



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

DISTROFINOPATÍAS: ANÁLISIS CLÍNICO Y
MOLECULAR DE UNA COHORTE DE PACIENTES
MASCULINOS Y UNA PACIENTE FEMENINA.

T E S I S

PARA OBTENER EL TÍTULO DE ESPECIALISTA EN:

GENÉTICA MÉDICA

P R E S E N T A:

Dra. Verónica González Castellanos

TUTOR:

Dr. Rodrigo Moreno Salgado

HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO FEDERICO GÓMEZ

CIUDAD DE MÉXICO

FEBRERO 2024





Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

HOJA DE FIRMAS

**DISTROFINOPATÍAS: ANÁLISIS CLÍNICO Y MOLECULAR DE UNA COHORTE
DE PACIENTES MASCULINOS Y UNA PACIENTE FEMENINA**

DR. SARBELIO MORENO ESPINOSA

DIRECTOR DE ENSEÑANZA Y DESARROLLO ACADÉMICO

DR. RODRIGO MORENO SALGADO

TUTOR ACADÉMICO Y METODOLÓGICO

DRA. VERÓNICA GONZÁLEZ CASTELLANOS

SUSTENTANTE

DEDICATORIA

Gracias a mis hermanas, por estar presentes, por creer en mí más que nadie, por darme fortaleza, y por enseñarme que existe el amor incondicional.

A mis padres, por inculcarme buenos valores, guiarme en la vida, y mostrarme con sus actos la bondad y empatía con las personas.

A mis amigas, que me acogieron en su casa y su corazón, y se volvieron mi nuevo hogar.

A Chofito, por los paseos que compartimos, y enseñarme que la felicidad se encuentra en los pequeños momentos.

A Gina y Juan Pablo, por escuchar sin juzgarme y darme las herramientas para seguir creciendo como persona.

A mis compañeros, adscritos y compañeras de laboratorio, por todas las enseñanzas y paciencia conmigo.

A la Dra. Alejandra Reyes, por ser nuestro ejemplo como genetista y persona, y enseñarnos que debemos enfocarnos en las cosas buenas de las personas y situaciones.

A todas las personas que a lo largo de estos años han creído en mí, y me han alentado a continuar mi camino.

A la Vero del pasado, gracias, por no rendirte, por aprender de tus errores, por luchar para mantener la cordura y conservar tu identidad, por aprender que cada experiencia tiene algo bueno que aportar a la vida, por ser quien somos ahora.

Finalmente, gracias a mis pacientes y sus madres, por enseñarme que vale la pena cada día, por hacerme ver que siempre hay motivos ser feliz. Sin ellos esto no sería posible.

Con amor, Vero.

Contenido

Antecedentes.....	1
Marco teórico	2
Distrofias musculares	2
Distrofias musculares en México.....	3
Distrofinopatías	3
Epidemiología	4
Bases moleculares de las distrofinopatías.....	4
Gen DMD	4
Espectro mutacional.....	5
Correlación genotipo-fenotipo.....	6
Genes modificadores.....	7
Fisiopatología de las distrofinopatías.....	8
Distrofina	8
Degeneración muscular.....	8
Manifestaciones clínicas distrofinopatías	10
Manifestaciones clínicas en Distrofia muscular de Duchenne y distrofia muscular de Becker	10
Manifestaciones clínicas en pacientes con miocardiopatía dilatada asociada a DMD	11
Manifestaciones clínicas en mujeres heterocigotas	11
Métodos diagnósticos	12
Tratamiento de las distrofinopatías	14
Tratamiento médico	14
Manejo farmacológico.....	14
Nuevas terapias	15
Asesoramiento genético.....	15
Participantes.....	16
Descripción del proyecto.....	16
Planteamiento del problema.....	17
Pregunta de investigación	17
Justificación	17
Hipótesis.....	18
Objetivos.....	18

Objetivo general	18
Objetivos específicos	18
Metodología	19
Población de estudio	19
Criterios de inclusión	19
Criterios de exclusión	19
Criterios de eliminación.....	19
Tamaño de la muestra:.....	20
Análisis y métodos estadísticos de los datos.....	20
Descripción de variables.....	21
Resultados	23
Discusión.....	33
Conclusiones.....	36
Cronograma de actividades.....	37
Referencias bibliográficas.....	38
Limitación del estudio	42
Anexos	43
Anexo 1: Consentimiento informado para extracción de DNA.....	43
Anexo 2: Consentimiento informado Invitae	44
Anexo 3: Abreviaturas	45

Antecedentes

En México existen pocos estudios que analizan el espectro mutacional de pacientes con distrofinopatías.

En 2015 López y colaboradores compararon los perfiles de mutación de las poblaciones representadas en la Base de Datos de Variación de Código Abierto DMD Leiden con datos originales de pacientes mexicanos (n = 162) con diagnóstico clínico de la enfermedad. (15) Encontrando que a diferencia de otros países; Alemania y México tienen frecuencias similares para el salto de los exones 44 y 46, que fueron más altas que en otras poblaciones. (15) Así como presencia de variantes patogénicas pequeñas en 10.52% de los pacientes con clínica de DMD. (15)

En 2018 Yuan y col. Estudiaron 95 pacientes chinos con DMB. Diecinueve casos (20,0%) tenían mutaciones pequeñas y 76 casos (80,0%) tenían reordenamientos importantes, incluidos 67 casos (70,5%) de deleciones exónicas y 9 casos (9,5%) de duplicaciones exónicas. Se identificaron 50 casos (65,8%) de mutaciones en el marco y 26 casos (34,2%) de mutaciones en el cambio de marco. (21)

En 2015 Juan-Mateu y col. Estudiaron 576 pacientes con distrofinopatía, encontrando que 471 de estas mutaciones eran grandes reordenamientos intragénicos. De estos, 406 (70,5%) fueron deleciones exónicas, 64 (11,1%) fueron duplicaciones exónicas y una fue un reordenamiento complejo de deleción/duplicación (0,2%). Se identificaron mutaciones pequeñas en 105 casos (18,2%), la mayoría de los cuales eran sin sentido / cambio de marco (75,2%). Las mutaciones en los sitios de empalme, sin embargo, fueron relativamente frecuentes (20%). (22)

En 2011 Magri y col. Estudiaron a 320 pacientes italianos, la distribución de las mutaciones fue la siguiente: 121 deleciones (65,8%), 25 duplicaciones (13,6%), 17 mutaciones sin sentido (9,2%), 9 microdeleciones/inserciones (4,9%), 7 mutaciones que afectan al sitio de splicing(3,8%), en 5 pacientes no se encontraron variantes(2.7%). (20)

Marco teórico

Distrofias musculares

Las distrofias musculares son enfermedades primarias del músculo debido a mutaciones en más de 40 genes, que dan lugar a cambios distróficos en la biopsia muscular. (12) Se distinguen por debilidad progresiva y desgaste muscular que generalmente provocan discapacidad. (1).

Las enfermedades neuromusculares son condiciones complejas que no sólo afectan al músculo, sino también a la unión neuromuscular, al nervio periférico o a la motoneurona espinal.(2)

Las principales clases de proteínas involucradas son proteínas de matriz extracelular y membrana basal, proteínas asociadas a sarcolemas, enzimas o proteínas con función enzimática, proteínas de membrana nuclear, proteínas sarcoméricas, proteínas del retículo endoplásmico y otras proteínas. (12)

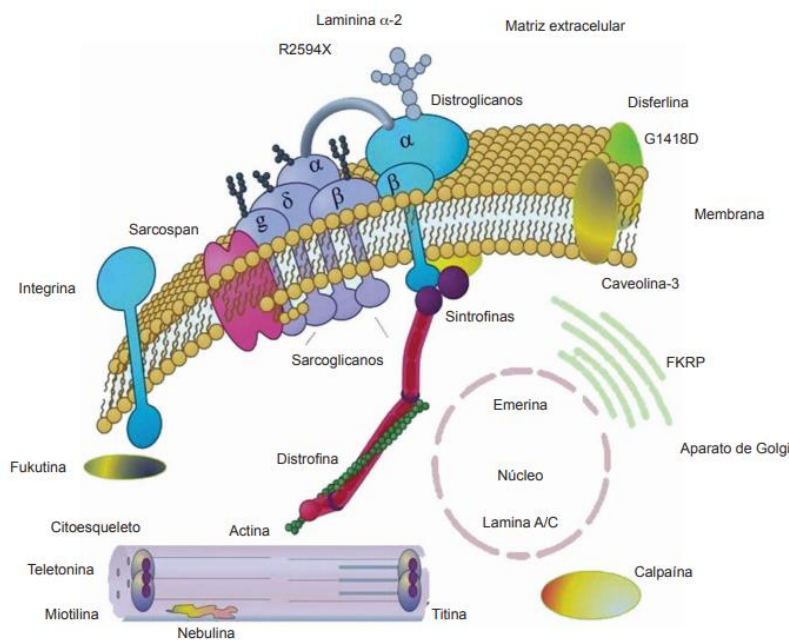


Figura 1. Esquema de una fibra muscular que muestra distintos compartimentos y proteínas asociadas con la distrofia muscular: el citoplasmático, el transmembranal y la matriz extracelular. Figura 1. Tomada y modificada de Coral Vázquez, 2010 (1)

Dichos padecimientos se caracterizan por la pérdida progresiva de fuerza muscular y la degeneración de los músculos y nervios que los controlan, produciendo debilidad, atrofia o pseudohipertrofia muscular, miotonía, calambres o contracturas musculares, mialgias, o en ocasiones, trastornos sensitivos. (2)

Distrofias musculares en México

En México existen pocos estudios relacionados con la distribución de distrofias musculares. En 2012 Gómez- Díaz y colaboradores analizaron 290 biopsias de pacientes mexicanos con diagnóstico clínico de distrofias musculares, mediante tinción de inmunofluorescencia encontrando que el 52.36% se relacionaron con deficiencia de distrofina. (3)

En 2009 6. González-Herrera y colaboradores analizaron 40 varones con clínica de distrofinopatía, y 33 familiares femeninos (Perteneientes a 26 familias), encontrando una frecuencia de deleciones del 67,5% y un estado de portador en el 66,67% de las mujeres analizadas. (6)

En México, el 3,3 % de los pacientes con diagnóstico presuntivo de DMD/BMD demostraron mutaciones en *FKRP* que conducen a LGMD2I, que tiene un patrón de herencia y un riesgo de recurrencia diferentes. (7)

Distrofinopatías

Las distrofinopatías cubren un espectro de enfermedad muscular ligada al cromosoma X que va de leve a grave que incluye distrofia muscular de Duchenne, distrofia muscular de Becker y miocardiopatía dilatada asociada a DMD (MCD). El extremo leve del espectro incluye los fenotipos de aumento asintomático de la concentración sérica de creatina fosfoquinasa (CK) y calambres musculares con mioglobinuria. El extremo severo del espectro incluye enfermedades musculares progresivas que se clasifican como distrofia muscular de Duchenne/Becker cuando el músculo esquelético se ve afectado principalmente y como MCD asociada a DMD cuando el corazón se ve afectado principalmente. (24)

La distrofinopatía es un trastorno multisistémico con alteraciones complejas de la homeostasis de todo el cuerpo. Las características distintivas de las alteraciones debidas a la deficiencia de distrofina incluyen (i) degeneración progresiva del músculo esquelético en asociación con el reemplazo de grasa, inflamación crónica y fibrosis reactiva; (ii) escoliosis, deformación articular y contracturas; (iii) insuficiencia respiratoria; (iv) miocardiopatía de inicio tardío; (v) deficiencias neurológicas que pueden causar deficiencias cognitivas, problemas emocionales y déficit de atención; (vi) alteraciones endocrinas, metabólicas y bioenergéticas; (vii) disfunción gastrointestinal; (viii) enfermedad del hígado graso; y (ix) disfunción renal y del tracto urinario. (23)

Epidemiología

La distrofia muscular de Duchenne representa la distrofia muscular más común en los niños, con una incidencia anual de aproximadamente uno de cada 5000 hombres vivos (13) y una prevalencia estimada de 8,29 por 100 000 hombres. La distrofia muscular de Becker tiene una prevalencia de 7,29 por 100 000 hombres (12, 18).

