



Universidad  
Zaragoza

[TRABAJO FIN DE GRADO]

# ESTUDIO DEL SISTEMA NERVIOSO PERIFÉRICO EN PACIENTES CON DEFICIENCIA DE PACS1

*STUDY OF THE PERIPHERAL  
NERVOUS SYSTEM IN PATIENTS  
WITH PACS1 DEFICIENCY*

AUTOR:

**ÁLVARO LASARTE ANADÓN**

DIRECTORES:

**Dr. Juan Pie Juste y Dra. María Jesús Pablo Zaro**

Facultad de Medicina

Universidad de Zaragoza

Curso académico 2021/2022

## ÍNDICE

RESUMEN .....	2
ABSTRACT .....	2
1. INTRODUCCIÓN.....	3
1.1 GEN y PROTEÍNA PACS1.....	3
1.2 BASES GENÉTICAS Y HERENCIA DEL SÍNDROME .....	5
1.4 CLÍNICA y TRATAMIENTO DE LA DEFICIENCIA DE PACS1.....	7
1.5 SÍNDROMES SIMILARES y DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL.....	9
2. OBJETIVOS .....	10
3. MATERIAL y METODOS.....	11
3.1 POBLACIÓN .....	11
3.2 DIAGNÓSTICO GENÉTICO.....	11
3.2.1. EXTRACCIÓN DE DNA DE SANGRE .....	11
3.2.2 ELABORACIÓN DE LA PCR y SECUENCIACIÓN.....	13
3.3 ESTUDIO NEUROFISIOLÓGICO.....	16
3.3.1 ESTUDIO DE FIBRA GRUESA .....	16
3.3.2 ESTUDIO DE FIBRA FINA.....	17
3.4 ESTADÍSTICA APLICADA.....	19
4. RESULTADOS.....	19
4.1 RESULTADO GENÉTICO .....	19
4.2 EVALUACIÓN NEUROFISIOLÓGICA .....	21
4.2.1 FIBRA GRUESA .....	21
4.2.2 TEST FIBRA FINA .....	23
5. DISCUSIÓN .....	25
6. CONCLUSIONES.....	27
7. AGRADECIMIENTOS .....	28
8. BIBLIOGRAFÍA .....	28

## RESUMEN

El Síndrome de Schuurs-Hoeijmakers o deficiencia de *PACS1* es un trastorno genético del desarrollo de afectación multisistémica, caracterizado por un amplio espectro de hallazgos físicos, cognitivos y de comportamiento. Se calcula que en el año 2022 hay solamente 62 casos notificados, en diversos países occidentales. Este síndrome se produce por la mutación puntual por sustitución del gen *PACS1* (c.607C>T), la cual es de novo en todos los casos. El objetivo general del trabajo ha sido valorar el estado funcional del sistema nervioso periférico y autónomo en un paciente con *PACS1*. Previamente, se identificó un paciente con dicha mutación, respecto a un individuo control sano. Los estudios mediante electroneurografía motora y sensitiva no han detectado alteraciones del sistema nervioso somático a nivel distal, ni proximal, por lo que no se evidencia disfunción de la fibra gruesa mielínica motora y/o sensitiva. Sin embargo, el estudio del sistema nervioso autónomo mediante la prueba cuantitativa del reflejo axonal de las glándulas sudoríparas o test sudomotor, muestra una alteración a nivel de las glándulas sudoríparas, que abre la posibilidad de disfunción de la fibra fina amielínica autonómica, sobre todo a partir de la primera década de la vida. De todos modos, estas alteraciones podrían ser explicadas por diversas causas tales como la presencia de lesiones posganglionares, la oclusión del conducto de la glándula sudorípara e incluso el daño o ausencia de la propia glándula. Además un gran inconveniente de este tipo de estudios neurofisiológicos es la incapacidad de determinar el nivel preciso de la lesión, por lo que, deberán realizarse nuevos estudios.

**Palabras Clave:** *PACS1*; Síndrome de Schuurs-Hoeijmakers; discapacidad intelectual; variante patogénica c.607C>T (p. Arg203Trp) en el clúster ácido de fosfofurina para clasificación de proteína 1; enfermedad rara.

## ABSTRACT

The Schuurs-Hoeijmakers' syndrome or *PACS1* deficiency syndrome is a genetic disorder of the human development which affects a wide variety of systems, it is characterized by a large spectrum of physical, cognitive and physical findings. It is estimated that nowadays in the year 2022, there are only 62 cases of the mutation notified in western countries. This syndrome is produced by a punctual mutation by substitution in the gen *PACS1* (c.607C>T), which is of novo in all the cases reported. The main objective on this study has been to measure the functional estate of the peripheral and autonomic nervous system in a patient with *PACS1*. The tests with motor and sensory electroneurography have not showed any abnormalities in the somatic nervous system at the distal or proximal level. Therefore there is no evidence of motor and/or sensory myelin thick fibres dysfunctions. However, in the study of autonomic nervous system by quantitative axonal reflex of the sweat glands or motor-sweat test, it has been showed that there may be an alteration of the autonomic unmyelinated fine fibre, especially over the first decade of life. In any case, these alterations might be explained by many causes like the presence of postganglionic lesions, occlusion of the sweat gland duct, and even damage or absence of the gland itself. The level of damage cannot be determined, because this test evaluate the whole pathway. Therefore, new studies ought to be realised for analysed these problems.

**Key words:** *PACS1*; Schuurs-Hoeijmakers syndrome; intellectual disability; pathogenic variant c.607C>T (p. Arg203Trp) in the phosphofurin acid cluster for protein classification 1; rare illness.

# 1. INTRODUCCIÓN

La deficiencia del gen *PACS1* es la causa del llamado síndrome de Schuurs-Hoeijmakers. Se trata de una enfermedad genética que se caracteriza por retraso mental, malformaciones craneofaciales, trastornos neurológicos y otras malformaciones congénitas (OMIM Entry - \* 607492). El origen más frecuente es la mutación recurrente c. 607C>T que afecta a la Proteína 1 de Clasificación de Grupos Ácidos de Fosfofurina o *PACS1*. Es una enfermedad muy rara con solo 62 casos conocidos a nivel mundial<sup>123</sup> (Schuurs–Hoeijmakers 2016; Miyake N 2018; Liu 2021), de los que los dos primeros fueron descritos en los Países Bajos en el año 2011.

## 1.1 GEN y PROTEÍNA PACS1

El gen *PACS1* se localiza en el cromosoma 11q13.1-q13.2 y tiene una estructura genómica formada por 24 exones. Se han descrito hasta 12 variantes de slicing fisiológicas diferentes, aunque todavía se ignora su posible significado funcional.

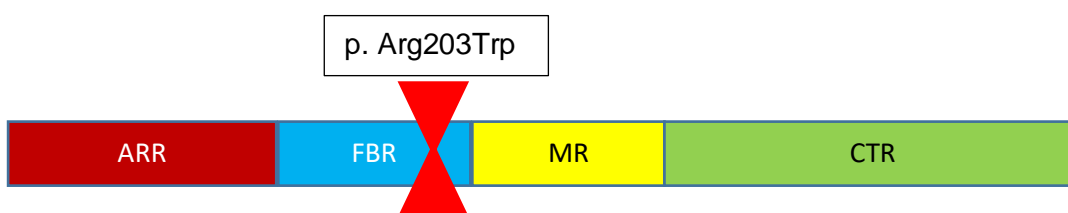


FIGURA 1. Esquema de la estructura del gen *PACS1*.

La proteína *PACS1* consta de una secuencia de 963 aminoácidos con varias regiones entre las que destacan un dominio ARR (región relacionada con la Atrofina-1), otro FBR (unión de Furina), otro MR (medio) y el CTR (Carbono terminal). Recientemente, se ha demostrado que esta proteína tiene una ubicación dual en el citosol y en el núcleo celular, lo que sugiere una participación funcional diferente. Como rol principal se describe su implicación en el tráfico de proteínas del Trans-Golgi. Además, su carencia se relaciona con alteraciones en la formación del sistema nervioso central del feto (OMIM Entry - \* 607492).

<sup>1</sup> Schuurs-Hoeijmakers, J. H. M., Oh, E. C., Vissers, L. E. L. M., Swinkels, M. E. M., Gilissen, C., Willemsen, M. A., Holvoet, M., Stehouwer, M., Veltman, J. A., de Vries, B. B. A., van Bokhoven, H., de Brouwer, A. P. M., Katsanis, N., Devriendt, K., Brunner, H. G. Recurrent de novo mutations in *PACS1* cause defective cranial neural-crest migration and define a recognizable intellectual-disability syndrome. *Am. J. Hum. Genet.* 91: 1122-1127, 2012.

<sup>2</sup> Miyake N, Ozasa S, Mabe H, Kimura S, Shiina M, Imagawa E, Miyatake S, Nakashima M, Mizuguchi T, Takata A, Ogata K, Matsumoto N. A novel missense mutation affecting the same amino acid as the recurrent *PACS1* mutation in Schuurs-Hoeijmakers syndrome. *Clin Genet.* 2018 Apr;93(4):929-930. doi: 10.1111/cge.13105. Epub 2017 Oct 4. PMID: 28975623.

<sup>3</sup> Liu Y, Ding H, Yan T, Liu L, Yu L, Huang Y, Li F, Zeng Y, Huang W, Zhang Y, Yin A. A Novel Multi-Exon Deletion of *PACS1* in a Three-Generation Pedigree: Supplements to *PACS1* Neurodevelopmental Disorder Spectrum. *Front Genet.* 2021 Jul 23;12:690216. doi: 10.3389/fgene.2021.690216. PMID: 34373684; PMCID: PMC8346485.



FIGURA 2. Estructura 3D de la proteína PACS1 (Alphafold.ebi.ac.uk)

Aunque se han propuesto diferentes funciones para PACS1, en la actualidad se piensa que las más importantes son:

- **Clasificación de las proteínas:** la proteína PACS1 participa en la recuperación de proteínas de carga hacia la superficie celular<sup>4</sup>. Su ubicación dual, también en el núcleo, sugiere su implicación en la importación y exportación de proteínas desde y hacia el núcleo<sup>5</sup>.
- **Ciclo Celular:** se ha demostrado que PACS1 está implicado en la progresión del ciclo celular, en especial en su fase S, por lo que podría estar también implicado en la regulación de la correcta replicación del DNA<sup>6</sup>.
- **Apoptosis:** se ha propuesto que la proteína PACS1 pueda intervenir en la correcta progresión de las distintas fases de la apoptosis, gracias a la activación de la señal BAX/BAK de la ruta<sup>7</sup>.

<sup>4</sup> Wan L, Molloy S, Thomas L, Liu G, Xiang Y, Rybak S et al. PACS-1 Defines a Novel Gene Family of Cytosolic Sorting Proteins Required for trans-Golgi Network Localization. *Cell*. 1998;94(2):205-216.

<sup>5</sup>Trothen SM, Zang RX, Lurie A, Dikeakos JD. PACS-1 contains distinct motifs for nuclear-cytoplasmic transport and interacts with the RNA-binding protein PTBP1 in the nucleus and cytosol. *FEBS Lett*. 2022 Jan;596(2):232-248. doi: 10.1002/1873-3468.14243. Epub 2021 Dec 12. PMID: 34822171.

