



---

---

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA  
UNIDAD DE ESTUDIOS DE POSGRADO

INSTITUTO DE SEGURIDAD Y SERVICIOS SOCIALES  
DE LOS TRABAJADORES DEL ESTADO

CENTRO MÉDICO NACIONAL "20 DE NOVIEMBRE"

**Caracterización clínica y molecular de los pacientes con trastornos  
neuromusculares de origen genético para el diagnóstico preciso y  
manejo clínico integral.**

**Tesis de posgrado**

Para obtención de grado de especialista  
en Genética Médica

**PRESENTA**

Dr. Pablo Arturo Acosta Méndez

**Tutora de tesis**

Dra. Liliana García Ortiz

**Asesores clínico metodológicos**

Dra. María del Carmen Chima Galán

Dr. José Gutiérrez Salinas



Ciudad de México, Mayo del 2024

Número de registro: 519.2023



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**

**Tesis Digitales**

**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**

**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

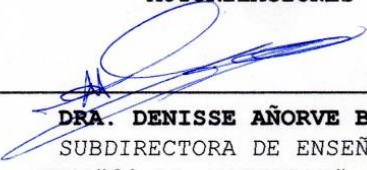
Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

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.

Tesis: "Caracterización clínica y molecular de los pacientes con trastornos neuromusculares de origen genético para el diagnóstico preciso y manejo clínico integral."

RPI 519.2023

**AUTORIZACIONES**



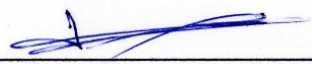
---

**DRA. DENISSE AÑORVE BAILÓN**  
SUBDIRECTORA DE ENSEÑANZA,  
CMN "20 DE NOVIEMBRE", ISSSTE



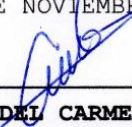
---

**DR. CHRISTIAN GABRIEL TOLEDO LOZANO**  
COORDINADOR DE INVESTIGACIÓN,  
CMN "20 DE NOVIEMBRE", ISSSTE



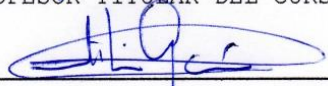
---

**DR. JOSÉ LUIS ACEVES CHIMAL**  
ENCARGADO DE LA COORDINACIÓN DE ENSEÑANZA  
CMN "20 DE NOVIEMBRE", ISSSTE



---

**DRA. MARÍA DEL CARMEN CHIMA GALÁN**  
PROFESOR TITULAR DEL CURSO



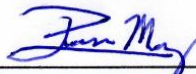
---

**DRA. LILIANA GARCÍA ORTIZ**  
TUTORA DE TESIS



---

**DR. JOSÉ GUTIÉRREZ SALINAS**  
ASESOR DE TESIS



---

**DR. PABLO ARTURO ACOSTA MÉNDEZ**  
MÉDICO RESIDENTE



GOBIERNO DE  
MÉXICO



NUEVO  
ISSSTE  
INSTITUTO DE SEGURIDAD  
Y SERVICIOS SOCIALES DE LOS  
TRABAJADORES DEL ESTADO

CENTRO MÉDICO NACIONAL "20 DE NOVIEMBRE"  
DIRECCIÓN  
SUBDIRECCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN  
COORDINACIÓN DE ENSEÑANZA

### DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD Y NO PLAGIO TESIS PARA TITULACION

La vulneración de los derechos de autor es un delito contra la propiedad de intelectual catalogado como plagio, el cual puede tener graves consecuencias, como la anulación de la matrícula y la anulación del título. y, por consiguiente, puede ser sancionada.

La adopción de ideas ajenas vertidas en un texto y presentarlas en uno propio se califica como plagio o robo de propiedad intelectual, el cual puede ser por copiar directamente, por hacer una traducción y no indicarla como tal o tomar una idea ajena sin indicar su bibliografía, lo cual va en contra del código de honor de la ciencia. Bajo protesta de decir verdad los firmantes al calce de este documento deberán lo siguiente:

1. Se realizó revisión de la bibliografía publicada en la literatura nacional e internacional, seleccionando la considerada apropiada para respaldar el conocimiento científico en el que se basa la tesis titulada Caracterización clínica y molecular de los pacientes con trastornos Neuromusculares de origen genético y esta bibliografía fue citada apropiadamente en el texto.

2. Los hallazgos de la investigación fueron contrastados con la información científica publicada, la cual fue debidamente citada en el texto.

3. Para la divulgación de la información científica, nos conduciremos en todo momento protegiendo los derechos de autor, en términos de los artículos 1, 18 y 19 y demás disposiciones aplicables a la ley federal de derechos de autor, así como de su reglamento.

Nombre y firma autógrafa del tutor

Dr. Liliana García Ortiz

Nombre y firma autógrafa del Médico Residente tesista

Dr. Pablo Arturo Acosta Híndez

Nombre y firma autógrafa del Jefe de Servicio

Dr. María del Carmen Chima Galón

Fecha de entrega de tesis

19/09/2023

El llenado de este documento deberá ser realizado a mano por las personas que lo firman

Av. San Lorenzo 502, Primer Piso, Col. Del Valle, C.P. 03229, Alcaldía Benito Juárez CDMX  
Tel. (55) 52 00 50 03, Extensión 14597, 4598, 50160 gob.mx/ISSSTE



## **Dedicatoria y agradecimientos**

"La voluntad es el motor de la vida, pero también es la fuente de nuestro sufrimiento. Estamos atrapados en los deseos y las necesidades interminables que surgen de la voluntad."

- Arthur Schopenhauer

A mi madre. Dedico este trabajo. Por tu amor y apoyo incondicional han sido la luz que ha disipado la oscuridad de la incertidumbre y el miedo. Tu fortaleza y resiliencia son la melodía que resuena en cada página de esta tesis.

A la UNAM y al ISSSTE, templos del conocimiento y la sanación, que me han brindado las herramientas para emprender este viaje.

A la Dra. María del Carmen Chima Galán y la Dra. Liliana García Ortiz, faros de sabiduría y guías en el laberinto de la genética médica, cuyo conocimiento y experiencia han sido la brújula que me ha guiado en este viaje.

A los pacientes, cuyas historias y luchas han sido la razón de ser de este trabajo. Son ustedes los verdaderos héroes de esta historia, y es a ustedes a quienes dedico cada descubrimiento y cada avance.

Como Schopenhauer, que buscaba en la música la representación más pura de la voluntad, busco en la genética la melodía que nos narra la historia de nuestra especie, una sinfonía de genes y evolución que nos habla de nuestro pasado y nos guía hacia nuestro futuro.

## **Abreviaturas**

CMN: Centro Médico Nacional “20 de Noviembre”

NMD: Trastornos neuromusculares de origen genético

CMT: Charcot-Marie-Tooth

DMD: Distrofia Muscular de Duchenne

LGMD: Distrofia Muscular de Cinturas

SMA: Atrofia Muscular Espinal

CK: Creatinina Cinasa

NGS: Secuenciación de Siguiete Generación

PTNMD: Panel de trastornos neuromusculares

MFM2: miopatía Miofibrilar tipo 2

RBM: Miopatía de cuerpos reductores

NDAXOA: Neurodegeneración con ataxia y atrofia óptica de inicio tardío

LQT: Síndrome de QT largo

HSAN: Neuropatía Hereditaria Sensitiva y Autonómica

TMD: Distrofia Muscular Tibial

BTH: Miopatía asociada a COL6A1

EDMD4: Distrofia muscular de Emery-Dreyfus tipo 4

NEM: Miopatía nemalínica

LAMA2: Distrofia Muscular de LAMA2

CMS1A: Síndrome miasténico congénito tipo 1A

## Índice general

| Apartado       |                            | Páginas |
|----------------|----------------------------|---------|
| Dedicatoria    |                            | I       |
| Abreviaturas   |                            | II      |
| Índice general |                            | III     |
| 1              | Resumen                    | 7       |
| 2              | Introducción               | 8       |
| 3              | Antecedentes               | 9       |
| 4              | Justificación              | 13      |
| 5              | Planteamiento del problema | 14      |
| 6              | Hipótesis                  | 15      |
| 7              | Objetivos                  | 16      |
| 8              | Material y Métodos         | 17      |
| 8.1            | Diseño y tipo de estudio   | 17      |
| 8.2            | Población de estudio       | 18      |
| 8.4            | Criterios de selección     | 18      |
| 8.5            | Tipo de muestreo           | 19      |
| 9              | Resultados                 | 21      |
| 10             | Discusión                  | 33      |
| 11             | Conclusiones               | 37      |
| 12             | Bibliografía               | 38      |
| 13             | Anexo 1                    | 39      |

