

---

# Genética del pie zambo

*Ishtar Calderón-Sánchez\**

---

---

## **Resumen:**

El pie zambo es una de las deformidades congénitas graves más comunes del sistema musculoesquelético, y presenta una incidencia mundial de 1/1000 nacidos vivos. La etiología de las formas sindrómicas del pie zambo es variada, y las causas del pie zambo idiopático no se conocen bien. Los avances modernos en genética han permitido a los investigadores comenzar a identificar la compleja etiología del pie zambo. Varios estudios genéticos recientes han identificado una vía clave de desarrollo, la vía transcripcional PITX1-TBX4, en la etiología del pie zambo. Ambos PITX1 y TBX4 se expresan de forma única en el miembro inferior, lo cual ayuda a explicar el fenotipo del pie visto con mutaciones en estos factores de transcripción. Sin embargo en otros estudios también se identificó una microduplicación de 2,2 Mb (Mega bases nitrogenadas: 1 millón de pares de bases nitrogenadas) en el cromosoma 17q23.1q23.2 que incluye T-box 4 (TBX4), y otros 16 genes en 3 de 66 familias reportadas como pie zambo no sindrómico; donde se encontró evidencia mínima para una asociación entre TBX4 y pie zambo y no se identificaron variantes

---

\* Doctora en Medicina General. Labora en la Caja Costarricense de Seguro Social, en Emergencias del Hospital Carlos Luis Valverde Vega de San Ramón. Dirección postal: 545-7050. Correo electrónico: ishcs@hotmail.com

de secuencia patogénica en los dos elementos potenciadores de miembro inferior TBX4 conocidos. En conjunto, estos resultados demuestran que la variación en y alrededor del gen TBX4 y la microduplicación 17q23.1q23.2 no son una causa frecuente de este defecto congénito ortopédico común y estrecha la asociación de la región 17q23.1q23.2 con los pies zambos no sindrómicos.

**Palabras clave:** PIE ZAMBO - SINDRÓMICO - IDIOPÁTICO - GENÉTICA - MICRODUPLICACIÓN - VÍA TRANSCRIPCIONAL.

The clubfoot is one of the most common serious congenital deformities of the musculoskeletal system and presents an incidence of 1/1000 live births. The etiology of the syndromic forms of clubfoot is varied and the causes of isolated clubfoot are not well understood. Modern advances in genetics have allowed researchers to begin to identify the complex etiology of clubfoot. Several recent genetic studies have identified a key developmental pathway, the PITX1-TBX4 transcriptional pathway, in the etiology of clubfoot. Both PITX1 and TBX4 are uniquely expressed in the hindlimb, which helps explain the phenotype of the foot seen with mutations in these transcription factors. However, other studies also identified a 2.2 Mb microduplication on chromosome 17q23.1q23.2 which includes T-box 4 (TBX4), and another 16 genes in 3 of 66 families reported as non-syndromic clubfoot; Where minimal evidence was found for an association between TBX4 and clubfoot and no pathogen sequence variants were identified in the two known TBX4 hindlimb enhancer elements. Altogether, these results demonstrate that variation in and around the *TBX4* gene and the 17q23.1q23.2 microduplication are not a frequent cause of this common orthopedic birth defect and narrows the 17q23.1q23.2 nonsyndromic clubfoot-associated region.

**Key words:** CLUBFOOT - SYNDROMIC - ISOLATED - GENETIC - MICRODUPLICATION - TRANSCRIPTIONAL PATHWAY

Recibido: 24 de febrero de 2017

Aceptado: 3 abril de 2017

## **Introducción**

El pie zambo es una deformidad severa que afecta todos los complejos articulares del pie, y ocurre separada de otras malformaciones óseas y articulares. Es caracterizado por ser un pie con cuatro componentes: equino (flexión plantar del tobillo), varo (aducción del talón), cavo en el mediopié y aducto en el antepié.