<sup>6</sup> Veena MS, Raychaudhuri S, Basak SK, Venkatesan N, Kumar P, Biswas R, Chakrabarti R, Lu J, Su T, Gallagher-Jones M, Morselli M, Fu H, Pellegrini M, Goldstein T, Aladjem MI, Rettig MB, Wilczynski SP, Shin DS, Srivatsan ES. Dysregulation of hsa-miR-34a and hsa-miR-449a leads to overexpression of PACS-1 and loss of DNA damage response (DDR) in cervical cancer. *J Biol Chem*. 2020 Dec 11;295(50):17169-17186. doi: 10.1074/jbc.RA120.014048. Epub 2020 Oct 7. PMID: 33028635; PMCID: PMC7863911.

<sup>7</sup> Brasacchio D, Alsop AE, Noori T, Lufti M, Iyer S, Simpson KJ, Bird PI, Kluck RM, Johnstone RW, Trapani JA. Epigenetic control of mitochondrial cell death through PACS1-mediated regulation of BAX/BAK oligomerization. *Cell Death Differ*. 2017 Jun;24(6):961-970. doi: 10.1038/cdd.2016.119. Epub 2017 Jan 6. PMID: 28060382; PMCID: PMC5442465.

## 1.2 BASES GENÉTICAS Y HERENCIA DEL SÍNDROME

La gran mayoría de los pacientes tienen la misma mutación c.607C>T de novo (NM\_018026.3: c.607C>T; p. Arg203Trp, dbSNP: rs398123009, ClinVarRCV000032781) que da como resultado la sustitución del aminoácido Arginina 203 por Triptófano en la región de unión a Furina (FBR). Este aminoácido está ampliamente conservado encontrándose tanto en *PACS1* como en su parólogo *PACS2* que se separaron en la duplicación génica que dio lugar a la aparición de los vertebrados.

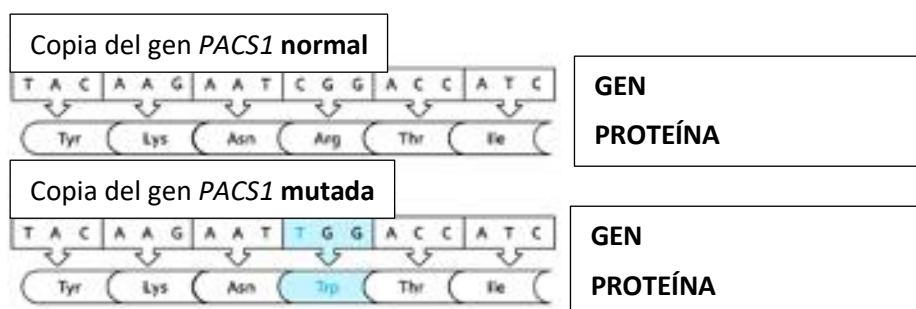


FIGURA 3. Cambio que causa la enfermedad c.607C>T, p. (Arg203Trp) en una de las dos copias de *PACS1* (HUMAN DISEASE GENES)

Se han descrito otras mutaciones como:

- La, c.608G>A, que fue informada en un paciente publicado por Miyake N. et al. en el 2018<sup>8</sup>, y que da como resultado el cambio del mismo aminoácido, propiciando un fenotipo y clínica similar.
- Recientemente, se ha informado de la delección del exón 12 al 24 en cuatro miembros de una familia de tres generaciones distintas (Liu 2021)<sup>2</sup>. Sin embargo, el fenotipo guarda ciertas diferencias con los descritos anteriormente.

Esta enfermedad posee un patrón de herencia autosómica dominante, aunque la gran mayoría de los casos responden a mutaciones de novo. Para una madre con un hijo afecto el riesgo de recurrencia en embarazos posteriores es <1%. Este valor es ligeramente superior al de una pareja estándar debido a la posibilidad teórica de un mosaicismo en la línea germinal.

<sup>8</sup> Miyake N, Ozasa S, Mabe H, Kimura S, Shiina M, Imagawa E, Miyatake S, Nakashima M, Mizuguchi T, Takata A, Ogata K, Matsumoto N. A novel missense mutation affecting the same amino acid as the recurrent *PACS1* mutation in Schuurs-Hoeijmakers syndrome. Clin Genet. 2018 Apr;93(4):929-930. doi: 10.1111/cge.13105. Epub 2017 Oct 4. PMID: 28975623.

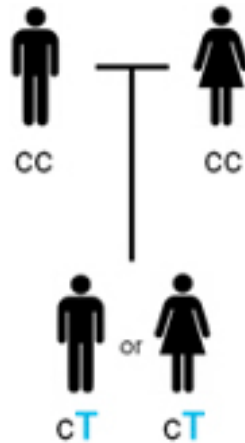


FIGURA 4. Pedigrí que muestra la presencia de la variante PACS1 patógena de novo en la descendencia de padres sanos (HUMAN DISEASE GENES)

Un paciente con una variante patológica en *PACS1* tiene un riesgo del 50% de transmitir esta mutación a sus descendientes. Hasta el momento, no se ha documentado este tipo de herencia en ninguno de los pacientes conocidos. El diagnóstico prenatal es posible, si lo solicitan los padres.

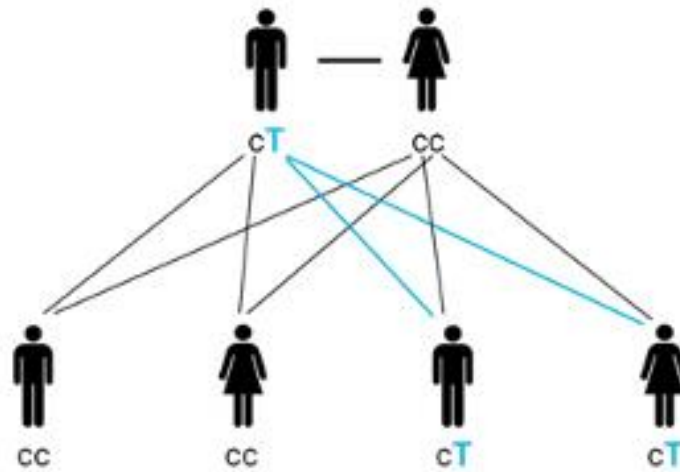


FIGURA 5. Árbol genealógico que muestra la probabilidad de que un individuo afectado transmita la variante patológica PACS1 en su descendencia (HUMAN DISEASE GENES)

## 1.4 CLÍNICA y TRATAMIENTO DE LA DEFICIENCIA DE PACS1

El síndrome de Schuurs-Hoeijmakers, es una afectación multisistémica que afecta a diversos aparatos y sistemas con una gravedad variable.

Aunque todos los pacientes con la mutación c.607C>T presentan una clínica característica considerada como la “*clínica cardinal*”, las principales manifestaciones incluyen: retraso en el desarrollo, discapacidad intelectual problemas en el lenguaje y presencia de malformaciones craneofaciales.

Según las aportaciones de Tenorio-Castaño J et al.<sup>9</sup>, las características fenotípicas más frecuentes, así como, los rasgos (según el sistema HPO) del Síndrome de Schuurs-Hoeijmakers (PACS1) son por orden de frecuencia los siguientes:

- Muy frecuente (≥75%)
  - Discapacidad intelectual (HP: 0001249): el nivel de discapacidad intelectual varía de leve a moderado en aquellos que se han sometido a pruebas formales de coeficiente intelectual
  - Rasgos faciales dismórficos (HP: 0001999): los pacientes poseen cejas pobladas y arqueadas, hipertelorismías con fisuras palpebrales inclinadas hacia abajo, pestañas largas, nariz bulbosa, filtrum plano y orejas grandes y de implantación baja, entre otros<sup>10</sup>
  - Retraso en el habla (HP: 0000750): el lenguaje tiene un retraso más severo que el desarrollo motor, la mayoría de los pacientes a estudio no empezaron a decir palabras hasta pasados los dos años de edad. De los individuos informados como no verbales por Schuurs-Hoeijmakers et al., uno pudo usar el lenguaje de señas, las tarjetas de intercambio de imágenes y una aplicación de comunicación del iPad, y uno no pudo usar el lenguaje de señas pero pudo usar un tablero de comunicación y demostró buenas habilidades de lenguaje receptivo.
- Frecuente (50-74%)
  - Convulsiones (HP: 0001250): los tipos de convulsiones más llamativas son las convulsiones parciales y tónicas. El inicio de las convulsiones se ha informado desde el segundo día de vida<sup>1</sup>. Las convulsiones se pueden controlar con medicación anti-convulsivamente estándar.

---

<sup>9</sup>Tenorio-Castaño J, Morte B, Nevado J, Martínez-Glez V, Santos-Simarro F, García-Miñaur S, Palomares-Bralo M, Pacio-Míguez M, Gómez B, Arias P, Alcochea A, Carrión J, Arias P, Almoguera B, López-Grondona F, Lorda-Sanchez I, Galán-Gómez E, Valenzuela I, Méndez Perez MP, Cuscó I, Barros F, Pié J, Ramos S, Ramos FJ, Kuechler A, Tizzano E, Ayuso C, Kaiser FJ, Pérez-Jurado LA, Carracedo Á, The ENOD-Ciberer Consortium, The Side Consortium, Lapunzina P. Schuurs-Hoeijmakers Syndrome (PACS1 Neurodevelopmental Disorder): Seven Novel Patients and a Review. *Genes* (Basel). 2021 May 13;12(5):738. doi: 10.3390/genes12050738. PMID: 34068396; PMCID: PMC8153584.

<sup>10</sup> Lusk L, Smith S, Martin C, Taylor C, Chung W. PACS1 Neurodevelopmental Disorder. 2020 Jul 16. In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJH, Gripp KW, Mirzaa GM, Amemiya A, editors. *GeneReviews*® [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993–2022. PMID: 32672908.



- Poco frecuente (26–49%)
  - Retraso de desarrollo global (HP: 0001263): no es inusual que pacientes con el síndrome muestren comportamientos dentro del espectro autista, como la aversión a los ruidos fuertes o repentinos (hiperacusia) o problemas de socialización con gente de su entorno.
  - Deterioro cognitivo (HP: 0100543): que estaba presente en todos los primeros 19 pacientes estudiados por Schuurs-Hoeijmakers J. et al.<sup>1</sup>
  - Hipotonía (HP: 0001290): ciertos pacientes pueden tener marcada hipotonía, que tiende a mejorar con el tiempo, la cual puede contribuir a problemas tempranos de alimentación y puede conducir a pie plano severo que requiere zapatos ortopédicos como apoyo cuando inicialmente aprenden a caminar.
  - Criptorquidia (HP: 0000028): que se tendría que plantear su intervención a partir de los 12 meses de edad para evitar una posible malignización.
  - Malformaciones cardíacas (HP: 0000141): siendo los defectos del tabique auricular y/o ventricular los más frecuentes.
  - Estreñimiento (HP: 0002019): que podría agravar una posible desnutrición por parte del paciente.
  - Anomalías cerebrales estructurales (HP: 0012443): donde la hipoplasia o agenesia parcial del vermis cerebeloso es el hallazgo en RNM más común de todos.

La actitud vital de los pacientes es generalmente feliz y amistosa, disfrutando de la interacción con otras personas y apreciando el trato personal afectuoso.

Se recomienda el seguimiento por un equipo multidisciplinar que dirigirá su esfuerzo a aliviar los principales síntomas que manifiestan los pacientes. El seguimiento a largo será coordinado por un pediatra con experiencia en discapacidad intelectual.

El tratamiento será sintomático en función del problema de salud que presenten, así como, las complicaciones que vayan apareciendo. Estará encaminado a mejorar la calidad de vida de los pacientes así como de la familia que les rodea.