## 1 Resumen

**Introducción:** Los trastornos neuromusculares son un grupo heterogéneo de condiciones genéticas, su prevalencia se estima en 20 a 60 por cada 100,000 habitantes. El diagnóstico diferencial de estos trastornos puede ser todo un desafío clínico. Recientemente, la secuenciación de nueva generación (NGS) ha incrementado exponencialmente la tasa diagnóstica hasta 36%, con una sensibilidad de 30 a 40%.

Dada la falta de caracterización clínica con relación a los resultados moleculares en pacientes mexicanos con NMD se mantienen subdiagnosticados por lo que las terapéuticas empleadas son erróneas lo que influye en el pronóstico de los pacientes. Las manifestaciones de los trastornos neuromusculares pueden verse influenciados por aspectos socioculturales y ambientales, así como el gen involucrado.

**Objetivo:** Caracterizar clínica y molecularmente a pacientes que acuden al Servicio de Genética Médica del CMN “20 de Noviembre” con diagnósticos de NMD de origen genético para lograr el diagnóstico y manejo preciso.

**Materiales y Métodos:** Expedientes clínicos, reportes de estudios moleculares. Se realizó un estudio de serie de casos, observacional, descriptivo, transversal, retrolectivo de pacientes con NMD de origen genético confirmados molecularmente, durante el periodo de 2019-2023.

**Resultados:** Los diagnósticos más frecuentes fueron DMD, CMT, NDAXOA y NEM. Se acepta la hipótesis en donde la caracterización clínica y molecular de los pacientes mexicanos con NMD de origen genético del Servicio de Genética Médica ayudó a obtener un diagnóstico preciso y manejo integral.

**Conclusiones:** La caracterización clínica y molecular de los pacientes proporciona un panorama único sobre los NMD de origen genético en nuestra Institución.

**Palabras clave:** Distrofias musculares, miopatías, neurodegeneración, mexicanos.



## 2 Introducción

Los trastornos neuromusculares (NMD) son un grupo de enfermedades que afectan al sistema nervioso periférico, la unión neuromuscular y a los músculos propiamente; pueden ser hereditarios o adquiridos. Dentro de los NMD adquiridos pueden ser causados por infecciones, traumatismos, intoxicaciones o enfermedades autoinmunitarias, entre otras causas<sup>1</sup>. La prevalencia de los trastornos neuromusculares en general es de 1 a 10 por cada 100,000 y la incidencia general es de 0.5 a 9 por cada 100,000 por año<sup>2</sup>.

Los NMD de origen genético son el resultado de mutaciones en diversos genes. Hasta la fecha, se han identificado aproximadamente 500 genes que están implicados en más de 1,000 NMD. Un ejemplo destacado es el gen *DMD*, el cual cuenta con cerca de 3,000 variantes asociadas a enfermedad descritas en distintos pacientes, y aún se continúan descubriendo nuevas variantes. Estas enfermedades suelen ser de naturaleza progresiva y se caracterizan principalmente por la pérdida de fuerza muscular. El inicio de la enfermedad puede variar considerablemente, ocurriendo desde el período neonatal, durante la niñez o en la vida adulta. Sin embargo, más del 50% de los casos se manifiestan durante la infancia. Los síntomas pueden ser muy variados, abarcando desde una leve debilidad muscular hasta una discapacidad motora grave<sup>1,3</sup>.

Aunque se han realizado algunas investigaciones sobre el tema en población mexicana, aún hay una falta de conocimiento sobre la prevalencia y caracterización clínica, así como molecular de estas enfermedades<sup>1,3,4</sup>. Esto es especialmente importante ya que, los NMD pueden tener un gran impacto en la calidad de vida de los pacientes y sus familias, dada su naturaleza crónica, progresiva y altamente discapacitante. Lo anterior impacta en pérdida de la autonomía personal y cargas psicosociales, ya que, aún no se dispone de tratamientos efectivos, ni curación.

### 3 Antecedentes

A lo largo de la historia, los NMD de origen genético se describen en numerosos trabajos médicos y científicos<sup>1</sup>. Su prevalencia promedio estimada es de 3.7 a 4.99 por cada 10,000 recién nacidos vivos, aunque en otras referencias se describe una prevalencia de 20 a 60 por cada 100,000, debido probablemente al solapamiento de las características clínicas, por lo que estos padecimientos son un reto diagnóstico<sup>3</sup>.

El principal motivo de consulta de los pacientes que padecen NMD es la debilidad muscular seguido de fatiga, dificultad para respirar o movilizarse y problemas de coordinación. Su abordaje diagnóstico se basa en clasificar la debilidad por evolución: progresiva o episódica, así como por localización dentro del sistema neuromuscular que finalmente determina la causa de la lesión<sup>1</sup>. Sin embargo, muchas formas de NMD tienen características clínicas superpuestas que dificultan el diagnóstico, en ese sentido en los últimos años se ha reportado que las pruebas genéticas acortan el tiempo para el diagnóstico, evitan diagnósticos erróneos, y el uso de métodos invasivos e imprecisos como la biopsia muscular<sup>3</sup>.

Los trastornos neuromusculares son un grupo de enfermedades hereditarias que surgen de defectos en la estructura y/o función del tejido muscular comprendiendo los miocitos sus miofibrillas, y su matriz extracelular o innervación de la fibra muscular<sup>4</sup>.

En cuanto a su clasificación, los NMD de origen genético pueden ser catalogados de acuerdo con las siguientes categorías:

#### Por topografía:

- 1) En primer lugar, se encuentran las neuropatías hereditarias, que afectan al sistema nervioso periférico. Un ejemplo es la enfermedad de Charcot-Marie-Tooth (CMT)<sup>5</sup>.
- 2) Enfermedades que involucran la motoneurona de astas anteriores, como la esclerosis lateral amiotrófica hereditaria y la atrofia muscular espinal (SMA)<sup>5</sup>.
- 3) Trastornos que afectan la placa de unión neuromuscular, como los síndromes miasténicos congénitos y las canalopatías.

- 4) Finalmente, se encuentran los trastornos que afectan el nivel muscular, como las distrofias musculares, como la Distrofia Muscular de Duchenne (DMD), y las miopatías, como la miopatía nemalínica (NEM)<sup>6</sup>.

Por patrón de herencia:

- a) Autosómicas dominantes: la distrofia muscular de Emery-Dreifuss y la distrofia muscular fascioescapulohumeral (FSHD).
- b) Autosómicos recesivos: que incluyen a la distrofia muscular de cinturas y SMA.
- c) Ligados al cromosoma X: incluyen DMD y la distrofia muscular de Becker<sup>3</sup>.

Las complicaciones clínicas de los NMD de origen genético pueden variar ampliamente y pueden incluir problemas respiratorios, infecciones recurrentes, disfagia, deformidades óseas y problemas cardíacos. Además, muchas personas con NMD de origen genético pueden desarrollar problemas de salud mental, como depresión y ansiedad, debido al impacto que estas enfermedades tienen en la calidad de vida y en la capacidad para realizar actividades diarias<sup>1,3</sup>.