La DMD en mujeres es muy rara (<1 por millón) y se limita a informes de casos de individuos con síndrome de Turner, una translocación que involucra DMD o aquellos con mutaciones bialélicas de DMD. (16)

La supervivencia de los pacientes con DMD ha mejorado con el tiempo; de hecho, un estudio en Francia encontró que la esperanza de vida media era de 25,77 años para los nacidos antes de 1970 y de 40,95 años para los nacidos después de 1970. (16)

Bases moleculares de las distrofinopatías

Gen DMD

El gen DMD es el gen humano más grande conocido, contiene 79 exones que abarcan 2,2 Mb (11) hasta 2.4Mb (16). La tasa de mutación es relativamente alta; en uno de cada tres casos, la DMD es causada por una mutación *de novo*. (11)

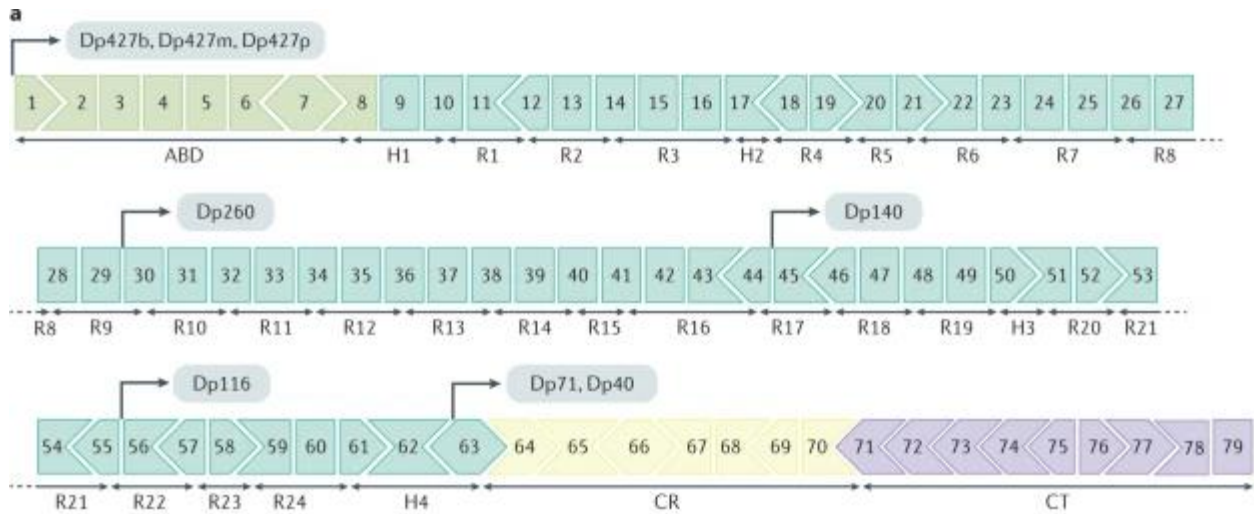


Figura 2. El gen DMD de longitud completa de ~2.4 Mb contiene ocho promotores y 79 exones. Tres promotores aguas arriba (Dp427b, Dp427m y Dp427p) producen el DNAc de longitud completa de ~11.4 kb y la proteína distrofina de longitud completa de 427 kDa. Cuatro promotores internos (Dp260, Dp140, Dp116 y Dp71) generan isoformas no musculares truncadas N-terminales de distrofina. El empalme alternativo en el extremo 3' y la poliadenilación alternativa del RNA producen isoformas adicionales de distrofina como Dp40. La proteína de longitud completa generada a partir de Dp427m es la isoforma muscular primaria. Tomado y modificado de (16).

Espectro mutacional

Aproximadamente el 60-70% de las mutaciones en pacientes con DMD son deleciones, el 5-15% son duplicaciones y el 20% son mutaciones puntuales, pequeñas deleciones o inserciones. Por el contrario, en pacientes con DMB, el 60-70% de las mutaciones son deleciones, el 20% son duplicaciones y el 5-10% son mutaciones puntuales, pequeñas deleciones o inserciones. (16)

En 2011 Magri y col, estudiaron la distribución de las mutaciones en *DMD* en pacientes italianos encontrando: 121 deleciones (65,8%), 25 duplicaciones (13,6%), 17 mutaciones sin sentido (9,2%), 9 microdeleciones/inserciones (4,9%), 7 mutaciones que afectan al sitio de splicing(3,8%), en 5 pacientes no se encontraron variantes(2.7%). (20 Y en pacientes con

DMB se encontraron mutaciones en el 97,1% de los probandos: 84 deleciones (82,4%), 8 duplicaciones (7,8%), 7 mutaciones puntuales (6,8%; 2 sin sentido, 3 empalmes, 1 sin sentido, 1 inserción pequeña). (20)

En 2019 Nascimento reportó una distribución de variantes puntuales tanto en DMD como DMB encontrando: 51% variantes sin sentido, 24% cambio de marco de lectura, 19% variantes en sitio de splicing, 5% variantes de sentido equivocado y 1% pseudoexón. (25)

Correlación genotipo-fenotipo

Los diferentes espectros de las enfermedades pueden explicarse por la "regla del marco de lectura". (17)

En el músculo, la distrofina une la actina F citoesquelética con la matriz extracelular a través de sus dominios N-terminal y C-terminal. En la DMD, las mutaciones de cambio de marco o mutaciones sin sentido causan un truncamiento prematuro de la traducción de proteínas, lo que lleva a una distrofina no funcional e inestable. Por el contrario, en la DMB, las mutaciones en el centro del gen mantienen el marco de lectura y permiten la producción de distrofinas con menos repeticiones similares a la espectrina, pero que tienen dominios de unión a la matriz F y extracelular y, por lo tanto, son parcialmente funcionales. (16)

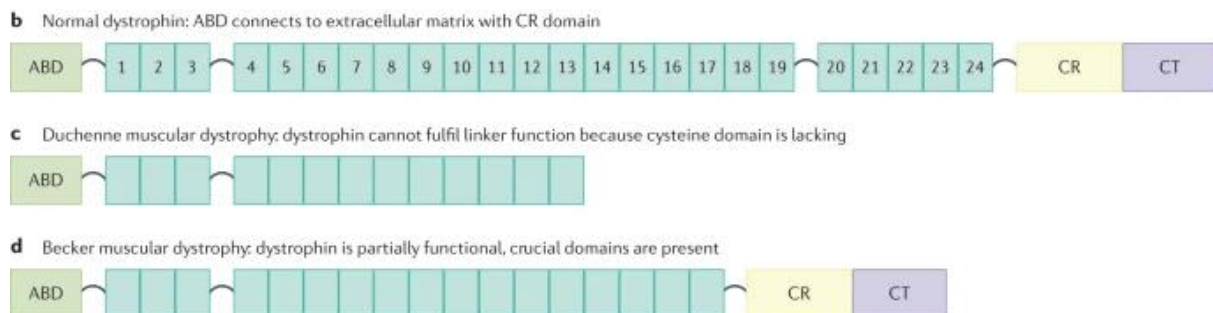


Figura 3. B. Distrofina de longitud completa. C. Proteína truncada en DMD. D. DMB se produce una distrofina parcialmente funcional que contiene los dominios cruciales necesarios para conectarse a la actina F y la matriz extracelular. Tomado y modificado de (16).

Cerca del 10% de las mutaciones genéticas no siguen la regla del marco de lectura, es decir, los pacientes con mutaciones en el marco pueden presentar DMD y los pacientes con mutaciones fuera del marco pueden presentar DMB. (11)

Además, para los pacientes con DMB y DMD, la gravedad de la enfermedad puede variar para las mismas mutaciones, a veces incluso dentro de la misma familia y también hay variación en el grado en que el corazón está afectado. Como tal, lo más probable es que los modificadores genéticos también desempeñen un papel en la determinación de la gravedad de la enfermedad. (11)

Las deleciones en la región de puntos críticos (exones 45-55) generalmente se asocian con una presentación más leve de la enfermedad. Las deleciones entre los exones 10 y 40 son aún más leves y a veces solo se asocian con calambres y mialgias y a veces se encuentran en individuos asintomáticos. (11)

Si consideramos el sitio de mutación (independientemente del tipo de mutación) a lo largo del gen DMD, los pacientes presentaron afectación motora, cardíaca y respiratoria similar. La deambulaci3n se perdi3 a los $10,7 \pm 2,3$ a3os en variantes proximales y a los $10 \pm 2,0$ a3os en pacientes portadores de mutaciones en la parte distal del gen. (20)

El sitio de la mutaci3n del gen DMD determina cu3ntas isoformas de distrofina cerebral se ven afectadas, proporcionando una explicaci3n de la variabilidad en la afectaci3n cerebral observada. (12)

Genes modificadores

Un modificador gen3tico es un locus gen3tico que cambia positiva o negativamente el fenotipo de una enfermedad primaria que causa una mutaci3n. (15)

En las distrofinopatías, los modificadores gen3ticos pueden afectar la edad de inicio, los grupos musculares afectados, la progresi3n de la enfermedad y la gravedad. (15)

Entre los genes modificadores que se han encontrado esta *SPP1* y *LTBP4*, ambos convergen en la regulaci3n de TGF β , as3 como *Anxa6* que codifica para la Anexina A6, que es una prote3na de uni3n a calcio que regula la v3a de lesi3n y el resellado sarcol3mico. (15)

Fisiopatología de las distrofinopatías

Distrofina

DMD codifica la distrofina muscular específica (Dp427m) además de otras dos isoformas de longitud completa de los promotores Dp427c y Dp427p^{32,33}; estas isoformas se expresan en neuronas corticales y células cerebelosas de Purkinje, respectivamente. La isoforma Dp427p se identificó en ratones y la investigación sugiere que la expresión de Dp427p en el cerebelo humano es muy baja durante el desarrollo embrionario y postnatal. Además de las isoformas de distrofina de longitud completa, las isoformas de distrofina más cortas son producidas por cuatro promotores internos. Estas isoformas se expresan principalmente en diferentes tejidos; Dp260 se expresa principalmente en la retina, Dp140 se expresa en el sistema nervioso central, riñón y en altos niveles en el cerebro embrionario, Dp116 se expresa principalmente en nervios periféricos y células de Schwann, y Dp71 se expresa ubicuamente, pero a niveles más altos en las células neuronales que en otros tipos de células. Otra isoforma, Dp40, surge del mismo promotor que Dp71 pero está poliadenilada en el intrón 70. (16)

El complejo glicoproteico asociado a la distrofina (DAGC), que comprende distrofina y sarcoglicanos, además de distroglicano, pertenece al grupo de proteínas asociadas al sarcolema. (12). El DAGC tiene un papel importante en la estabilización de las fibras musculares contra las fuerzas mecánicas de la contracción muscular al proporcionar una conexión amortiguadora entre el citoesqueleto y la matriz extracelular. (12)

Degeneración muscular

La deficiencia de distrofina resulta en el desmontaje del DAGC y en la pérdida de la interacción entre la actina F y la matriz extracelular. Como el DAGC tiene importantes funciones mecánicas y de señalización en el mantenimiento de la integridad estructural de las células musculares y la actividad contráctil, el desmontaje del DAGC conduce a consecuencias de gran alcance en la función de las células musculares. (16)

La fuerza se genera a través de ciclos repetidos de contracción y relajación del sarcómero, lo que requiere el manejo eficiente de la tensión mecánica por el sarcolema. En el músculo

sano, la integridad del sarcolema se mantiene a través de los enlaces entre el citoesqueleto, el sarcolema y la matriz extracelular a través del DAGC y el complejo de integrinas. En la DMD, el desmontaje de DAGC debilita el sarcolema, que se vuelve altamente susceptible al daño por contracción. (16)

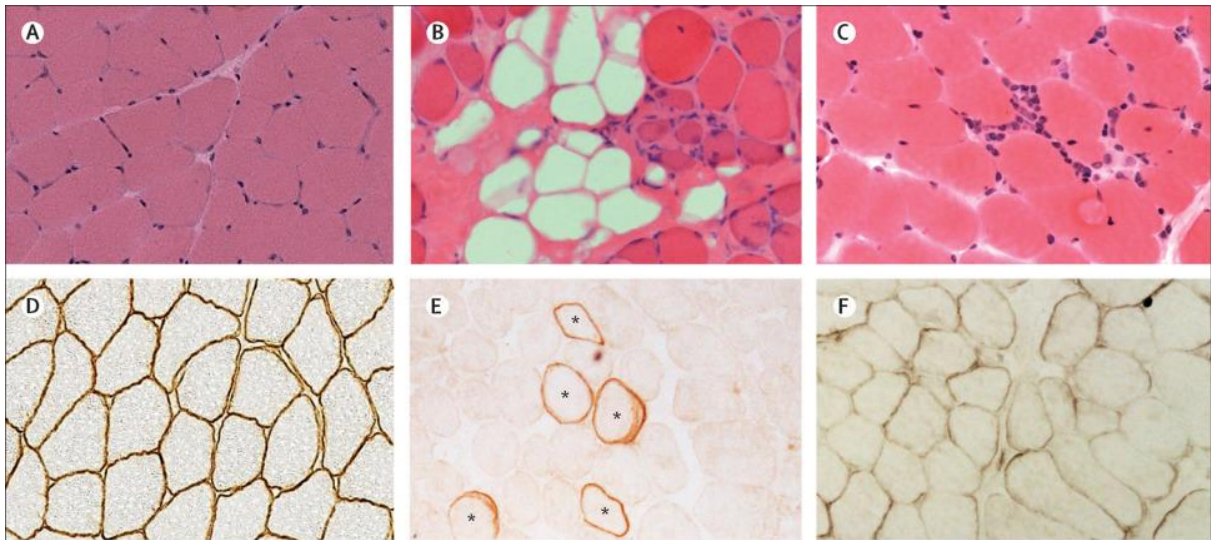


Figura 4. (A) Biopsia muscular histológicamente normal. (B) Biopsia de un paciente con distrofia muscular de Duchenne que muestra una marcada variación en el tamaño de la fibra, hipercontracción de las fibras, y grupos de fibras regeneradoras basófilas con núcleos internos con fibrosis e infiltración grasa acompañantes en el perimisio y el endomisio. (C) Cambios distróficos leves en la biopsia de un paciente con distrofia muscular de Becker. (D) La inmunotinción con un anticuerpo contra un epítipo dentro del dominio de la distrofina muestra un marcado sarcolemmal uniforme en el individuo no afectado. (E) Hay una ausencia total de marcado de distrofina sarcolémica en la distrofia muscular de Duchenne. (F) En la distrofia muscular de Becker, hay una reducción irregular, de leve a moderada en el etiquetado de distrofina sarcolémica. Tomado y modificado de (12).

