

**UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON**

**FACULTAD DE MEDICINA**



**“Prevalencia de manifestaciones clínicas en un grupo de mujeres mexicanas portadoras de variantes patogénicas en *DMD*”**

Por:

**Dr. Santiago Ignacio Godínez Hernández**

Como requisito parcial para obtener el grado de

**ESPECIALISTA EN GENÉTICA MÉDICA**

Diciembre, 2023

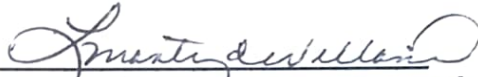
**“Prevalencia de manifestaciones clínicas en un grupo de mujeres mexicanas portadoras de variantes patogénicas en *DMD*”**

**Aprobación de la tesis:**



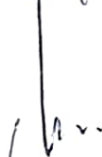
---

**Dra. med. Marisol Ibarra Ramírez**  
**Directora de la tesis**



---

**Dra. med. Laura Elia Martínez de Villarreal**  
**Jefa del Departamento de Genética**



---

**Dr. med. Ramiro Flores Ramírez**  
**Co-Director de la tesis**



---

**Dr. med. Luis Daniel Campos Acevedo**  
**Profesor Titular del Programa**



---

**Dr. med. Felipe Arturo Morales Martínez**  
**Subdirector de Estudios de Posgrado**

## DEDICATORIA Y AGRADECIMIENTOS

Para mis padres, Laura y Adrián, que me han dado todo el amor, las herramientas y apoyo para poder llegar hasta aquí, sin ustedes nada de esto hubiera sido posible, los amo.

Para mis abuelas, Graciela y Carmen, por enseñarme de amor incondicional, perseverancia, y siempre recibirme con brazos abiertos cuando lo necesitaba.

Para mi abuelo Santiago, quien es el que encendió la chispa que me llevó a decidirme para tomar el camino de la medicina y ser mi ejemplo del tipo de médico, padre, amigo que quiero ser.

A mis hermanos, Adrián y Sebastián, por ser mis compañeros de vida y siempre estar para mí, los hermanos macana siempre estamos para nosotros.

A Luis, quien se ha convertido en mi familia y con quien he compartido tanto la dicha como la agonía de este camino de la medicina y residencia, gracias.

A mis amigos y hermanos Jorge, Fernando, Iván, Rubio, Germán, Itzel, Leyton, Weeman, Rebeca, quienes me han acompañado, visto crecer y brindado su amistad incondicional por tantos años, ustedes son la familia que elegí.

A los que se convirtieron en mi familia regia: Diana, Claudia, Marisol, Israel y Lía. Monterrey fue un mejor lugar para mí gracias a que estuvieron conmigo, los quiero.

A mis compañeros de residencia: Joel, no pude haber tenido un mejor compañero para compartir estos tres años, nos apoyamos en todo momento y juntos logramos esta meta. Berty, mi compañera de melancolías, mi mentora de la residencia, mi escritora favorita. David, ejemplo de dedicación y fortaleza, serio pero lleno de amor y único regio que puedo llamar amigo. Meli, la persona más inteligente que he conocido, gracias por la paciencia y enseñanzas. Andy y Soto, las Andreas, intensas, apasionadas, decididas, hicieron un lugar más feliz la residencia. Gracias por darme su amistad, los quiero.

A mis maestros, Dra Laura, Dra Marisol, Dra Arellí, Dra Bety, Dr Daniel, por darme la oportunidad de estar aquí, por sus enseñanzas, guía, consejos, regaños y apoyo. Ustedes me enseñaron lo que es ser un médico genetista, eternamente agradecido.

A la Dra. Geo, José, Dani y Chaday, gracias por enseñarme y apoyarme para poder completar este trabajo.

Finalmente, a todo el personal del departamento de genética y a todos mis pacientes, sin ustedes nada de esto sería posible.

# TABLA DE CONTENIDO

Capítulo I	Página
1. RESÚMEN . . . . .	8
a. Introducción. . . . .	8
b. Objetivos. . . . .	8
c. Metodología. . . . .	9
d. Resultados. . . . .	9
e. Conclusiones. . . . .	9
Capítulo II	
2. INTRODUCCIÓN . . . . .	10
Capítulo III	
3. HIPÓTESIS . . . . .	17
Capítulo IV	
4. JUSTIFICACIÓN. . . . .	18
Capítulo V	
5. OBJETIVOS . . . . .	19
Capítulo VI	
6. MATERIAL Y MÉTODOS . . . . .	20
Capítulo VII	
7. RESULTADOS. . . . .	24
Capítulo VIII	
8. DISCUSIÓN . . . . .	30
Capítulo IX	
9. CONCLUSIÓN . . . . .	34

Capítulo X

10. ANEXOS .....	35
10.1 Exploración motora manual .....	35
10.2 Consentimiento informado .....	37

Capítulo XI

11. BIBLIOGRAFÍA .....	46
------------------------	----

Capítulo XII

12. RESUMEN AUTOBIOGRÁFICO .....	50
----------------------------------	----

## INDICE DE TABLAS

<b>Tabla</b>	<b>Página</b>
1. Hallazgos en resonancia magnética cardiaca .....	15
2. Escala de fuerza muscular.....	21
3. Factores demográficos.....	25
4. Indicadores bioquímicos .....	26
5. Datos clínicos.....	27
6. Pruebas moleculares .....	28
7. Grupos musculares evaluados y posición recomendada .....	35
8. Secuencia sugerida de evaluación muscular.....	36

## INDICE DE FIGURAS

<b>Figura</b>	<b>Página</b>
1. Estructura de gen <i>DMD</i> .....	12
2. Estructura de gen <i>DMD</i> y localización de VP.....	29

## LISTA DE ABREVIATURAS

**DmD:** Distrofia muscular de Duchenne

**VP:** Variantes patogénicas

**PCR:** Reacción en cadena de la polimerasa

**MS-PCR:** PCR sensible a metilación

**HTA:** Hipertensión arterial sistémica

**DM2:** Diabetes mellitus tipo 2

**CPK:** Creatina-fosfocinasa

**CPK-MB:** Creatina-fosfocinasa isoforma de células musculares cardíacas

**ALT:** Alanina transaminasa

**AST:** Aspartato transaminasa

**SNV:** Variantes de nucleótido único

**DAPC:** Complejo proteico asociado a distrofina

**NGS:** Secuenciación de nueva generación

**LGE:** Realce tardío de gadolinio

**RMC:** Resonancia magnética cardíaca

**FEVI:** Fracción de eyección de ventrículo izquierdo

## CAPÍTULO I

### 1. RESUMEN

#### **INTRODUCCIÓN**

Las distrofinopatías son enfermedades genéticas ligadas al cromosoma X, causadas por mutaciones en el gen *DMD*, siendo la distrofia muscular de Duchenne la más frecuente en hombres <sup>(1)</sup>. Aproximadamente  $\frac{2}{3}$  de las mutaciones genéticas en hombres con DMD son heredadas de madres portadoras, y  $\frac{1}{3}$  son mutaciones de novo<sup>(2)</sup>. De acuerdo con lo descrito en otras poblaciones las mujeres portadoras son sintomáticas entre 2.5-19%, las manifestaciones incluyen: debilidad muscular, marcha anormal con caídas frecuentes y cardiopatías, siendo la disfunción del ventrículo izquierdo la principal. Solo pocos estudios han evaluado los mecanismos subyacentes que generan las manifestaciones de las mujeres portadoras y se ha reportado una inactivación sesgada del X en un 30%<sup>(3)</sup>. Se considera que portadoras sintomáticas están subdiagnosticadas y en la población mexicana no existen estudios que analicen la frecuencia de características clínicas y su correlación con la inactivación del X y el genotipo.

#### **OBJETIVOS**

General:

- Estimar la prevalencia de manifestaciones clínicas en un grupo de mujeres mexicanas portadoras de variantes patogénicas en *DMD*.

Específicos:

- Estimar la prevalencia de Miocardiopatía en mujeres mexicanas portadoras de variante patogénica (VP) en *DMD*.
- Estimar la prevalencia de manifestaciones musculares y niveles de CPK, en mujeres mexicanas portadoras de mutación en *DMD*.



- Establecer una correlación de las variantes patogénicas asociadas al fenotipo.
- Establecer una correlación del estado de inactivación del X y las manifestaciones clínicas.

## **METODOLOGÍA**

Estudio prospectivo, observacional, descriptivo. Se incluyeron mujeres mayores de 18 años, reclutadas de 03/05/2022 a 01/12/2023, portadoras de variante patogénica (VP) en *DMD*, sin enfermedades crónico-degenerativas. Realizamos exploración motora manual, ecocardiograma, determinación de CPK, CPK-MB, ALT, AST, extracción de DNA y análisis de inactivación del cromosoma X mediante MS-PCR. Utilizamos estadística descriptiva (SPSS v25), y comparación del estado de metilación (prueba de t de Student).

## **RESULTADOS**

Se evaluaron 17 mujeres portadoras, con un rango de edad de 18-46 años, diez (58.8%) presentaron datos clínicos; 5 (29%) mostraron algún grado de debilidad muscular, cinco (29%) anormalidades ecocardiográficas (remodelación concéntrica de ventrículo izquierdo e hipertrofia de ventrículo izquierdo), 7 (41%) presentó elevación de CPK y de las cuales 3 (17%) presentaron también debilidad muscular. Las variantes patogénicas identificadas fueron deleciones (35%), sin sentido (35%) y duplicaciones (30%). No se observó correlación entre el tipo de mutación y la presencia de sintomatología en las pacientes. El 23% mostraron inactivación sesgada del X, de las cuales todas fueron sintomáticas, sin embargo, no hubo una correlación con significancia estadística.