Gracias a la secuenciación del genoma humano y a la utilización de técnicas de genómica y proteómica, en los últimos años, se han realizado importantes avances en el conocimiento sobre los NMD de origen genético, estos avances han permitido una mayor comprensión de la patogenia de estas enfermedades y han llevado a modificar o probar nuevas opciones de tratamiento. Sin embargo, a pesar de estos avances, aún existen numerosas enfermedades neuromusculares para las que no se conoce la causa exacta y no se dispone de tratamientos curativos<sup>1,6</sup>.

Estudios recientes han reportado tasas de diagnóstico definitivo de 15 a 49.3 % con una estrategia diagnóstica de secuenciación de paneles de genes y de 12.9 a 39% por exoma completo. Los paneles de genes que se han utilizado incluyen 266 genes; además, sumando el análisis de CNV, se ha alcanzado una mayor tasa diagnóstica. Lo más característico de estos estudios, ha sido la alta incidencia de variantes *de novo*, sobre todo en aquellos pacientes menores de 20 años<sup>1,3</sup>.

La secuenciación de nueva generación (NGS) es una técnica de laboratorio que se ha perfeccionado en los últimos años y ha revolucionado el campo del diagnóstico

molecular. Esta técnica se basa en la secuenciación masiva de fragmentos de ADN o ARN y permite la identificación de mutaciones y alteraciones genéticas en una amplia variedad de enfermedades. En el ámbito de los NMD de origen genético, NGS también ha demostrado ser una herramienta valiosa para el diagnóstico preciso, el manejo y la mejora del pronóstico, gracias a su alta sensibilidad y especificidad<sup>1,3,4</sup>. Las nuevas mutaciones y alteraciones genéticas identificadas por NGS en NMD, también ha permitido el desarrollo de nuevas terapias y tratamientos. Entre los avances significativos, se encuentra la modificación de salto de exones mediante oligonucleótidos antisentido, las técnicas de terapia génica basadas en virus, y la lectura de codones de paro mediante Ataluren (Translarna®), los cuales son esenciales para mejorar la calidad de vida de las personas afectadas por estas enfermedades<sup>7</sup>.

Nusinersen, el primer medicamento aprobado por la FDA para el tratamiento de la SMA, ha sido un gran avance hacia la mejora del tratamiento de enfermedades neuromusculares, ya que es un oligonucleótido antisentido que aumenta la expresión de la proteína SMN mediante la modulación del empalme del pre-ARNm de *SMN2*. Se administra por vía intratecal en intervalos regulares después de una fase de carga inicial; no obstante, la neuroinflamación, un aspecto clínicamente relevante, ha sido subestudiado en la patología de la SMA en relación con la gravedad de la enfermedad y el tratamiento con Nusinersen<sup>8</sup>.

Las terapias génicas son una opción prometedora para el tratamiento de trastornos neuromusculares monogénicos. Usando vectores virales, un transgén terapéutico busca restaurar los niveles normales de una proteína no producida por el gen defectuoso. SMA es un buen ejemplo de una enfermedad monogénica que actualmente tiene una terapia génica basada en vectores AAV9 como opción terapéutica. Específicamente, se ha aprobado una terapia de reemplazo génico de dosis única para la Atrofia Muscular Espinal, y también se ha realizado un estudio comparativo con una cohorte de historia natural prospectiva para AVXS-101 (Onasemnogene Apeparvovec) para SMA<sup>10,11</sup>.

Además, se ha investigado el uso de Eteplirsén en el tratamiento de la DMD. Este tratamiento implica saltar exones y producir distrofina, y se ha observado que tiene

un efecto longitudinal en la ambulaci3n en comparaci3n con un control hist3rico, y que puede atenuar la insuficiencia respiratoria en pacientes ambulatorios y no ambulatorios con DMD<sup>7,10</sup>.

El abordaje de los trastornos neuromusculares comienza al establecer que se trata de una afecci3n a nivel perif3rico. El comienzo es una anamnesis incluyendo detallados antecedentes familiares con esto podemos establecer un diagn3stico topogr3fico, as3 como un patr3n de herencia. Evaluaciones adicionales como estudios de conducci3n nerviosa, electromiograf3a y neuroimagen en ocasiones son necesarios. Antes de sospechar una causa gen3tica es necesario descartar otras etiolog3as que tengan un tratamiento espec3fico tales como alteraciones vasculares, infecciosas, neoplasias, intoxicaciones o condiciones autoinmunes. La integraci3n de un s3ndrome miop3tico o una posible neuropat3a es fundamental para la elecci3n de la siguiente prueba diagn3stica. Dentro del abordaje es importante preguntarse si existen alteraciones en otros sistemas que no sean neurol3gicos, por ejemplo: Visceromegalia, cardiopat3a o retinopat3a<sup>10</sup>.

En resumen, *NGS* ha demostrado ser una herramienta valiosa para el diagn3stico y el manejo de los NMD de origen gen3tico debido a su alta sensibilidad y especificidad, y ha permitido el desarrollo de nuevas terapias y tratamientos para estas enfermedades. Si bien a3n son escasas las terapias gen3ticas para variantes espec3ficas el panorama es prometedor en el desarrollo de nuevas terapias g3nicas, as3 como la edici3n gen3tica.

## 4 Justificación

El diagnóstico y el manejo de NMD son un reto, debido a la complejidad de los signos y síntomas de estas enfermedades y a la falta de conocimiento sobre ellas en algunos casos. Además, en algunas regiones del mundo, el acceso a la atención médica especializada y los recursos diagnósticos pueden ser limitados, lo que puede retrasar el diagnóstico y el manejo de estas enfermedades.

El diagnóstico temprano y preciso de estos trastornos es fundamental para el manejo y el tratamiento adecuados de la enfermedad.

El uso de *NGS* en el diagnóstico de NMD de origen genético ha demostrado ser una herramienta valiosa, debido a su alta sensibilidad y especificidad. Además, *NGS* ha permitido la identificación de nuevas mutaciones y alteraciones genéticas asociadas con estos trastornos, lo que ha aumentado el conocimiento sobre estas enfermedades y ha permitido el desarrollo de nuevas terapias y tratamientos.

De esta forma, a través de la caracterización clínica y con el apoyo de métodos diagnósticos de *NGS* para la caracterización molecular, pretendemos contribuir al conocimiento sobre los NMD de origen genético. Proporcionar un diagnóstico preciso y estimar la mejora en el manejo de estas enfermedades, beneficiará al paciente, sus familias y la Institución, al disminuir interconsultas, laboratorios y gabinetes innecesarios. Lo que servirá, para proponer el uso cotidiano de estos métodos diagnósticos en nuestra Institución en un futuro cercano.

## 5 Planteamiento del problema

Los NMD de origen genético pueden presentar un amplio abanico de síndromes clínicos, que pueden manifestarse con debilidad muscular leve hasta discapacidad motora grave, además algunas formas atenuadas pueden iniciar en la vida adulta, lo que implica que estas características clínicas puedan estar sobrepuestas y entonces representar un gran reto para el diagnóstico clínico.

En México, la prevalencia de los NMD de origen genético es virtualmente desconocida, ya que no existen estudios epidemiológicos que hayan evaluado la frecuencia de estas enfermedades. Además, la caracterización clínica y molecular de estos trastornos en población mexicana también es limitada, por lo que se dificulta el diagnóstico preciso y el manejo adecuado de estas enfermedades.

El retraso en el diagnóstico aumenta el riesgo de complicaciones o muerte. Algunos de los NMD de origen genético son tratables o pueden ser controlados con el uso de medicamentos y/o nuevas terapias específicas. Sin embargo, si el diagnóstico se retrasa, es posible que la enfermedad progrese y pueda causar daño irreversible. El retraso en el diagnóstico también puede aumentar los costos médicos y económicos para las personas afectadas, sus familias y las instituciones.