Desafortunadamente, actualmente no existe ningún tratamiento curativo o específico disponible. En la actualidad hay varias líneas de investigación, que están intentando aportar un tratamiento específico a esta enfermedad, como:

- El uso de moléculas que se dirijan específicamente a la proteína mutada y permitan su eliminación.
- El uso de moléculas quiméricas dirigidas a la proteólisis (PROTAC), que se unen selectivamente a la proteína PACS1 mutada y la dirigen a la maquinaria proteosomal.
- El uso de oligonucleótidos antisentido (ASO), que degradan el ARNm mutado.



*FIGURA 6. Aspecto facial reconocible. Vistas frontal y lateral de los individuos 1, 3–13, 15–16 y 19 que muestran una apariencia facial similar. Es típico las cejas arqueadas, el hipertelorismo con fisuras palpebrales oblicuas hacia abajo y pestañas largas, ptosis (en algunos), orejas simples y de implantación baja, punta nasal bulbosa, boca ancha con comisuras hacia abajo y labio superior delgado con un perfil "ondulado" inusual, filtrum plano y diastema de los dientes. (Janneke H. M. Schuurs-Hoeijmakers et al)<sup>1</sup>*

## 1.5 SÍNDROMES SIMILARES y DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

Los principales diagnósticos que se tienen que tener en cuenta son aquellos que comparten con *PACS1* la combinación de malformaciones craneofaciales, y discapacidad intelectual. Aunque los posibles diagnósticos diferenciales son numerosos, se ha querido resaltar dos en particular por su proximidad fenotípica y mecánica:

- *PACS2* o Encefalopatía Epiléptica Y del Desarrollo-66 (DEE66): está causada por una mutación en heterocigosis del gen *PACS2* en el cromosoma 14q32, caracterizado por la aparición de varios tipos de convulsiones en los primeros días o semanas de vida. La mayoría de las convulsiones tienen un origen focal; la generalización secundaria es común, así como, unos rasgos craneofaciales típicos y un retraso intelectual acusado<sup>11</sup>.

<sup>11</sup>Olson HE, Jean-Marçais N, Yang E, Heron D, Tatton-Brown K, van der Zwaag PA, Bijlsma EK, Krock BL, Backer E, Kamsteeg EJ, Sinnema M, Reijnders MRF, Bearden D, Begtrup A, Telegrafi A, Lunsing RJ, Burglen L, Lesca G, Cho MT, Smith LA, Sheidley BR, Moufawad El Achkar C, Pearl PL, Poduri A, Skraban CM, Tarpinian J, Nesbitt AI, Franssen van de Putte DE, Ruivenkamp CAL, Rump P, Chatron N, Sabatier I, De Bellescize J, Guibaud L, Sweetser DA, Waxler JL, Wierenga KJ; DDD Study, Donadieu J, Narayanan V, Ramsey KM; C4RCD Research Group, Nava C, Rivière JB, Vitobello A, Tran Mau-Them F, Philippe C, Bruel AL, Duffourd Y, Thomas L, Lelieveld SH, Schuurs-Hoeijmakers J, Brunner HG, Keren B, Thevenon J, Faivre L, Thomas G, Thauvin-Robinet C. A Recurrent De Novo *PACS2* Heterozygous Missense Variant Causes Neonatal-Onset Developmental Epileptic Encephalopathy, Facial Dysmorphism, and Cerebellar

- Síndrome de Cornelia de Lange (SCDL): es un síndrome genético de malformaciones multisistémicas, que incluyen un dimorfismo facial característico con: cejas arqueadas, sinofridia, narinas antevertidas, prognatismo maxilar, filtrum largo, labios delgados y boca de "carpa", en asociación con retraso del crecimiento prenatal y posnatal, discapacidad intelectual y, en muchos casos, anomalías de las extremidades superiores. Provocado en un 50-60% por mutaciones en heterocigosis del gen *NIPBL* que se encuentra en el cromosoma 5p13, que codifica un factor crítico en el complejo cohesina<sup>12</sup>.

La forma más fiable de discernir el diagnóstico de *PACS1* y otros síndromes como los anteriores sería la aplicación de un panel de secuenciación masiva que incluya este gen y otros genes causales de síndromes similares.

## 2. OBJETIVOS

El objetivo principal del estudio ha sido analizar la afectación del sistema nervioso periférico mediante técnicas neurofisiológicas en un grupo de pacientes con deficiencia del *PACS1*.

Como objetivos secundarios se ha perseguido:

1. Diagnosticar genéticamente a un paciente con Síndrome de Schuurs–Hoeijmakers mediante la técnica de Sanger.
2. Valorar el grado de afectación de la fibra gruesa mielínica sensitiva y motora en un grupo de pacientes mediante exploración de los nervios sensitivos: Mediano, Cubital, Radial, Sural y Peroneo Superficial; y de los nervios motores: Mediano, Cubital, Peroneo y Tibial Posterior.
3. Valorar el grado de afectación de la fibra fina mediante la Variabilidad de la frecuencia cardíaca en reposo, la Respuesta simpático- cutánea y el Test sudomotor.

---

Dysgenesis. Am J Hum Genet. 2018 May 3;102(5):995-1007. doi: 10.1016/j.ajhg.2018.03.005. Epub 2018 Apr 12. Erratum in: Am J Hum Genet. 2018 Oct 4;103(4):631. PMID: 29656858; PMCID: PMC5986694

<sup>12</sup>Kline AD, Moss JF, Selicorni A, Bisgaard AM, Deardorff MA, Gillett PM, Ishman SL, Kerr LM, Levin AV, Mulder PA, Ramos FJ, Wierzbica J, Ajmone PF, Axtell D, Blagowidow N, Cereda A, Costantino A, Cormier-Daire V, FitzPatrick D, Grados M, Groves L, Guthrie W, Huisman S, Kaiser FJ, Koekkoek G, Levis M, Mariani M, McCleery JP, Menke LA, Metrena A, O'Connor J, Oliver C, Pie J, Piening S, Potter CJ, Quaglio AL, Redeker E, Richman D, Rigamonti C, Shi A, Tümer Z, Van Balkom IDC, Hennekam RC. Diagnosis and management of Cornelia de Lange syndrome: first international consensus statement. Nat Rev Genet. 2018 Oct;19(10):649-666. doi: 10.1038/s41576-018-0031-0. PMID: 29995837; PMCID: PMC7136165

### 3. MATERIAL y METODOS

El trabajo se elaboró en el período comprendido entre Enero y Mayo de 2022, con la asistencia presencial a los servicios de Neurofisiología Clínica del Hospital General San Jorge de Huesca (HGSJ) y a la Unidad de Genética Clínica y Genómica Funcional de la Universidad de Zaragoza.

#### 3.1 POBLACIÓN

Se realizaron diferentes estudios del sistema nervioso periférico en un grupo de 8 personas con deficiencia de PACS1 (5 hombres, 3 mujeres, de 2 a 35 años) y 18 controles sanos ligeramente mayores (9 hombres, 9 mujeres, de 7 a 37 años). Los pacientes y sus familiares accedieron a la participación voluntaria y no remunerada y además otorgaron su consentimiento para la realización de las pruebas necesarias del estudio.

Parte de la información de este trabajo fue recogida durante la realización del I Congreso Científico-Familiar del síndrome PACS, que tuvo lugar en Zaragoza entre el 12 y 13 de noviembre del año 2021, con la coordinación del Dr. Juan Pie y el Dr. Feliciano Ramos.

#### 3.2 DIAGNÓSTICO GENÉTICO

Para el estudio de los pacientes se utilizó sangre guardada en tubos de EDTA, cedidos por el departamento de Enfermedades Genéticas del Hospital Universitario Lozano Blesa de Zaragoza. Posteriormente las muestras fueron procesadas en la Unidad de Genética Clínica y Genómica Funcional de la Universidad de Zaragoza.

##### 3.2.1. EXTRACCIÓN DE DNA DE SANGRE

En este procedimiento se utilizó el protocolo de extracción de DNA de la unidad:

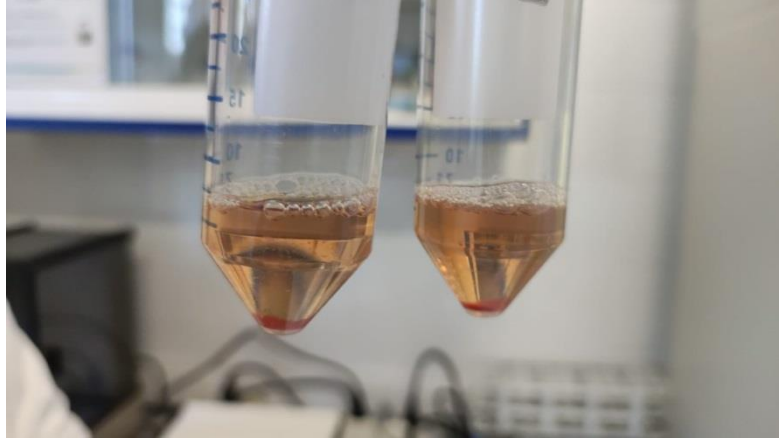
1. Homogeneizar por inversión los tubos Falcon de 50 ml de sangre y rotular con el código del paciente.
2. Separar 4 ml de sangre de cada tubo FALCON de 50 ml y añadir 10 volúmenes de Tritón Sucrosa", enrasando a 40 ml.



a.

FIGURA 7. Sangre junto a los 10 volúmenes de Tritón Sucrosa, 40mL

3. Sacar la Proteinasa K del congelador.
4. Hay que tener en cuenta que si el tritón no está frío, hubiéramos tenido que incubar los tubos en el congelador durante 5min, y posteriormente centrifugar durante 10 min 2000 rpm a 0°C.
5. Eliminar el sobrenadante por decantación y resuspender el pellet en 6 ml de tampón SE.
6. Añadir 120 µl de Proteinasa K (10mg/ml).



a.

*FIGURA 8. Preparado previo a incubar que contiene Proteinasa K, tampón SE y decantación del proceso anterior, previamente centrifugado.*

7. Incubar toda la noche a 37°C en la estufa o 2-3 horas en el baño a 55°C.
8. Una vez incubado el producto, añadir 2 ml de NaCl 6M. Añadir 8 ml de Cloroformo (hasta 20ml), agitar en el rotor durante 30 min y centrifugar 15 min a 2500 rpm.



a.

*FIGURA 9. Producto siendo removido por el rotor al que previamente le hemos añadido el NaCl y el cloroformo.*



9. Rotular tubos falcon de 15 ml y eppendorf de 1.5 ml (DNA, paciente, fecha), para su correcta clasificación.
10. Recoger el sobrenadante en los tubos falcon de 15 ml, entre 6-7 ml y añadir Isopropanol en concentración 1:1 y mezclar por inversión hasta la aparición del “ovillo” de DNA
11. Recoger el ovillo con micropipeta lo más rápido posible y pasarlo al eppendorf e intentar eliminar la mayor cantidad de líquido posible, tirándolo al contenedor de reciclaje.
12. Añadir 1 ml de Etanol 70% (siempre en el congelador), agitar en el rotor durante 30 minutos y centrifugar a 12000 rpm durante 5 min. Eliminar el etanol, dejar secar el pellet a temperatura ambiente unas 2-3 h y añadir 300 ul de buffer TE.
13. Finalmente, dejarlo en la estufa a 37°C hasta que se disuelva y medir la concentración de DNA en el espectrofotómetro.