Presenta una incidencia a nivel mundial de 1/1000 nacidos vivos, y es la séptima deformidad más frecuente al nacer. En el mundo, el pie zambo no tratado representa la causa más frecuente de discapacidad física debido a malformación del hueso y la articulación. (Calderón & Sanabria, 2016; Cosma, & Vasilescu 2014; Sanabria, Ruiz, & Alvarez, 2010; Staheli, 2009.) El pie zambo puede ser sindrómico, resultante de causas cromosómicas, mendelianas genéticas y no genéticas, pero más comúnmente se presenta como un defecto de nacimiento idiopático. En el 20% de los casos, el pie zambo es de tipo sindrómico, siendo asociado a artrogriposis, distrofia muscular congénita, mielomeningocele, bridas amnióticas u otros síndromes genéticos como lo son la trisomía 18 o el síndrome de delección del cromosoma 22q11, con una etiología muy variada; mientras que el resto de los casos se presenta como una deformidad aislada cuya etiología aún no se conoce bien. (Dobbs & Gurnett, 2012; Lu et al, 2012).

Muchas teorías sobre la patogénesis del pie zambo como las causas neurológicas, inmovilidad intrauterina, vasculares y fibrosis del tejido conectivo han sido propuestas basadas en anomalías anatómicas específicas; sin embargo, estudios recientes evidencian la importancia de las vías de desarrollo temprano del miembro inferior en su patogénesis.

Los avances en genética han permitido a los investigadores comenzar a identificar la compleja etiología del pie zambo, y se ha hecho cada vez más evidente que este tiene un patrón de trastornos heterogéneos con un umbral poligénico que explica sus patrones de herencia. En estudios poblacionales y familiares, los análisis de segregación sugieren una etiología multifactorial con factores genéticos y ambientales que juegan un papel en la

génesis del pie zambo. El tabaquismo es el factor ambiental más asociado, presentando un aumento de 2 veces en la prevalencia de pie zambo en niños nacidos de madres que fuman durante el embarazo. Fumar en presencia de una historia familiar positiva de pie zambo aumenta el riesgo veinte veces, apoyando el papel de los genes en el pie zambo. (Dobbs & Gurnett, 2012; Ester, Tyerman, Wise, Blanton & Hecht, 2007; Lu et al, 2012).

### **Antecedentes**

La incidencia del pie zambo varía ampliamente con respecto a la etnia y el género, y aumenta con el número de parientes afectados, lo que sugiere que la etiología está al menos parcialmente influenciada por factores genéticos. La incidencia entre diferentes etnias oscila entre 0,39/1000 entre la población china, 1,2/1000 entre los caucásicos y 6,8/1000 entre los polinesios (principalmente en Hawaii y Maori). También se ha reportado una relación hombre: mujer de 2,5: 1. (Cummings, Davidson, Armstrong, & Lehman, 2002; Lu et al, 2012).

Los hermanos de los individuos afectados tienen un aumento hasta de 30 veces en riesgo de padecer deformidad de pie zambo. El pie zambo afecta a ambos hermanos en el 32,5% de los gemelos monocigotos, pero solo 2,9% de los gemelos dicigotos. También se ha reportado (Lochmiller, Johnston, Scott, Risman & Hecht, 1998) que el 24,4% de los individuos afectados tienen antecedentes de historia familiar positiva por pie equino varo idiopático.

Hasta la fecha, los estudios de asociación genética han sugerido que los genes apoptóticos, homeobox A y D (HOXA y HOXD) y de contracción muscular contribuyen a la responsabilidad genética subyacente. Varios estudios genéticos recientes identificaron una vía de desarrollo clave, la vía transcripcional de PITX1-TBX4. Ambos, PITX1 (Factor de transcripción homeodominio 1) y TBX4 (factor de transcripción con caja T) se expresan únicamente en el miembro inferior, lo cual explica el fenotipo del pie visto con las mutaciones en estos factores de transcripción. (Cummings et al, 2002; Lu et al, 2012).

## **Genética**

Basado en complejos patrones de herencia, es poco probable que el pie zambo idiopático se deba a mutaciones dentro de un solo gen, sino que es multifactorial y/o poligénico en la naturaleza. Un argumento en contra de un sólo gen como causa de pie zambo idiopático es el hecho de que hay una discrepancia sexual, los varones son más comúnmente afectados que las mujeres, en ausencia de la herencia relacionada con el sexo. Un modelo de herencia poligénico con un umbral de sexo dimórfico para el fenotipo afectado explicaría esta discrepancia.