## **CONCLUSIONES**

Este estudio es el primer reporte de portadoras con VP en *DMD* en México, el 58% de estas mujeres fueron sintomáticas, cifra mayor a la registrada en otras poblaciones (2-19%). No se encontró correlación genotipo-fenotipo ni influencia de la inactivación del cromosoma X para presentar síntomas. Es de importancia identificar a mujeres sintomáticas para realizar un manejo oportuno y evitar complicaciones asociadas.

## CAPÍTULO II

### 2. INTRODUCCIÓN

La distrofia muscular de Duchenne (DmD) es una enfermedad de origen genético causada por una mutación en el gen *DMD*, con locus en Xp21 y codifica la proteína distrofina <sup>(1)</sup>, las variantes patogénicas en *DMD* afecta la producción de la isoforma muscular de distrofina (Dp427m) <sup>(4)</sup>. Este trastorno provoca debilidad muscular progresiva y grave, inicia síntomas alrededor de los 2 a 3 años de edad. <sup>(1,2)</sup> Tiene una prevalencia de  $\approx$ 1-2 por 10,000 varones nacidos vivos <sup>(5,6,7)</sup>

#### **El gen *DMD* y la Distrofina**

El gen *DMD* tiene una longitud completa de  $\sim$ 2,4Mb, compuesto por ocho promotores y 79 exones. Tres promotores cadena arriba (Dp427b, Dp427m, Dp427p) que producen DNAc con una longitud completa de  $\sim$ 11,4kb y la proteína distrofina de longitud completa de 427kDa. Cuatro promotores internos (Dp260, Dp140, Dp116 y Dp71) los cuales generan isoformas de distrofina no musculares, truncadas N-terminales. La proteína de longitud completa generada a partir de Dp427m es la isoforma muscular primaria. La distrofina de longitud completa se puede dividir en cuatro dominios principales, incluido el dominio de unión a F-actina N-terminal (ABD; codificado por los exones 1-8), Rod (R; codificado por los exones 8-64), rico en cisteína (CR; codificado por los exones 64 a 70) y dominios C-terminal (CT; codificado por los exones 71 a 79). El dominio rod se puede dividir en 24 repeticiones de tipo espectrina y cuatro bisagras intercaladas. En pacientes con DmD, la producción de proteínas se trunca prematuramente y la proteína resultante no es funcional. Esto conduce a la pérdida de conexiones entre el citoesqueleto y la matriz extracelular.<sup>(8)</sup>

El RNA mensajero de longitud completo del gen de la distrofina se expresa en músculo esquelético, cardíaco y, en menor cantidad, en las neuronas cerebelosas de Purkinje. Produce tres isoformas de longitud completa en éstos

tres lugares. <sup>(9)</sup> En el músculo sano, la distrofina se localiza en la superficie intracelular del sarcolema, se ensambla con el complejo proteico asociado a distrofina (DAPC).<sup>(10,11,12)</sup> Su principal función en el músculo es estabilizar las fibras durante las contracciones, uniéndose a F-actina con dominio N-terminal y a  $\beta$ -dístroglicano con dominio C-terminal, actuando como proteína de unión y anclaje.<sup>(11)</sup>

La deficiencia de distrofina provoca el desensamble de los DAPC y pérdida de interacción entre F-actina y matriz extracelular. El DACP además tiene funciones mecánicas y de señalización en el mantenimiento de la integridad estructural de las células musculares y la actividad contráctil, por lo que su desmontaje tiene consecuencias importantes, como debilitamiento del sarcolema, isquemia funcional, daño por radicales libres, acumulación de calcio citosólico que genera muerte celular. <sup>(8)</sup>

La deficiencia para manejar el estrés mecánico inducido por actividad muscular es algo central en la patogénesis de la DmD. <sup>(13)</sup> La distrofina se expresa temprano en la gestación humana, pero los pacientes tienen síntomas mínimos hasta los 2-3 años, al momento de iniciar la marcha.<sup>(14)</sup> El Diafragma y el corazón son los músculos que condicionan el pronóstico, la necrosis del diafragma conduce a insuficiencia respiratoria y la distrofia miocárdica a insuficiencia cardíaca y muerte súbita.<sup>(15)</sup> Los patrones de expresión de distrofina y la composición de DAPC apuntan a una mayor relevancia de la actividad muscular, en sitios con mayor tensión mecánica hay mayor cantidad de distrofina, como en la unión miotendinosa y red del disco Z.<sup>(6)</sup>

Un aproximado de 60 a 65% de las mutaciones son deleciones, 5 a 15% duplicaciones y 20% variantes puntuales (SNV)<sup>(16)</sup>. Pequeñas deleciones o inserciones o mutaciones sin sentido que generan corrimiento del marco de lectura provocan el truncamiento prematuro de la traducción proteica, dando como resultado una distrofina inestable y no funcional. La “regla del marco de

lectura” establece que las variantes patogénicas que no alteran el marco de lectura generalmente se correlacionan con fenotipo de Distrofia muscular de Becker, mientras que aquellas que alteran el marco de lectura generalmente se relacionan con fenotipo más grave de DmD.<sup>(17)</sup> Los hotspots más importantes se encuentran en el exón 45-52 y 3-19 (Figura 1).<sup>(1,6)</sup> Hasta la fecha, han sido descritas aproximadamente 7939 mutaciones en *DMD*.<sup>(4)</sup>

Los métodos más utilizados para la detección de la mutación en los pacientes son dos: amplificación de sondas dependiente de ligandos múltiples (MLPA), técnica utilizada para identificar deleciones y duplicaciones, puede evaluar los 79 exones del gen *DMD*<sup>(18)</sup>, y secuenciación sanger o secuenciación de nueva generación (NGS) técnica que permite identificar mutaciones puntuales, inserciones, deleciones y duplicaciones pequeñas (<20pb).<sup>(19)</sup>

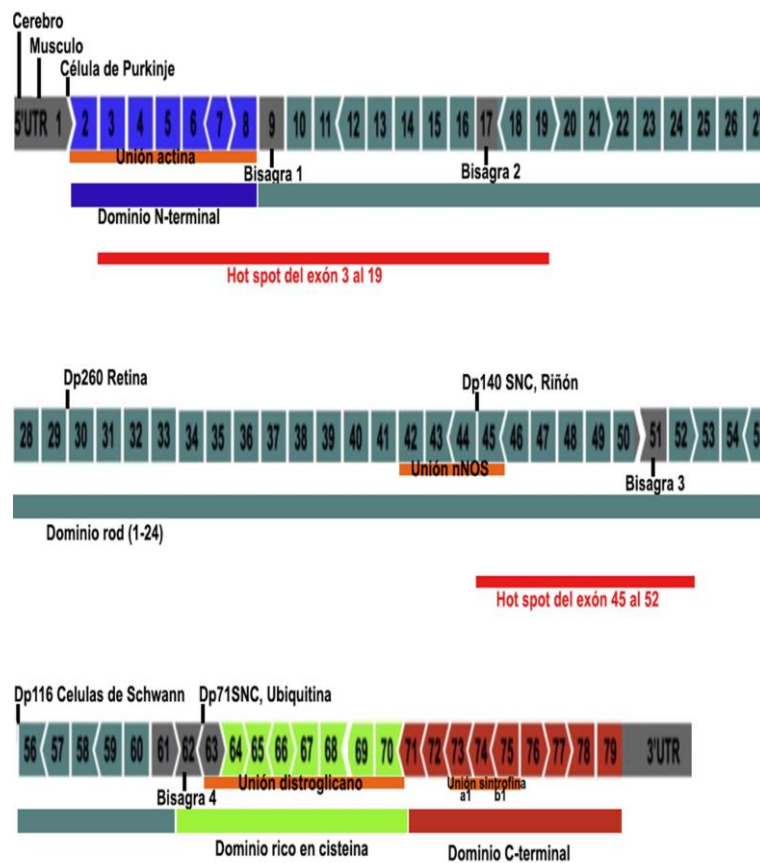


Figura 1: Estructura de gen *DMD*, localización de promotores y distintas isoformas, dominios y localización de hotspots.

### **Características clínicas de DmD**

Los síntomas se presentan en la mayoría de los pacientes entre los 2 y 5 años de edad, incluye retraso motor grueso, anomalías de la marcha, dificultad para levantarse del suelo y caídas frecuentes; la pseudohipertrofia de los gastrocnemios y el signo de Gowers positivo son datos clínicos característicos de este trastorno. Podemos encontrar discapacidad intelectual, retraso del lenguaje, niveles séricos elevados de CPK y transaminasas hepáticas. La debilidad se caracteriza por ser de extremidades inferiores proximales y del tronco, posteriormente se afecta extremidades superiores y músculos distales, debilidad de cuello e incapacidad para saltar. Sin tratamiento y seguimiento, la mayoría de los pacientes necesitarán usar silla de ruedas a los 11-12 años.<sup>(20)</sup> Las manifestaciones cardiacas incluyen cardiomiopatías y arritmias, un tercio de los pacientes lo presentan a los 14 años y estará en todos a los 18 años.<sup>(21)</sup> En el 100% de los casos se presentará insuficiencia respiratoria crónica secundaria a restricción pulmonar, la capacidad vital aumenta hasta aproximadamente 12 años y posteriormente disminuye 4-8% por año.<sup>(22)</sup> Frecuentemente se presentan complicaciones ortopédicas, la escoliosis se desarrollará en casi todos los niños no tratados con corticoesteroides.<sup>(23)</sup> La esperanza de vida de estos pacientes, con los cuidados óptimos, llega hasta los 40 años.<sup>(16)</sup>