### 3.2.2 ELABORACIÓN DE LA PCR y SECUENCIACIÓN

Una vez obtenido el DNA, se realizará una PCR para el correcto estudio y diagnóstico de la enfermedad, utilizando el método “clásico” en la elaboración de la PCR.

Cabe destacar que para que esta prueba funcione hacen falta cebadores que se unan al fragmento de DNA a estudio para que la polimerasa pueda replicarlo y amplificarlo. Estos cebadores han sido diseñados por la unidad de Genética Clínica y Genómica Funcional de la Universidad de Zaragoza y son los llamados Primer F y Primer R que se unirán al exón 4 del cromosoma 11 que contiene la mutación ha estudio.

Para la elaboración de la PCR se añadirá en un tubo eppendorf los siguientes componentes: 10 µL MasterMix, 8'5 µL H<sub>2</sub>O, 0'5 µL Primer F, 0'5 µL Primer R y 0'5 µL DNA [100].

1. Todo esté preparado de 20 µL se centrifugará colocándolo en el termociclador. Se someterá a un programa elaborado por la unidad que constará de 35 ciclos con una temperatura de unión a los cebadores de 58°C.



FIGURA 10. Programa utilizado en el termociclador para la elaboración de la PCR.

2. El resultado de la PCR se sembrará en un gel de agarosa y se someterá a una electroforesis para comprobar la correcta amplificación del exón.
3. Para la elaboración del gel de electroforesis se añadirá en el recipiente seleccionado una mezcla al 1% de agarosa (0'35g de agarosa junto a 35mL de tampón TBE).
4. Una vez preparada la base para la electroforesis, se añadirá en los pocillos seleccionados 3  $\mu$ L de la muestra de DNA, 3  $\mu$ L de preparado de referencia, junto a 0'8  $\mu$ L de GelRed™ y otros 3  $\mu$ L de glicerol.
5. Una vez colocado todo en la cubeta de electroforesis se conectará la solución a una fuente de alimentación de 70V y se dejará correr el gel de 40 a 60 minutos, hasta que las bandas aparezcan suficientemente separadas.

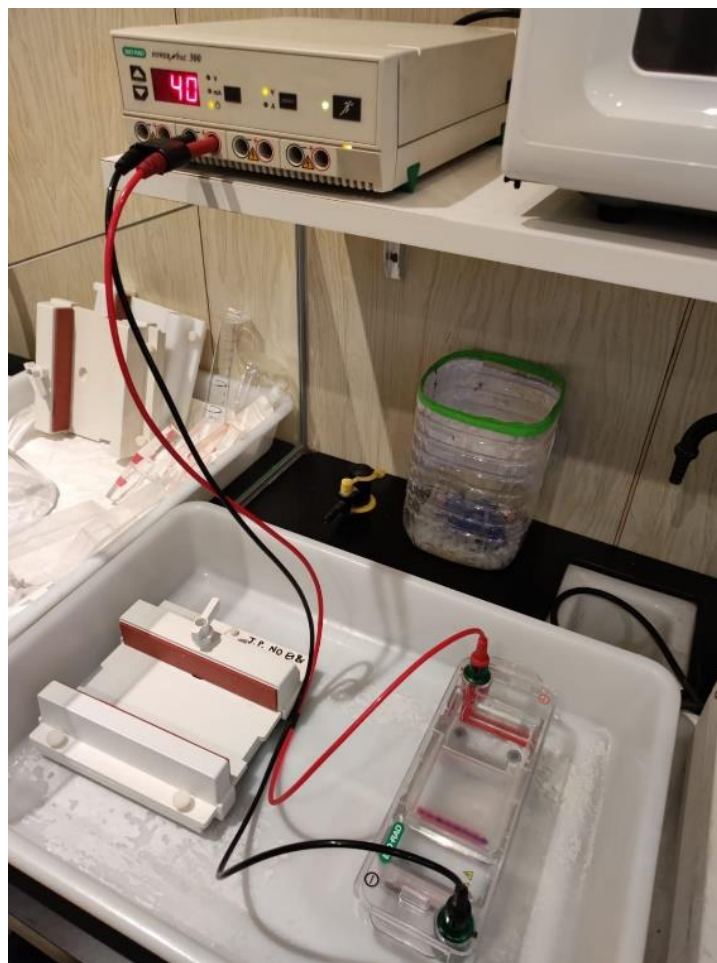


FIGURA 11. Arriba fuente de alimentación, abajo cubeta de electroforesis con gel de agarosa

Una vez terminado este proceso, se procederá a la lectura del gel en el analizador de imágenes y se determinará si la PCR anterior ha sido correcta, mediante el estudio comparativo de los pesos moleculares de nuestro DNA con respecto a otro de referencia.

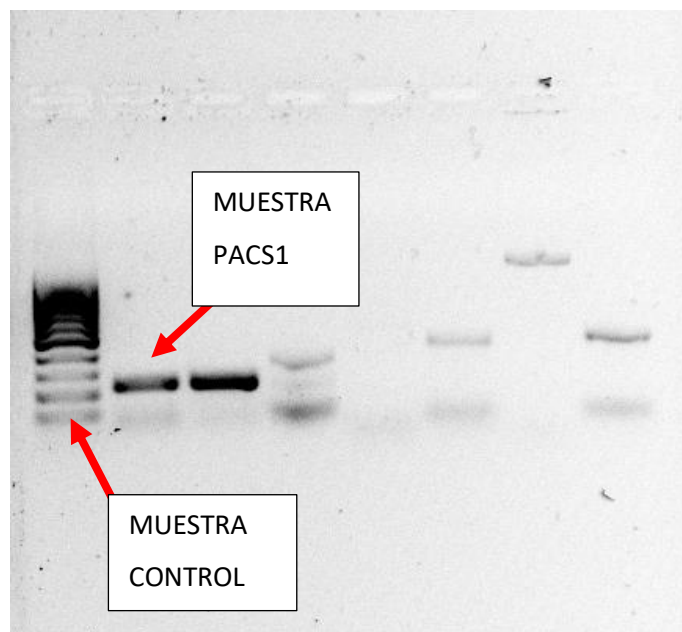


FIGURA 12. Producto final de la electroforesis, con resultado positivo para nuestra muestra

Si la electroforesis da positivo, los productos de PCR serán purificados mediante Exo-SAP-IT (Amersham Biosciences) y secuenciados automáticamente con el método de Sanger mediante electroforesis capilar y el sistema de terminadores fluorescentes BigDye™ (Applied Biosystems) por una empresa externa al departamento llamada Sistemas Genómicos de Valencia.

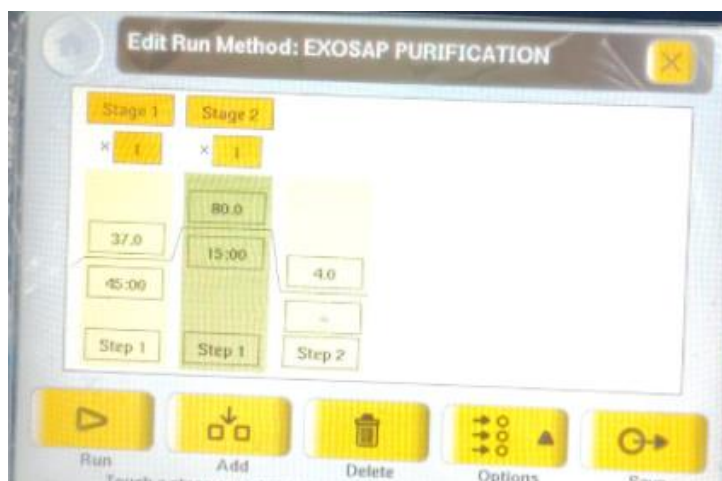


FIGURA 13. Programa utilizado en el termociclador para la “purificación” de la PCR

Finalmente, una vez secuenciada la muestra, recibimos los datos obtenidos mediante la plataforma Chromas y procedemos a su comparación mediante bases de datos, en este caso se utilizó la herramienta online Ensembl.



### 3.3 ESTUDIO NEUROFISIOLÓGICO

Se estudió un grupo de controles y pacientes con deficiencia de PACS1 mediante el electromiografo Natus Nicolet AT2+6 en el Hospital Universitario San Jorge de Huesca.

#### 3.3.1 ESTUDIO DE FIBRA GRUESA

Incluye el estudio de la fibra gruesa sensitiva y motora. Se usan electrodos adhesivos sobre la piel (para registro de músculo) y un estimulador eléctrico con botones de fieltro humedecidos en suero fisiológico, además de electrodo de tierra, la toma de tierra también se hace con un electrodo adhesivo sobre la piel del paciente. Las intensidades eléctricas habituales son bajas, si bien se puede llegar hasta 100mA (miliamperios), en nuestro caso nunca llegamos a ello.

Para este estudio utilizamos en miembro superior el trayecto distal de los nervios Mediano y Cubital y en miembro inferior el trayecto distal de los nervios Tibial, Peroneo Común, Sural y Peroneo Superficial. Tras la estimulación eléctrica se recoge la Onda F de los 4 nervios motores testados en esta prueba.



FIGURA 14. Estudio de fibra gruesa del nervio cubital.

### 3.3.2 ESTUDIO DE FIBRA FINA

Incluye el estudio de fibras sensitivas c y Aδ, y fibras autonómicas. Aunque la prueba de elección en este tipo de estudios es la biopsia cutánea con marcador pan-axonal P9,5. La falta de consentimiento informado además de problemas económicos y logísticos recomendó sustituirla por la combinación de las siguientes pruebas:

- **Variabilidad de la frecuencia cardiaca en reposo.** Se utilizan dos electrodos de registro ECG situadas en el tórax y se valora la frecuencia cardiaca durante dos minutos, con la aplicación de la fórmula matemática -Root Mean Square of the Successive Differences(RMSSD) :

$$RMSSD = \sqrt{\frac{1}{N-1} \sum_{i=1}^N (RR_{i+1} - RR_i)^2}$$

FIGURA 15: Fórmula RMSSD, correspondiendo RR: al intervalo de dos ondas RR medido en milisegundos; N: al número de intervalos estudiados en el ECG.

- **Respuesta simpático- cutánea:** Se recoge la respuesta de la palma de las manos tras estimular el nervio Mediano en muñeca y de las plantas de ambos pies tras estimular el nervio Tibial posterior.



FIGURA 16. Estudio simpático-cutanea

- **Test Sudomotor:** Con respecto a la Prueba Cuantitativa del Reflejo Axonal Sudomotor o test Sudomotor, se prepara un dispositivo para la liberación del fármaco compuesto por dos polos.

En el polo positivo, se coloca 1 cm<sup>2</sup> de nitrato de Pilocarpina al 1% que es el agente colinérgico y en el polo negativo se rellena con una esponja de 1cm<sup>2</sup> impregnada en solución acuosa de sulfato potásico al 1%. A continuación, se dispone la cápsula a nivel del dorso del pie, previa limpieza de la piel con alcohol y se coloca al paciente en decúbito supino sobre una camilla.

Después, se inicia la iontoforesis de la pilocarpina con una corriente de 2mA durante 5 minutos, que permite la unión del agente colinérgico a los receptores muscarínicos en las glándulas sudoríparas ecrinas, produciendo en ellas una respuesta directa. Simultáneamente, se produce una respuesta indirecta mediada por un reflejo axónico, al unirse la pilocarpina a los receptores nicotínicos de los axones sudomotores posganglionares de las glándulas sudoríparas.

Pasados los cinco minutos, se retira el dispositivo de liberación del fármaco, se seca la piel y se esperan 20'. Después, se aplica en la zona una fina capa de silicona que polimeriza durante 5 minutos.