El apoyo a este modelo de umbral poligénico para la herencia del pie zambo se ha demostrado mediante el efecto Carter: los individuos del sexo menos comúnmente afectado tienen una mayor carga genética y por lo tanto son más propensos a transmitir la enfermedad a sus hijos. La causa fisiológica de este dimorfismo sexual, en el que los hombres tienen el doble de probabilidades de ser afectados que las mujeres, es actualmente desconocida. (Dobbs & Gurnett, 2012).

Existe alguna evidencia que sugiere que la hipótesis enfermedad común - variante común se aplica a pie zambo, en el que la herencia de las variantes genéticas comunes (es decir, polimorfismos de un sólo nucleótido presentes en una frecuencia de alelo > 5%), cada uno con un pequeño aumento en riesgo, contribuye a la susceptibilidad del pie zambo. Se ha informado que las variantes genéticas comunes (polimorfismos) cerca de los genes HOX homeobox, el factor de crecimiento similar a la insulina de unión a la proteína 3 (IGFBP3), y genes caspasa (los cuales son mediadores esenciales de los procesos de apoptosis de especial relevancia en los procesos morfogénicos del desarrollo embrionario, como en el caso del gen Casp10 asociado a la morfogénesis de los miembros) se han asociado con pie zambo idiopático. Sin embargo, estas variantes genéticas son de efecto relativamente pequeño y necesitan ser replicadas en cohortes más grandes para confirmar su importancia en la susceptibilidad del pie zambo. (Dobbs & Gurnett, 2012; Ester et al, 2007).

Una alternativa a la hipótesis de la enfermedad común - variante común es que el pie zambo puede explicarse mejor por la hipótesis enfermedad común - variante rara en la que las variantes genéticas raras (con frecuencias de alelos < 5%) confieren un riesgo moderado con mayor penetrancia. Estudios recientes que respaldan esta hipótesis han identificado una vía de desarrollo clave importante en la etiología del pie zambo, la vía transcripcional PITX1-TBX4, responsable del desarrollo temprano de las extremidades. Una mutación sin sentido en PITX1, un factor de transcripción de homeodominio relacionados con bicoides (primera proteína demostrada en actuar como un morfógeno), se identificó en una gran familia multigeneracional con predominio de pie zambo idiopático segregando con penetración reducida. Dado que el gen PITX1 se expresa predominantemente en el miembro inferior y no en el antebrazo, este es el primer gen implicado en el pie zambo para explicar la implicación específica del pie. (Dobbs & Gurnett, 2012).

Aunque las mutaciones en PITX1 no son una causa común de pie zambo aislado, las variantes recurrentes del número de copias del cromosoma 17q23 que implican el factor de transcripción T-box TBX4, un objetivo transcripcional de PITX1, son responsables de aproximadamente el 5% de todos los pacientes con enfermedad familiar de pie zambo idiopático. Tanto las duplicaciones como las deleciones de la región del cromosoma 17q23 dan como resultado el pie zambo, resaltando la importancia crítica de la dosificación del gen TBX4. Similar a PITX1, TBX4 se expresa únicamente en el miembro inferior, explicando el fenotipo pie. El estudio genético de los *microarrays* (chips) cromosómicos (CMA) puede detectar las variantes del número de copias del cromosoma 17q23, que son clínicamente significativas para su posible asociación con casos severos, refractarios al tratamiento y displasia de cadera.

La implicación de los genes involucrados específicamente en el desarrollo de los miembros inferiores en la etiología del pie zambo hace que otros genes comúnmente hipotetizados para el pie zambo, como los genes contráctiles musculares involucrados en la artrogriposis distal, sean menos probables, ya que las mutaciones en estos genes causan afectación de extremidades superiores e inferiores y no han sido identificadas en pacientes con pie zambo idiopático. (Cummings et al, 2002).