### **Mujeres Heterocigotas de variantes patogénicas en DMD**

La literatura reporta que aproximadamente  $\frac{2}{3}$  de las mutaciones genéticas en pacientes hombres con DmD son heredadas de madres portadoras y  $\frac{1}{3}$  son mutaciones *de novo*.<sup>(24)</sup> Las mujeres portadoras, es decir, aquellas que tienen una mutación en uno de sus alelos de *DMD* (individuo heterocigoto), ya que las mujeres generalmente presentan dos cromosomas X, esta condición de tener dos alelos permite que la mayoría sean asintomáticas a pesar de tener una variante patogénica en *DMD*, sin embargo, una parte de ellas presentan manifestaciones clínicas y se les denominan “portadoras sintomáticas”, las manifestaciones varían desde una leve debilidad muscular, marcha anormal con caídas frecuentes con dificultad para levantarse del suelo o caminar de puntas y la aparición de

cardiomiopatía. La identificación de estas características se basa en los siguientes factores: detección de síntomas clínicos, marcadores bioquímicos: CPK, CPK-MB, ALT, AST, ecocardiograma y el diagnóstico del estado de portador a través de análisis genético molecular del gen *DMD*.<sup>(25)</sup> En una revisión extensa, Ishizaki et al. describen que la prevalencia de daño a músculo esquelético y cardiopatía dilatada en mujeres portadoras, incluyendo asintomáticas, va desde 2.5-19% de acuerdo con diferentes estudios publicados.<sup>(3)</sup>

### **Alteraciones cardiacas en mujeres heterocigotas**

La frecuencia de portadoras complicadas con miocardiopatía aumenta con la edad, Ishizaki et al. en su metaanálisis encontraron la disfunción del ventrículo izquierdo como principal hallazgo y está presente en 14-40%, también se encontró fibrosis miocárdica en 35-65%. Miocardiopatía aparece mayormente en pared posterior del ventrículo izquierdo, y se encuentra mayormente en portadoras mayores de 40 años.<sup>(3)</sup> Algunos estudios reportaron que el trastorno del miocardio progresó a miocardiopatía dilatada llevando a muerte por insuficiencia cardiaca en pacientes entre 40 a 50 años.<sup>(26)</sup> Ishizaki et al. consideran que el pronóstico de la distrofinopatía femenina podría ser aún peor que la reportada, por ecocardiografía, 17.2% presentaron anomalías cardiacas. La edad promedio de las pacientes con miocardiopatía fue  $38.2 \pm 15.9$  años (Tabla 1).<sup>(3,24)</sup>

Otras manifestaciones clínicas en mujeres heterocigotas incluyen debilidad muscular en diferentes grados, mialgias, artralgias, elevación de CPK, elevación de ALT y AST. La CPK es un componente del citosol de la fibra muscular, su actividad sérica se correlaciona positivamente con daño muscular progresivo, por lo que niveles elevados de CPK es uno de los rasgos característicos de DmD. En su estudio del 2019, Zhong et al. sugieren que niveles elevados de CPK tiene una alta especificidad y sensibilidad para el diagnóstico de mujeres portadoras, indicando la posibilidad de enfermedad neuromuscular. También se correlacionó

positivamente con niveles elevados de ALT y AST, observándose en 21.79%.<sup>(6,24,25)</sup>

Autor (año de publicación)	Número de sujetos	Portadoras asintomáticas	Edad (años)	Hallazgos RMC
Iwase et al. (2010)	7		45-62	Disfunción de VI 14%, LGE(+) 56%
Thomas et al. (2011)	5		41-68	FEVI disminuida 10.5±11%, progresión del volumen LGE 11.7±9.5%
Marvogeni et al. (2013)	35		31-69	Disfunción de VI 40%, LGE(+) 52%
Giglio et al. (2014)	30	21 (70%)	11-63 (media 36±5)	Disfunción de VI 18%, LGE(+) 47%
Schelhorn et al. (2015)	15		14-46 (media 32.3±10.2)	Disfunción de VI 33%, LGE(+) 60%
Lang et al. (2015)	22		13-60	Disfunción de VI 18%, LGE(+) 35%
Wexberg et al. (2016)	20	17 (89.5%)	21-62 (media 39.5±13)	LGE(+) 45%
Florian et al. (2016)	36		media 44±14	Disfunción de VI 20%, LGE(+) 65%

**Tabla 1:** Hallazgos de resonancia magnética cardíaca (RMC) en mujeres portadoras. FEVI: Fracción de eyección de ventrículo izquierdo, LGE: Realce tardío de gadolinio (indicador de fibrosis miocárdica).<sup>(3)</sup>

### **Correlación Genotipo-Fenotipo**

En el metaanálisis de Ishizaki et al. reportan que, en portadoras sintomáticas, el 51% de las pacientes presentaron deleciones, localizados principalmente entre los exones 44 y 55, 16.1% duplicaciones, 18.3% mutaciones puntuales y 7.5% presentaron otras mutaciones (intrónica, inserción, de empalme, etc) y 3.2% translocación. <sup>(3)</sup>



## CAPÍTULO III

### 3. JUSTIFICACIÓN

Hasta el momento se ha reportado que las mujeres portadoras de una mutación en el gen *DMD* en su mayoría son asintomáticas, solo el 2.5-19%, presentan manifestaciones clínicas que pueden tener repercusión en la calidad de vida. La mayoría de los reportes concluyen que las portadoras sintomáticas están subdiagnosticadas y en la población mexicana no existen estudios que evalúen la prevalencia y características clínicas en las mujeres portadoras. Sería importante generar este conocimiento para establecer estrategias de detección y manejo oportuno en estas mujeres, así como, analizar si existen diferencias en relación con lo reportado en otras poblaciones.

## CAPÍTULO IV

### 4. HIPÓTESIS

La prevalencia de las manifestaciones clínicas en mujeres portadoras de alguna variante patogénica en el gen *DMD* es mayor a lo reportado en previamente de 2.5%-19%.

#### **HIPÓTESIS NULA**

La prevalencia de las manifestaciones clínicas en mujeres portadoras de alguna variante patogénica en el gen *DMD* no es mayor a lo reportado en previamente de 2.5%-19%.

## CAPÍTULO V

### 5. OBJETIVOS

#### **OBJETIVO GENERAL**

Estimar la prevalencia de manifestaciones clínicas en un grupo de mujeres mexicanas portadoras de variantes patogénicas en *DMD*.

#### **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Estimar la prevalencia de miocardiopatía en mujeres mexicanas portadoras de variante patogénica en *DMD*.
- Estimar la prevalencia de manifestaciones musculares y niveles de CPK, en mujeres mexicanas portadoras de mutación en *DMD*.
- Establecer una correlación de las variantes patogénicas asociadas al fenotipo.
- Establecer una correlación del estado de inactivación del X y las manifestaciones clínicas.

## CAPÍTULO VI

### 6. MATERIAL Y MÉTODOS

Tipo de estudio: Prospectivo, observacional, descriptivo.

#### **CRITERIOS**

##### Inclusión:

- Mujeres mayores de 18 años
- Portadoras de una variante patogénica en el gen *DMD*.
- Que acepten participar en el protocolo de investigación y se obtenga el consentimiento informado de las participantes.

##### Exclusión:

- Mujeres sin análisis molecular del gen *DMD*
- Mujeres con historia de HTA o DM2 de larga evolución y/o enfermedad cardíaca isquémica.

##### Eliminación:

- Pacientes que suspendan su participación en el estudio.

#### **Métodos**

Utilizando una fórmula para determinar una muestra en un estudio de prevalencia, con el objetivo de determinar la prevalencia de pacientes sintomáticas con *DMD*, considerando una prevalencia de síntomas esperada en 2.3% Ishizaki *et al.*<sup>(3)</sup> una precisión de 5% y una confianza del 95% se requiere una muestra mínima de 35 participantes con *DMD*.

$$N = \frac{(Z\alpha)^2 (p)(q)}{\delta^2}$$

---

Previa obtención de consentimiento informado, se realizó una consulta con las participantes en el departamento de genética donde se llevó a cabo una

evaluación clínica la cual incluye una historia clínica completa, exploración física y evaluación de fuerza muscular. Para la evaluación de fuerza muscular se utilizó:

Exploración motora manual: Prueba la fuerza de músculos independientes (anexo 1) y se hace una calificación cuantitativa mediante el uso de escalas, la más común de calificación de fuerza es la escala de cinco niveles del Medical Research Council (Tabla 2). La debilidad puede ser focal o generalizada. Cuando es focal puede seguir una distribución de algunas estructuras del sistema nervioso periférico. Cuando no es focal, puede ser generalizada o tener predominio proximal o distal.

<b>Tabla 2. Escala del Medical Research Council para fuerza muscular</b>	
0	Sin contracción muscular.
1	Contracción muscular.
2	Movimientos activos sin gravedad.
3	Movimientos activos contra la gravedad.
4-	Movimientos activos contra la gravedad y una resistencia ligera.
4	Movimientos activos contra la gravedad y una resistencia moderada.
4+	Movimientos activos contra la gravedad y una resistencia intensa.
5	Fuerza normal contra resistencia.

Se tomó una muestra de sangre venosa 8ml (muestra para extracción de DNA y una muestra para medir CPK, CPK-MB y transaminasas).

En una segunda visita se realizó la evaluación por el departamento de cardiología, que incluyó la valoración clínica por un especialista en cardiología y un ecocardiograma transtorácico. Estas evaluaciones fueron sin costo para las participantes, así como los estudios complementarios.

Los datos obtenidos fueron agrupados en una base de datos para su posterior análisis estadístico, donde se obtuvo la prevalencia de las manifestaciones clínicas y se realizó un análisis descriptivo de los datos obtenidos.