Para finalizar, se analiza la impresión de silicona al microscopio óptico valorando el número, distribución y tamaño de las gotas de sudor que representan las glándulas sudoríparas presentes.



*FIGURA 17. Test sudomotor: aplicación de la silicona posterior a la estimulación con pilocarpina*

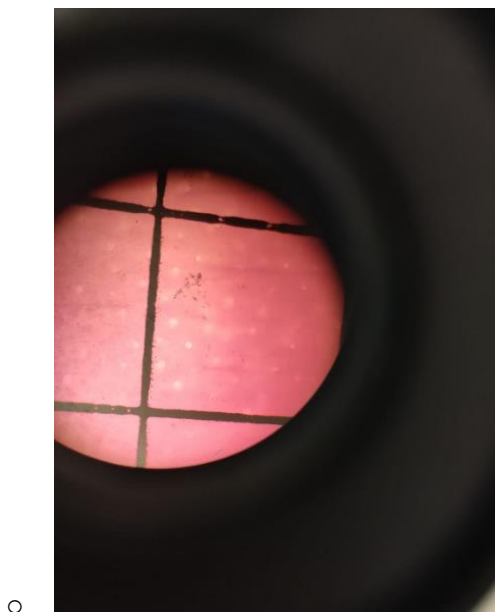


FIGURA 18. Molde de silicona visto al microscopio que permite calcular el número de glándulas sudoríparas por centímetro cuadrado.

### 3.4 ESTADÍSTICA APLICADA

El estudio comparativo del test Sudomotor se realizó con el test de *la U de Mann-Whitney*, ya que la población era inferior a 30 individuos distribuidos en dos grupos (8 sujetos afectados con la deficiencia de PACS1 y 18 sujetos control sanos).

## 4. RESULTADOS

A continuación se describen los resultados obtenidos en las distintas pruebas realizadas.

### 4.1 RESULTADO GENÉTICO

Tras aplicar el programa Chromast al archivo con las secuencias, los cromatogramas del paciente y control se comparan con las secuencias de referencia por los códigos RefSeq, que para el gen *PACS1* es NM\_01026.4, obtenidas en la página web Ensembl. A continuación se recogen los resultados:

- En el cromatograma control no se encuentra la mutación causal en la base 607 del gen *PACS1*. En su lugar está la esperada espiga azul de la citosina.
- En cambio en el cromatograma del paciente al introducir la referencia nos encontramos una “doble espiga”, por lo que podemos concluir que se trata de un individuo afecto de la mutación en heterocigosis, en la que hay una sustitución en un alelo de la base nitrogenada Citosina por Timina.

Podemos afirmar que el sujeto a estudio posee una mutación de cambio de base en el gen *PACS1*, por lo que padece el síndrome de Schuurs-Hoeijmakers.

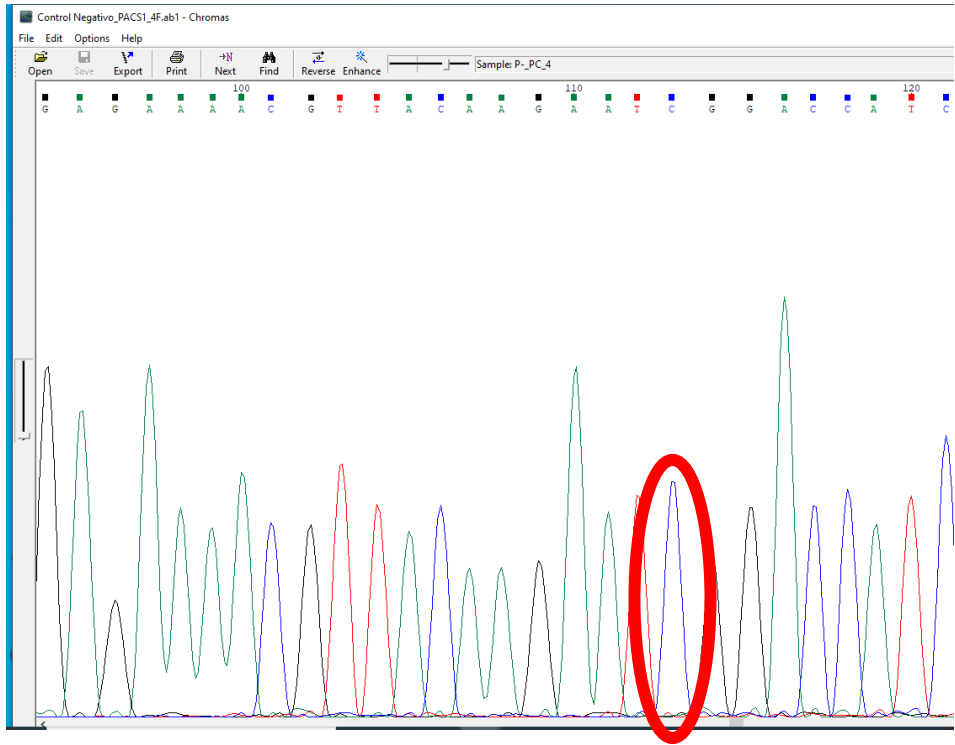


TABLA 1. Secuencia control de paciente sano sin mutación en PACS1.

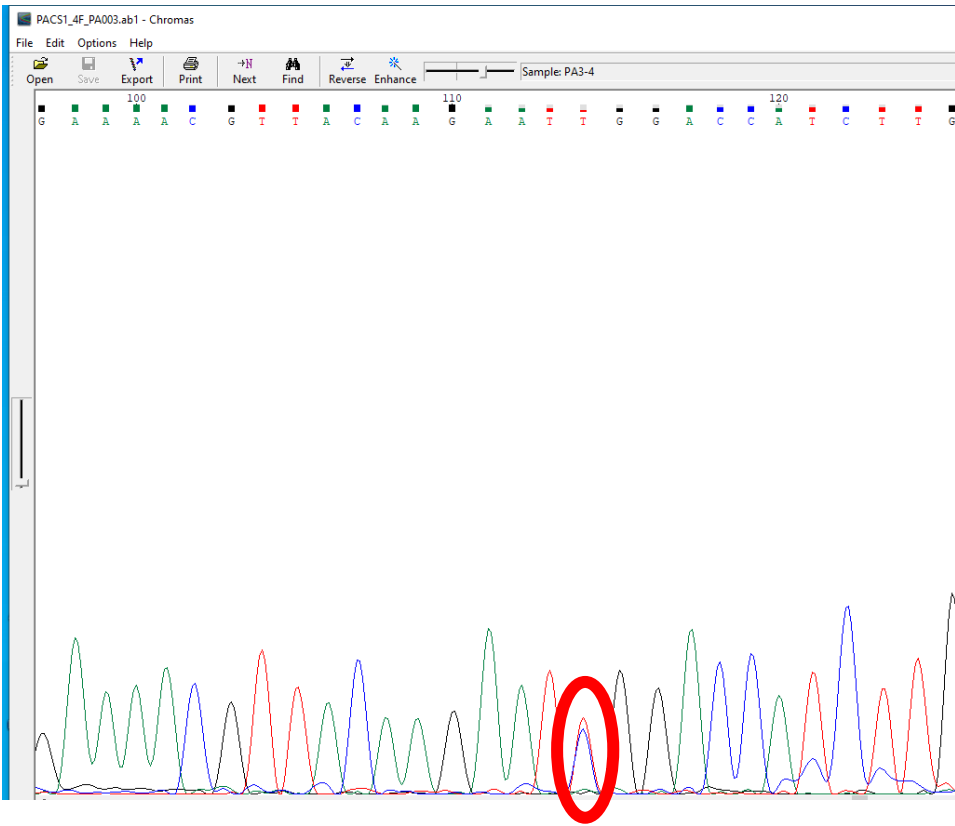


TABLA 2. Secuencia de paciente portador de la mutación en heterocigosis de PACS1 por susitución C<T.

## 4.2 EVALUACIÓN NEUROFISIOLÓGICA

A continuación se recogen los resultados obtenidos en fibra gruesa y fina del sistema nervioso periférico:

### 4.2.1 FIBRA GRUESA

Como se puede apreciar en las tablas, todos los parámetros están dentro de los límites normales, tanto en la fibra nerviosa motora, como en la sensitiva. No hay tampoco variaciones entre la extremidad superior e inferior. Por lo que podemos afirmar que en este grupo de pacientes la fibra gruesa parece normal.

NERVIOS SENSITIVOS		MEDIANO		CUBITAL		RADIAL		SURAL		SUPERFICIAL PERONEAL	
GÉNERO y EDAD	LU-GAR	Amp (μV)	Velo (m/s)	Amp. (μV)	Velo (m/s)	Amp. (μV)	Veloc (m/s)	Amp. (μV)	Veloc. (m/s)	Amp. (μV)	Veloc. (m/s)
<b>VALORES NORMALES (2-6 a)</b>		24.0±7.36	46.93±5.03	16.3±2.44	44.2±7.79	32.01±5.6	48.92±32	15.41±9.98	49.73±5.53	18.29±7.3	48.57±6.1
1 H/2a	DER.	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
	IZQ.	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
2 H/2a	DER.	--	--	--	--	22.1	62.0	--	--	13.7	40.0
	IZQ.	--	--	--	--	--	--	--	--	19.1	62.0
3 H/3a	DER.	64.9	58.0	--	--	17.6	107.0	--	--	15.3	69.0
	IZQ.	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
<b>VALORES NORMALES (7-14 a)</b>		26.72±9.46	53.84±3.26	13.4±4.2	46.6±5.6	29.89±3.4	52.31±6.5	26.75±6.79	53.85±4.19	28.43±1.5	52.41±5.4
4 M/10 a	DER.	35.9	65.0	--	--	28.2	70	13.0	72.0	15.0	69.0
	IZQ.	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
<b>VALORES NORMALES (&gt;15 a)</b>		20.50±3.49	53.44±3.19	14.30±2.5	53.23±3.5	26.76±7.8	54.56±6.3	18.67±4.39	42.75±4.79	20.45±5.2	43.67±4.5
5 M/15a	DER.	--	--	--	--	26.0	68.0	--	--	15.3	58.0
	IZQ.	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
6 H/17 a	DER.	51.1	52.0	---	---	---	---	---	---	16.0	64.0
	IZQ.	44.3	51.0	---	---	18.3	66.0	32.8	69.0	30.5	65.0
7 M/33a	DER.	37.3	54.1	33.6	53.1	13.3	58.3	11.4	58.2	3.5	43.9
	IZQ.	38.0	55.7	35.3	53.3	33.0	55.9	11.4	59.1	4.8	50.0
8 H/35a	DER.	23.7	56.0	--	--	18.3	66.0	19.1	62.0	11.5	68.0
	IZQ.	45.0	53.0	--	--	30.5	56.0	22.9	69.0	13.0	68.0

TABLA 3. ESTUDIO DE LA FIBRA GRUESA SENSITIVA. M=Mujer y H= Hombre; DER.=Derecha e IZQ.= Izquierda; Lat: latencia, Amp: Amplitud, Veloc: Velocidad, μs: microsegundos, mV: millivoltios, m/s: metros por segundo.