Por lo anterior, nuestro planteamiento del problema es el siguiente:

¿Los pacientes con NMD que acuden a la consulta de Genética del CMN “20 de Noviembre” se beneficiarán del uso de *NGS* para obtener un diagnóstico preciso y manejo integral?

## **6 Hipótesis**

H1: La caracterización clínica y molecular de los pacientes mexicanos con NMD de origen genético del Servicio de Genética Médica ayudará a obtener un diagnóstico preciso y manejo integral.

H0: La caracterización clínica y molecular de los pacientes con NMD de origen genético en el Servicio de Genética Médica del CMN no cambiará el diagnóstico clínico ni manejo integral.



## **7 Objetivo General**

Caracterizar clínica y molecularmente a pacientes que acuden al Servicio de Genética Médica del CMN “20 de Noviembre” con diagnósticos de NMD de origen genético para lograr el diagnóstico y manejo preciso.

### **7.1 Objetivos específicos**

- Recabar información sociodemográfica, clínica, niveles de CK, EMG, biopsia y variantes genéticas.
- Seleccionar casos con diagnóstico de NMD de la consulta de Genética del CMN “20 de Noviembre”
- Describir características neuromusculares de los pacientes.
- Analizar estudios moleculares de los pacientes para establecer un diagnóstico preciso
- Analizar con estadística descriptiva.

## **8 Materiales y Métodos**

**8.1 Diseño y tipo de estudio:** Serie de casos. Se realizó un estudio observacional, descriptivo, transversal, retrolectivo.

**8.2 Población de estudio:** Se seleccionarán expedientes de pacientes con diagnóstico de NMD referidos a la consulta de Genética desde el año 2019 a 2023 de acuerdo con las características clínicas mencionadas anteriormente (debilidad muscular, alteraciones en la sensibilidad y caídas).

**8.3 Universo de trabajo:** Pacientes del Centro Médico Nacional “20 de Noviembre”

### **8.4 Criterios de selección**

#### **8.4.1 Criterios de inclusión:**

Derechohabiente al ISSSTE

Referidos a Genética

Diagnóstico clínico de trastorno neuromuscular.

Contar con expediente clínico

Pacientes con estudio molecular positivo para enfermedades neuromusculares (panel genético de trastornos neuromusculares o secuenciación de exoma)

#### **8.4.2 Criterios de exclusión.**

Expedientes de pacientes confirmados con otro diagnóstico clínico no genético tales como; esclerosis múltiple, miastenia gravis y enfermedad vascular cerebral.

Expedientes de pacientes con diagnóstico clínico de NMD sin estudio molecular.

Expediente de pacientes con diagnóstico clínico de NMD y estudio molecular negativo para enfermedades neuromusculares.

Otra condición que causa alteración neuromuscular.

Casos confirmados con NMD adquirida

#### **8.4.3 Criterios de eliminación**

Expedientes de pacientes quienes solamente cuentan con variantes genéticas no relacionadas en la literatura actual a NMD (ej: Osteogénesis imperfecta).

**8.5 Tipo de muestreo:** A conveniencia. Metodología para cálculo del tamaño de la muestra: Tomamos el promedio de las prevalencias de NMD<sup>3</sup> obtuvimos una prevalencia promedio de 41.5 por cada 100,000 (0.000415) . Tomando en cuenta la población de México de 126.7 millones de habitantes nos daría una prevalencia en el país de 52,578 casos. Tomando en cuenta que el ISSSTE atiende 13.5 millones de pacientes (10.58% de la población mexicana)<sup>16</sup> los casos esperados en la institución son de 5,565. A partir de esta prevalencia de NMD ajustada a la población ISSSTE calculamos el tamaño de la muestra utilizando la fórmula para el cálculo de una proporción

$P = \text{Casos en ISSSTE} / \text{Población de México}$

$P = 5,565 / 127,600,000 = 0.000044$

$$n = \frac{Z^2(P(1 - P))}{E^2}$$

Sustituyendo estos valores en la fórmula, obtenemos:

$$n = \frac{(1.96)^2(0.000044(1 - 0.000044))}{(0.05)^2} = 0.067$$

n es el tamaño de la muestra

Z es el valor de Z para el nivel de confianza deseado (nivel de confianza del 95%)

P es la prevalencia ajustada de NMD

E es el margen de error tolerable

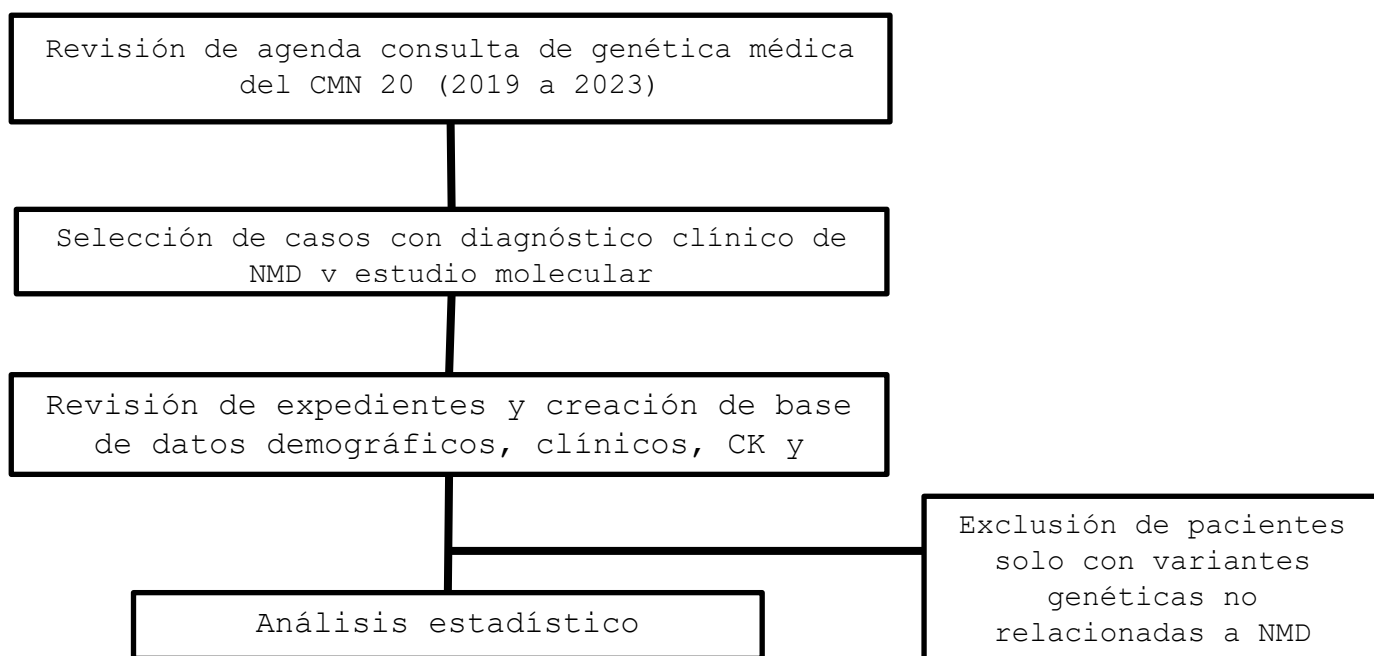
Resultando tamaño de la muestra en 0.067 dado que es menor que un valor se redondearía a 1 caso, lo cual es esperado dada la baja prevalencia de estos trastornos neuromusculares de origen genético.