## **Ensayo de Inactivación del X**

### **1.-Extracción de DNA.**

La extracción de DNA se realizó utilizando el kit comercial Gentra<sup>®</sup> Puregene<sup>®</sup> (Qiagen) de acuerdo con las indicaciones descritas, se verificó la calidad y concentración por espectrofotometría (UV/Vis) con el nanodrop 8000. Para considerar adecuada la muestra debe contener 10-100 ng/μl de DNA total con una pureza mínima de 1.80 de absorbancia en una relación de longitudes de onda de entre 260/280 nm.

### **2.-Ensayos basados en Digestión con la Enzima HpaII sensible a la metilación**

Se realizó un análisis de metilación del promotor del gen *AR* y posteriormente una PCR sensible a metilación.

Una muestra de DNA se divide en dos tubos, el tubo 1 es digerido con la enzima HpaII durante 37°C toda la noche, y el tubo 2: DNA sin digerir. Se realiza una PCR utilizando cebadores que flanquean la repetición CAG en el exón 1 del gen *AR* (Forward GCTGTGAAG GTTGCTGTTCCCTCAT y Reverse FAM-R TCCAGAATCTGTTCCAGAGCGTGC) y se realiza una electroforesis capilar usando un secuenciador ABI3500. El cálculo de Inactivación del cromosoma X (ICX) se realiza usando el área bajo la curva de los dos alelos de los repetidos

CAG (DNA digerido vs DNA no digerido). Posteriormente, se hizo el análisis estadístico de estos resultados para evaluar si existe correlación entre el estado de inactivación del X el cual debe ser aleatorio o si se observa algún sesgo en la población sintomática, el valor establecido para considerarse inactivación sesgada fue un radio 70:30.

Los análisis Estadísticos fueron mediante el uso del software SPSS v25, utilizando la comparación del grupo de portadoras sintomáticas y no sintomáticas a través de un análisis de T de Student donde se consideró un valor de  $P < 0.05$  como significativo.

## CAPÍTULO VII

### 7. RESULTADOS

Se evaluaron 17 mujeres portadoras, con un rango de edad de 18-46 años, once (64.7%) son originarias del estado de Nuevo León, cuatro (23.5%) del estado de Hidalgo, una (5.8%) del estado de Tlaxcala y una (5.8%) del estado de San Luis Potosí (Tabla 3).

Diez mujeres (58.8%) presentaron datos clínicos; de ellas, 5 (29%) mostraron algún grado de debilidad muscular, cinco (29%) anomalías ecocardiográficas tres con remodelación concéntrica de ventrículo izquierdo, una con hipertrofia de ventrículo izquierdo y una con dilatación de aurícula izquierda, siete (41%) presentaron elevación de CPK, con una media de valor entre los resultados alterados de 686 UI/L, y de ellas tres (17%) presentaron también debilidad muscular. De las 5 pacientes que presentaron anomalías ecocardiográficas, el 100% son mayores de 40 años; de las cinco pacientes que presentaron algún grado de debilidad muscular el rango de edad es entre 18 a 45 años (Tablas 4 y 5).

Las variantes patogénicas identificadas fueron 6 deleciones (35%), 6 variantes puntuales (35%) y 5 duplicaciones (30%); De las 10 mujeres sintomáticas, cuatro (40%) fueron deleciones, cuatro (40%) duplicaciones y 2 (20%) variantes puntuales (Figura 2). No se observó correlación entre el tipo de mutación y la presencia de sintomatología en las pacientes. El 23% mostraron inactivación sesgada del X, de las cuales todas fueron sintomáticas, sin embargo, no hubo una correlación con significancia estadística (Tabla 6).



Familias	Individuo	Edad	Peso	Talla	Origen	Nivel educativo
1	1	46	58 kg	1.56 m	Monterrey, Nuevo León	Secundaria
	2	24	78 kg	1.59 m	Monterrey, Nuevo León	Licenciatura
2	3	42	53 kg	1.57 m	Monterrey, Nuevo León	Bachillerato/técnico
3	4	39	77 kg	1.68 m	Santiago, Nuevo León	Bachillerato/técnico
4	5	40	75 kg	1.58 m	Tlaxcala	secundaria
	6	20	55 kg	1.65 m	Guadalupe, Nuevo León	Bachillerato/técnico
5	7	42	72 kg	1.62 m	Monterrey, Nuevo León	Preparatoria
6	8	41	64 kg	1.58 m	Monterrey, Nuevo León	Licenciada en Hotelería y Turism
7	9	33	44 kg	1.43 m	Monterrey, Nuevo León	Preparatoria
8	10	46	56 kg	1.67m	Monterrey, Nuevo León	Licenciada en ciencias de la comunicación
9	11	45	84 kg	1.69 m	Monterrey, Nuevo León	Secundaria
10	12	28	50 kg	1.44 m	Pachuca, Hidalgo	Secundaria
11	13	45	59 kg	1.57 m	Aquismol, San Luis Potosí	secundaria
12	14	31	63 kg	1.58 m	Monterrey, Nuevo León	secundaria
13	15	43	69 kg	1.54 m	Huehutla, Hidalgo	Primaria
	16	19	68 kg	1.49 m	Huehutla, Hidalgo	Primaria
	17	18	69 kg	1.55 m	Huehutla, Hidalgo	Secundaria

Tabla 3: Factores demográficos

Familias	Individuo	CPK (22-262 UI/L)	CPK-MB (0-24 UI/L)	ALT (10-42 UI/L)	AST (10-42 UI/L)
1	1	78 UI/L	12.6 UI/L	15 UI/L	22 UI/L
	2	<b>974 UI/L</b>	25.2 UI/L	31 UI/L	37 UI/L
2	3	<b>393 UI/L</b>	11.5 UI/L	16 UI/L	20 UI/L
3	4	<b>438 UI/L</b>	14.8 UI/L	29 UI/L	27 UI/L
4	5	151 UI/L	13.6 UI/L	126 UI/L	98 UI/L
	6	135 UI/L	11.1 UI/L	58 UI/L	41 UI/L
5	7	217 UI/L	14.9 UI/L	25 UI/L	19 UI/L
6	8	112 UI/L	15 UI/L	14 UI/L	20 UI/L
7	9	<b>658 UI/L</b>	35.6 UI/L	19 UI/L	31 UI/L
8	10	71 UI/L	6.9 UI/L	13 UI/L	16 UI/L
9	11	56 UI/L	10.2 UI/L	18 UI/L	20 UI/L
10	12	66 UI/L	20.1 UI/L	27 UI/L	16 UI/L
11	13	<b>400 UI/L</b>	18 UI/L	27 UI/L	28 UI/L
12	14	91 UI/L	14 UI/L	14 UI/L	18 UI/L
13	15	202 UI/L	20.6 UI/L	29 UI/L	25 UI/L
	16	<b>798 UI/L</b>	29.5 UI/L	26 UI/L	28 UI/L
	17	<b>1144 UI/L</b>	44.7 UI/L	47 UI/L	45 UI/L

Tabla 4: Indicadores bioquímicos. Valores de CPK, CPK-MB, ALT y AST

Familias	Individuo	Fuerza muscular	Ecocardiograma
1	1	Conservada	<b>Remodelación concéntrica del VI con función sistólica conservada, FEVI 67%.</b>
	2	Conservada	Sin alteraciones
2	3	Conservada	<b>Hipertrofia excéntrica del VI con función sistólica conservada, FEVI 61%.</b>
3	4	Conservada	Sin alteraciones
4	5	Conservada	<b>Dilatación auricular izquierda leve. FEVI 56%. Disfunción diastólica leve.</b>
	6	<b>EsSlzq 4/5, resto de extremidades 5/5</b>	Sin alteraciones
5	7	Conservada	Sin alteraciones
6	8	Conservada	<b>Remodelación concéntrica del VI con función sistólica conservada, FEVI 61%.</b>
7	9	<b>EsSs 4/5, EsIs 4/5</b>	Sin alteraciones
8	10	Conservada EsSs 5/5 EsIs 5/5	Sin alteraciones
9	11	<b>EsSs 5/5, EsIs 4/5</b>	Sin alteraciones
10	12	Conservada	Sin alteraciones
11	13	<b>EsSs 5/5, EI izq 5/5, EI der 2/5</b>	Sin alteraciones
12	14	Conservada	Sin alteraciones
13	15	Conservada	<b>Remodelación concéntrica de VI con función sistólica levemente reducida. FEVI 52%. Aurícula izq. dilatada.</b>
	16	Conservada	Sin alteraciones
	17	<b>ES der 5/5, ES izq 4/5, EI der 5/5, EI izq 4/5</b>	Sin alteraciones

Tabla 5: Datos clínicos, Indicadores de fuerza muscular y hallazgos en el ecocardiograma

	Individuo	Variante en <i>DMD</i>	Inactivación del X
<b>1</b>	1	Duplicación del exón 17	<b>95/5</b>
	2	Duplicación del exón 17	46/54
<b>2</b>	3	Delección de los exones 45-54	67/33
<b>3</b>	4	Duplicación de exón 12	67/33
<b>4</b>	5	<i>DMD</i> :c.5353C>T p.(Gln1785*)	62/38
	6	<i>DMD</i> :c.5353C>T p.(Gln1785*)	<b>73/27</b>
<b>5</b>	7	Delección del exón 44	38/62
<b>6</b>	8	Duplicación de exones 3-12	Homocigoto
<b>7</b>	9	Delección exones 28 a 43	38/62
<b>8</b>	10	Delección del exón 51	15/85
<b>9</b>	11	Delección de los exones 45-46	<b>82/18</b>
<b>10</b>	12	Delección del exón 45	Homocigoto
<b>11</b>	13	Duplicación de exones 45-53	<b>21/79</b>
<b>12</b>	14	<i>DMD</i> :c.5551C>T p.(Gln1851*)	<b>11/89</b>
<b>13</b>	15	<i>DMD</i> :c.6923del (p.Ala2308Valfs*13)	65/35
	16	<i>DMD</i> :c.6923del (p.Ala2308Valfs*13)	59/41
	17	<i>DMD</i> :c.6923del (p.Ala2308Valfs*13)	45/55

Tabla 6: Pruebas moleculares, VP identificadas en las participantes y el radio de inactivación del cromosoma X.