# ESTUDIO DEL SISTEMA NERVIOSO y AUTÓNOMO EN PACIENTES CON PACS1

NERVIOS MOTORES		MEDIANO			CUBITAL				
GÉNERO y EDAD	LUGAR	Lat. (ms)	Amp. (mV)	Veloc. (m/s)	Lat. (ms)	Amp. (mV)	Veloc. (m/s)	F lat. (ms)	F %
VALORES NORMALES (1-3 a)		2.18±0.43	9.55±4.34	53.59±5.29	1.86±0.16	8.90±3.61	52.4±5.23	14.07±0.4	
1 H/2a	DER.	1.98	4.1	80.0	--	--	--	--	--
	IZQ.	--	--	--	--	--	--	--	--
2 H/2a	DER.	2.08	7.9	51.0	--	--	--	--	--
	IZQ.	--	--	--	--	--	--	--	--
3 H/3a	DER.	1.75	7.6	65.0	--	--	--	13.8	90
	IZQ.	--	--	--	--	--	--	--	--
VALORES NORMALES (4-6 a)		2.27±0.45	10.37±3.66	56.26±4.61	2.03±0.54	9.24±2.54	56.1±4.97	15.9±0.8	
VALORES NORMALES (7-14 a)		2.73±0.44	11.25±0.45	57.32±3.35	2.25±0.13	13.45±4.3	58.2±9.7	19.1±1.0	
4 M/10y	DER.	2.73	9.0	66.0	--	--	--	--	--
	IZQ.	--	--	--	--	--	--	15.5	90
VALORES NORMALES(>14 a)		2.89±0.67	10.55±5.24	10.55±5.24	54.34±5.34	2.54±0.76	12.87±2.76	20.4±8.4	
5 M/15a	DER.	2.73	16.0	--	--	--	--	--	--
	IZQ.	--	--	--	--	--	--	--	--
6 H/17a	DER.	2.90	11.7	55.0	---	---	---	24.8	100
	IZQ.	2.92	12.0	59.0	---	---	---	25.1	100
7 H/33a	DER.	4.25	7.9	56.2	2.60	7.9	63.8	13.15	90
	IZQ.	4.10	8.3	55.6	2.25	7.2	59.6	18.20	90
8 H/35a	DER.	2.94	13.5	59.0	--	--	--	27.0	80
	IZQ.	2.96	16.1	56.0	--	--	--	25.3	90

TABLA 4. ESTUDIO DE LA FIBRA GRUESA MOTORA DE LA EXTREMIDAD SUPERIOR. M=Mujer y H= Hombre; DER.=Derecha e IZQ.= Izquierda; Lat: latencia, Amp: Amplitud, Veloc: Velocidad,  $\mu$ s: microsegundos, mV: millivoltios, m/s: metros por segundo, F lat.: latencia de la onda F: metros por segundo.

NERVIOS MOTORES		PERONEO			TIBIAL POSTERIOR						
GÉNERO y EDAD	LUGAR	Lat. (ms)	Amp. (mV)	Veloc. (m/s)	Lat. (ms)	Amp. (mV)	Veloc. (m/s)	F lat. (m/s)	F %	H Lat. (m/s)	H Amp. (mV)
VALORES NORMALES (1-3 a)		2.62±0.75	6.10±2.99	55.73±4.45	2.45±0.4	9.07±2.12	42.6±3.80	15.71±1.79		18.7±7.2	2.4±1.4
1 M/2a	DER.	2.58	2.7	80.0	--	--	--	--	--	--	--
	IZQ.	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
2 M/2a	DER.	2.31	3.6	56.0	--	--	--	--	--	--	--
	IZQ.	1.90	4.0	63.0	--	--	--	--	--	--	--
3 M/3a	DER.	2.2	3.6	61.0	--	--	--	--	--	--	--
	IZQ.	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
VALORES NORMALES (4-6 a)		3.01±0.43	7.10±4.76	56.14±4.96	2.85±0.2	10.12±5.3	43.76±2.3	15.75±1.77		18.7±7.2	2.4±1.4
VALORES NORMALES (7-14 a)		3.25±0.51	8.15±4.19	57.05±4.54	3.13±0.2	12.25±6.3	45.67±1.23	19.89±7.4		18.7±7.2	2.4±1.4
4 F/10a	DER.	3.58	4.2	58.0	--	--	--	--	--	--	--
	IZQ.	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
VALORES NORMALES (>14a)		3.65±0.87	7.65±6.54	56.34±2.3	3.45±2.45	10.56±2.3	45.65±7.6	29.79±8.7		18.7±7.2	2.4±1.4
5 F/15a	DER.	3.88	6.3	63.0	--	---	--	--	--	--	--
	IZQ.	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
6 M/17a	DER.	3.67	4.8	51.0	---	---	---	48.9	100	---	---
	IZQ.	3.96	5.0	60.0	---	---	---	49.3	100	---	---
7 F/18a	DER.	4.45	4.0	45.5	3.35	13.9	50.1	45.35	90	23.6	2.6
	IZQ.	4.35	6.9	48.0	3.85	11.3	55.2	38.30	90	26.10	2.5
8 M/35a	DER.	4.00	7.2	69.0	3.65	12.8	42.0	--	--	--	--
	IZQ.	3.96	4.1	69.0	--	--	--	--	--	--	--

TABLA 5. ESTUDIO DE LA FIBRA GRUESA MOTORA DE LA EXTREMIDAD INFERIOR M=Mujer y H= Hombre; DER.=Derecha e IZQ.= Izquierda; Lat: latencia, Amp: Amplitud, Veloc: Velocidad,  $\mu$ s: microsegundos, mV: millivoltios, m/s: metros por segundo, F lat.: latencia de la onda F: metros por segundo, H: onda H refleja.

## 4.2.2 TEST FIBRA FINA

Igual que en los estudios de la fibra gruesa los datos crudos son fiables en el caso de la variabilidad de la Frecuencia Cardíaca y test Simpático-Cutáneo, ya que se cuentan con intervalos estándar, por lo que un desglose estadístico no estaría indicado en estos dos casos.

Por lo que podemos concluir que como los pacientes se encuentran en rangos de normalidad en las pruebas de variabilidad de la Frecuencia Cardíaca y el test Simpático-Cutáneo, los pacientes con deficiencia de PACS1 seleccionados en la muestra no presentan alteraciones en la fibra fina, según estas pruebas.

Individuos		SSR MANO		SSR PIE		RMSSD
Genero/Edad	Lugar	Lat. (ms)	Amp. ( $\mu$ V) (( $\mu$ V)	Lat. (ms)	Amp. ( $\mu$ V)	(ms)
VALORES NORMALES		1.3 $\pm$ 0.1	800 $\pm$ 300	1.9 $\pm$ 0.1	600 $\pm$ 300	$\geq$ 16,39ms (<10años)
1 H/2a	DER.	----	-----	---	----	55.52
	IZQ.	---	-----	---	----	
2 H/2a	DER.	0.88	900.0	---	----	91.19
	IZQ.	---	----	---	----	
3 H/3a	DER.	1.21	1400.0	1.32	2100.0	151.81
	IZQ.	1.05	1200.0	1.24	1000.0	
VALORES NORMALES		1.3 $\pm$ 0.1	800 $\pm$ 300	1.9 $\pm$ 0.1	600 $\pm$ 300	$\geq$ 16,39ms (<20años)
4 M/10a	DER.	1.04	1200.0	1.83	1100.0	39.41
	IZQ.	1.31	1900.0	2.05	700.0	
5 M/15a	DER.	1.21	600.0	2.05	600.0	33.77
	IZQ.	1.46	1000.0	2.16	1700.0	
6 H/17a	DER.	1.58	4100	1.91	900	151.32
	IZQ.	1.53	5800	1.80	1000	
VALORES NORMALES		1.3 $\pm$ 0.1	800 $\pm$ 300	1.9 $\pm$ 0.1	600 $\pm$ 300	$\leq$ 14,54ms ( $\leq$ 25años)
7 M/33a	DER.	1.36	1027.5	2.45	479.4	154.15
	IZQ.	1.48	2171.0	2.32	862.6	
VALORES O NORMALES		1.3 $\pm$ 0.1	800 $\pm$ 300	1.9 $\pm$ 0.1	600 $\pm$ 300	,43ms ( $\leq$ 35años)
8 H/35a	DER.	1.89	300	NR	NR	59.76
	IZQ.	NR	NR	NR	NR	

TABLA 6.: SSR: Sympathetic Respuesta Simpatico-cutanea. HRV: Variabilidad de la Frecuencia Cardíaca mediante RMSSD Lat: Latencia, Amp: Amplitud, ms: milisegundos,  $\mu$ V: microvoltios. NR: No respuesta.

- **Test Sudomotor**

Los valores por grupos de edad de densidad de glándulas sudoríparas en individuos con deficiencia de PACS1 y controles necesitan del apoyo de un análisis estadístico propio, al no disponer de valores normales estandarizados.

Los resultados globalmente considerados no muestran diferencias significativas entre la Densidad de Glándulas Sudoríparas o SGD, del grupo control y del grupo de deficiencia de PACS1.

Sin embargo, esto cambia, cuando las comparaciones se hacen por grupos de edad. Apareciendo diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ), según la



década de la vida. Así, la densidad está disminuida en los pacientes a partir de la segunda década de la vida.

Solo los pacientes que se encuentran en la primera década no tienen diferencias significativas con los controles. Pero a partir de los 10 años la SGD desciende de una manera muy marcada, alejándose de los valores normales para las edades de estos pacientes.

<b>1-9 AÑOS</b>	<b>EDAD</b>	7	7	7	8	8
	<b>GÉNERO</b>	M	H	H	H	M
	<b>SGD (g/cm²)</b>	276	263	283	244	258
<b>264.80± 15.31</b>						
<b>10-19 AÑOS</b>	<b>EDAD</b>	10	10	10	11	13
	<b>GÉNERO</b>	H	M	H	H	M
	<b>SGD (g/cm²)</b>	260	220	222	260	248
<b>242.00± 19.79</b>						
<b>20-29 AÑOS</b>	<b>EDAD</b>	21	24	26	29	
	<b>GÉNERO</b>	H	H	M	M	
	<b>SGD (g/cm²)</b>	216	187	190	224	
<b>206.40± 22.9</b>						
<b>30-39 AÑOS</b>	<b>EDAD</b>	30	32	36	37	
	<b>GÉNERO</b>	M	M	M	H	
	<b>SGD (g/cm²)</b>	238	194	204	286	
<b>230.50± 41.51</b>						

TABLA 7: SGD= Densidad de glándulas sudoríparas: número de glándulas sudoríparas/cm²; Amarillo: 1ª década de vida; Rojo: 2ª década de la vida; Azul: 3ra década de la vida; Verde: 4ª década de la vida. H=hombre, M=mujer.

<b>INDIVIDUOS</b>	<b>GRUPO CONTROL</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>GRUPO CONTROL</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>GRUPO CONTROL</b>	<b>7</b>	<b>8</b>
<b>EDAD (años)</b>	<b>1-9</b>	2	2	3	<b>10-19</b>	10	15	17	<b>30-39</b>	33	35
<b>GÉNERO</b>		H	H	H		M	M	H		M	H
<b>GEN MUTADO</b>		<i>PACS1</i>	<i>PACS1</i>	<i>PACS1</i>		<i>PACS1</i>	<i>PACS1</i>	<i>PACS1</i>		<i>PACS1</i>	<i>PACS1</i>
<b>SGD</b>		322	317	303		169	125	137		98	157
	<b>264.80±15.31</b>				<b>242.00±19.79</b>				<b>230.50±41.51</b>		

TABLA8: .Individuos se diferencian en décadas de vida por diferentes colores de matiz a partir de: Amarillo: 1ª década de vida; Rojo: 2ª década de la vida; Verde: 4ª década de vida (ninguno de los individuos PACS1 estaba en la 3ª década de vida). H: hombre, M: mujer. SGD: Densidad de las glándulas sudoríparas: número de glándulas/cm².