## 8.6. Definiciones operacionales

| <b>Nombre variable</b>  | <b>Definición</b>                                         | <b>Tipo de variable</b> | <b>Unidad de medida</b>                                                                                 |
|-------------------------|-----------------------------------------------------------|-------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Sexo                    | Sexo asignado al nacimiento                               | Categórica              | Femenino<br>Masculino                                                                                   |
| Edad                    | Número de años vividos desde la fecha de nacimiento       | Cuantitativa discreta   | Años                                                                                                    |
| Diagnóstico             | Entidad clínica definida en lenguaje médico               | Categórica              | Siglas de catálogo OMIM                                                                                 |
| Tiempo de diagnóstico   | Diferencia de días entre diagnóstico y toma de muestra    | Cuantitativa discreta   | Días                                                                                                    |
| Antecedentes familiares | Antecedentes de familiares directos de NMD                | Categórica              | Positivo<br>Negativo                                                                                    |
| Alteración cardíaca     | Cardiomiopatía, alteraciones de la conducción entre otras | Categórica              | Arritmia<br>Cardiopatía hipertrófica<br>Cardiopatía dilatada<br>Otros                                   |
| Alteración respiratoria | Debilidad de músculos intercostales, disnea               | Categórica              | Rinitis crónica<br>Síndrome de apnea obstructiva del sueño<br>Uso de oxígeno<br>Neumonías de repetición |

|                     |                                                                    |                       |                                                        |
|---------------------|--------------------------------------------------------------------|-----------------------|--------------------------------------------------------|
| Electromiografía    | Reporte de estudio electromiográfico                               | Categórica            | Patrón miopático<br>Patrón neuropático<br>Patrón mixto |
| Biopsia             | Reporte histopatológico de toma de muestra de tejido               | Categórica            | Alterada<br>No alterada                                |
| Creatinina cinasa   | Niveles séricos de Creatinina cinasa                               | Cuantitativa continua | Unidades/Litro                                         |
| Variantes genéticas | Cambio en la información genética respecto al genoma de referencia | Cualitativa           | Presencia<br>Ausencia                                  |

## 8.7 Técnicas y procedimientos a emplear



## 8.8 Análisis estadístico: Análisis de estadística descriptiva por *GraphPad v.8.0.1*.

## 9 Resultados

Después de haber hecho una revisión de expedientes clínicos de pacientes atendidos en la consulta de Genética Médica del Centro Médico Nacional “20 de Noviembre”, con diagnóstico clínico de probable NMD, que cumplieron con los criterios de inclusión, se seleccionaron 29 pacientes, de los cuales, 14 eran mujeres y 15 eran hombres.

La edad promedio de las mujeres fue de 28.21 años ( $\pm 5.481$ ) y la de hombres fue de 13.80 años ( $\pm 2.080$ ), con una distribución de edades entre 2 - 66 años.

La densidad de la frecuencia de casos por edad en las mujeres mostró una distribución homogénea en todos los rangos de edad; mientras que en los hombres fue en edades más tempranas, con un pico entre los 2 a 20 años (Tabla 1).

| <b>Tabla 1. Densidad de la frecuencia de casos por decenios de edad (29 casos).</b> |             |              |              |              |              |              |                 |
|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|-----------------|
|                                                                                     | <b>0-10</b> | <b>11-20</b> | <b>21-30</b> | <b>31-40</b> | <b>41-50</b> | <b>51-60</b> | <b><i>n</i></b> |
| Femeninos                                                                           | 4           | 3            | 0            | 2            | 3            | 1            | 14              |
| Masculinos                                                                          | 6           | 8            | 1            | 1            | 0            | 0            | 15              |

En la figura 1 se muestra un gráfico de dispersión que representa la frecuencia de edad, dividido en dos grupos masculino con un total de 15 pacientes y un grupo femenino con un total de 14 pacientes.

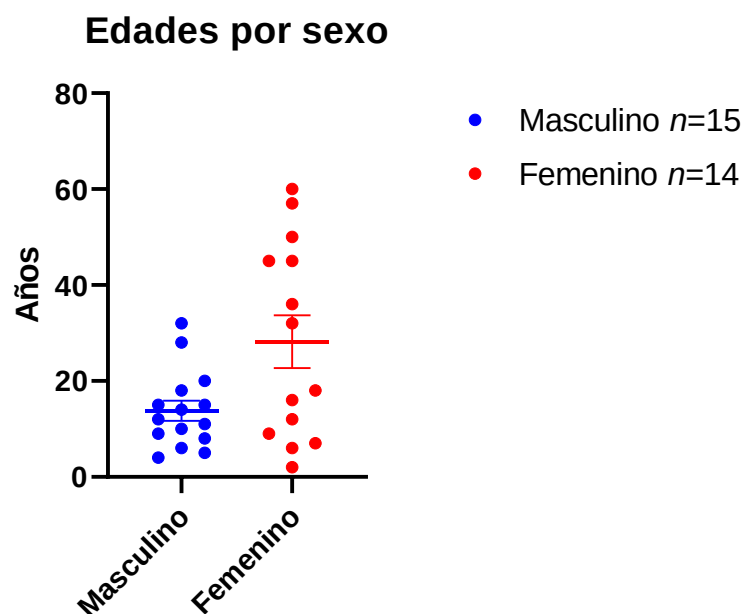


Figura 1. Gráfico de Dispersión. Se representan edades en valores individuales. La mediana se muestra como una línea sólida. Total=29; Femenino=14; Masculino=15.

Entre los diagnósticos de sospecha que presentaron estos 29 pacientes estaban la hipotonía, neuropatía, parálisis facial, síndrome miopático; siendo el síndrome miopático el más frecuente, por lo que los médicos genetistas solicitaron un estudio de panel de trastornos neuromusculares (PTNM) o exoma (Tabla 2).

| <b>Tabla 2. Diagnósticos de sospecha y definitivos en pacientes con NMD.</b> |                                |                           |                                                                             |
|------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------|---------------------------|-----------------------------------------------------------------------------|
| <i>n</i>                                                                     | <b>Diagnóstico de sospecha</b> | <b>Estudio solicitado</b> | <b>Diagnóstico Definitivo</b>                                               |
| 2                                                                            | Hipotonía                      | PTNM                      | AME, LAMA2                                                                  |
| 5                                                                            | Neuropatía                     | PTNM                      | CMS1A, CMT1A, CMT1B, CMT2C, HSN2A                                           |
| 1                                                                            | Parálisis periódica            | PTNM                      | HYPP                                                                        |
| 1                                                                            | Corea de Huntington            | PTNM                      | NDAXOA                                                                      |
| 19                                                                           | Síndrome miopático             | PTNM                      | BTHLM1, CNMX, DMD (7), EDMD4, LGMD, MFM2, MTDPS2, NDAXOA (2) NEM2 (3), TMD. |
| 1                                                                            | Intolerancia al ejercicio      | PTNM                      | LQT13                                                                       |

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |  |  |  |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--|--|--|
| <b>Total= 29</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |  |  |  |
| Abreviaturas: <u>LGM</u> Distrofia Muscular de cinturas, <u>MFM</u> Miopatía Miofibrilar, <u>NDAXOA</u> Neurodegeneración con ataxia y atrofia óptica de inicio tardío, <u>MTM</u> Miopatía centro nuclear, <u>LQT</u> Síndrome de QT largo, <u>CMT</u> Charcot-Marie-Tooth, <u>HSAN7</u> Neuropatía Hereditaria Sensitiva y Autonómica, <u>TMD</u> Distrofia Muscular Tibial, <u>AME</u> Atrofia Muscular Espinal, <u>DMD</u> Distrofia Muscular de Duchenne, <u>EDMD4</u> Distrofia muscular de Emery-Dreyfus tipo 4, <u>NEM</u> Miopatía nemalínica, <u>LAMA2</u> Distrofia Muscular de LAMA2, <u>MEMSA</u> : Síndrome de depleción mitocondrial, <u>CMS1A</u> : Síndrome miasténico congénito tipo 1A, <u>HSAN2A</u> : Neuropatía hereditaria sensitiva autonómica tipo 2A, <u>HYPP</u> : Parálisis hipercalemica periódica, <u>BTHLM1</u> : Miopatía de Bethlem 1, <u>MPD1</u> : Miopatía distal 1, <u>MTDPS2</u> : Síndrome de depleción de DNA mitocondrial tipo 2. |  |  |  |

Dentro de los antecedentes familiares se encontró que 7 casos de los 29, tenían al menos un familiar de primer grado afectado. Mientras que el resto fueron casos únicos, Figura 2.