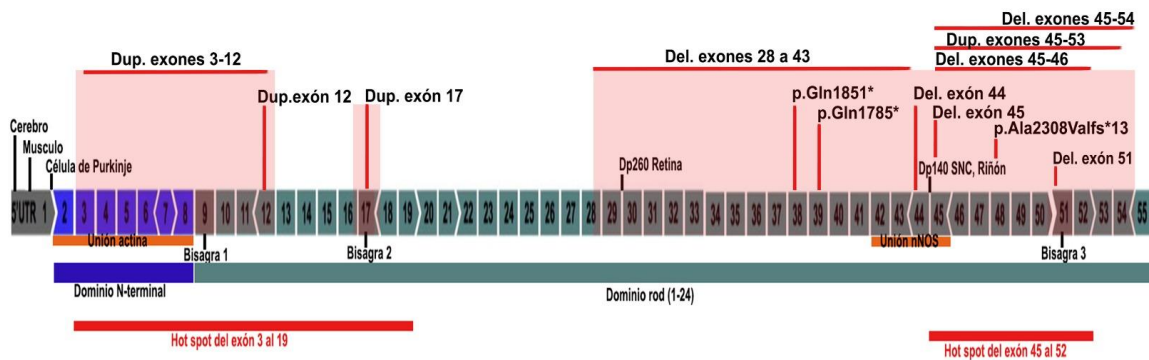


Figura 2: Estructura de gen *DMD*, se muestran localización de VP de participantes del estudio.

## CAPÍTULO VIII

### 8. DISCUSIÓN

En el presente estudio se determinó la prevalencia de manifestaciones clínicas en un grupo de mujeres mexicanas portadoras de variantes patogénicas en el gen DMD.

Se evaluaron a 17 mujeres portadoras, mayormente del noreste de México (64.7%) y el resto del centro del país (35.3%), lo cual lo hace el estudio en Latinoamérica más grande reportado hasta el momento, encontramos previamente reportado en la literatura solo un estudio realizado por F. Giliberto et al en población argentina, donde reportaron 6 mujeres sintomáticas portadoras de VP en DMD. Ishizaki et al. tienen hasta el momento el metaanálisis más grande reportado, donde incluyeron una revisión e 10 artículos, cuyo tamaño de muestra tienen un rango entre 56 a 197 pacientes, pero ninguno en pacientes de población latinoamericana.

Encontramos una prevalencia de manifestaciones clínicas en el 58.8%, siendo superior a lo reportado en otros estudios analizados por Ishizaki et al. en poblaciones japonesas y europeas, que varía desde 2.5-19%, siendo la debilidad muscular y cardiomiopatía los datos de mayor relevancia.

En este estudio encontramos la presencia de debilidad muscular leve en 29% y anomalías ecocardiográficas en el 29% de nuestras pacientes. Los hallazgos ecocardiográficos fueron: remodelación concéntrica de ventrículo izquierdo (17%), hipertrofia de ventrículo izquierdo (5%) y dilatación de aurícula izquierda (5%), lo cual se agrupa en cardiomiopatía dilatada a expensas de cavidades izquierdas, y de ellas ninguna presentó en conjunto alteraciones ecocardiográficas y debilidad muscular; todas las pacientes que presentaron anomalías ecocardiográficas son mayores a 40 años. Nuestros resultados son concordantes con lo reportado por Ishizaki et al. donde el hallazgo más frecuente fue disfunción de ventrículo izquierdo en un 14-40%, y corroboran sus hallazgos con resonancia

magnética cardiaca, y describen que pacientes mayores a 40 años tienen lesiones más extensas que aquellas menores a esta edad. Una limitación en nuestro estudio es que no fue posible realizar resonancia magnética cardiaca en nuestras pacientes.

Con respecto a los hallazgos bioquímicos, se identificó elevación de CPK en 41%, en el 17% se presentó en conjunto con debilidad muscular leve, mientras que el resto de los parámetros evaluados (CPK-MB, ALT y AST) no presentaron alteraciones, siendo discordante a lo identificado por Zhong et al. quienes detectaron elevación de CPK en 65% y elevación de niveles de AST y ALT en 21% de mujeres portadoras, lo cual es superior a nuestros hallazgos.

Respecto a las variantes patogénicas del gen *DMD*, seis mujeres (35%) tienen deleciones, y se localizan dentro del hotspot 45-52. Seis participantes (35%) tienen mutaciones puntuales. Cinco individuos (30%) tienen duplicaciones, cuatro involucran el hotspot 3-19 y uno el hotspot 45-52. De las 10 mujeres portadoras sintomáticas, el 40% tiene deleciones, 40% tiene mutaciones puntuales y 20% tienen duplicaciones (Figura 2). Sin embargo, no se observó una correlación entre el tipo de mutación y la presencia de síntomas en las participantes. Ishizaki et al. reporta en portadoras sintomáticas una prevalencia de 51% de deleciones, principalmente entre exones 44-55, 18% mutaciones puntuales, 16% duplicaciones y 15% otras alteraciones (variantes de splicing, translocaciones, etc), lo cual es similar en el porcentaje de deleciones y duplicaciones, pero difiere en la prevalencia de mutaciones puntuales. El fenotipo se correlaciona con el grado de expresión de distrofina, por lo que deleciones muy grandes pueden llevar a ausencia de expresión de distrofina. Duan et al. describen algunos fenotipos que se han logrado identificar en pacientes con DmD: la falta de la isoforma Dp140 en el exón 45 se asocia con mayor deterioro en general, involucro de la isoforma Dp71 en exón 63 se relaciona con discapacidad cognitiva y por último, regiones que involucran las regiones R16-R19 (exones 42 a 49) se encuentran en mayor proporción en enfermedad cardiaca.<sup>(6)</sup>

Encontramos un patrón de inactivación sesgada del cromosoma X en 23% de las participantes y todas presentaron algún síntoma clínico, sin embargo, no fue posible establecer una significancia estadística. Nuestro resultado es similar a lo reportado en la literatura, Ishizaki et al. en su metaanálisis reportan que está presente en 33.3-100% de las pacientes. En las mujeres se produce el fenómeno de la inactivación del cromosoma X durante la primera semana del desarrollo embrionario. El X inactivo puede ser el paterno o el materno y se inactiva de forma aleatoria y permanente. Normalmente la asignación aleatoria de la inactivación del X hace que se inactive 50% de los cromosomas X de origen materno y 50% de los de origen paterno, da como resultado un mosaico de células que expresan cada una uno de los dos cromosomas X. Sin embargo, si se da una inactivación sesgada puede proporcionar ventajas o desventajas y ocasionar la aparición de síntomas. Además, Schreyer et al. describieron una firma epigenética en pacientes con DmD, donde encontraron 158 sondas hipometiladas, donde destacan genes modificadores *SPP1*, *LTBP4*, *CD40* y *THBS1*, que están involucrados en varias vías moleculares interconectadas que regulan la respuesta inflamatoria al daño muscular y fibrosis.<sup>(28)</sup> Rugowska et al. también describieron que las modificaciones en el complejo distrofina-glicoproteínas se han asociado a pérdida de transmisión de señales entre membrana plasmática y núcleo, llevando a activación transcripcional epigenética aberrante y una capacidad regenerativa deteriorada.<sup>(29)</sup> Por lo anterior, para un mejor entendimiento y comprensión de las mujeres sintomáticas portadoras de VP en *DMD* es de interés y necesario evaluar este tipo de mecanismos epigenéticos.

Este estudio tiene algunas limitaciones que tienen que mencionarse, la más importante es el tamaño de la muestra, pero pese a ello, sigue siendo el estudio más grande en Latinoamérica en este tema. Y de acuerdo con nuestros resultados, el porcentaje de mujeres portadoras con manifestaciones clínicas es mayor al reportado en otros estudios lo que aporta información en nuestra población para continuar con las estrategias de diagnóstico oportuno de las portadoras de mutaciones en *DMD*, brindar un adecuado asesoramiento y establecer el manejo y seguimiento en aquellas con manifestaciones clínicas.



Este estudio aporta evidencia de la necesidad de seguir estudiando a las mujeres portadoras de mutaciones de herencia ligada al X y los mecanismos que generan manifestaciones clínicas en estas mujeres, los cuales aún no se encuentran bien establecidos, por lo cual se debe evaluar otros mecanismos epigenéticos que posiblemente intervienen en el desarrollo de las manifestaciones clínicas en estas mujeres, al entender estos mecanismos se pueden diseñar nuevas estrategias terapéuticas.

Para finalizar, este grupo de mujeres normalmente no se le da el seguimiento y atención pertinente por el subdiagnóstico de manifestaciones clínicas, por lo que es de relevancia conocer los síntomas y complicaciones asociadas para poder brindar un manejo oportuno de estas pacientes.

## CAPÍTULO IX

### 9. CONCLUSIONES

Este estudio es el primer reporte de portadoras con VP en *DMD* y sus manifestaciones clínicas en México.