Manifestaciones clínicas distrofinopatías

Manifestaciones clínicas en Distrofia muscular de Duchenne y distrofia muscular de Becker
La distrofia muscular de Duchenne (DMD) y la distrofia muscular de Becker alélica más leve (DMO) son trastornos genéticos ligados al cromosoma X causados por mutaciones en el gen de la distrofina.

La distrofia muscular de Duchenne es una enfermedad grave, progresiva y de desgaste muscular que conduce a dificultades con el movimiento y, finalmente, a la necesidad de ventilación asistida y muerte prematura. (16)

Los niños con distrofia muscular de Duchenne suelen ser sintomáticos después de los primeros años de vida, a menudo después de una adquisición levemente tardía de la deambulación. Las primeras manifestaciones son caídas frecuentes, incapacidad para correr y subir escaleras, y dificultad para levantarse del suelo, lo que requiere la ayuda de las manos para empujar las rodillas y proporcionar suficiente impulso para ponerse de pie (maniobra de Gowers). (12)

El retraso en la adquisición del habla es común (50%). Además, la discapacidad intelectual, el trastorno del espectro autista y el trastorno por déficit de atención son comorbilidades presentes en aproximadamente el 30% de los pacientes. (12)

La distrofia muscular permanece relativamente estable hasta la edad de aproximadamente 7 años, cuando se hace evidente una progresión más rápida, lo que lleva a la pérdida de la deambulación independiente a la edad de 12 años (edad media de 9,5 años), seguida de escoliosis, pérdida de la función del miembro superior, insuficiencia respiratoria y miocardiopatía. (12)

La mayoría de los pacientes se vuelven dependientes de sillas de ruedas alrededor de los 10-12 años y necesitan ventilación asistida alrededor de los 20 años de edad¹. Con una atención óptima, la mayoría de los pacientes con DMD mueren entre los 20 y 40 años por insuficiencia cardíaca y/o respiratoria. (16)

Las mutaciones en la DMD también pueden causar distrofia muscular de Becker (DMB) que es una enfermedad más leve con un inicio más tardío y una progresión más lenta que la DMD. (16)

En el momento de la primera visita, el 46% de los pacientes con DMD presentaban solo incremento de la CK asintomática (a una edad media de $2,1 \pm 1,5$ años) y el 50% presentaba debilidad leve o retraso de los hitos motores ($3 \pm 1,8$ años); Los pacientes restantes fueron investigados porque habían afectado a familiares. (20)

Al inicio de la enfermedad, todos los pacientes mostraron niveles elevados de CK, con un valor medio de 14.045 ± 8.979 UI/l (que varió de 6.000 a 40.000). (20)

Los niveles de CK en pacientes con DMB fueron más bajos que en la población con DMD, con valores promedio en el momento del diagnóstico de 3.535 ± 6.754 UI/l (rango 230–48.754) (20).

La afectación cardíaca (reducción de la FE por debajo del 55% o necesidad de terapia cardíaca) se desarrolló a una edad media de $15,1 \pm 3,1$ años. (20)

La afectación respiratoria estuvo presente en el 48% de los pacientes entre 5 y 10 años de edad y todos los pacientes mayores de 15 años presentaron afectación respiratoria. En pacientes con DMB el inicio de las alteraciones respiratorias fue a los $28,7 \pm 7,1$ años. (20)

Todos los pacientes con DMD perdieron la capacidad de deambular antes de alcanzar los 14 años de edad ($10,3 \pm 1,9$ años), mientras que solo el 8,7% de los pacientes con DMB estaban en silla de ruedas a una edad media de $31,7 \pm 10,7$ años. (20)

El diagnóstico de DMD se confirmó a los 51,7 (16-91) meses (4,3 años). El retraso total desde la preocupación de los padres hasta el diagnóstico fue de 19,2 (4-50) meses (1,6 años). (14)

Manifestaciones clínicas en pacientes con miocardiopatía dilatada asociada a DMD

Manifestaciones clínicas en mujeres heterocigotas

Se sabe que los síntomas del músculo esquelético o cardíacos aparecen en una cierta proporción de pacientes femeninas portadoras de la mutación del gen de la distrofina. (19)

La DMD en mujeres es muy rara (<1 por millón) y se limita a informes de casos de individuos con síndrome de Turner, una translocación que involucra DMD o aquellos con mutaciones

bialélicas de DMD. (16) Algunos artículos han informado que el fenotipo DMD en mujeres portadoras de una mutación de distrofina se correlacionó con un patrón XCI sesgado. (19) Si bien la mayoría de las portadoras no presentan síntomas, algunas "portadoras sintomáticas" presentan calambres, mialgias o incluso debilidad muscular progresiva. En particular, las mujeres portadoras son propensas a desarrollar miocardiopatía dilatada. (11).

La incidencia de daño del músculo esquelético entre las mujeres portadoras, incluidas las portadoras asintomáticas, se informó como 2.5%-19%, y la incidencia de miocardiopatía dilatada fue de 7.3% a 16.7% para DMD y 0% a 13.3% para BMD. (19)

Existe una gama limitada de literatura sobre el embarazo y el parto en mujeres portadoras. El manejo perinatal es importante para los casos de miocardiopatía, por lo tanto, el control de peso y el ejercicio moderado son recomendados. (19)

Métodos diagnósticos

Para facilitar las vías de diagnóstico, es útil un enfoque integrado que combine los signos clínicos, la edad de inicio, la distribución de la debilidad muscular y la afectación cardíaca con resultados de laboratorio (concentraciones séricas de creatina quinasa, que son típica y marcadamente elevadas en las distrofias musculares), biopsia muscular e imágenes musculares. (12).

Como parte de los estudios genéticos, se han utilizado diversos métodos como PCR múltiple, que únicamente analiza los hot spots del gen, posteriormente se hizo uso de MLPA (*multiplex ligation-dependent probe amplification*), que abarca todo el gen, sin embargo únicamente detecta deleciones y/o duplicaciones de material genético. (1)

La detección de deleciones con reacción en cadena de la polimerasa múltiple (PCR) permite el diagnóstico molecular en solo alrededor del 60% de los pacientes con distrofinopatía y la amplificación de la sonda de ligadura múltiple (MLPA) aumenta este porcentaje al 70-80%. (20)

Debido al enorme tamaño del gen, un análisis de secuencia completo ha estado disponible recientemente gracias a la mejora de las herramientas genéticas, y ha permitido la

descripción de un gran número de mutaciones puntuales y otros micro-reordenamientos. (20).

Cuando la distrofina es anormal o está ausente en una biopsia muscular, mientras que no se puede encontrar ninguna mutación con MLPA o secuenciación de exones, se puede considerar analizar el ARN muscular para identificar la posible inclusión de un exón críptico debido a una mutación intrónica (estos no se identificarán con MLPA o secuenciación de exones). (11)

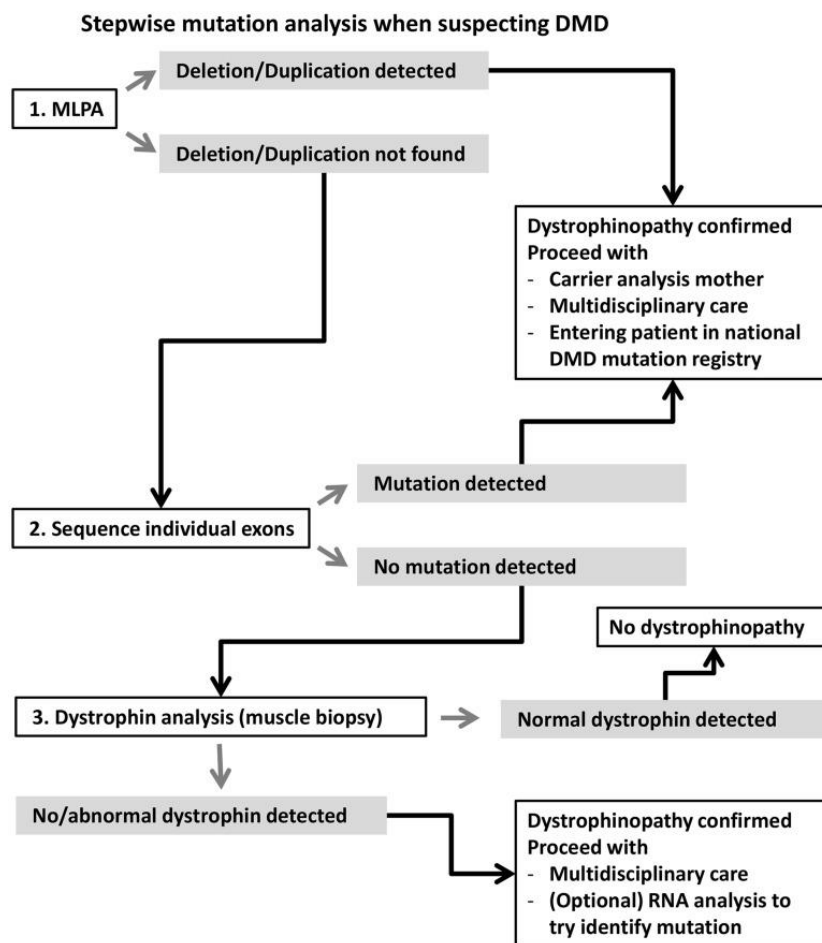


Figura 5. Abordaje diagnóstico en sospecha de distrofinopatía. Tomado y modificado de (11).

Algunos laboratorios realizan una biopsia cuando el análisis de MLPA no revela deleciones o duplicaciones para confirmar una distrofinopatía antes de embarcarse en un laborioso análisis de mutaciones pequeñas. Sin embargo, debido a que todavía se requiere un

diagnóstico genético cuando se muestra ausencia de distrofina en una biopsia muscular, y debido a que una biopsia muscular es un procedimiento invasivo, los estándares de atención para el diagnóstico de DMD sugieren omitir una biopsia muscular y usar solo pruebas genéticas para diagnosticar DMD. (11)

Obviamente, habrá pacientes para los que no se encuentren mutaciones. Esto puede deberse a que la mutación se encuentra dentro de un intrón, como es el caso del <0,5% de las mutaciones reportadas, aunque estas mutaciones pueden estar subrepresentadas porque son difíciles de detectar. Estas mutaciones se detectarán con enfoques de secuenciación de próxima generación, aunque sin análisis de RNA puede ser difícil evaluar si las mutaciones intrónicas conducen a alteraciones a nivel de RNA. (11)

En casos excepcionales, el análisis de proteínas puede revelar si la distrofina está ausente en pacientes con un fenotipo DMD claro pero sin mutación en el gen DMD. Si es así, el ARN se puede aislar del tejido biopsiado y el análisis puede revelar una transcripción aberrante de ARNm distrofina (por ejemplo, la inclusión de un exón críptico debido a una mutación intrónica profunda).(11)

Tratamiento de las distrofinopatías

Tratamiento médico

A pesar de los importantes avances terapéuticos en los últimos 30 años, no existe cura para la DMD. Sin embargo, un enfoque médico, quirúrgico y de rehabilitación multidisciplinario dirigido a los síntomas de la DMD puede alterar el curso natural de la enfermedad, mejorando la calidad de vida y la longevidad.