## 5. DISCUSIÓN

El Síndrome de Schuurs-Hoeijmakers o deficiencia de *PACS1* es una enfermedad genética extraordinariamente rara, de herencia autosómica dominante, que se caracteriza por una variedad de manifestaciones multisistémicas y del desarrollo, entre las que destacan las que afectan al sistema nervioso central. En este trabajo se ha intentado, por un lado, caracterizar la mutación de un paciente con el síndrome mediante la técnica de secuenciación Sanger, y por otro, realizar un estudio neurofisiológico del sistema nervioso periférico en un grupo de ocho pacientes aquejados por el síndrome.

El estudio de las mutaciones puntuales de un gen suele ayudar a la localización de las partes más sensibles de la proteína que codifican. En este sentido, resulta sorprendente que la mayor parte de pacientes con deficiencia de *PACS1* tengan siempre la misma mutación. De hecho, la mayoría de ellos tienen la variante patogénica c.607C>T, mientras que solo uno tiene la c.608G>A. Nuestro paciente no escapa de esta tendencia y tiene también la mutación c.607C>T. Cabe preguntarse ¿Por qué es tan importante el cambio del aminoácido arginina 203 en esta proteína? Sin embargo, la respuesta no es fácil, porque desconocemos su estructura tridimensional, y tenemos todavía muchas dudas sobre sus funciones a nivel citosólico y nuclear. En estos momentos, se apuesta porque la proteína *PACS1* actúa como un transportador de otras proteínas entre los endosomas y el trans-Golgi. Se hipotetiza que los dominios FBR y MR forman una pinza que se une a la proteína a transportar (muchas veces furina) y que su activación o desactivación depende de la enzima fosforiladora CK2 y desfosforiladora PP2A. La mutación que hemos encontrado se localiza en el dominio de unión a Furina (FBR), y cerca del motivo de unión a CK2, por lo que es posible, que la función correcta de unión y fosforilación de CK2 se vea alterada y por lo tanto el correcto funcionamiento de la red Trans-Golgi<sup>13</sup>. Aunque la explicación mecanística parece convincente siguen quedando importantes lagunas como son el ¿Por qué no encontramos pacientes con mutaciones que afecten a otros aminoácidos próximos? ¿Qué tiene de especial la arginina 203, cuando ni siquiera es el aminoácido de unión directa a furina? Son preguntas que sin duda encontrarán respuesta cuando seamos capaces de conocer la estructura 3D de la proteína.

El otro objetivo de interés de este trabajo ha sido el estudio del sistema nervioso periférico mediante técnicas neurofisiológicas. Aunque estos pacientes tienen una gran afectación del sistema nervioso central, la dificultad de acceso a la exploración directa de este, convierte el estudio del sistema nervioso periférico en una opción interesante y asequible para comprender mejor la afectación neuronal.

El estudio de la fibra gruesas mielinica, se ha realizado tanto en nervios sensitivos como motores. En los primeros nos interesa conocer tanto la amplitud de la

---

<sup>13</sup> Stern D, Cho MT, Chikarmane R, Willaert R, Retterer K, Kendall F, Deardorff M, Hopkins S, Bedoukian E, Slavotinek A, Schrier Vergano S, Spangler B, McDonald M, McConkie-Rosell A, Burton BK, Kim KH, Oundjian N, Kronn D, Chandy N, Baskin B, Guillen Sacoto MJ, Wentzensen IM, McLaughlin HM, McKnight D, Chung WK. Association of the missense variant p.Arg203Trp in *PACS1* as a cause of intellectual disability and seizures. Clin Genet. 2017 Aug;92(2):221-223. doi: 10.1111/cge.12956. Epub 2017 Jan 23. PMID: 28111752; PMCID: PMC5513756.

onda como la velocidad del impulso, así como, la posible existencia de asimetrías entre las extremidades de ambos lados. A la hora de valorar las asimetrías es tan importante la diferencia de amplitud (tiene que superar el 50% la de un lado sobre otro), como el valor absoluto (en niños se ha considerado que por encima de 9 microV es normal, mientras que en adultos el nivel se ha bajado a 6 microV). Hay que tener en cuenta que la amplitud es una medida de la integridad del axón. En este sentido aunque algún paciente como el sujeto -6- cumplía el primer criterio de asimetría no lo hacía con el segundo. Otro valor sujeto a estudio es la velocidad del impulso nervioso que nos informa de cómo está la mielina, a menor cantidad de mielina ondas más lentas. Se consideran normales valores por encima de 40 a 50 m/s. En todos los casos los resultados obtenidos han sido normales. Por lo que, concluimos que no hay desviaciones patológicas en el estudio de las fibras sensitivas.

El estudio de los nervios motores se realiza de una manera similar, sin embargo las amplitudes son mucho mayores, aquí medimos las diferencias de potencial en milivoltios en vez de microvoltios. Los valores por encima de 4 milivoltios en niños se han considerado normales. Como era de esperar los resultados en el tibial posterior y el cubital han sido los más altos. En cuanto a la velocidad del impulso nervioso el límite de normalidad también se ha establecido por encima de los 40 a 50 m/s. Otros parámetros valorados han sido la latencia (Lat), la latencia de la onda F (F lat) y la persistencia de la onda F (F%). En general la latencia hace referencia al tiempo que tarda en aparecer la onda. Se han considerado como normales tiempos de 3 a 5 milisegundos. De todas maneras, estos valores son siempre más breves en la extremidad superior que en la inferior. Una elevación del tiempo de latencia puede indicarnos desmielinización o compresión del nervio motor. Sin embargo en todos los casos analizados los parámetros han estado dentro de los rangos de normalidad, por lo que podemos también concluir que no se observa en estos pacientes afectación de las fibras motoras.

Al plantearse el estudio de la fibra fina se ha valorado la posibilidad de realizar biopsia cutánea con marcador pan-axonal, sin embargo la falta de consentimiento informado, además, de problemas económicos y logísticos han recomendado sustituirla por pruebas indirectas menos cruentas. Las seleccionadas han sido las pruebas de Variabilidad de la Frecuencia Cardíaca, el test Simpático-Cutáneo y el test sudomotor. Pero antes de seguir, hay que indicar que estas pruebas nunca nos servirán para hallar el punto concreto de lesión de la vía nerviosa. De las dos primeras se tienen valores de referencia fiables, que en el caso de la Variabilidad de la Frecuencia Cardíaca cambian según el rango de edad como recoge la tabla 6, sin embargo, los valores de normalidad de la segunda son válidos para todas las edades. El test simpático cutáneo se ha valorado tanto en la palma de la mano, tras estimular el nervio Mediano en la muñeca, como en la palma del pie tras estimular el nervio Tibial Posterior. Sin embargo, el resultado de estas pruebas han sido absolutamente normales, por lo que no han servido para valorar una posible alteración de la fibra fina de los pacientes.

Resultados muy diferentes se han encontrado en el estudio del Test Sudomotor, que ha necesitado del desarrollo de un grupo control de edades similares, al no haber tablas de referencia. La primera aproximación se ha realizado comparando los valores globales del número de glándulas sudoríparas (SGD) de pacientes y controles, sin hallar diferencias significativas. Sin embargo, el resultado ha sido muy diferente cuando la comparación se ha hecho por grupos de edad. A destacar, que aunque en los controles

el aumento de edad se asocia a una caída en el número de glándulas sudoríparas, en los pacientes, este efecto es mucho más marcado, encontrándose diferencias significativas entre grupos de la misma edad. Si tenemos en cuenta, que el número de glándulas sudoríparas se considera un indicador indirecto de la funcionalidad de la fibra simpática, su descenso marcado con la edad, sugiere el desarrollo de una neuropatía de fibra fina edad dependiente en estos pacientes.

De todas maneras aunque los resultados obtenidos del Test Sudomotor han sido muy interesantes no hay que olvidar que se trata de una prueba indirecta, y que puede haber otros motivos causales, como la oclusión del conducto de las glándulas sudoríparas, o el daño o ausencia de las mismas. Por todo ello, hay que ser cauto en la interpretación de los resultados, y aunque son muy sugerentes de desarrollo de una neuropatía de fibra fina amielínica, resulta obligado, el estudio de otras fibras nerviosas de pequeño calibre como las A $\alpha$  y C, para poder confirmar estos hallazgos.

Finalmente, a día de hoy, los resultados encontrados subrayan la importancia de profundizar y aportar evidencias más sólidas, en el estudio del estado funcional del sistema nervioso autónomo, en los pacientes afectos por la deficiencia de *PACS1*.

## 6. CONCLUSIONES

A continuación se presentan las conclusiones del trabajo:

1. El hallazgo mediante la técnica de Sanger de la mutación c.608G>A (Arg203Trp) en heterocigosis en el gen *PACS1* del paciente, refuerza el diagnóstico clínico de Síndrome de Schuurs-Hoeijmakers. Además, se confirma que esta mutación es la causa más frecuente del síndrome.
2. El estudio neurofisiológico no detecta alteraciones del sistema nervioso somático a nivel distal, ni proximal, por lo que no se evidencia disfunción de la fibra gruesa mielínica motora y/o sensitiva.
3. La prueba del Test Sudomotor muestra una disminución de la densidad de glándulas sudoríparas a partir de la primera década de la vida que se acelera con la edad. Esto sugiere, indirectamente, una disminución de la respuesta de la fibra fina de los pacientes con deficiencia de *PACS1*.
  - a. Las pruebas de variabilidad de la frecuencia cardíaca en reposo y la respuesta simpático-cutánea de evaluación de la fibra fina, no han mostrado alteraciones significativas en los pacientes estudiados.

## 7. AGRADECIMIENTOS

“En primer lugar me gustaría agradecer de todo corazón al personal de laboratorio y docentes de la Unidad de Genética Clínica y Genómica Funcional de la Universidad de Zaragoza, en especial a Rebeca, la cual su ayuda fue clave en la parte de la experimentación y de laboratorio.

Por supuesto a la Dra. María Jesús Pablo Zaro por haberme enseñado las técnicas neurofisiológicas y por compartir conmigo los datos de esta investigación, así como, su cercanía y cordialidad y su disposición absoluta para ayudarme con las dudas que tuviera.

Además, a la Dra. María Arnedo Muñoz por su apoyo en la actualización de la bibliografía sobre el tema. Y al Dr. Juan Pie por la tutorización del trabajo”.