El 58% de estas mujeres fueron sintomáticas, cifra mayor a la registrada en otras poblaciones (2-19%).

No se encontró correlación genotipo-fenotipo ni influencia de la inactivación sesgada del cromosoma X para presentar síntomas.

Este estudio aporta evidencia de la importancia de identificar a las mujeres portadoras para realizar una evaluación y manejo oportuno para evitar complicaciones asociadas a esta condición.

## CAPÍTULO X

### 10. ANEXOS

#### 10.1 Exploración motora manual

<b>Grupo muscular</b>	<b>Posición</b>
Trapecios <b>(Elevador de hombros)</b>	Sentado
Deltoides medio <b>(Abductor de hombro)</b>	Sentado
Bíceps braquial <b>(Flexor de codo)</b>	Sentado
<b>Extensores de muñeca</b>	Sentado (pronación)
<b>Flexores de muñeca</b>	Sentado (supinación)
<b>Cuádriceps femoral (Extensor de rodilla)</b>	Sentado
<b>Dorsiflexores de tobillo</b>	Sentado
<b>Flexores del cuello</b>	Supino
Glúteo medio <b>(Abductor de cadera)</b>	De lado
<b>Extensores del cuello</b>	Prono
Glúteo mayor <b>(Extensor de cadera)</b>	Prono
Isquiotibiales <b>(Extensores de rodilla)</b>	Prono
<b>Flexores plantares del tobillo</b>	Prono/Parado

Tabla 7: Grupos musculares evaluados y posición recomendada para la evaluación <sup>(27)</sup>

Posición	Orden de prueba
<b>SENTADO</b>	
<b>Trapecios (Elevador de hombros)</b>	1
Deltoides medio (Abductor de hombro)	2
Bíceps braquial (Flexor de codo)	3
Extensores de muñeca (Extensor radial/cubital del carpo)	4
Flexores de muñeca (Flexor radial/cubital del carpo)	5
Iliopsoas (Flexores de cadera)	6
Cuadríceps femoral (Extensor de rodilla)	7
Dorsiflexores de tobillo (Tibial anterior)	8
<b>SUPINO</b>	
Flexores del cuello <b>(Escalaenos, esternocleidomastoideo)</b>	9
Trapecios (Elevador de hombros)	10
Deltoides medio (Abductor de hombro)	11
Glúteo medio	12
<b>DE LADO</b>	
Glúteo medio <b>(Abductor de cadera)</b>	13
Iliopsoas (Flexores de cadera)	14
Glúteo mayor (Extensor de cadera)	15
Isquiotibiales (Extensores de rodilla)	16
Bíceps braquial (Flexor de codo)	17
Flexores del cuello	18
Extensores del cuello	19
<b>PRONO</b>	
Flexores del cuello <b>(Longísimo, semiespinosos)</b>	20
Glúteo mayor (Extensor de cadera)	21
Isquiotibiales (Extensores de rodilla)	22
Flexores plantares del tobillo	23
<b>DE PIE</b>	
<b>Flexores plantares del tobillo</b>	24

Tabla 8: Secuencia sugerida de evaluación muscular <sup>(27)</sup>

## 10.2 Consentimiento informado

<b>Título del Estudio</b>	Prevalencia de manifestaciones clínicas en un grupo de mujeres mexicanas portadoras de variantes patogénicas en <i>DMD</i>
<b>Nombre del Investigador Principal</b>	Dra. Marisol Ibarra Ramírez
<b>Servicio / Departamento</b>	Genética médica
<b>Teléfono de Contacto</b>	4771081731
<b>Persona de Contacto</b>	Dr. Santiago Ignacio Godínez Hernández
<b>Versión de Documento</b>	2.0
<b>Fecha de Documento</b>	27 de abril 2022

Usted ha sido invitada a participar en un estudio de investigación. Este documento contiene información importante acerca del propósito del estudio, lo que usted hará si decide participar, y la forma en que nos gustaría utilizar su información personal y la de su salud.

Puede contener palabras que Usted no entienda. Por favor solicite a su médico o al personal del estudio que le explique cualquier palabra o información que no le quede clara.

### 1.-¿CUÁL ES EL PROPÓSITO DEL ESTUDIO?

El estudio al que está siendo invitada a participar tiene como objetivo generar conocimiento relacionado a las consecuencias en su salud por ser portadora de mutación (Cambio en la información de su material genético) en el gen *DMD*, un gen es la unidad fundamental de la herencia, una secuencia de DNA en una posición específica que da como resultado un producto (una proteína normalmente), en el caso del gen *DMD* la proteína que da como resultado se llama "distrofina", la cual participa en el adecuado funcionamiento del músculo, una mutación en el gen *DMD* va a provocar un mal funcionamiento de esta proteína, y por consiguiente, el músculo pierde su fuerza y su integridad. El ser portadora significa que tiene una copia del gen *DMD* mutado. Se ha reportado que las mujeres portadoras de una mutación en el gen *DMD* pueden presentar manifestaciones clínicas, como debilidad, y un crecimiento anormal del corazón (cardiomiopatía hipertrófica) que pueden tener repercusión en la calidad de vida. No existe información en México respecto a las manifestaciones clínicas en mujeres portadoras ni el porcentaje que lo presentan. Se le pide participar porque buscamos generar este conocimiento para establecer estrategias de detección y manejo oportuno en estas mujeres, así como, analizar si existen diferencias en relación con lo reportado por otras poblaciones.

## **2.-¿CUÁL SERÁ LA DURACIÓN DEL ESTUDIO Y CUÁNTOS PARTICIPANTES HABRÁ EN ESTE ESTUDIO?**

La duración del estudio será de aproximadamente 1 año. Se incluirá a 35 participantes en este trabajo de investigación.

## **3.-¿CUÁLES SON LOS REQUISITOS QUE SE TOMARÁN EN CUENTA PARA MI PARTICIPACIÓN?**

Para poder participar en este estudio, es necesario ser mujer mayor de 18 años, que se haya identificado una mutación patogénica en el gen *DMD*, no haber sido diagnosticada con Diabetes Mellitus (azúcar alta en sangre) o hipertensión arterial (presión sanguínea alta), en los últimos 10 años o haber presentado infarto del corazón.

## **4.-¿CUÁL ES EL TRATAMIENTO DEL ESTUDIO?**

No aplica

## **5.-¿CUÁLES SON LOS PROCEDIMIENTOS QUE SE ME REALIZARÁN?**

Los procedimientos que se le realizarán serán los siguientes:

- **Valoración médica:** Es necesario acudir a una consulta médica para poder recabar la mayor cantidad de información sobre su estado de salud y antecedentes familiares, se realizará una exploración física, poniendo especial atención en la valoración de la fuerza muscular, la cual se llevará a cabo a través de una serie de movimientos y ejercicios dentro del consultorio, sencillos y que no ponen en riesgo la integridad física. La entrevista y valoración tiene una duración aproximada de una hora y media.
- **Ecocardiograma:** Estudio ultrasonográfico que permite valorar la forma y función del corazón, se utiliza un transductor que manda ondas de sonido, las cuales son captadas y producen imágenes del corazón, este procedimiento se realiza en un consultorio por un médico especialista en cardiología, en un tiempo aproximado de 40 minutos, siendo este un estudio no invasivo y que no genera riesgos para su salud.
- **Obtención de muestras de sangre a través de una punción venosa se obtendrá 4ml (1 cucharada aproximadamente) para medir niveles de CPK, CPK-MB, AST y ALT séricos** que son sustancias que se encuentran en los músculos, y al momento de sufrir

algún daño, se liberan a la sangre circulante por las venas y arterias, por lo tanto, son marcadores de daño muscular.

- **Establecer estado de inactivación del cromosoma X:** Las mujeres tienen dos cromosomas X en cada una de sus células, y de forma natural uno de ellos va a silenciarse (no va a ser funcional), nos interesa saber si el cromosoma X que está silenciado es el que contiene el gen mutado de *DMD*, por lo cual a través de una muestra de sangre de aproximadamente 4 ml (una cucharada) se hará una extracción de DNA, para a su vez realizar este análisis.

#### **6.-¿QUÉ VA A HACER SI USTED DECIDE PARTICIPAR EN ESTE ESTUDIO?**

Si Usted da su consentimiento para participar, se le pedirá que acuda a consulta en el departamento de genética médica, donde se hará historia clínica y exploración física a través de una serie de preguntas y algunos ejercicios físicos sencillos, donde se valorará la fuerza muscular, toma de muestra de sangre periférica, que consiste en introducir una aguja en alguna vena periférica para poder extraer 8ml de sangre (aproximadamente 2 cucharadas). Se programará una cita para acudir al servicio de cardiología para que se realice el ecocardiograma. Se informará de sus resultados en una tercera cita al concluir el estudio.

#### **7.-¿CUÁLES SON LOS POSIBLES RIESGOS O MOLESTIAS?**

Los riesgos de los procedimientos del estudio incluyen molestias en sitio de punción de toma de muestra de sangre periférica, las cuales incluyen riesgo de enrojecimiento del sitio donde se toma la muestra, dolor leve, sangrado e irritabilidad del sitio de punción o formación de hematomas (moretones), también pudiera llegar a desmayarse y tener infecciones locales, pero es una complicación rara. Riesgo de realizar el Ecocardiograma son presión y molestias mínimas con el uso de transductor, lo cual es poco probable.

#### **8.-¿CUÁLES SON LOS POSIBLES BENEFICIOS PARA USTED O PARA OTROS?**

Es probable que Usted no tenga un beneficio directo por participar en este estudio de investigación.

Los posibles beneficios para usted incluyen conocer posibles manifestaciones clínicas de su estado de portadora, el asesoramiento para atender cualquier hallazgo encontrado.