Manejo farmacológico

Las guías más recientes recomiendan encarecidamente el uso de los glucocorticosteroides prednisona o deflazacort en niños con DMD cuando su desarrollo motor se detiene o comienza a disminuir y continuar el tratamiento durante toda la vida. La edad de inicio de los esteroides varía entre los pacientes, pero no debe ser antes de que el paciente alcance los 2 años y generalmente es alrededor de los 4-5 años de edad. No hay una indicación clara

sobre qué glucocorticosteroides se debe utilizar, ya que ambos tienen evidencia de mejorar la fuerza y la función motora y pueden retrasar la pérdida de la deambulación y la función pulmonar, reduciendo la necesidad de cirugía de escoliosis y retrasando la aparición de la miocardiopatía. (16)

Nuevas terapias

Se están desarrollando nuevas estrategias terapéuticas para la DMD, ya sea que impliquen el reemplazo del gen (terapias basadas en células), la administración exógena de construcciones genéticas de distrofina diseñadas funcionalmente (terapia génica) o mediante la reparación del locus endógeno, esto implica estrategias como la lectura de codones de parada (usando Translarna/Ataluren, PTC Therapeutics, South Plainfield, NJ, EUA), salto de exón (usando Eteplirsén, Sarepta Therapeutics, Cambridge, MA, USA, o Drisapersen, Prosensa, Leiden, Países Bajos) o la traducción inducida por el sitio de entrada del ribosoma interno (IRES) recientemente descrita [11].

Asesoramiento genético

Se trata de una enfermedad ligada al X, donde se ha detectado que en 2/3 de los casos la madre es portadora, y 1/3 son *de novo*. En el caso de las mujeres portadoras existe un 50% de riesgo de que los hijos hereden la variante patogénica, si son varones presentarán datos clínicos, si son mujeres lo más probable es que únicamente sean portadoras asintomáticas. (24)

Es importante darse cuenta de que incluso cuando la madre no es portadora, todavía es posible que tenga mosaicismos de la línea germinal para la mutación y, como tal, todavía está en riesgo de tener un segundo hijo con DMD, el mosaicismo germinal se ha reportado hasta en el 14% de los casos que aparentemente tienen presentación *de novo*. (11)

Participantes

Dra. Verónica González Castellanos

Médico residente de genética de segundo año. Reclutamiento de pacientes, análisis de resultados, elaboración de documentos resultantes como tesis y publicaciones.

Dr. Rodrigo Moreno Salgado.

Médico especialista en genética médica. Tutor académico y metodológico, análisis de resultados, revisión de resultados finales y documentos resultantes.

Descripción del proyecto

Las distrofinopatías son enfermedades neuromusculares ligadas al cromosoma X, causadas por variantes patogénicas en el gen *DMD*, el cual codifica para la proteína distrofina localizada en el sarcolema, la cual es parte fundamental de la estabilidad de la membrana muscular.

La presentación clínica es variable, desde cardiomiopatía dilatada (CD) y distrofia muscular de Becker (DMB), hasta la distrofia muscular de Duchenne (DMD). La incidencia es de 1:5,000 recién nacidos masculinos, en mujeres sintomáticas la frecuencia es menos de 1 por millón y generalmente se relaciona a monosomía del cromosoma X o traslocaciones que involucran *DMD*.

El diagnóstico inicial es clínico, por las manifestaciones neuromusculares que presentan los pacientes así como la elevación de creatinfosfoquinasa (CK), incluyéndose también el diagnóstico histológico a partir de biopsias musculares. Sin embargo, de manera ideal se debe realizar estudio genético de confirmación, como PCR multiplex y MLPA para las variantes patogénicas más frecuentes, así como secuenciación de nueva generación para analizar el gen en su totalidad.

En nuestra institución existen múltiples pacientes que cuentan únicamente con diagnóstico clínico y/o histológico de Distrofinopatía, principalmente distrofia muscular de Duchenne,

que ameritan realización de un diagnóstico genético molecular para identificación de la variante patogénica.

Se realizará la selección de pacientes de acuerdo con los criterios de inclusión, invitándolos a participar en el estudio y realizando firma de consentimiento informado de los pacientes interesados. Posteriormente se tomará una muestra de sangre periférica, a partir de la cual se realizará estudio genético molecular: panel genético o MLPA. Al concluir con el proceso de estudio se llevará a cabo un análisis de los resultados y correlación con la literatura.

Planteamiento del problema

Las distrofinopatías son un espectro de enfermedades neuromusculares con una baja incidencia en la población, generalmente los pacientes se diagnostican únicamente mediante la clínica y en algunos casos diagnóstico histológico

En estos pacientes es de gran importancia realizar un diagnóstico genético molecular para detectar las variantes patogénicas específicas, ya que actualmente están surgiendo nuevas terapias enfocadas al tipo de variante presente en cada paciente, así como corroborar el diagnóstico y brindar un asesoramiento genético familiar adecuado.

Pregunta de investigación

¿Cuáles son las características clínicas y moleculares de pacientes con distrofinopatías del Hospital Infantil de México Federico Gómez en el periodo 2021-2023?

Justificación

El estudio genético de pacientes con diagnóstico clínico de distrofinopatía es relevante para otorgar un diagnóstico de certeza, realizar detección de portadores y estimación de riesgos de recurrencia para el asesoramiento genético, así como valorar si son candidatos a algún tipo de terapia específica como medicamentos de salto de exón o lectura de codones de paro.

La detección precisa de variantes en pacientes mexicanos facilitara el reclutamiento de estos para ensayos clínicos basados en terapia génica o terapia molecular personalizada. Existen en México pocos estudios relacionados con las variantes patógenicas en DMD presentes en nuestra población, por lo que este protocolo servirá para continuar ampliando los datos que se tienen al respecto y correlacionarlos con la población mundial.

Hipótesis

La realización de secuenciación del gen DMD mediante paneles genéticos en pacientes con sospecha clínica de distrofinopatía permitirá la caracterización clínica y molecular de los pacientes que acuden al Hospital Infantil de México.

Objetivos

Objetivo general

Realizar una descripción clínica y molecular de pacientes con distrofinopatías del Hospital Infantil de México Federico Gómez en el periodo 2021-2023.

Objetivos específicos

Identificación de variantes patogénicas en pacientes con fenotipo relacionado con distrofinopatías.

Describir las características clínicas de los pacientes en quienes se detecte una variante patogénica en DMD.

Realizar una correlación entre el fenotipo y genotipo de los pacientes estudiados.

Metodología

Temporalidad: Se realizará en el periodo 2021-2023.

Metodología: Diseño de estudio: Estudio descriptivo, observacional, transversal.

Población de estudio

Pacientes del HIMFG con fenotipo relacionado con Distrofinopatías que acudieron a consulta de genética en el periodo 2021-2023.

Criterios de inclusión

1. Pacientes hombres o mujeres menores de 18 años que acuden al Hospital Infantil de México.
2. Pacientes con sospecha clínica de Distrofinopatía (Distrofia muscular de Duchenne, distrofia muscular de Becker, miocardiopatía dilatada)
3. Pacientes que estén interesados en participar en el estudio y se cuente con consentimiento informado del tutor y paciente (Acorde a la edad del paciente).

Criterios de exclusión

1. Pacientes que presenten alguna contraindicación para toma de muestra de sangre periférica.
2. Pacientes con estudio molecular que confirme otro diagnóstico no relacionado con variantes patogénicas en el gen *DMD*.

Criterios de eliminación

1. Pacientes en los que no fue posible procesar la muestra de sangre periférica por muestra insuficiente o mala calidad de esta.
2. Deseo del paciente y/o tutor de retirarse del estudio.
3. Pacientes que no es posible localizar para toma de muestra de sangre periférica.

Tamaño de la muestra:

Debido a que este estudio no es probabilístico, el tamaño muestral se realizará por conveniencia. Al ser una enfermedad de muy baja incidencia, se procederá a incluir todos los pacientes del HIMFG que cumplan los criterios de inclusión y que sean valorados en la consulta de genética durante 2021-2023.

Análisis y métodos estadísticos de los datos

Debido a que se trata de un estudio transversal, donde contamos con variables tanto cualitativas como cuantitativas, se utilizarán medidas de tendencia central (Como son media, mediana, moda) y medidas de dispersión (Como varianza y desviación estándar), para la representación de los datos obtenidos se utilizarán tablas de frecuencia y graficas de barras.

1. Realizar evaluación clínica y revisión de expediente médico de los pacientes con sospecha de distrofinopatía.
2. Se realizará toma de muestra de sangre periférica de los pacientes seleccionados.
3. Realización de estudio de secuenciación de nueva generación en laboratorio externo (Panel de enfermedades neuromusculares).
4. Análisis de los datos obtenidos.

Descripción de variables

Variable	Definición	Tipo de variable	Unidad de medición
Sexo	Condición de un individuo que lo distingue entre masculino y femenino.	Cualitativa nominal, dicotómica	Hombre Mujer
Edad	Lapso que transcurre desde el nacimiento hasta el momento de referencia.	Cuantitativa continua	Años
CK	Creatinfosfoquinasa (CK o CPK) es una enzima que se encuentra en la membrana mitocondrial y en las miofibrillas de las células musculares y está implicada en almacenaje y utilización de la energía durante la contracción muscular.	Cuantitativa continua	U/L
Edad de inicio de los síntomas	Edad a la que se percibió de manera inicial sintomatología neuromuscular.	Cuantitativa continua	Años
Edad al diagnóstico	Edad del paciente al momento de realizar el diagnóstico de distrofinopatía.	Cuantitativa continua	Años
Marcha	Proceso de locomoción en el cual el cuerpo humano, en posición generalmente erecta, se mueve hacia delante	Cualitativa nominal, dicotómica	Presente Ausente

Tipo de distrofinopatía	Diagnóstico de distrofinopatía con relación al fenotipo.	Cualitativa nominal, Policotómica	DMD DMB MCD
Presentación de la variante patogénica	Define si se presenta por primera vez en el paciente (<i>De novo</i>) o es heredada de algún progenitor.	Cualitativa nominal, dicotómica	<i>De novo</i> Heredada
Variante patogénica (VP)	Alteración genética que aumenta la susceptibilidad o predisposición de la persona a padecer ciertas enfermedades o trastornos.	Cualitativa nominal, policotómica	Nomenclatura de la VP

Resultados

En esta cohorte se incluyeron 20 pacientes con diagnóstico clínico de distrofinopatía (DMD: 16, DMB: 2, MCD: 1, Clínica no corroborada: 1), de estos 19 son hombres y una paciente mujer, solamente 3 pacientes contaban con historia familiar de DMD. El paciente con MCD debuto a los 17 años con insuficiencia cardiaca, la cual fue el motivo de ingreso, no contaba con antecedentes familiares ni sintomatología neuromuscular previa.

Dos pacientes contaban con diagnóstico previo por PCR multiplex, uno correspondía a una deleción del exón 48 (En quien posteriormente se encontró una deleción del exón 45 por NGS y análisis de CNVs, paciente P14), así como otro paciente en quien se había encontrado una deleción del exón 45-48 (Paciente P9) (En quien posteriormente se encontró por NGS análisis de CNVs, una deleción puntual: c.5104_5105del).

Un paciente en quien se había realizado MLPA con resultado negativo, encontrándose por NGS una variante puntual: c.4240C>T. (Paciente P20).

Se realizaron estudios moleculares de acuerdo con disponibilidad del servicio, en 19 pacientes se realizó NGS mediante panel patrocinado, en 1 paciente se hizo diagnóstico mediante MLPA (Paciente 19), y 1 paciente ya contaba con diagnóstico por NGS en laboratorio privado (Paciente P20).

Entre los pacientes estudiados se incluye una paciente mujer (P7), en quien se detecto de manera incidental elevación de AST y ALT, y posteriormente inicio con debilidad muscular a los 3 años, se realizó panel genético de enfermedades neuromusculares encontrando una variante patogénica en *DMD* en estado heterocigoto (Deleción de los exones 45-50), y posteriormente se realizo estudio de cariotipo encontrando un complemento cromosómico 46,XX, que corresponde a femenino normal, por lo que se descarto que presentara monosomía del X o algún rearrreglo cromosómico. Se realizo estudio para descartar inactivación sesgada del cromosoma X en sangre periférica, el cual no fue concluyente. Sin embargo, por los datos clínicos y de laboratorio se le otorgo diagnóstico de DMD.

Se recabaron datos clínicos del expediente físico y del expediente electrónico, así como datos del sistema electrónico de laboratorio.

