2006; 34: 57-61.

18. Conceição IM, Castro JF, Scotto M, De Carvalho M. Neurophysiological markers in familial amyloid polyneuropathy patients: Early changes. *ClinNeuropysiol*. 2008; 119: 1082-1087
19. Siao P, Chong T, Cros DP. Quantitative sensory testing equipment and reproducibility studies. *American association of electrodiagnostic medicine. Review*.
20. Shy ME, Frohman EM, So YT, Arezzo JC, Cornblath DR, Giuliani MJ, Kincaid JC, Ochoa JL, Parry GJ, Weimer LH; Therapeutics and Technology Assessment Subcommittee of the American Academy of Neurology. Quantitative sensory testing: report of the Therapeutics and Technology Assessment Subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology*. 2003; 60(6):898-904
21. Holland NR. Idiopathic painful sensory neuropathy. *J Clin Neuromuscul Dis*. 2001; 2(4):211-20
22. Vinik EJ, Hayes RP, Oglesby A, Bastyr E, Barlow P, Ford-Molvik SL, Vinik AI. The development and validation of the Norfolk QOL-DN, a new measure of patients' perception of the effects of diabetes and diabetic neuropathy. *Diabetes Technol Ther*. 2005; 7(3):497-508.
23. Herman WH, Pop-Busui R, Braffett BH, Martin CL, Cleary PA, Albers JW, Feldman EL; DCCT/EDIC Research Group. Use of the Michigan Neuropathy Screening Instrument as a measure of distal symmetrical peripheral neuropathy in Type 1 diabetes: results from the Diabetes Control and Complications Trial/Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications. *DiabetMed*. 2012; 29(7):937-44.
24. Singleton JR, Bixby B, Russell JW, Feldman EL, Peltier A, Goldstein J, Howard J, Smith AG. The Utah Early Neuropathy Scale: a sensitive clinical scale for early sensory predominant neuropathy. *J PeripherNervSyst*. 2008; 13(3):218-27.
25. Rolke R, Baron R, Maier C, Tölle TR, Treede RD, Beyer A, Binder A, Birbaumer N, Birklein F, Bötefür IC, Braune S, Flor H, Hüge V, Klug R, Landwehrmeyer GB, Magerl W, Maihöfner C, Rolko C, Schaub C, Scherens A, Sprenger T, Valet M, Wasserka B. Quantitative sensory testing in the German Research Network on Neuropathic Pain (DFNS): standardized protocol and reference values. *Pain*. 2006; 123(3):231-43
26. Magerl W, Krumova EK, Baron R, Tölle T, Treede RD, Maier C. Reference data for quantitative sensory testing (QST): refined stratification for age and a novel method for statistical comparison of group data. *Pain*. 2010; 151(3):598-605.
27. Rolke R, Magerl W, Campbell KA, Schalber C, Caspari S, Birklein F, Treede RD. Quantitative sensory testing: a comprehensive protocol for clinical trials. *Eur J Pain*. 2006; 10(1):77-88.
28. Dick PJ, Dyck PJB, Velosa JA, Larson TS, O'Brien PC, Th enerve growth factor study group. Patterns of quantitative sensation testing of hypoesthesia and hiperalgesia are predictive of diabetic polyneuropathy. *Diabetes Care*. 2000; 23: 510-517.
29. Dick PJ, Litchy WJ, Lehmann KA, Hokanson JL, Low PA, O'Brien PC. Variables influencing neuropathic endpoints: The Rochester Diabetic Neuropathy Study of Healthy Subjects. *Neurology*. 1995; 45: 1115-1121.
30. Peltier A, Smith AG, Russell JW, Sheikh K, Bixby B, Howard J, Goldstein J, Song Y, Wang L, Feldman EL, Singleton JR. Reliability of quantitative sudomotor axon reflex testing and quantitative sensory testing in neuropathy of impaired glucose regulation. *MuscleNerve*. 2009; 39(4):529-35.

16. Anexos

1. Ficha de recolección de datos

Nombre	Casos - Controles	Fecha QST	Inicio Sint	Fecha Nac.	Edad en la fecha del QST	Tiempo de inicio de síntomas (meses)	Genero	Altura	Peso

BMI	Fecha T Genetico	Tiempo desde dx genetico hasta el inicio de los síntomas (meses)	Herencia	Sintomas	Fecha Scores	Norfolk Total	Michigan A	Michigan B	Utah	GRUPOS

Biopsia GS	SSR R Foot Lat	SSR R Foot Amp	Cold R Foot Thresh	Cold L Foot Thresh	Cold Promedio Threshold	Cold	Heat Pain 5 R Foot Thresh	Heat Pain 5 L Foot Thresh	Heat Pain 5 Promedio Threshold	Heat Pain 0,5 R Foot Thresh
	Lat	Amp	Thresh Comp	Thresh Comp			Thresh Comp	Thresh Comp		Thresh Comp

Heat Pain 0,5 L Foot Thresh	Heat Pain 0,5 Promedio Threshold	Heat Pain 5-0,5 R Foot Thresh	Heat Pain 5-0,5 L Foot Thresh	Heat Pain 5-0,5 Promedio Threshold	Heat Pain N-A	Vibration R Foot Thresh	Vibration L Foot Thresh	Vibration Promedio Threshold	Vibration N-A
Thresh Comp		Thresh Comp	Thresh Comp			Thresh Comp	Thresh Comp		