## 8. BIBLIOGRAFÍA

Artículos de PUBMED, citados en el trabajo son:

1. **Schuurs-Hoeijmakers**, J. H. M., Oh, E. C., Vissers, L. E. L. M., Swinkels, M. E. M., Gilissen, C., Willemsen, M. A., Holvoet, M., Steehouwer, M., Veltman, J. A., de Vries, B. B. A., van Bokhoven, H., de Brouwer, A. P. M., Katsanis, N., Devriendt, K., Brunner, H. G. Recurrent de novo mutations in PACS1 cause defective cranial neural-crest migration and define a recognizable intellectual-disability syndrome. *Am. J. Hum. Genet.* 91: 1122-1127, 2012.
2. **Miyake N**, Ozasa S, Mabe H, Kimura S, Shiina M, Imagawa E, Miyatake S, Nakashima M, Mizuguchi T, Takata A, Ogata K, Matsumoto N. A novel missense mutation affecting the same amino acid as the recurrent PACS1 mutation in Schuurs-Hoeijmakers syndrome. *Clin Genet.* 2018 Apr;93(4):929-930. doi: 10.1111/cge.13105. Epub 2017 Oct 4. PMID: 28975623.
3. **Liu Y**, Ding H, Yan T, Liu L, Yu L, Huang Y, Li F, Zeng Y, Huang W, Zhang Y, Yin A. A Novel Multi-Exon Deletion of PACS1 in a Three-Generation Pedigree: Supplements to PACS1 Neurodevelopmental Disorder Spectrum. *Front Genet.* 2021 Jul 23;12:690216. doi: 10.3389/fgene.2021.690216. PMID: 34373684; PMCID
4. **Wan L**, Molloy S, Thomas L, Liu G, Xiang Y, Rybak S et al. PACS-1 Defines a Novel Gene Family of Cytosolic Sorting Proteins Required for trans-Golgi Network Localization. *Cell.* 1998;94(2):205-216. (PACS1 NORMAL
5. **Trothen SM**, Zang RX, Lurie A, Dikeakos JD. PACS-1 contains distinct motifs for nuclear-cytoplasmic transport and interacts with the RNA-binding protein PTBP1 in the nucleus and cytosol. *FEBS Lett.* 2022 Jan;596(2):232-248. doi: 10.1002/1873-3468.14243. Epub 2021 Dec 12. PMID: 34822171.
6. **Veena MS**, Raychaudhuri S, Basak SK, Venkatesan N, Kumar P, Biswas R, Chakrabarti R, Lu J, Su T, Gallagher-Jones M, Morselli M, Fu H, Pellegrini M, Goldstein T, Aladjem MI, Rettig MB, Wilczynski SP, Shin DS, Srivatsan ES. Dysregulation of hsa-miR-34a and hsa-miR-449a leads to overexpression of PACS-1 and loss of DNA damage response (DDR) in cervical cancer. *J Biol*

- Chem. 2020 Dec 11;295(50):17169-17186. doi: 10.1074/jbc.RA120.014048. Epub 2020 Oct 7. PMID: 33028635; PMCID: PMC7863911.
7. **Brasacchio D**, Alsop AE, Noori T, Lufti M, Iyer S, Simpson KJ, Bird PI, Kluck RM, Johnstone RW, Trapani JA. Epigenetic control of mitochondrial cell death through PACS1-mediated regulation of BAX/BAK oligomerization. *Cell Death Differ.* 2017 Jun;24(6):961-970. doi: 10.1038/cdd.2016.119. Epub 2017 Jan 6. PMID: 28060382; PMCID: PMC5442465.
  8. **Miyake N**, Ozasa S, Mabe H, Kimura S, Shiina M, Imagawa E, Miyatake S, Nakashima M, Mizuguchi T, Takata A, Ogata K, Matsumoto N. A novel missense mutation affecting the same amino acid as the recurrent PACS1 mutation in Schuurs-Hoeijmakers syndrome. *Clin Genet.* 2018 Apr;93(4):929-930. doi: 10.1111/cge.13105. Epub 2017 Oct 4. PMID: 28975623.
  9. **Tenorio-Castaño J**, Morte B, Nevado J, Martinez-Glez V, Santos-Simarro F, García-Miñaur S, Palomares-Bralo M, Pacio-Míguez M, Gómez B, Arias P, Alcochea A, Carrión J, Arias P, Almoguera B, López-Grondona F, Lorda-Sanchez I, Galán-Gómez E, Valenzuela I, Méndez Perez MP, Cuscó I, Barros F, Pié J, Ramos S, Ramos FJ, Kuechler A, Tizzano E, Ayuso C, Kaiser FJ, Pérez-Jurado LA, Carracedo Á, The ENoD-Ciberer Consortium, The Side Consortium, Lapunzina P. Schuurs-Hoeijmakers Syndrome (PACS1 Neurodevelopmental Disorder): Seven Novel Patients and a Review. *Genes (Basel).* 2021 May 13;12(5):738. doi: 10.3390/genes12050738. PMID: 34068396; PMCID: PMC8153584
  10. **Lusk L**, Smith S, Martin C, Taylor C, Chung W. PACS1 Neurodevelopmental Disorder. 2020 Jul 16. In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJH, Gripp KW, Mirzaa GM, Amemiya A, editors. *GeneReviews®* [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993–2022. PMID: 32672908.
  11. **Olson HE**, Jean-Marçais N, Yang E, Heron D, Tatton-Brown K, van der Zwaag PA, Bijlsma EK, Krock BL, Backer E, Kamsteeg EJ, Sinnema M, Reijnders MRF, Bearden D, Begtrup A, Telegrafi A, Lunsing RJ, Burglen L, Lesca G, Cho MT, Smith LA, Sheidley BR, Moufawad El Achkar C, Pearl PL, Poduri A, Skraban CM, Tarpinian J, Nesbitt AI, Fransen van de Putte DE, Ruivenkamp CAL, Rump P, Chatron N, Sabatier I, De Bellecize J, Guibaud L, Sweetser DA, Waxler JL, Wierenga KJ; DDD Study, Donadieu J, Narayanan V, Ramsey KM; C4RCD Research Group, Nava C, Rivière JB, Vitobello A, Tran Mau-Them F, Philippe C, Bruel AL, Duffourd Y, Thomas L, Lelieveld SH, Schuurs-Hoeijmakers J, Brunner HG, Keren B, Thevenon J, Faivre L, Thomas G, Thauvin-Robinet C. A Recurrent De Novo PACS2 Heterozygous Missense Variant Causes Neonatal-Onset Developmental Epileptic Encephalopathy, Facial Dysmorphism, and Cerebellar Dysgenesis. *Am J Hum Genet.* 2018 May 3;102(5):995-1007. doi: 10.1016/j.ajhg.2018.03.005. Epub 2018 Apr 12. Erratum in: *Am J Hum Genet.* 2018 Oct 4;103(4):631. PMID: 29656858; PMCID: PMC5986694.
  12. Kline AD, Moss JF, Selicorni A, Bisgaard AM, Deardorff MA, Gillett PM, Ishman SL, Kerr LM, Levin AV, Mulder PA, Ramos FJ, Wierzbza J, Ajmone PF, Axtell D, Blagowidow N, Cereda A, Costantino A, Cormier-Daire V, FitzPatrick D, Grados M, Groves L, Guthrie W, Huisman S, Kaiser FJ, Koekkoek G, Levis M, Mariani M, McCleery JP, Menke LA, Metrena A, O'Connor J, Oliver C, Pie J, Piening S, Potter CJ, Quaglio AL, Redeker E, Richman D, Rigamonti C, Shi A, Tümer Z, Van Balkom IDC, Hennekam RC. Diagnosis and management of Cornelia de



Lange syndrome: first international consensus statement. *Nat Rev Genet.* 2018 Oct;19(10):649-666. doi: 10.1038/s41576-018-0031-0. PMID: 29995837; PMCID: PMC7136165.

13. **Stern D**, Cho MT, Chikarmane R, Willaert R, Retterer K, Kendall F, Deardorff M, Hopkins S, Bedoukian E, Slavotinek A, Schrier Vergano S, Spangler B, McDonald M, McConkie-Rosell A, Burton BK, Kim KH, Oundjian N, Kronn D, Chandy N, Baskin B, Guillen Sacoto MJ, Wentzensen IM, McLaughlin HM, McKnight D, Chung WK. Association of the missense variant p.Arg203Trp in PACS1 as a cause of intellectual disability and seizures. *Clin Genet.* 2017 Aug;92(2):221-223. doi: 10.1111/cge.12956. Epub 2017 Jan 23. PMID: 28111752; PMCID: PMC5513756.

Otros trabajos recopilados en Pubmed que han servido para dar contexto al trabajo son:

- Lusk L, Smith S, Martin C, et al. PACS1 Neurodevelopmental Disorder. 2020 Jul 16. In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, et al., editors. *GeneReviews®* [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2021.
- Dentici ML, Barresi S, Niceta M, Ciolfi A, Trivisano M, Bartuli A, Digilio MC, Specchio N, Dallapiccola B, Tartaglia M. Expanding the clinical spectrum associated with PACS2 mutations. *Clin Genet.* 2019 Apr;95(4):525-531. doi: 10.1111/cge.13516. Epub 2019 Feb 28. PMID: 30684285. Yu S, Zhang L, Liu C, Yang J, Zhang J, Huang L. PACS2 is required for ox-LDL-induced endothelial cell apoptosis by regulating mitochondria-associated ER membrane formation and mitochondrial Ca<sup>2+</sup> elevation. *Exp Cell Res.* 2019 Jun 15;379(2):191-202. doi: 10.1016/j.yexcr.2019.04.002. Epub 2019 Apr 7. PMID: 30970236.
- Schuurs-Hoeijmakers JH, Landsverk ML, Foulds N, Kukolich MK, Gavrilova RH, Greville-Heygate S, Hanson-Kahn A, Bernstein JA, Glass J, Chitayat D, Burrow TA, Husami A, Collins K, Wusik K, van der Aa N, Kooy F, Brown KT, Gadzicki D, Kini U, Alvarez S, Fernández-Jaén A, McGehee F, Selby K, Tarailo-Graovac M, Van Allen M, van Karnebeek CD, Stavropoulos DJ, Marshall CR, Merico D, Gregor A, Zweier C, Hopkin RJ, Chu YW, Chung BH, de Vries BB, Devriendt K, Hurles ME, Brunner HG; DDD study. Clinical delineation of the PACS1-related syndrome--Report on 19 patients. *Am J Med Genet A.* 2016 Mar;170(3):670-5. doi: 10.1002/ajmg.a.37476. Epub 2016 Feb 3. PMID: 26842493.
- Van Nuland, A., Reddy, T., Quassem, F. et al. PACS1-Neurodevelopmental disorder: clinical features and trial readiness. *Orphanet J Rare Dis* 16, 386 (2021). <https://doi.org/10.1186/s13023-021-02001-1> (ARTICULO JUAN PIE SOBRE PACS1 )

Páginas web que han servido para: completar diversos términos al trabajo, aportar gráficos e imágenes al trabajo, bases de datos sobre genes, etc.,...

- Service O. Human Phenotype Ontology < Ontology Lookup Service < EMBL-EBI [Internet]. Ebi.ac.uk. 2022 [cited 3 January 2022]. Available from: <https://www.ebi.ac.uk/ols/ontologies/hp> Asociación Española del Síndrome PACS1 [Internet]. Asociación Española de PACS1. 2022 [cited 14 February 2022]. Available from: <http://pacs1.es/>

- Ensembl genome browser 105 [Internet]. Ensembl.org. 2022 [cited 14 February 2022]. Available from: <https://www.ensembl.org/index.html> OMIM Entry - \* 610423 - PHOSPHOFURIN ACIDIC CLUSTER SORTING PROTEIN 2; PACS2 [Internet]. Omim.org. 2021 [cited 27 December 2021]. Available from: <https://omim.org/entry/610423?search=pacs2&highlight=pacs2>
- OMIM Entry - # 122470 - CORNELIA DE LANGE SYNDROME 1; CDLS1 [Internet]. Omim.org. 2021 [cited 27 December 2021]. Available from: <https://omim.org/entry/122470> (OMIM Entry - # 618067 - DEVELOPMENTAL AND EPILEPTIC ENCEPHALOPATHY 66; DEE66 [Internet]. Omim.org. 2021 [cited 27 December 2021]. Available from: <https://omim.org/entry/618067>