Paciente	Sexo	Variante Patogénica	CK, AST y ALT	Edad (Años)	Inicio de los síntomas (Años)	Presencia de deambulación	Edad pérdida de la	Distrofinopatía	Edad al diagnóstico	Herencia	Tratamiento
P1	H	c.6357G>A p.Trp2119*	NA	11	4	No	9	DM D	10	¿?	Prednisona
P2	H	Duplicación de exones 8-12 (2 copias)	CK 14, 849 U/L ALT 477 U/L AST 303 U/L	7	5	Sí	NA	DM D	6	¿?	Prednisona
P3	H	Delección de exones 48-52	¿?	8	4	Sí	NA	DM D	7	Hereditario	Prednisona
P4	H	c.5554C>T (p.Gln1852*)	CK 16178 U/L AST 115 U/L ALT 193 U/L	9	5	Sí	NA	DM D	7	¿?	Prednisona
P5	H	Delección de exones 5-25	CK 3854 U/L	10	2	No	6	DM D	8	Hereditario	Dexametasona
P6	H	DMD c.6292C>T (p.Arg2098*)	CK 5408.00 U/L	13	2	No	10	DM D	12	¿?	Prednisona
P7	M	Delección exones 45-50	CK 5160.00 U/L AST 176 U/L ALT 196 U/L	7	3.	Sí	NA	DM D	6	De novo	Deflazacort
P8	H	Delección exones 12-18	CK 9905 U/L ALT 264 U/L AST 143 U/L	9	5	Sí	NA	DM D	7	De novo	Deflazacort

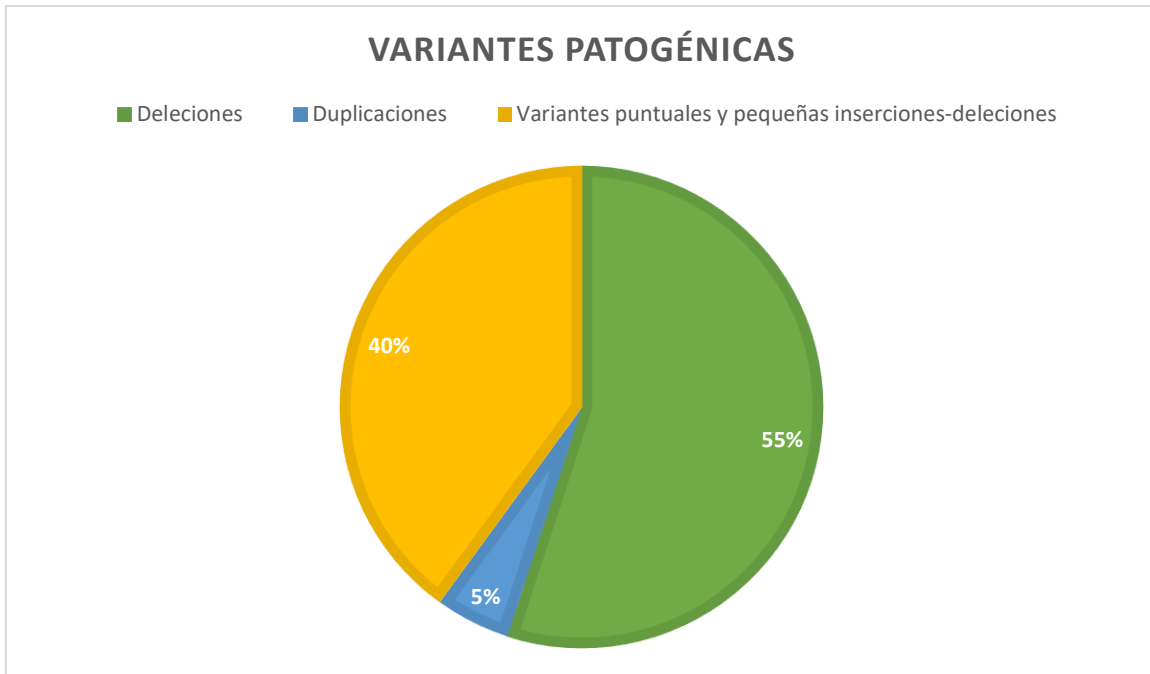
P9	H	c.5104_5105del p.Leu1702Glyfs* 2	CK 22,026 U/L	7	3	Sí	NA	DM D	3	<i>De novo</i>	Deflazacort
P10	H	Delección exones 45-52	6978.00 U/L	11	6	No	9	DM D	7	¿?	Deflazacort
P11	H	Delección exones 45-48	CK 508.00 U/L	18	17.	NA	NA	MCD	17	¿?	Trasplante cardiaco
P12	H	c.3220G>T p.Glu1074*	CK 20542 U/L AST 269U/L ALT 192U/L	9	3	Sí	NA	DM D	7	Heredad o	Deflazacort
P13	H	c.9807+5G>C (Intrónica)	¿?	17	¿?	No	12	¿?	¿?	¿?	¿?
P14	H	Delección del exón 45	CK 29327 U/L AST 190U/L ALT 507 U/L	7	5	Sí	NA	DM D	6	Heredad o	Prednisona
P15	H	Delección exones 45-54	CK 14,855 U/L	9	3	Sí	NA	DM D	8	<i>De novo</i>	Prednisona
P16	H	Delección de exones 26-27	CK 13023 U/L AST 386 U/L ALT 179 U/L	13	3	Sí	NA	DM D	12	Heredad o	Deflazacort
P17	H	c.10554-2A>G (sitio de splicing)	CK 3302 U/L AST 57 U/L ALT 160 U/L	12	5	Sí	NA	DMB	11	¿?	Deflazacort
P18	H	Delección de exones 3-7	CK 10960 U/L ALT 196 U/L	12	7	Sí	NA	DMB	11	<i>De novo</i>	Prednisona

			AST 105 U/L									
P19	H	MLPA-exón 45: NM_004006.2(DMD): c.6439?_6614+? del	CK 5416 U/L ALT 300U/L AST 151 U/L	8	4	Sí	NA	DM D	8	¿?	Sin manejo.	
P20	H	c.4240C>T p.Gln1414*	CK 5972 U/L ALT 400 U/L AST 124 U/L	16	3	Sí	NA	DM D	8	¿?	Deflazacort	

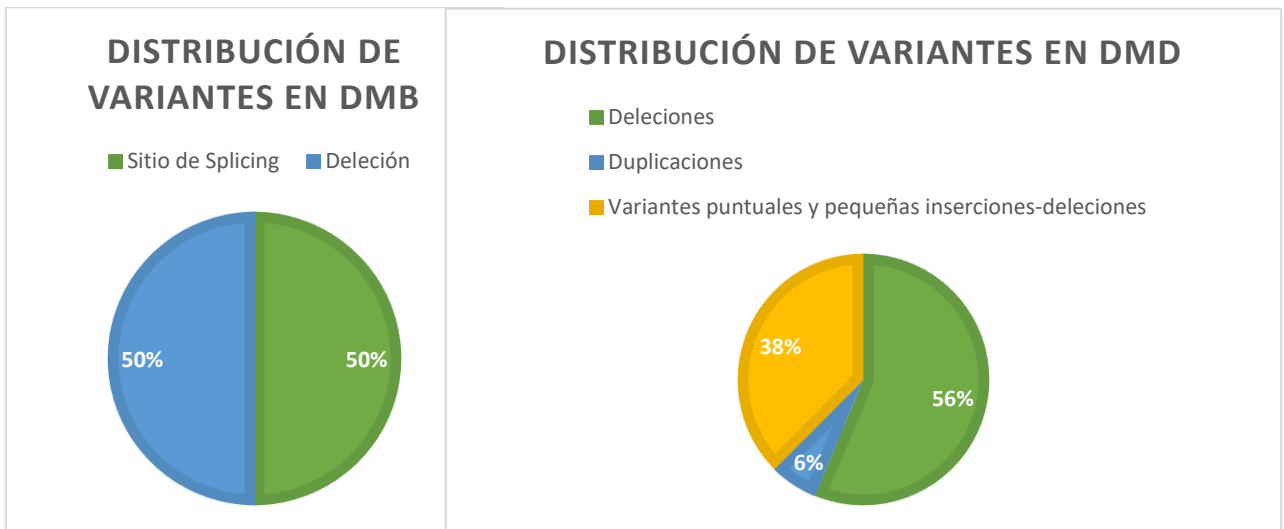
Tabla 1. Datos clínicos y moleculares de pacientes con distrofinopatía. H: Hombre. M: mujer. NA: No aplica. ¿?: Se desconocen datos. AST: aspartato aminotransferasa. ALT: alanina aminotransferasa. CK: creatina-fosfocinasa. DMD: Distrofia muscular de Duchenne. DMB: distrofia muscular de Becker. MCD: Miocardiopatía dilatada. MLPA: amplificación de sondas dependiente de ligandos múltiples.

Paciente	Variante Patogénica	Deleciones	Duplicaciones	Variantes puntuales y Pequeñas inserciones-deleciones
1	c.6357G>A p.Trp2119*			*
2	Duplicación exones 8-12 (2copias)		*	
3	Delección exones 48-52	*		
4	c.5554C>T p.Gln1852*			*
5	Delección exones 5-25	*		
6	c.6292C>T p.Arg2098*			*
7	Delección exones 45-50	*		
8	Deletion (Exons 12-18)	*		
9	c.5104_5105del p.Leu1702Glyfs*2			*
10	Delección exones 45-52	*		
11	Delección exones 45-48	*		
12	c.3220G>T p.Glu1074*			*
13	c.9807+5G>C (Intrónica)			*
14	Delección exón 45	*		
15	Delección exones 45-54	*		
16	Delección exones 26-27	*		
17	c.10554-2A>G (sitio de splicing)			*
18	Delección Exones 3-7	*		
19	Delección exón 45 (MLPA c.6439-?_6614+?del-)	*		
20	c.4240C>T p.Gln1414*			*
Número de casos		11	1	8

Tabla 2. Clasificación de variantes encontradas en el gen *DMD*.



Gráfica 1. Distribución de variantes patogénicas en el gen *DMD*.



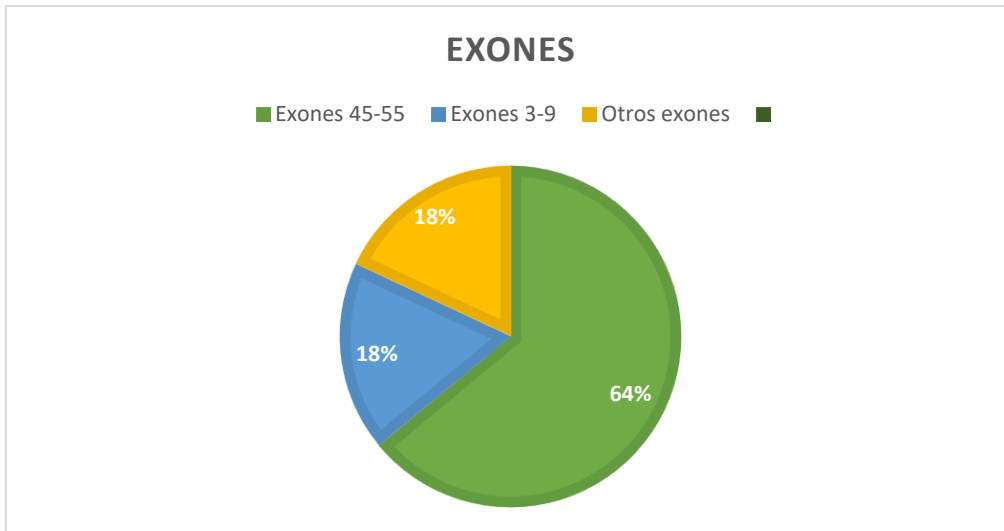
Gráfica 2. Distribución de variantes patogénicas de acuerdo con el fenotipo. Se identificaron dos pacientes con clínica de DMB, uno con una variante patogénica en el sitio de splicing (Paciente 17: c.10554-2A>G) y el otro con una delección (Paciente 18: Delección Exones 3-7). De los 16 pacientes con clínica de DMD 9 correspondieron a delecciones (56%), 6 a variantes puntuales y pequeñas inserciones-delecciones (38%), y 1 paciente con duplicación (6%). El único paciente con clínica de MCD presentaba una delección de los exones 45-48. En un paciente no se corroboró el fenotipo.

Variantes puntuales y pequeñas inserciones	Casos	%	Variantes
Sin sentido	5	62.5	c.4240C>T p.Gln1414* c.6357G>A p.Trp2119* c.5554C>T p.Gln1852* c.6292C>T p.Arg2098* c.3220G>T p.Glu1074*
De sentido equivocado	0	0	NA
Sitio de splicing	1	12.5	c.10554-2A>G
Variantes intrónicas	1	12.5	c.9807+5G>C
Cambio del marco de lectura	1	12.5	c.5104_5105del p.Leu1702Glyfs*2

Tabla 3. Clasificación de variantes puntuales y pequeñas inserciones deleciones encontradas en el gen DMD. Se encontraron 5 pacientes con variantes sin sentido (62,5%), 1 paciente con variante en sitio de splicing (12.5%), 1 paciente con variante intrónica (12.5%), 1 paciente con cambio de marco de lectura (12.5%).

Paciente	Variante Patogénica	Exones 45-55	Exones 3-9	Otros exones
P3	Deleción exones 48-52	*		
P5	Deleción exones 5-25		*	
P7	Deleción exones 45-50	*		
P8	Deleción exones 12-18			*
P10	Deleción exones 45-52	*		
P11	Deleción exones 45-48	*		
P14	Deleción exón 45	*		
P15	Deleción exones 45-54	*		
P16	Deleción exones 26-27			*
P18	Deleción exones 3-7		*	
P19	Deleción exón 45 (MLPA c.6439-?_6614+?del-)	*		
	Total	7	2	2

Tabla 4. Distribución de las deleciones en DMD de acuerdo con los hot spots.