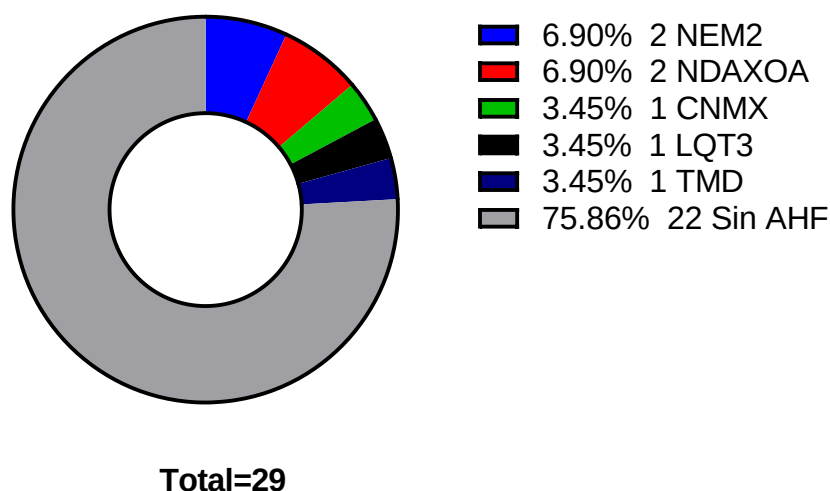


Figura 2. Frecuencia de antecedentes familiares por diagnóstico. Abreviaturas: NEM2: Miopatía Nemalínica tipo 2, NDAXOA: Neurodegeneración con ataxia y atrofia óptica de inicio tardío, CNMX: Miopatía Centronuclear ligada al X, LQT3 síndrome de QT largo, TMD Distrofia Muscular Tibial.

El diagnóstico más frecuente de todos fue la DMD (7 pacientes), seguido por CMT, NDAXOA y NEM (3 pacientes cada grupo), Figura 3. Se colocan solo estos diagnósticos ya que los demás casos fueron únicos.



### Diagnósticos por frecuencia

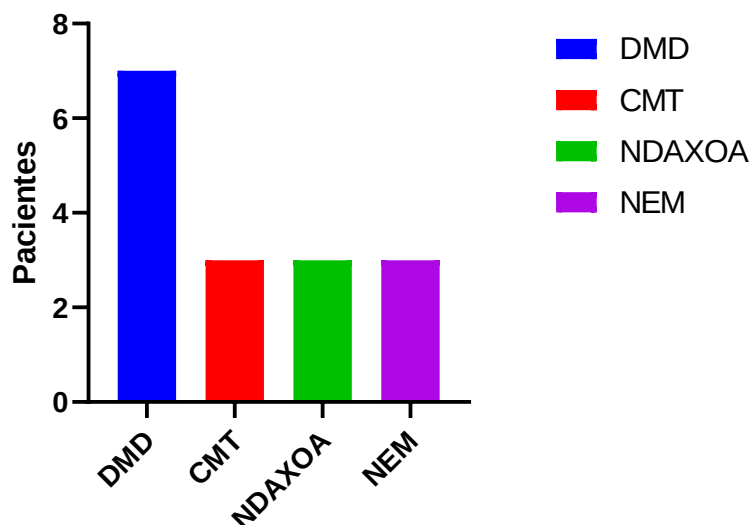


Figura 3: Se representa en histograma la frecuencia de los 4 diagnósticos más frecuentes. Abreviaturas: DMD: Distrofia Muscular de Duchenne, CMT: Enfermedad de Charcot-Marie-Tooth, NDAXOA: Neurodegeneración con ataxia y atrofia óptica de inicio tardío, NEM: Miopatía Nemalínica.

A continuación, se describen algunas de las características clínicas importantes de la mayoría de los síndromes que se encontraron en esta investigación, comenzando con los más frecuentes.

De los 7 pacientes con DMD el promedio de edad fue de 11.42 años y la edad al diagnóstico fue de 9 años. En dos casos se presentaron alteraciones respiratorias, siendo neumonías de repetición. Se encontró reporte de electromiografía en el expediente en dos casos siendo reportado uno con patrón miopático y otro con patrón neuropático. La concentración de CK en pacientes con DMD fue de 94,584 UI. Se realizó biopsia muscular en un caso con datos compatibles de DMD. En 3 casos se había realizado estudio molecular previo siendo 2 MLPA y una prueba para NPC1 siendo resultados no concluyentes, Tabla 3.

| Tabla 3. Variantes en pacientes con DMD (7 casos) |                                                  |
|---------------------------------------------------|--------------------------------------------------|
| Edad al diagnóstico                               | Resultado estudio molecular                      |
| 12                                                | NC_000023.10(DMD):g.(?_32305646)_(32328393_?)dup |
| 12                                                | NM_004006.3(DMD):c.(?_7780)_(7897_?)del          |
| 8                                                 | NM_004006.3(DMD):c.(?_6852)_(7438_?)del          |
| 7                                                 | NM_004006.3(DMD):c.2949+1G>A                     |
| 6                                                 | NM_004006.3(DMD):c.2803+2T>G                     |
| 8                                                 | NM_004006.3(DMD):c.(?-7543)_(7660_?)del          |

|                                                  |                            |
|--------------------------------------------------|----------------------------|
| 12                                               | NM_004006.3(DMD):c.7822G>T |
| Abreviaturas: DMD Distrofia Muscular de Duchenne |                            |

También se reportaron 3 casos de Enfermedad de Charcot-Marie-Tooth (CMT), 2 mujeres y 1 hombres en distintos subtipos. La edad promedio fue de 15.6 años. La edad promedio de diagnóstico fue a los 12.6 años. En uno de los casos se reportó síndrome de apnea obstructiva del sueño. En los 3 casos se realizó electromiografía reportando un patrón neuropático. En un caso fue neuropatía axonal y en otro caso fue desmielinizante. En un paciente se realizó biopsia, reportando neuropatía motora sensitiva. En dos casos se realizó un estudio molecular dirigido, uno a *PMP22* y otros a enfermedades de depósito lisosomal, siendo estos resultados negativos.

Por otra parte, en los 3 pacientes con diagnóstico de neurodegeneración con ataxia y atrofia óptica de inicio tardío, una familia era originaria de El Real, Michoacán, la cual, fue confirmada con una variante privada en *SDHA*, que segrega con el fenotipo de síndrome miopático. Dentro del abordaje del caso índice se evidenciaron hiperintensidades en la resonancia magnética, además se solicitaron metanefrinas en orina las cuales se reportaron como normales hasta el momento.

El otro caso no relacionado, era una mujer que se encontraba en silla de ruedas con atrofia muscular, espasticidad y debilidad muscular. Por resonancia magnética se reportaron hiperintensidades en núcleos basales, razón por la cual se sospechó HTT en dos ocasiones; sin embargo, al realizar el estudio genético se confirmó la variante patogénica en *SDHA*. El predictor de patogenicidad proporcionó un score de 0.954.

La miopatía nemalínica se reportó en 3 pacientes. Dos de los tres casos son pertenecientes a la misma familia, originarios del estado de Hidalgo. El diagnóstico de estos hermanos fue Miopatía Nemalínica tipo 2 de inicio infantil que clínicamente se caracterizó por una afección bulbar en etapa neonatal, pero con mejoría en la fuerza durante la infancia. Ambos hermanos presentan variantes en estado heterocigoto compuesto NM\_001271208.1(NEB):[c.294+2T>C];[c.20992dup], las cuales se corroboraron con estudios de segregación, dando soporte sobre la patogenicidad de ambas variantes.