La participación en este estudio puede ayudar a los médicos a comprender mejor la frecuencia de manifestaciones clínicas en mujeres portadoras de mutación del gen *DMD* en una población de mujeres mexicanas.

**9.-¿QUÉ OTROS PROCEDIMIENTOS O TRATAMIENTOS PODRÍAN ESTAR DISPONIBLES PARA USTED?**

No hay un manejo establecido para las mujeres portadoras de mutaciones en *DMD*, puede acudir a una consulta de asesoramiento genético si no desea participar en este estudio.

**10.-¿SU PARTICIPACIÓN EN ESTE ESTUDIO LE GENERARÁ ALGÚN COSTO?**

No habrá costos para Usted por participar en este estudio.

Las pruebas o procedimientos que son parte de este estudio no generarán algún costo para usted, otros exámenes y procedimientos que son parte de su cuidado médico habitual no serán pagados en este estudio. Si Usted no cuenta con un seguro médico o su seguro no cubre los gastos de atención médica habitual, Usted será el responsable de cubrir esos gastos.

**11.-¿SE LE PROPORCIONARÁ ALGUNA COMPENSACIÓN ECONÓMICA PARA GASTOS DE TRANSPORTACIÓN?**

A Usted no se le proporcionará ninguna compensación para sus gastos de transportación y o viáticos.

**12.-¿RECIBIRÁ ALGÚN PAGO POR SU PARTICIPACIÓN EN ESTE ESTUDIO?**

Usted no recibirá ningún pago por la participación en este estudio.

**13.-¿SE ALMACENARÁN MUESTRAS DE SANGRE O TEJIDOS PARA FUTURAS INVESTIGACIONES?**

Autorizar el almacenamiento de sus muestras de sangre o tejidos para futuras investigaciones de su enfermedad no le generará un costo a Usted. Sus muestras serán utilizadas sólo para esta investigación y no

se comercializarán ni serán usadas para crear líneas celulares inmortales. La investigación que se realice con ellas puede llevar al desarrollo de nuevos productos o medicamentos en un futuro. Usted no recibirá ninguna compensación ahora o en el futuro por el uso de estas muestras. Las



muestras serán almacenadas en el departamento de genética médica de la UANL por un lapso de 5 años. Una vez transcurrido este tiempo, las muestras serán desechadas, las cuales solo serán usadas para los análisis aquí descritos.

#### **14.-¿QUÉ DEBE HACER SI LE PASA ALGO COMO RESULTADO DE PARTICIPAR EN ESTE ESTUDIO?**

Si Usted sufre una lesión o enfermedad durante su participación en el estudio, debe buscar tratamiento a través de su médico de cabecera o centro de atención médica de elección y debe informarse inmediatamente al médico del estudio.

Los gastos que genere dicha lesión o enfermedad sólo le serán pagados si el médico del estudio ha decidido que la lesión / enfermedad está directamente relacionada con los procedimientos del estudio, y no es el resultado de una condición preexistente de la progresión normal de su enfermedad, o porque no se han seguido las indicaciones que el médico de estudio ha recomendado.

#### **15.-¿CUÁLES SON SUS DERECHOS COMO SUJETO DE INVESTIGACIÓN?**

Si decide participar en este estudio, Usted tiene derecho a ser tratado con respeto, incluyendo la decisión de continuar o no su participación en el estudio. Usted es libre de terminar su participación en este estudio en cualquier momento.

#### **16.- ¿PUEDE TERMINAR SU PARTICIPACIÓN EN CUALQUIER MOMENTO DEL ESTUDIO?**

Su participación es estrictamente voluntaria. Si desea suspender su participación, puede hacerlo con libertad en cualquier momento. Si elige no participar o retirarse del estudio, su atención médica presente y/o futura no se verá afectada y no incurrirá en sanciones ni perderá los beneficios a los que usted tendría derecho de algún otro modo.

Su participación también podrá ser suspendida o terminada por el médico del estudio, sin su consentimiento, por cualquiera de las siguientes circunstancias:

- Que el estudio haya sido cancelado.
- Que el médico considere que es lo mejor para Usted.
- Que necesita algún procedimiento o medicamento que interfiere con esta investigación.
- Que no ha seguido las indicaciones del médico lo que pudiera traer como consecuencias problemas en su salud.

Si Usted decide retirarse de este estudio, deberá realizar lo siguiente:

- Notificar a su médico tratante del estudio
- Deberá de regresar todo el material que su médico le solicite.

Si su participación en el estudio se da por terminada, por cualquier razón, por su seguridad, el médico continuará con seguimientos clínicos. Además, su información médica recabada hasta ese momento podrá ser utilizada para fines de la investigación.

### **17.- ¿CÓMO SE PROTEGERÁ LA CONFIDENCIALIDAD DE SUS DATOS PERSONALES Y LA INFORMACIÓN DE SU EXPEDIENTE CLÍNICO?**

Si acepta participar en la investigación, el médico del estudio recabará y registrará información personal confidencial acerca de su salud y de su tratamiento. Esta información no contendrá su nombre completo ni su domicilio, pero podrá contener otra información acerca de Usted, tal como iniciales y su fecha de nacimiento. Toda esta información tiene como finalidad garantizar la integridad científica de la investigación. Su nombre no será conocido fuera de la Institución al menos que lo requiera nuestra Ley.

Usted tiene el derecho de controlar el uso de sus datos personales de acuerdo con la Ley Federal de Protección de datos Personales en Posición de Particulares, así mismo de solicitar el acceso, corrección y oposición de su información personal. La solicitud será procesada de acuerdo con las regulaciones de protección de datos vigentes. Sin embargo, cierta información no podrá estar disponible hasta que el estudio sea completado, esto con la finalidad de proteger la integridad del Estudio.

La Facultad de Medicina y Hospital Universitario, así como el Investigador serán los responsables de salvaguardar la información de acuerdo con las regulaciones locales.

Usted tiene el derecho de solicitar por escrito al médico un resumen de su expediente clínico.

La información personal acerca de su salud y de su tratamiento del estudio podrá procesarse o transferirse a terceros en otros países para fines de investigación y de reportes de seguridad, incluyendo agencias reguladoras locales (Secretaría de Salud SSA a través de la COFEPRIS), así como al Comité de Ética en Investigación y al Comité de Investigación de nuestra Institución.

Para los propósitos de este estudio, autoridades sanitarias como la Secretaría de Salud y el Comité de Ética en Investigación y/o el Comité de Investigación de nuestra Institución, podrán inspeccionar su expediente clínico, incluso los datos que fueron recabados antes del inicio de su participación, los cuales pueden incluir su nombre, domicilio u otra información personal.

En caso necesario estas auditorías o inspecciones podrán hacer fotocopias de parte o de todo su expediente clínico. La razón de esto es asegurar que el estudio se está llevando a cabo apropiadamente con la finalidad de salvaguardar sus derechos como sujeto en investigación.

Los resultados de este estudio de investigación podrán presentarse en reuniones o en publicaciones.

La información recabada durante este estudio será recopilada en bases de datos del investigador, los cuales podrán ser usados en otros estudios en el futuro. Estos datos no incluirán información médica personal confidencial. Se mantendrá el anonimato.

Al firmar este documento, Usted autoriza el uso y revelaciones de la información acerca de su estado de salud y tratamiento identificado en esta forma de consentimiento. No perderá ninguno de sus derechos legales como sujeto de investigación. Si hay cambios en el uso de su información, su médico le informará.

**18.- SI TIENE PREGUNTAS O INQUIETUDES ACERCA DE ESTE ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN, ¿A QUIÉN PUEDE LLAMAR?**

En caso de tener alguna pregunta relacionada a sus derechos como sujeto de investigación de la Facultad de Medicina y Hospital Universitario podrá contactar al **Dr. med Óscar de la Garza Castro**, Presidente del Comité de Ética en Investigación de nuestra Institución o al **Lic Antonio Zapata de la Riva** en caso de tener dudas en relación a sus derechos como paciente.

**Comité de Ética en Investigación del Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González”.**

Av. Francisco I. Madero y Av. Gonzalitos s/n  
Col. Mitras Centro, Monterrey, Nuevo León México.  
CP 64460  
Teléfonos: 8183294050 ext. 2870 a 2874  
Correo electrónico: [investigacionclinica@meduanl.com](mailto:investigacionclinica@meduanl.com)

## RESUMEN CONSENTIMIENTO

### PARA LLENAR POR EL SUJETO DE INVESTIGACIÓN

- € Mi participación es completamente voluntaria.
- € Confirmando que he leído y entendido este documento y la información proporcionada del estudio.
- € Confirmando que se me ha explicado el estudio, que he tenido la oportunidad de hacer preguntas y que se me ha dado el tiempo suficiente para decidir sobre mi participación. Sé con quién debo comunicarme si tengo más preguntas.
- € Entiendo que las secciones de mis anotaciones médicas serán revisadas cuando sea pertinente por el Comité de Ética en Investigación o cualquier otra autoridad regulatoria para proteger mi participación en el estudio.
- € Acepto que mis datos personales se archiven bajo códigos que permitan mi identificación.
- € Acepto que mis materiales biológicos (sangre periférica) recolectados puedan usarse para los fines que convengan a este estudio.
- € Acepto que mi médico general sea informado de mi participación en este estudio.
- € Acepto que la información acerca de este estudio y los resultados de cualquier examen o procedimiento pueden ser incluidos en mi expediente clínico.
- € Confirmando que se me ha entregado una copia de este documento de consentimiento firmado.