Gráfica 3. Distribución de las deleciones en *DMD* de acuerdo con los hot spots. Se encontraron 7 deleciones en el hot spot distal (64%), 2 en el hot spot proximal (18%), y 2 en otros exones (18%).

Edad al momento del diagnóstico	Número de pacientes
3 años	1
6 años	3
7 años	5
8 años	4
10 años	1
11 años	2
12 años	2
17 años	1
Total	19 pacientes

Tabla 5. Edad al momento del diagnóstico. La edad promedio al momento del diagnóstico fue de 8.4 años, la mediana 8 años y la moda de 7 años. Nota: no se agregó la edad al diagnóstico del paciente 13 ya que se desconocía el dato.

Paciente Edad al momento de la pérdida de la deambulaci3n

P1	P3rdida de la marcha a los 9 a3os.
P5	P3rdida de la marcha a los 6 a3os
P6	P3rdida de marcha a los 10 a3os
P10	P3rdida de la marcha a los 9 a3os.
P12	P3rdida de la marcha a los 9 a3os.
P13	P3rdida de la marcha a los 12 a3os.

Tabla 6. Edad al momento de la p3rdida de la deambulaci3n. En todos los pacientes con p3rdida de la marcha el fenotipo coincid3a con DMD. 10 de 16 pacientes con cl3nica de DMD hab3an perdido la marcha, lo que corresponde al 37.5% de los pacientes. La edad m3s temprana de p3rdida de la deambulaci3n fue a los 6 a3os y la m3s tard3a de 12 a3os. El promedio de edad al momento de la p3rdida de la deambulaci3n fue a los 9.1 a3os.

Inicio de la sintomatolog3a

La mayor3a de los pacientes presentaron de manera inicial ca3das frecuentes y dificultad para subir las escaleras y brincar o dificultad para levantarse.

inicio de los s3ntomas (A3os)	N3mero de pacientes
2	2
3	6
4	3
5	5
6	1
7	1
17	1
¿?	1

Tabla 7. Edad al inicio de la sintomatolog3a. La edad promedio de inicio de la sintomatolog3a fue de 3.7 a3os. Se excluy3 del promedio al paciente que debuto con insuficiencia cardiaca

secundario a MCD asociada a *DMD*, ya que la edad de presentación fue muy tardía. ¿?: Se desconocen datos.

Presentación de casos *de novo* y casos heredados

Se realizó estudios de segregación a la madre en el 50% de los pacientes, en el resto no fue posible completar el estudio debido a diversos factores (Defunción de la madre, madres que no aceptan segregación, falta de recursos, falta de seguimiento del paciente en consulta, referencia del paciente a otra institución, etc.)

De los pacientes en quienes se realizó segregación 5 casos (50%) fueron *de novo*, y en 5 casos (50%) se corroboró que la madre era portadora. De los casos en los que la madre era portadora 3 presentaban antecedentes de historia familiar (Pacientes: P3, P12 y P14).

Manejo de los pacientes

De los 18 pacientes con fenotipo de *DMD* o *DMB* solamente uno suspendió manejo farmacológico con corticoesteroide debido a efectos adversos previos al mismo. De los 17 pacientes con tratamiento actual con esteroides 8 llevan manejo con Prednisona (47%), 1 con dexametasona (6%), y 8 con deflazacort (47%).

Todos los pacientes llevan seguimiento periódico por rehabilitación, cardiología, neumología y endocrinología, para detección temprana de complicaciones secundarias a la patología de base.

El paciente con MCD asociada a *DMD* que debuto con insuficiencia cardiaca a los 17 años fue referido a otra institución para trasplante cardiaco.

Correlación genotipo-fenotipo

El paciente con miocardiopatía dilatada asociada a *DMD* presentaba Delección exones 45-48 que corresponde al hot spot mayor del gen.

Los dos pacientes con fenotipo de *DMB* presentaban Delección de exones 3-7 y una variante puntual en el sitio de splicing (c.10554-2A>G).

El resto de los pacientes presentaban fenotipo *DMD*. Debido al tamaño de la cohorte no fue posible establecer una correlación genotipo-fenotipo adecuada.

Discusión

En México existen pocos estudios sobre el espectro mutacional en pacientes con distrofinopatías, los estudios existentes se basan principalmente en PCR multiplex y MLPA, a diferencia de nuestra cohorte donde 19 de 20 pacientes cuentan con diagnóstico mediante NGS.

Esto cobra relevancia ya que la detección de deleciones con reacción en cadena de la polimerasa múltiple (PCR) permite el diagnóstico molecular en solo alrededor del 60% de los pacientes con distrofinopatía y la amplificación de la sonda de ligadura múltiple (MLPA) alcanza 70-80% (20), a diferencia de NGS con análisis de CNV del laboratorio Invitae que reporta sensibilidad y especificidad analítica >99 % para variantes de un solo nucleótido, inserciones y deleciones <15 pb de longitud y deleciones y duplicaciones a nivel de exón.

De los pacientes estudiados 16 tenían clínica de DMD, 2 de DMB, 1 con MCD asociada a DMD y en un paciente se desconocía la clasificación clínica. De estos, dos pacientes contaban con diagnóstico previo por PCR multiplex, uno correspondía a una deleción del exón 48 (En quien posteriormente se encontró una deleción del exón 45 por NGS y análisis de CNVs, paciente P14), así como otro paciente en quien se había encontrado una deleción del exón 45-48 (Paciente P9) (En quien posteriormente se encontró por NGS y análisis de CNVs una deleción puntual: c.5104_5105del). Lo que pone en evidencia las limitaciones de la PCR principalmente para la detección de variantes puntuales.

Entre los pacientes, se incluyó una paciente femenina (P7) la cual presenta clínica compatible con DMD y una variante patogénica en DMD en estado heterocigoto, ya que las manifestaciones neuromusculares solamente se han reportado en el 2.5%-19% de las pacientes portadoras (19), y la clínica de DMD en mujeres es muy rara a nivel mundial (<1 por millón), limitándose a informes de casos de individuos con síndrome de Turner, una translocación que involucra DMD o aquellos con mutaciones bialélicas de DMD (16), se estudio a la paciente para descartar monosomía del X, y presencia de algún rearrreglo cromosómico que involucrara al cromosoma X mediante estudio de cariotipo con bandas G, reportándose un complemento cromosómico 46,XX. Al no encontrarse ninguna

alteración cromosómica nuestra principal sospecha es que se trate de una inactivación sesgada del cromosoma X, sin embargo, no fue posible corroborar dicha sospecha.

De las variantes patogénicas encontradas el 55% corresponden a deleciones, 40% a variantes puntuales y pequeñas inserciones-deleciones, y 5% a duplicaciones (Gráfica 1), posteriormente se dividió a los pacientes de acuerdo al cuadro clínico DMB y DMD, encontrándose en DMB 1 deleción (50%) y una variante puntual en el sitio de splicing (50%), y en DMD 9 pacientes correspondieron a deleciones (56%), 6 a variantes puntuales y pequeñas inserciones-deleciones (38%), y 1 paciente con duplicación (6%) (Gráfica 2).

Comparado con la literatura donde se reporta en DMD 60-70% de las mutaciones como deleciones, 5-15% duplicaciones y 20% mutaciones puntuales y pequeñas deleciones o inserciones, y en DMB: 60-70% de las mutaciones son deleciones, 20% son duplicaciones y el 5-10% son mutaciones puntuales, pequeñas deleciones o inserciones. (16) podemos apreciar diferencias principalmente en la presencia de duplicaciones, ya que fue más baja en nuestra cohorte, sin embargo, tenemos como limitante el número reducido de pacientes.

En 2019 Nascimento reportó una distribución de variantes puntuales: 51% variantes sin sentido, 24% cambio de marco de lectura, 19% variantes en sitio de splicing, 5% variantes de sentido equivocado y 1% pseudoexón (25), lo que comparado con nuestro estudio donde encontramos una distribución de las variantes puntuales y pequeñas inserciones-deleciones de 5 pacientes con variantes sin sentido (62.5%), 1 paciente con variante en el sitio de splicing (12.5%), 1 paciente con una variante intrónica (12.5%), 1 paciente con cambio de marco de lectura (12.5%), notamos que la presentación más frecuente coincide con la literatura.

Esto destaca la importancia de realizar estudio molecular en todos los pacientes con diagnóstico clínico de alguna distrofinopatía, ya que los hace candidatos a algún tipo de terapia específica, como medicamentos que permiten la lectura del codón de paro provocada por una variante sin sentido, como el Ataluren, o medicamentos de salto exón específicos para el exón deletado en DMD, que retrasan la progresión de la enfermedad de manera significativa y prolongan la edad de pérdida de la deambulación.

La mayoría de las variantes se localizaron en los hot spots reportados en la literatura, principalmente en el hot spot distal (Tabla 4 y Gráfica 3).

La edad promedio al momento del diagnóstico fue de 8.4 años, lo que refleja un diagnóstico tardío en nuestra población a comparación de lo reportado previamente por Magri y colaboradores en 2011 donde se estima un promedio de edad al diagnóstico de $4 \pm 2,2$ años. (20)

Este diagnóstico tardío retrasa el manejo de los pacientes, ya que se ha visto que el tratamiento temprano con esteroides (antes de los 4 años) podría dar lugar a mejores resultados a largo plazo, incluida la deambulación prolongada y el retraso en el desarrollo de la afectación cardíaca y respiratoria (14), así como permitir el acceso oportuno al asesoramiento genético, detección temprana de portadoras (Ya que pueden presentar manifestaciones clínicas importantes como miocardiopatía dilatada), y elegibilidad para terapias específicas emergentes en ensayos clínicos. (14)

En nuestros pacientes solamente se realizó segregación en la mitad, de estos el 50% fue *de novo* y en el 50% se detectó que la madre era portadora. Lo que difiere de la literatura, donde se reporta 2/3 de los casos heredados de una madre heterocigota.

No se pudo establecer una correlación genotipo fenotipo debido al tamaño de nuestra cohorte.

Conclusiones

- No se pudo realizar una correlación genotipo-fenotipo en nuestra cohorte por tratarse de pocos pacientes.
- Es recomendable realizar secuenciación NGS y análisis de CNV en pacientes en quienes no se haya detectado alguna variante patogénica mediante MLPA o PCR multiplex, incluso en pacientes con resultado positivo, ya que no detecta variantes puntuales y pueden ser reportadas como delección o duplicación de un exón completo.
- La distribución de variantes patogénicas más frecuentes fue similar a lo reportado en la literatura.
- Es recomendable contar con diagnóstico molecular de todos los pacientes con sospecha clínica de distrofinopatía ya que esto puede influir en el manejo del paciente, así como en el asesoramiento genético familiar.
- Destaca la importancia de realizar estudios de segregación para detección de portadoras y prevención de miocardiopatía dilatada.
- En nuestra población el diagnóstico de distrofinopatía es tardío a comparación de otras poblaciones por lo que es recomendable implementar métodos de tamizaje, como medición de CK en población infantil.
- Entre nuestros pacientes se detectaron 5 con variantes sin sentido, en quienes sería de utilidad el uso de Ataluren, medicamento que permite la lectura del codón de paro, y mejora la calidad de vida, así como retraso en el desarrollo de insuficiencia respiratoria y miocardiopatía.