El tercer caso no relacionado, que fue reportado, se confirmó por la presencia de la variante patogénica NM\_001100.4(ACTA1):c.1000C>T.

Por último, se enlistan las características clínicas de los casos únicos:

Un caso de distrofia muscular asociada a *LAMA2* sin antecedentes familiares del diagnóstico. Tuvo un embarazo a término con peso y talla normal. Presentó hipotonía generalizada. Se reportó retraso del desarrollo motor sin lograr el sostén cefálico. Se confirmó el diagnóstico con resultado molecular en estado heterocigoto compuesto NM\_000426.4(LAMA2):[c.7147C>T];[c.2049\_2050del].

Las canalopatías también fueron parte importante de esta investigación, representadas por Parálisis periódica hipercalémica (HYPP) y el Síndrome de segmento QT largo (SQT). Dichos diagnósticos fueron clínicamente identificados por episodios de debilidad o desvanecimiento. Particularmente en el caso de Parálisis periódica hipercalémica refirió que, durante los episodios de debilidad, se presentaba asistolia, a pesar de que el paciente mantenía el estado de alerta, **los** cual, fue confirmado mediante electrocardiograma. Además, el paciente también refirió que durante el ejercicio presentaba diaforesis y palpitaciones que lo llevaba al desvanecimiento. La variante del caso *SCN4A*:c.3938C>T, la cual ya está reportada como variante patogénica.

El caso de Síndrome de QT largo se evidenció a la exploración neurológica una debilidad muscular 4-/5 con hiporreflexia. Las variantes encontradas fueron NM\_000890.5(KCNJ5):c.332T>C en una paciente.

Se incluyó un femenino con diagnóstico de miastenia congénita de 4 años que fue referido por hipotonía neonatal y dificultad para la succión. Nació a las 37 SEG por cesárea, secundario a posición podálica. A la exploración física se encontraba con tono muscular disminuido, trofismo conservado, fuerza muscular disminuida 4/5, de predominio proximal y dificultad para la apertura ocular izquierda, mediante TAC de cráneo, se reportó atrofia cortical, cariotipo 46,XX [30]. La variante que se reportó fue NM\_000079.4(CHRNA1):c.540G>A, en estado heterocigoto. La posición de esta variante es en un sitio de corte y empalme. La frecuencia poblacional es menor a 0.05% y el predictor *in silico* llamado *splice region* sugiere su patogenicidad.

Las frecuencias y porcentajes de cada uno de los 29 diagnósticos se representa la figura 4.

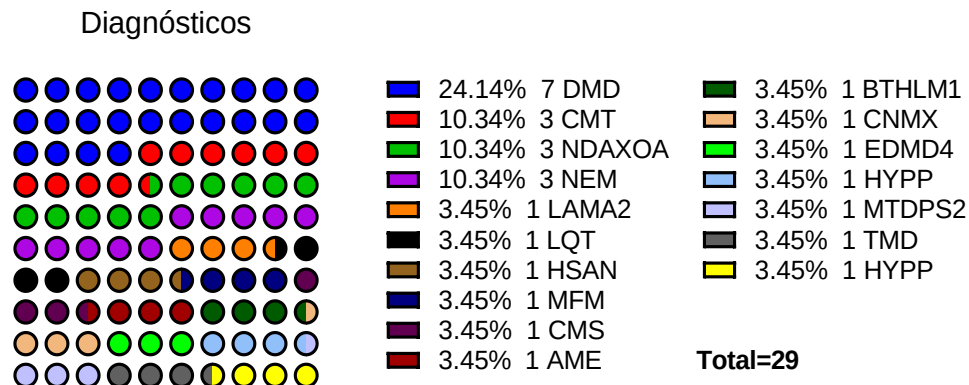


Figura 4. Diagnósticos del total de pacientes ( $n=29$ ) con porcentaje y número entero. Abreviaturas: LGM Distrofia Muscular de cinturas, MFM Miopatía Miofibrilar, NDAXOA Neurodegeneración con ataxia y atrofia óptica de inicio tardío, LQT Síndrome de QT largo, CMT Charcot-Marie-Tooth, HSAN Neuropatía Hereditaria Sensitiva y Autonómica, TMD Distrofia Muscular Tibial, AME Atrofia Muscular Espinal, DMD Distrofia Muscular de Duchenne, BTH Miopatía asociada a COL6A1, EDMD4 Distrofia muscular de Emery-Dreyfus tipo 4, NEM Miopatía nemalínica, LAMA2 Distrofia Muscular de LAMA2, CMS Síndrome de Miastenia Congénita.

**Alteraciones respiratorias:** En 5 pacientes se encontraron alteraciones respiratorias siendo la laringomalacia y neumonías de repetición las más frecuentes. Los diagnósticos de los pacientes que presentaron estas alteraciones fueron miopatía nemalínica, DMD, Distrofia muscular asociada a LAMA2, y Enfermedad de Charcot-Marie-Tooth (Figura 5).

### Alteraciones respiratorias en NMD

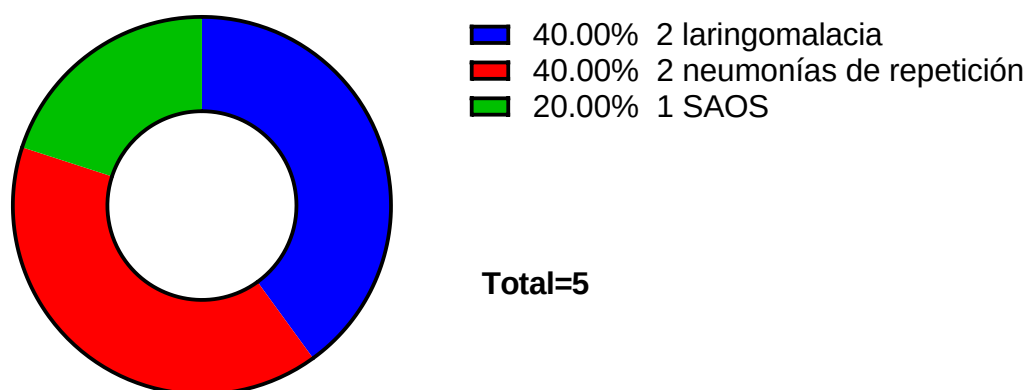


Figura 5: Se muestran registros de alteraciones respiratorias de 5 pacientes y los porcentajes respecto a las alteraciones respiratorias más comunes.

Cardiopatías: Del total de pacientes, solo en 11 de 29 pacientes se encontró que padecían alguna alteración cardíaca, la cual fue valorada a través de un electrocardiograma o ecocardiograma (Figura 6). Los diagnósticos de los pacientes con estas alteraciones cardíacas fueron Distrofia Muscular de Duchenne, Parálisis periódica hipercalémica, Enfermedad de Charcot-Marie-Tooth, Síndrome de QT largo, Miopatía Nemalínica, distrofia muscular asociada a *LAMA2*.