---

Nombre del Sujeto de Investigación

Firma

---

Fecha

---

### PRIMER TESTIGO

---

Nombre del Primer Testigo

Firma

---

Dirección

---

Fecha

---

Relación con el Sujeto de Investigación

-----

**SEGUNDO TESTIGO**

---

Nombre del Segundo Testigo

---

Firma

---

Dirección

---

Fecha

---

Relación con el Sujeto de Investigación

**PERSONA QUE OBTIENE CONSENTIMIENTO**

He discutido lo anterior y he aclarado las dudas. A mi más leal saber y entender, el sujeto está proporcionando su consentimiento tanto voluntariamente como de una manera informada, y él/ella posee el derecho legal y la capacidad mental suficiente para otorgar este consentimiento.

---

Nombre de la Persona que obtiene el Consentimiento

---

Firma

---

Fecha

## CAPÍTULO XI

### 11. BIBLIOGRAFÍA

1. 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.
2. Mercuri, E., Bönnemann, C. G., & Muntoni, F. (2019). Muscular dystrophies. *The Lancet*, 394(10213), 2025–2038.
3. Ishizaki, M., Kobayashi, M., Adachi, K., Matsumura, T., & Kimura, E. (2018). Female dystrophinopathy: Review of current literature. *Neuromuscular Disorders: NMD*, 28(7), 572–581.
4. Aartsma-Rus, A., Van Deutekom, J. C. T., Fokkema, I. F., Van Ommen, G.-J. B., & Den Dunnen, J. T. (2006). Entries in the Leiden Duchenne muscular dystrophy mutation database: an overview of mutation types and paradoxical cases that confirm the reading-frame rule. *Muscle & Nerve*, 34(2), 135–144.
5. Magri, F., Govoni, A., D'Angelo, M. G., Del Bo, R., Ghezzi, S., Sandra, G., Turconi, A. C., Sciacco, M., Ciscato, P., Bordoni, A., Tedeschi, S., Fortunato, F., Lucchini, V., Bonato, S., Lamperti, C., Coviello, D., Torrente, Y., Corti, S., Moggio, M., ... Comi, G. P. (2011). Genotype and phenotype characterization in a large dystrophinopathic cohort with extended follow-up. *Journal of Neurology*, 258(9), 1610–1623.
6. Duan, D., Goemans, N., Takeda, S. 'ichi, Mercuri, E., & Aartsma-Rus, A. (2021). Duchenne muscular dystrophy. *Nature Reviews. Disease Primers*, 7(1), 13.

7. Crisafulli, S., Sultana, J., Fontana, A., Salvo, F., Messina, S., & Trifirò, G. (2020). Global epidemiology of Duchenne muscular dystrophy: an updated systematic review and meta-analysis. *Orphanet Journal of Rare Diseases*, 15(1), 141.
8. Duan, D. (2011). Duchenne muscular dystrophy gene therapy: Lost in translation? In *Research and Reports in Biology* (p. 31). <https://doi.org/10.2147/rrb.s13463>
9. Muntoni, F., Torelli, S., & Ferlini, A. (2003). Dystrophin and mutations: one gene, several proteins, multiple phenotypes. *Lancet Neurology*, 2(12), 731–740.
10. Ljubicic, V., Burt, M., & Jasmin, B. J. (2014). The therapeutic potential of skeletal muscle plasticity in Duchenne muscular dystrophy: phenotypic modifiers as pharmacologic targets. In *The FASEB Journal* (Vol. 28, Issue 2, pp. 548–568). <https://doi.org/10.1096/fj.13-238071>
11. Ogura, Y., Tajrishi, M. M., Sato, S., Hindi, S. M., & Kumar, A. (2014). Therapeutic potential of matrix metalloproteinases in Duchenne muscular dystrophy. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 2, 11.
12. Sakuma, K. (2017). *The Plasticity of Skeletal Muscle: From Molecular Mechanism to Clinical Applications*. Springer.
13. Clerk, A., Strong, P. N., & Sewry, C. A. (1992). Characterisation of dystrophin during development of human skeletal muscle. *Development*, 114(2), 395–402.
14. Mokhtarian, A., Lefaucheur, J. P., Even, P. C., & Sebille, A. (1999). Hindlimb immobilization applied to 21-day-old mdx mice prevents the occurrence of muscle degeneration. *Journal of Applied Physiology*, 86(3), 924–931.
15. Duan, D. (2018). Systemic AAV Micro-dystrophin Gene Therapy for Duchenne Muscular Dystrophy. *Molecular Therapy: The Journal of the American Society of Gene Therapy*, 26(10), 2337–2356.
16. Ryder, S., Leadley, R. M., Armstrong, N., Westwood, M., de Kock, S., Butt, T., Jain, M., & Kleijnen, J. (2017). The burden, epidemiology, costs and

treatment for Duchenne muscular dystrophy: an evidence review. *Orphanet Journal of Rare Diseases*, 12(1), 79.

17. García-Rodríguez, R., Hiller, M., Jiménez-Gracia, L., van der Pal, Z., Balog, J., Adamzek, K., Aartsma-Rus, A., & Spitali, P. (2020). Premature termination codons in the DMD gene cause reduced local mRNA synthesis. In *Proceedings of the National Academy of Sciences* (Vol. 117, Issue 28, pp. 16456–16464). <https://doi.org/10.1073/pnas.1910456117>
18. Verma, P. K., Dalal, A., Mittal, B., & Phadke, S. R. (2012). Utility of MLPA in mutation analysis and carrier detection for Duchenne muscular dystrophy. *Indian Journal of Human Genetics*, 18(1), 91–94.
19. Ebrahimzadeh-Vesal, R., Teymoori, A., Azimi-Nezhad, M., & Hosseini, F. S. (2018). Next Generation Sequencing approach to molecular diagnosis of Duchenne muscular dystrophy; identification of a novel mutation. *Gene*, 644, 1–3.
20. Darras, B. T., Menache-Starobinski, C. C., Hinton, V., & Kunkel, L. M. (2015). Dystrophinopathies. In *Neuromuscular Disorders of Infancy, Childhood, and Adolescence* (pp. 551–592). <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-417044-5.00030-5>
21. Nigro, G., Comi, L. I., Politano, L., & Bain, R. J. (1990). The incidence and evolution of cardiomyopathy in Duchenne muscular dystrophy. *International Journal of Cardiology*, 26(3), 271–277.
22. Suresh, S., Wales, P., Dakin, C., Harris, M.-A., & Cooper, D. G. M. (2005). Sleep-related breathing disorder in Duchenne muscular dystrophy: disease spectrum in the paediatric population. *Journal of Paediatrics and Child Health*, 41(9-10), 500–503.
23. Smith, A. D., Koreska, J., & Moseley, C. F. (1989). Progression of scoliosis in Duchenne muscular dystrophy. *The Journal of Bone and Joint Surgery. American Volume*, 71(7), 1066–1074.
24. McCaffrey, T., Guglieri, M., Murphy, A. P., Bushby, K., Johnson, A., & Bourke, J. P. (2017). Cardiac involvement in female carriers of Duchenne



- or becker muscular dystrophy. In *Muscle & Nerve* (Vol. 55, Issue 6, pp. 810–818). <https://doi.org/10.1002/mus.25445>
25. Zhong, J., Xie, Y., Bhandari, V., Chen, G., Dang, Y., Liao, H., Zhang, J., & Lan, D. (2019). Clinical and genetic characteristics of female dystrophinopathy carriers. *Molecular Medicine Reports*, 19(4), 3035–3044.
26. Mukherjee, M., Chaturvedi, L. S., Srivastava, S., Mittal, R. D., & Mittal, B. (2003). De novo mutations in sporadic deletional Duchenne muscular dystrophy (DMD) cases. *Experimental & Molecular Medicine*, 35(2), 113–117.
27. Kendall, F. P., McCreary, E. K., & Kendall, H. O. (1983). *Muscles, testing and function*. 3rd ed. Baltimore, Williams & Wilkins.
28. Schreyer, L., Reilly, J., McConkey, H., Kerkhof, J., Levy, M. A., Hu, J., Hnaini, M., Sadikovic, B., & Campbell, C. (2023). The discovery of the DNA methylation epistature for Duchenne muscular dystrophy. *Neuromuscular disorders : NMD*, 33(1), 5–14.
29. Rugowska, A., Starosta, A., & Konieczny, P. (2021). Epigenetic modifications in muscle regeneration and progression of Duchenne muscular dystrophy. *Clinical epigenetics*, 13(1), 13

## CAPÍTULO XII

### 12. RESUMEN AUTOBIOGRÁFICO

Nací en León, Guanajuato el 31 de enero de 1992. Mi padre el arquitecto Adrián Godínez Ibarra, mi madre la psicóloga María Laura Hernández Ramos. Soy el segundo hijo en una familia de 3 hermanos.

Viví los primeros 6 años de mi vida en Chihuahua, Chihuahua, por el trabajo de mi padre. Posteriormente mi familia se mudó de regreso a León, Guanajuato, donde cursé mi educación primaria y secundaria en el Colegio La Salle.

Mi preparatoria la realicé también en el Colegio La Salle, plantel Américas, donde inició mi gusto por el Karate-Do gracias al Sensei Jesús Santos, a quién considero una persona fundamental en mi desarrollo y crecimiento como persona.

Ingresé a la licenciatura de Médico cirujano en la Universidad de Guanajuato. Al finalizar, tuve la oportunidad de realizar mi servicio social en investigación, en el laboratorio de Microbiología de la Universidad de Guanajuato, donde tuve como tutor al Dr Alejandro Macías, quien me enseñó a ver la medicina de una forma diferente y apasionante.

Actualmente estoy finalizando la residencia en Genética Médica en el Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González”.