Cronograma de actividades

Actividad	Meses						
	Nov-Dic 2021	Ene- Febr 2022	Mar- Abr 2022	May- Jun 2022	Ago- Sept 2022	Oct-Dic 2022	Ene- Mayo 2023
Revisión de expedientes y selección de pacientes							
Obtención de muestras sanguíneas							
Realización de estudio molecular							
Creación de base de datos							
Análisis de resultados							
Redacción de tesis							

Referencias bibliográficas

1. Coral Vázquez RM y col. Distrofias musculares en México: un enfoque clínico, bioquímico y molecular. *Revista de Especialidades Médico-Quirúrgicas* 2010;15(3):152-160.
2. Luna-Angulo AB, Suárez-Sánchez R, Cortés-Callejas H, et al. Diagnóstico molecular de enfermedades neuromusculares en el Instituto Nacional de Rehabilitación, situación actual y perspectivas. *Investigación en Discapacidad*. 2016;5(1):9-26.
3. Gómez-Díaz, B., Rosas-Vargas, H., Roque-Ramírez, B., Meza-Espinoza, P., Ruano-Calderón, L. A., Fernández-Valverde, F., Escalante-Bautista, D., Escobar-Cedillo, R. E., Sánchez-Chapul, L., Vargas-Cañas, S., López-Hernández, L. B., Bahena-Martínez, E., Luna-Angulo, A. B., Canto, P., & Coral-Vázquez, R. M. (2012). Immunodetection analysis of muscular dystrophies in Mexico. *Muscle & nerve*, 45(3), 338–345. <https://doi.org/10.1002/mus.22314>.
4. Alcántara-Ortigoza, M. A., Reyna-Fabián, M. E., González-del Angel, A., Estandia-Ortega, B., Bermúdez-López, C., Cruz-Miranda, G. M., & Ruíz-García, M. (2019). Predominance of Dystrophinopathy Genotypes in Mexican Male Patients Presenting as Muscular Dystrophy with A Normal Multiplex Polymerase Chain Reaction DMD Gene Result: A Study Including Targeted Next-Generation Sequencing
5. López-Hernández, L. B., Gómez-Díaz, B., Luna-Angulo, A. B., Anaya-Segura, M., Bunyan, D. J., Zúñiga-Guzman, C., Escobar-Cedillo, R. E., Roque-Ramírez, B., Ruano-Calderón, L. A., Rangel-Villalobos, H., López-Hernández, J. A., Estrada-Mena, F. J., García, S., & Coral-Vázquez, R. M. (2015). Comparison of mutation profiles in the Duchenne muscular dystrophy gene among populations: implications for potential molecular therapies. *International journal of molecular sciences*, 16(3), 5334–5346. <https://doi-org.pbidi.unam.mx:2443/10.3390/ijms16035334>
6. González-Herrera, L., Gamas-Trujillo, P. A., García-Escalante, M. G., Castillo-Zapata, I., & Pinto-Escalante, D. (2009). Identificación de deleciones en el gen de la distrofina y detección de portadoras en familias con distrofia muscular de Duchenne/Becker

- [Identifying deletions in the dystrophin gene and detecting carriers in families with Duchenne's/Becker's muscular dystrophy]. *Revista de neurologia*, 48(2), 66–70.
7. Navarro-Cobos, M. J., González-Del Angel, A., Estandia-Ortega, B., Ruiz-Herrera, A., Becerra, A., Vargas-Ramírez, G., Bermúdez-López, C., & Alcántara-Ortigoza, M. A. (2017). Molecular Analysis Confirms that FKRP-Related Disorders are Underdiagnosed in Mexican Patients with Neuromuscular Diseases. *Neuropediatrics*, 48(6), 442–450. <https://doi.org/10.1055/s-0037-1607054>.
 8. Walter, M. C., Reilich, P., Thiele, S., Schessl, J., Schreiber, H., Reiners, K., Kress, W., Müller-Reible, C., Vorgerd, M., Urban, P., Schrank, B., Deschauer, M., Schlotter-Weigel, B., Kohnen, R., & Lochmüller, H. (2013). Treatment of dysferlinopathy with deflazacort: a double-blind, placebo-controlled clinical trial. *Orphanet journal of rare diseases*, 8, 26. <https://doi.org/10.1186/1750-1172-8-26>.
 9. Ohlendieck, K., & Swandulla, D. (2021). Complexity of skeletal muscle degeneration: multi-systems pathophysiology and organ crosstalk in dystrophinopathy. *Pflugers Archiv : European journal of physiology*, 473(12), 1813–1839. <https://doi-org.pbidi.unam.mx:2443/10.1007/s00424-021-02623-1>.
 10. Bushby, K., Finkel, R., Birnkrant, D. J., Case, L. E., Clemens, P. R., Cripe, L., Kaul, A., Kinnett, K., McDonald, C., Pandya, S., Poysky, J., Shapiro, F., Tomezsko, J., Constantin, C., & DMD Care Considerations Working Group (2010). Diagnosis and management of Duchenne muscular dystrophy, part 1: diagnosis, and pharmacological and psychosocial management. *The Lancet. Neurology*, 9(1), 77–93. [https://doi-org.pbidi.unam.mx:2443/10.1016/S1474-4422\(09\)70271-6](https://doi-org.pbidi.unam.mx:2443/10.1016/S1474-4422(09)70271-6)
 11. Aartsma-Rus, A., Ginjaar, I. B., & Bushby, K. (2016). The importance of genetic diagnosis for Duchenne muscular dystrophy. *Journal of medical genetics*, 53(3), 145–151. <https://doi-org.pbidi.unam.mx:2443/10.1136/jmedgenet-2015-103387>.
 12. Mercuri, E., Bönnemann, C. G., & Muntoni, F. (2019). Muscular dystrophies. *The Lancet*, 394(10213), 2025–2038. doi:10.1016/s0140-6736(19)32910-1.
 13. Ellis, J. A., Vroom, E., & Muntoni, F. (2013). 195th ENMC International Workshop: Newborn screening for Duchenne muscular dystrophy 14-16th December, 2012,

- Naarden, The Netherlands. *Neuromuscular disorders : NMD*, 23(8), 682–689. <https://doi-org.pbidi.unam.mx:2443/10.1016/j.nmd.2013.05.008>
14. Van Ruiten, H. J., Straub, V., Bushby, K., & Guglieri, M. (2014). Improving recognition of Duchenne muscular dystrophy: a retrospective case note review. *Archives of disease in childhood*, 99(12), 1074–1077. <https://doi-org.pbidi.unam.mx:2443/10.1136/archdischild-2014-306366>
 15. Vo, A. H., & McNally, E. M. (2015). Modifier genes and their effect on Duchenne muscular dystrophy. *Current opinion in neurology*, 28(5), 528–534. <https://doi-org.pbidi.unam.mx:2443/10.1097/WCO.0000000000000240>
 16. Duan, D., Goemans, N., Takeda, S., Mercuri, E., & Aartsma-Rus, A. (2021). Duchenne muscular dystrophy. *Nature reviews. Disease primers*, 7(1), 13. <https://doi-org.pbidi.unam.mx:2443/10.1038/s41572-021-00248-3>
 17. Monaco, A. P., Bertelson, C. J., Liechti-Gallati, S., Moser, H., & Kunkel, L. M. (1988). An explanation for the phenotypic differences between patients bearing partial deletions of the DMD locus. *Genomics*, 2(1), 90–95. [https://doi-org.pbidi.unam.mx:2443/10.1016/0888-7543\(88\)90113-9](https://doi-org.pbidi.unam.mx:2443/10.1016/0888-7543(88)90113-9)
 18. Mah, J. K., Korngut, L., Dykeman, J., Day, L., Pringsheim, T., & Jette, N. (2014). A systematic review and meta-analysis on the epidemiology of Duchenne and Becker muscular dystrophy. *Neuromuscular disorders : NMD*, 24(6), 482–491. <https://doi-org.pbidi.unam.mx:2443/10.1016/j.nmd.2014.03.008>
 19. Ishizaki, M., Kobayashi, M., Adachi, K., Matsumura, T., & Kimura, E. (2018). Female dystrophinopathy: Review of current literature. *Neuromuscular disorders : NMD*, 28(7), 572–581. <https://doi-org.pbidi.unam.mx:2443/10.1016/j.nmd.2018.04.005>
 20. Magri, F., Govoni, A., D'Angelo, M. G., Del Bo, R., Ghezzi, S., Sandra, G., Turconi, A. C., Sciacco, M., Ciscato, P., Bordononi, A., Tedeschi, S., Fortunato, F., Lucchini, V., Bonato, S., Lamperti, C., Coviello, D., Torrente, Y., Corti, S., Moggio, M., Bresolin, N., ... Comi, G. P. (2011). Genotype and phenotype characterization in a large dystrophinopathic cohort with extended follow-up. *Journal of neurology*, 258(9), 1610–1623. <https://doi-org.pbidi.unam.mx:2443/10.1007/s00415-011-5979-z>

21. Yuan, R., Yi, J., Xie, Z., Zheng, Y., Han, M., Hou, Y., Wang, Z., & Yuan, Y. (2018). Genotype-phenotype correlation in Becker muscular dystrophy in Chinese patients. *Journal of human genetics*, 63(10), 1041–1048. <https://doi-org.pbidi.unam.mx:2443/10.1038/s10038-018-0480-5>.
22. Juan-Mateu, J., Gonzalez-Quereda, L., Rodriguez, M. J., Baena, M., Verdura, E., Nascimento, A., Ortez, C., Baiget, M., & Gallano, P. (2015). DMD Mutations in 576 Dystrophinopathy Families: A Step Forward in Genotype-Phenotype Correlations. *PloS one*, 10(8), e0135189. <https://doi-org.pbidi.unam.mx:2443/10.1371/journal.pone.0135189>.
23. Ohlendieck, K., & Swandulla, D. (2021). Complexity of skeletal muscle degeneration: multi-systems pathophysiology and organ crosstalk in dystrophinopathy. *Pflugers Archiv : European journal of physiology*, 473(12), 1813–1839. <https://doi-org.pbidi.unam.mx:2443/10.1007/s00424-021-02623-1>
24. Darras, B. T., Urion, D. K., & Ghosh, P. S. (2000). Dystrophinopathies. In M. P. Adam (Eds.) et. al., *GeneReviews*[®]. University of Washington, Seattle.
25. Nascimento Osorio, A., Medina Cantillo, J., Camacho Salas, A., Madruga Garrido, M., & Vilchez Padilla, J. J. (2019). Consensus on the diagnosis, treatment and follow-up of patients with Duchenne muscular dystrophy. Consenso para el diagnóstico, tratamiento y seguimiento del paciente con distrofia muscular de Duchenne. *Neurología*, 34(7), 469–481. <https://doi-org.pbidi.unam.mx:2443/10.1016/j.nrl.2018.01.001>


Limitación del estudio

La principal limitación de nuestro estudio es el número de pacientes incluidos ya que se trata de un cohorte pequeña, realizada en un periodo de tiempo relativamente corto, por lo que los datos obtenidos no son estadísticamente representativos.

Otra limitante es la ausencia de datos clínicos en uno de los pacientes (Paciente 13), y la falta de estudios de segregación en la mitad de los pacientes debido a diferentes circunstancias (Defunción de la madre, madres que no aceptan segregación, falta de recursos, falta de seguimiento del paciente en consulta, referencia del paciente a otra institución, etc.)

Anexos

Anexo 1: Consentimiento informado para extracción de DNA

 **SALUD**
SECRETARÍA DE SALUD

Hospital Infantil de México Federico Gómez
Instituto Nacional de Salud
Departamento de Genética

**HOJA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA TOMA DE MUESTRA DE ADN
PARA EVALUACIÓN DIAGNÓSTICA**

Por medio de la presente autorizo la realización del siguiente procedimiento: extracción de material genético a partir de muestra de sangre o de mucosa oral.
El propósito de la toma de la muestra es la obtención de ADN del paciente. Este ADN podrá posteriormente utilizarse con fines diagnósticos o de investigación según sea necesario, por lo que será almacenado en congelación en el Laboratorio de Biología Molecular del Departamento de Genética de esta Institución.

Nuestro consentimiento se condiciona a que se mantenga en forma confidencial los datos de nuestro hijo(a) y nuestra familia. Entendemos que el procedimiento de obtención de sangre puede causar molestias.

Nuestra firma de este documento manifiesta nuestra participación voluntaria, la responsabilidad de los investigadores respecto a nuestras personas y nuestros derechos, y que podemos terminar en cualquier momento la participación en este estudio sin que se perjudique la futura atención de nuestro hijo (a). Se nos entrega una copia del documento.

Para cualquier duda contactar al Dr. Rodrigo Moreno Salgado en el Departamento de Genética del Hospital Infantil de México Federico Gómez, tel 52289917, ext 2037.

Firmo este consentimiento de conformidad y recibo copia de este.

Nombre del paciente: _____
Firma del paciente*: _____
Registro: _____ Fecha de nacimiento: _____
Nombre y firma del padre o tutor: _____
Nombre y firma testigo 1: _____
Nombre y firma testigo 2: _____
Nombre y firma de quien obtiene este consentimiento: _____
Lugar y fecha: _____

*Para pacientes mayores de 12 años aptos para firmar, además de su padre o tutor.

Dr. Márquez 162, Col. Doctores, Alcaldía Cuauhtémoc, C.P. 06720, Ciudad de México;
conmutador: (55) 5228-9917, ext. 2037,2153 www.himfg.edu.mx

Anexo 2: Consentimiento informado Invitae



Consentimiento informado para análisis genéticos patrocinados FM204-S-1 (INTERNACIONAL)

Mi profesional médico encargó uno o más análisis genéticos ofrecidos por Invitae Corporation ("Invitae"). Podré conseguir más información sobre los análisis encargados a través de mi profesional médico y también en el sitio web de Invitae (www.invitae.com). Si el paciente es menor de edad, el padre/madre o tutor otorgará el consentimiento en nombre del menor tras leer este documento, dando por entendido que los términos "mi profesional médico", "mi muestra", "mis resultados" y así sucesivamente hacen referencia al menor que se someterá al análisis.

¿Cómo se realizan los análisis? Los análisis se realizan con una pequeña muestra de sangre, saliva o ADN aislado. Una vez tomada, la muestra será enviada a Invitae para análisis. Durante el análisis Invitae examinará si hay cambios en la secuencia del ADN, denominados "variantes". Invitae solo analizará lo que encargue mi profesional médico. Para hacer otros análisis se requiere que yo dé otro consentimiento expreso, que quizás otorgue en un futuro.