Se han realizado estudios con el fin de evaluar si la variación del número de copias y/o la variación alrededor de TBX4 desempeñan un papel en el pie zambo, para lo cual se tomó como muestra el conjunto de datos basado en la familia, que estaba compuesto por 605 familias (148 familias multiplexadas (presencia de pie zambo en varios miembros de la familia): 112 no hispanas blancas [NHW] y 36 hispanas, 457 familias simples (presencia del pie zambo en un solo miembro de la familia): 211 NHW y 246 hispanos). Las familias fueron reclutadas, después del consentimiento informado de las clínicas de los pies zambo, en los Hospitales Shriners para Niños de Houston, Los Ángeles y Shreveport, Texas Hospital Escocés Rite para Niños de Dallas y la Universidad de Columbia Británica. Se realizaron exámenes clínicos y radiográficos en probandos (individuos con pie zambo) y miembros de la familia en todos los centros para excluir las causas sindrómicas del pie zambo. La etnicidad se basó en auto-reporte, y los participantes hispanos eran de ascendencia mexicana. Después de obtener el consentimiento informado, se recogieron muestras de sangre y/o saliva de individuos afectados y miembros de la familia. El ADN se extrajo utilizando el kit de aislamiento de ADN de Roche para sangre de mamífero (Roche, Suiza) o purificador de Oragene para saliva (ADN Genotek, Inc. Ottawa, Ontario, Canadá), siguiendo el protocolo del fabricante.

En este estudio se identificó una microduplicación 17q23.1q23.2 en un probante de origen blanco no hispano de 148 casos familiares (0,68%); la microduplicación no estaba presente en ninguno de los 457 probandos simplex. Este probando era de una familia grande con el pie zambo segregado a través de seis generaciones en un patrón autosómico dominante con la expresividad variable. El pie zambo estuvo presente en 12 individuos que estaban relacionados a través de otros que tenían anomalías de pies cortos- anchos con anomalías en los dedos del pie. Suponiendo que todos los individuos con anomalías de los pies en esta familia llevan la duplicación, el pie zambo bilateral fue la anomalía presentada en 16/25 individuos con la duplicación, mientras que las 9 restantes con la duplicación tuvieron anomalías en los pies. Los fenotipos encontrados van desde pie zambo severo a pies cortos- anchos con dedos anormales cortos. Las manos eran normales en todos los individuos con la microduplicación (ganancia en el número de copias del cromosoma 17q23.1q23.2).

También, el ADN de dos familiares fueron sometidos a análisis de *microarrays* cromosómicos para definir los límites de la duplicación, donde se mostró una ganancia de número de copias de la banda cromosómica 17q23.2, que abarca entre 0.319 Mb y 0.348 Mb en tamaño, e incluye duplicaciones completas de TBX4 y NACA2 (subunidad alfa 2 asociada al polipéptido naciente) y exones 15 a 20 de BRIP1 (BRCA1 proteína interactiva C-Terminal Helicasa 1). La región delineada para la ganancia del número de copias está cubierta por 53 sondas oligonucleotídicas. (Lu et al, 2012).

En otro estudio, se identificó una microduplicación de 2,2 Mb del cromosoma 17q23.1q23.2 en 3 de 66 familias de etnia desconocida con pie zambo idiopático. Una familia adicional de pie zambo tenía una supresión que implicaba la misma región. Aunque esta región contiene 17 genes, TBX4 fue de particular interés, por su expresión específica en miembro inferior. (Alvarado et al, 2010).

Para identificar los genes responsables del pie zambo aislado, se identificaron 66 probandos del pie zambo idiopático con al menos un pariente afectado de primer grado. Se consideró que los individuos tenían pie zambo idiopático aislado sólo en ausencia de anomalías congénitas adicionales (por ejemplo, defecto cardíaco, hipospadias, retraso del desarrollo) o etiología subyacente conocida (por ejemplo, artrogriposis, mielomeningocele, miopatía).

La microduplicación del cromosoma 17q23.1q23.2 es segregada de manera autosómica dominante en las tres familias, pero con penetrancia reducida. La baja estatura leve fue frecuente y una mujer tuvo displasia de cadera en el desarrollo. Ninguno de los individuos afectados tuvo defectos cardíacos, dismorfismos faciales o anomalías cognitivas y de comportamiento que se asocian comúnmente con la microdelección del cromosoma 17q23.1q23.2.