¿Qué podría indicarme este análisis? Los resultados de este análisis de ADN podrían ser:

- a. positivos, y quizás:
 - i. contribuyan al diagnóstico de una afección genética;
 - ii. revelen si soy portador/a de alguna enfermedad genética que mi hijo/a podría heredar;
 - iii. revelen una predisposición o aumento del riesgo de presentar una enfermedad genética en el futuro;
 - iv. repercutan en algunos de mis familiares.
- b. negativos, y quizás:
 - i. reduzcan pero no eliminen la posibilidad de que mi afección tenga una base genética;
 - ii. reduzcan pero no eliminen la posibilidad de que mi hijo/a pudiera heredar un trastorno genético;
 - iii. reduzcan pero no eliminen mi predisposición o riesgo de presentar una enfermedad genética en el futuro;
 - iv. no revelen ninguna información;
 - v. no eliminen la necesidad de hacerme otros análisis.
- c. de significado incierto, y quizás:
 - i. den lugar a una sugerencia de que podría resultar útil hacer más análisis, o hacerles análisis a otros familiares;
 - ii. se mantengan inciertos durante el futuro previsible;
 - iii. se resuelvan con el tiempo. Se notificará a mi profesional médico si surge algún cambio de la clasificación de variantes informadas previamente que guarden relación con mi resultado.

Al realizar los análisis encargados, en raras ocasiones Invitae podría detectar cambios que no estén relacionados con el interés clínico que suscitó la necesidad de que me hiciera el análisis pero que estén asociados a un riesgo importante de sufrir otra afección que podría tener consecuencias negativas para mi salud. Estos se conocen como "hallazgos fortuitos". En conformidad con pautas médicas bien establecidas, Invitae compartirá estos hallazgos con mi profesional médico en situaciones en que existan intervenciones médicas aceptadas, y este podría optar por comentarlas conmigo.

¿Cuáles son los riesgos y limitaciones de este análisis genético? No se sabe si este análisis vaya o no a ayudar a mis profesionales médicos a entender mejor mi salud y mis opciones de tratamiento. Es posible que este análisis no detecte algunos tipos de cambios del ADN que podrían causar un trastorno genético específico. Quizás sea más informativo evaluar a un familiar afectado (de estar disponible).

Al igual que con todos los análisis genéticos moleculares, el análisis de Invitae tiene limitaciones técnicas que podrían impedir la detección de algunos cambios genéticos infrecuentes, o dar un resultado inexacto, por los siguientes motivos: mala calidad del ADN; errores técnicos infrecuentes en el laboratorio; notificación incorrecta de parentescos o información de diagnósticos clínicos, u otros tipos de limitaciones.

Existe la posibilidad de que, si se evalúa a múltiples familiares, este análisis determine que los nexos con mi familia sean diferentes de lo que yo creía. Por ejemplo, este análisis podría descubrir que el padre declarado de una persona no es su padre biológico verdadero. Invitae notificará estos hallazgos si es necesario para proporcionar resultados analíticos correctos.

¿Cómo me enteraré de los resultados de mi análisis? Los informes clínicos de Invitae se entregarán únicamente a los profesionales médicos certificados mencionados en el formulario de pedido del análisis. Los informes clínicos son confidenciales y se revelarán únicamente a otros profesionales médicos con mi consentimiento por escrito. Podré descargar mi informe clínico desde el portal para pacientes de Invitae (www.invitae.com/patients/signin) una vez que se haya dado a conocer a mis profesionales médicos o si lo solicito a Invitae en conformidad con las leyes.

¿Con quiénes puedo hablar sobre mi análisis y resultados? Invitae me recomienda que consulte con un asesor genético o con mi profesional médico antes de consentir en hacerme este análisis. Asimismo, Invitae también recomienda que consulte con un asesor genético o con mi profesional médico sobre mis resultados.

¿Qué tipo de información personal recopila Invitae sobre mí, y cómo la usarán? Para poder realizar el análisis genético, Invitae recopilará información personal y médica sobre mí; parte de esta se considera información personal confidencial según las leyes de privacidad. Invitae recibe esta información personal directamente de mí y/o de mis profesionales médicos. Invitae recopilará, creará y usará mis muestras genéticas e información personal para realizar el análisis genético y para otros fines descritos en este formulario de consentimiento, tales como (entre otros):

- a. para confirmar la exactitud de los análisis genéticos e interpretar sus resultados;
- b. para cumplir con los requisitos legales y reglamentarios, incluyendo cualquier requisito de presentar informes o compartir mi información personal con organismos reguladores nacionales, estadounidenses o extranjeros y funcionarios gubernamentales que desempeñen la función de monitorear y supervisar análisis genéticos; y
- c. para contactarme en el futuro sobre oportunidades de investigación que podrían estar relacionadas con mi afección o los resultados de mi análisis.

Invitae conservará mi información personal por el tiempo que resulte útil para los propósitos de mis análisis genéticos u otros fines abarcados por este formulario de consentimiento, o para satisfacer sus obligaciones legales.

¿De qué otra forma podrían usarse mis muestras genéticas o información personal? Con mi consentimiento a continuación, Invitae podría usar mis muestras genéticas e información personal para crear un conjunto de datos que omita mi nombre, dirección del domicilio y otra información que pueda identificarme directamente, excepto con el uso de un código cifrado que se mantiene separado del conjunto de datos. Este conjunto se llama "datos pseudonimizados". Los datos genéticos pseudonimizados pueden acelerar considerablemente las investigaciones médicas, lo que a su vez puede ayudar a ampliar los conocimientos de las afecciones genéticas, mejorar los análisis genéticos, encontrar nuevos tratamientos y, a la larga, prevenir enfermedades. Específicamente, consiento en los siguientes usos de mis datos pseudonimizados:

SEDE | 1400 16th Street, San Francisco, CA 94103 | EN LÍNEA | www.invitae.com | CONTACTO | clientservices@invitae.com | t: 800-436-3037 | E: 415-276-4164

© 2019 Invitae Corporation. Reservados todos los derechos.



Consentimiento informado para análisis genéticos patrocinados

FM204-S-1 (INTERNACIONAL)

- a. **Información genética pseudonimizada:** Invitae podría conservar, usar y/o compartir mi información genética pseudonimizada con fines educativos y de validación, investigación y/o calidad, excepto cuando lo prohíban las leyes. Invitae podría compartir mi información pseudonimizada y el nombre y la información de contacto de mis profesionales médicos con los patrocinadores del programa de análisis patrocinado específico en el cual estoy participando. Entiendo que la participación en un programa de análisis patrocinado es un acto totalmente voluntario.
- b. **Muestras pseudonimizadas:** Invitae podría conservar, usar y/o compartir mis muestras pseudonimizadas con fines educativos y de validación, investigación y/o calidad, excepto cuando lo prohíban las leyes.

¿Es privada mi información personal? Mis datos e información personal se almacenarán y protegerán según lo exijan las leyes. Invitae compartirá el informe clínico (que contiene mi información personal) con las siguientes personas y entidades:

- los profesionales médicos mencionados en el formulario de pedido del análisis;
- organismos reguladores nacionales y extranjeros y oficiales gubernamentales que desempeñen funciones de monitoreo o supervisión de análisis genéticos.

¿Se transferirá a Estados Unidos mi información personal? Sí; Invitae es una empresa radicada en Estados Unidos, recopilará mi información personal desde ese país y allí la procesará. Puede que las leyes en Estados Unidos no protejan mi privacidad en la misma medida que las leyes de mi país. Como tal, Invitae ha tomado precauciones para cumplir las leyes de privacidad y protección de datos aplicables a mi caso. En el caso de pacientes situados en el Espacio Económico Europeo, Invitae ha certificado su cumplimiento con los marcos del Escudo de la privacidad UE-EE, UU, y el Escudo de la privacidad de Suiza-EE, UU.

¿Qué derechos tengo en lo referente a mi información personal? Tengo ciertos derechos en lo referente a mi información personal; por ejemplo, el derecho de solicitar el acceso, corrección o eliminación de la misma. También tengo el derecho de oponerme a o restringir el uso de mi información personal por parte de Invitae. Por último, tengo derecho a solicitar que Invitae mueva, copie o transfiera mi información personal a otra organización. Para poder hacer alguna solicitud de ese tipo, puedo enviarla por correo electrónico a privacy@invitae.com.

Entiendo que mis derechos podrían estar limitados si Invitae no logra identificarme en caso de que, por ejemplo, mi información personal haya sido anonimizada o mi nombre y otros identificadores directos hayan sido eliminados de mi conjunto de datos. También entiendo que mis derechos tienen las siguientes limitaciones:

- Si mi información ya se ha usado o compartido, no será posible destruirla ni dejar de compartirla;
- Mi información genética y/o muestras pseudonimizadas aún podrán usarse para desarrollar nuevos análisis y para mejorar o confirmar la calidad de los análisis existentes, entre otras cosas compartir datos pseudonimizados con base de datos públicas (como ClinVar), excepto cuando lo prohíban las leyes; y
- La información global que incluya mi información genética —por ejemplo, información resumida, como el número total de pacientes evaluados con una variante específica—, aún podrá compartirse con terceros con fines investigativos o educativos.

¿Puedo revocar mi consentimiento para compartir mi información con los patrocinadores del programa de análisis? Sí, entiendo que puedo retirar mi consentimiento en cualquier momento enviando mi solicitud por correo electrónico a privacy@invitae.com; se dejará de compartir más información con los patrocinadores del programa de análisis. Si revoco mi consentimiento, entiendo que no se verá afectada la legalidad de que Invitae recopile, use o comparta mi información hasta el momento en que yo haya revocado mi consentimiento. Invitae aún podrá usar cualquier información anonimizada sobre mí tal como se describió en la sección anterior, y podrá usar mi información personal en casos en que, por ejemplo: (i) una ley exija que Invitae conserve mi información personal y (ii) Invitae esté en la obligación de cumplir con los requisitos reglamentarios aplicables al análisis genético.

¿Cambiarán algún día los resultados de mis análisis? Los conocimientos sobre la información genética mejorarán con el tiempo, por lo que quizás en el futuro se disponga de nueva información que podría afectar la interpretación de mis resultados. Invitae podrá informarme de las actualizaciones clínicas relacionadas con mi perfil genético, en consulta con el médico que haya solicitado el análisis. Puedo solicitar otras notificaciones o recursos pertinentes a mi perfil genético creando una cuenta en el portal de pacientes de Invitae: www.invitae.com/patients/signin.

¿Qué debo hacer si tengo preguntas sobre el uso de mi información? Si tengo preguntas sobre el uso de mi información, puedo enviar un correo electrónico al responsable de la privacidad/director de protección de los datos ("Chief Privacy Officer"/"Data Protection Officer") en privacy@invitae.com.

Al firmar a continuación, confirmo lo siguiente: (1) leí (o me leyeron) este consentimiento y entiendo la información que contiene; (2) entiendo que mi consentimiento para el análisis es voluntario y que puedo optar por que no se analice mi muestra; (3) consiento en la recopilación y el procesamiento de mi información personal con los fines descritos en este formulario de consentimiento; (4) consiento en compartir mi información pseudonimizada y el nombre de mis profesionales médicos con los patrocinadores del programa de análisis patrocinado específico en el que estoy participando; (5) entiendo que tengo derecho a recibir una copia de este formulario; (6) tengo toda la información que quiero; (7) me contestaron satisfactoriamente todas mis preguntas, y (8) por el presente consiento en hacerme el análisis genético.

Firma	Fecha (DD/MM/AAAA)
Nombre en letra de imprenta	Yo soy el (seleccione) <input type="radio"/> paciente <input type="radio"/> padre/madre/tutor (si el paciente es menor de edad)
Correo electrónico	

Al firmar a continuación, doy fe de que: (1) soy el médico/profesional médico autorizado remitente; (2) expliqué el propósito del análisis descrito anteriormente; (3) el paciente tuvo la oportunidad de hacer preguntas sobre este análisis y/o buscar asesoramiento genético; (4) el paciente decidió voluntariamente hacerse este análisis realizado por Invitae; y (5) conservaré el consentimiento informado por escrito y se lo entregará a Invitae, si ellos lo solicitan.

Firma del profesional médico	Fecha (DD/MM/AAAA)
------------------------------	--------------------

Anexo 3: Abreviaturas

Abreviaturas:

CK: creatinfosfoquinasa.

DAGC: complejo glicoproteico asociado a la distrofina

DAP: Proteínas asociadas a distrofina.

DMB: Distrofia muscular de Becker.

DMD: Distrofia muscular de Duchenne.

DNA: Ácido desoxirribonucleico.

ENM: Enfermedades neuromusculares.

MCD: Miocardiopatía dilatada

MLPA: amplificación de sondas dependiente de ligandos múltiples (multiplex ligation-dependent probe amplification).

PCR: reacción en cadena de la polimerasa multiplex

NGS: Secuenciación de nueva generación.

RNA: Ácido ribonucleico.

SS: Secuenciación Sanger.