La región del cromosoma 17q23.1q23.2 contiene el factor de transcripción T-box TBX4, un blanco probable del factor de transcripción relacionado con bicoides PITX1 previamente implicado en la etiología del pie zambo. El resultado sugiere



que la microduplicación de este cromosoma 17q23.1q23.2 es una causa relativamente común del pie zambo idiopático familiar y proporciona una fuerte evidencia que vincula la etiología del pie zambo con el desarrollo anormal de miembros tempranos.

En resumen, se demostró que cuatro de los 66 probandos con pie zambo familiar aislados llevan una variante en el número de copias del cromosoma 17q23.1q23.2, tres microduplicaciones y una microdelección, que segrega con pie zambo en las cuatro familias. Esto representa una de las pocas variantes en el número de copias de cromosomas que se asocian con un defecto congénito aislado y amplía el papel de las variantes en el número de copias recurrentes en la etiología de la enfermedad humana.

El gen *TBX4* es importante en la especificación del tejido conectivo requerido para el modelado de músculos y tendones. Se trata de un objetivo transcripcional del homeodominio pareado 1 (*PITX1*), y se cree que la iniciación de los miembros se produce a través de la activación de la cascada de señalización *Wnt / FGF* (*Wingless* e *Int/Factor* de crecimiento fibroblástico). Las mutaciones de pérdida de función heterocigóticas en *TBX4* causan síndrome de pequeña patela, también conocido como displasia isquiopatelar o síndrome de Scott-Taor. Además de las pequeñas rótulas, hay ausencia, retraso u osificación irregular de las uniones isquiopúbicas y aumento del espacio entre el primer y segundo dedo y el cuarto y quinto rayos del pie con pie plano. Las deleciones de 17q23.1q23.2 están bien caracterizadas y causan una constelación de anomalías incluyendo defectos cardíacos y anomalías en los miembros, que no incluyen el pie zambo. Por el contrario, la microduplicación de la misma región del cromosoma 17 se asocia con el pie zambo y otras anomalías esqueléticas. Dichos estudios indican que la microduplicación de 17q23.1q23.2 puede causar un espectro de anomalías en los pies que van desde pies largos y anchos hasta pie zambo.

El tamaño variable de la deleción, que va desde 2,2 Mb en las familias de Alvarado et al. (2010) a 350 kb en las otras familias pueden determinar la extensión de otras anomalías. Es importante destacar que las familias de microduplicación de Alvarado tuvieron anomalías esqueléticas adicionales en la pelvis,

epífisis tibial calcánea y distal. Además, los genes modificadores probablemente influyen en la gravedad de las anomalías del pie. En las otras familias, la microduplicación implica la ganancia de número de copias de TBX4 y NACA2 (Subunidad alfa 2 del complejo polipéptido naciente) y duplicación parcial de BRIP1 (BRCA1 proteína interactiva C-Terminal Helicasa 1), reduciendo así significativamente la región crítica para el pie zambo. (Alvarado et al, 2010; Lu et al, 2012).

## **Conclusiones**

El gen TBX4 desempeña un papel en la especificación de la formación de miembros inferiores; sin embargo, no está claro cómo la sobreexpresión de TBX4 contribuye a las anomalías del pie observadas en las familias estudiadas. La pérdida de TBX4 durante el desarrollo del miembro humano afecta los elementos esqueléticos, y las mutaciones en TBX4 causan un patrón de anomalías esqueléticas. Recientemente, se ha demostrado que PITX1 también juega un papel importante en la formación de miembros inferiores. La aparición de al menos anomalías menores en los pies en todos los portadores de duplicación sugiere que la sobreexpresión de TBX4 está causando perturbación en el desarrollo del pie.

Las familias descritas en ambos estudios con la microduplicación 17q23.1q23.2 son multiplex, es decir que hay más de un miembro de la familia afectado. La microduplicación no estuvo presente en ninguno de los casos simples ni en más del 99% de los casos familiares, y se caracteriza por expresividad variable y penetrancia incompleta.

Por lo tanto, la microduplicación es una causa rara de pie de zambo aislado y se puede segregar como un fenotipo autosómico dominante. Es importante destacar que en los trabajos revisados, tanto de Alvarado (2010) como de Lu (2012), se reduce la región crítica para la ganancia de número de copias de los 2,2 Mb previamente informados, a aproximadamente 350 kb (kilo bases: mil pares de bases nitrogenadas) y solo tres genes.

De estos tres genes, TBX4 parece ser el más probable responsable del espectro de las anomalías del pie. Por otra parte, no hay pruebas convincentes en nuestro conjunto de datos para una asociación entre el pie zambo idiopático y TBX4; tampoco existían variaciones significativas presentes en los dos potenciadores de extremidades inferiores TBX4 conocidos secuenciados en 95 pacientes de familias simplex. Por lo tanto, todos los casos familiares de pie zambo deben ser estudiados por esta duplicación cromosómica, pero se necesita realizar estudios adicionales, tales como la resecuenciación de TBX4 en todos los probandos de pie zambo, para descubrir la causa del pie zambo idiopático.

Aunque TBX4 sigue siendo el gen candidato para el pie zambo congénito que involucra duplicaciones de 17q23.1-q23.2, la explicación para la expresividad y penetrancia variables es desconocida.

## Bibliografía

- Alvarado A. D. M., Aferol, H., McCall, K., Huang, J. B., Techy, M., Buchan, J. & Gurnett, C. A. (2010). Familial isolated clubfoot is associated with recurrent chromosome 17q23. 1q23. 2 microduplications containing TBX4. *The American Journal of Human Genetics*, 87(1), 154-160.
- Calderón, S. I. y Sanabria, A. G. (2016). Pie zambo en Costa Rica: Impacto de la Técnica Ponseti. *Revista Médica de Costa Rica y Centroamérica*, 73(620), 575-582
- Carroll, N. C. (2012). Clubfoot in the twentieth century: where we were and where we may be going in the twenty-first century. *Journal of Pediatric Orthopaedics B*, 21(1), 1-6.

- Cosma, D. I., & Vasilescu, D. E. (2014). Ponseti treatment for clubfoot in Romania: a 9-year single-centre experience. *Journal of Pediatric Orthopaedics B*, 23(6), 512-516.
- Cummings, R. J., Davidson, R. S., Armstrong, P. F., & Lehman, W. B. (2002). Congenital clubfoot. *J Bone Joint Surg Am*, 84(2), 290-290.
- Dobbs, M. B., & Gurnett, C. A. (2012). Genetics of clubfoot. *Journal of pediatric orthopaedics. Part B*, 21(1), 7.
- Ester, AR, Tyerman, G., Wise, CA., Blanton, SH., Hecht, JT. (2007) Apoptotic gene analysis in idiopathic talipes equinovarus (clubfoot) *Clin Orthop Relat Res*. 462:32-7.
- Hubbard, M. C. (2016). Essentials of Musculoskeletal Care 5 edition. *American Academy of Orthopaedic Surgeons*. 1055-1059
- Lochmiller C, Johnston D, Scott A, Risman M, Hecht JT. (1998). Genetic epidemiology study of idiopathic talipes equinovarus. *Am J Med Genet*;79:90-6
- Lu, W. Bacino, CA., Richards, BS., Alvarez, C., VanderMeer, JE., Vella, M., Ahituv, N., Sikka, N., Dietz, FR., Blanton, SH., Hecht, JT. (2012). Studies of TBX4 and chromosome 17q23.1q23.2: An uncommon cause of nonsyndromic clubfoot. *Am J Med Genet Part A*. 158A:1620-1627.
- Sanabria, A. G., Ruiz, R. L., y Alvarez, O. M. (2010). Manejo y seguimiento del pie zambo idiopático en niños mayores de 3 años de edad por medio del método de Ponseti. *Revista Médica de Costa Rica y Centroamérica*, 67(594), 377-384.
- Stahely, L. (2009). *Pie zambo: el método de Ponseti*. [Formato libro: PDF]. 3a. ed. Recuperado 15 diciembre de 2016, de [http://www.global-help.org/publications/books/help\\_cfponsetispanish.pdf](http://www.global-help.org/publications/books/help_cfponsetispanish.pdf)