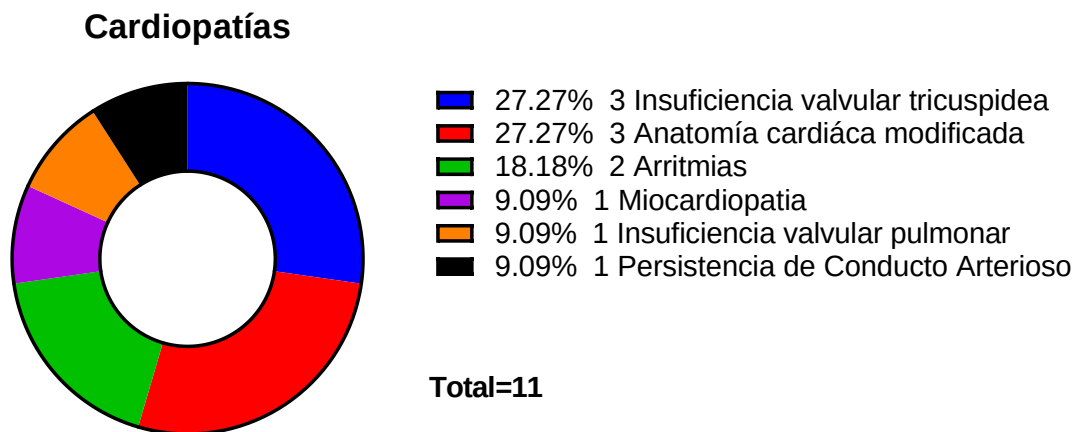


Figura 6: Se presentan los porcentajes de 11 pacientes que contaban con registro electrocardiográfico o ecocardiográfico alterado.

De los 11 pacientes que se reportaron en la gráfica anterior, solo en 6 pacientes se reportó el valor de Fracción de Eyección de Ventrículo Izquierdo (FEVI) con un valor promedio de 56.98%  $\pm$  5.509 (31.00%- 70.00%) Figura 7.

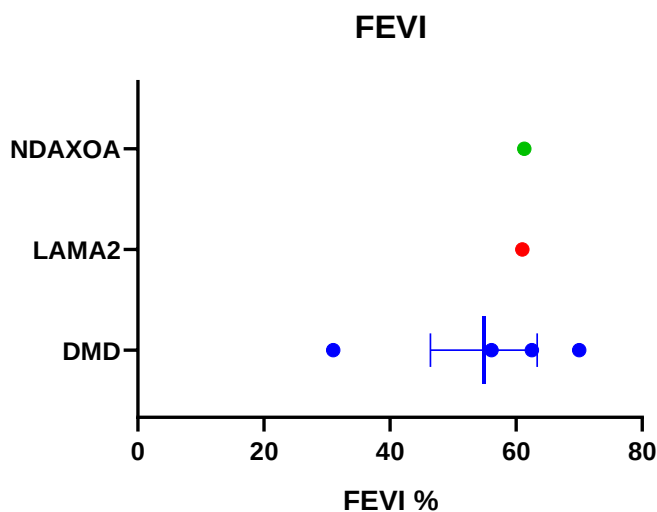


Figura 7: Se representa en valores individuales los valores de Fracción de Eyección de Ventriculo Izquierdo en 6 pacientes de acuerdo con el diagnóstico. Abreviaturas: NDAXOA: Neurodegeneración ataxia con atrofia óptica de inicio tardío, LAMA2: Distrofia Muscular asociada a *LAMA2* y DMD: Distrofia Muscular de Duchenne.

Estudios de laboratorio: En cuanto a la concentración total de CK, se observó que, en el grupo de mujeres el valor promedio fue de 535.3 UI/L ( $\pm 363.5$ ) con un mínimo de 26 UI/L y un máximo de 3,000 UI/L. Por otro lado, en el grupo masculino, se observó una concentración mayor de CK con un valor promedio de 23,524 UI/L ( $\pm 2346$ ) con un mínimo de 27 UI/L y un máximo de 26,353 UI/L, Figura 8.

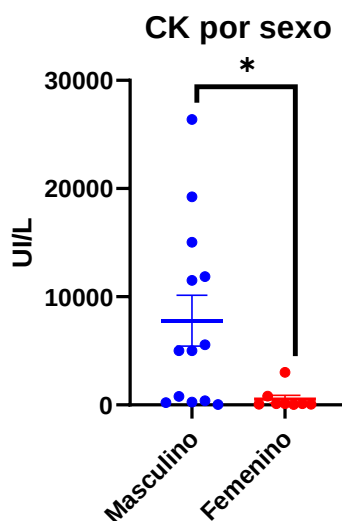


Figura 8: Se representa [CK] en valores individuales. La mediana es representada por una línea. Masculinos=13 Femenino=8 Total= 21

Además, en la figura 9 se han seleccionado 15 individuos en los que previamente se ha descrito la medición de CK graficando por diagnóstico. Por cuestiones técnicas de valores extremadamente alto y bajos no se incluyen los 21 pacientes con medición de CK.

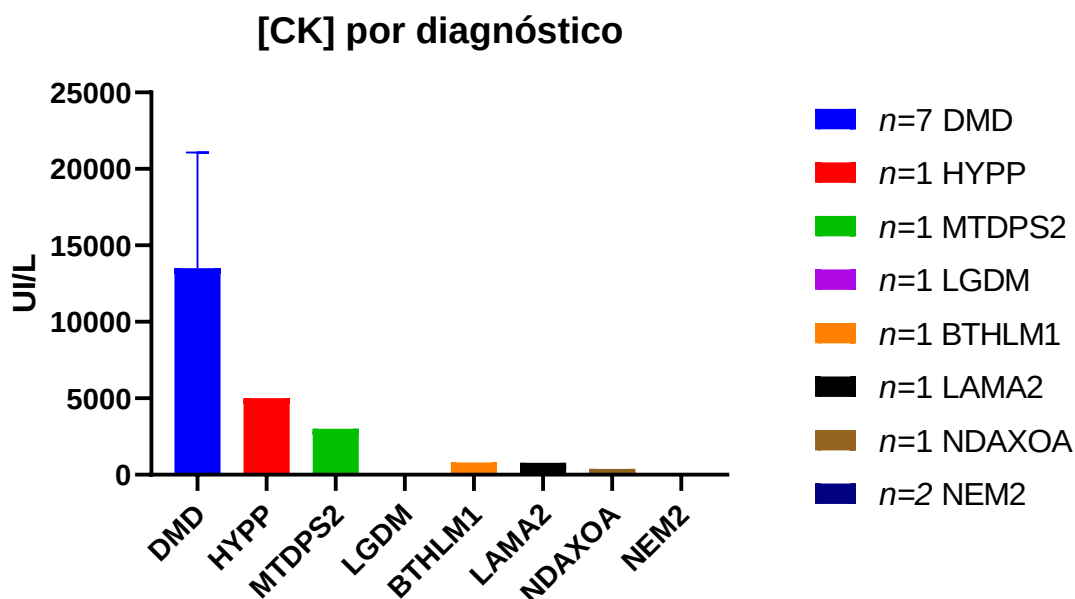


Figura 9: Se representa [CK] en histogramas divididos de acuerdo con su diagnóstico. Abreviaturas: DMD Distrofia Muscular de Duchenne. HYPP: Parálisis hipercalémica periódica, MTDPS2: Síndrome de depleción de DNA mitocondrial tipo 2, BTHLM1: Miopatía de Bethlem, LAMA2: Distrofia Muscular asociada a LAMA2, NDAXOA: Neurodegeneración ataxia con atrofia óptica de inicio tardío, NEM2: Miopatía nemalínica tipo 2, LGMD: Distrofia Muscular de cinturas.

Al representar las concentraciones de creatinina cinasa por diagnóstico se reportó de los 7 individuos con DMD el valor promedio de CK fue de 13,512 UI/L, en los pacientes con NEM fue de 26.5 UI/L. En los demás casos fue reportado solo en un caso por diagnóstico. Figura 9.

A continuación, se muestran los resultados obtenidos de los estudios de biopsia gabinete y molecular.

En 6 casos se contaba con reporte oficial de biopsia en expediente. En la tabla 5 se presenta el diagnóstico de sospecha, el diagnóstico confirmado y el reporte de la biopsia. En un caso se realizó estudio de patología para distrofina fue negativo. Solo en los casos de DMD, la biopsia orientó al diagnóstico, pero no proporcionó un diagnóstico confirmatorio.

| Tabla 5. Reporte de biopsia (6 casos) |             |                                                                    |                       |
|---------------------------------------|-------------|--------------------------------------------------------------------|-----------------------|
| Sospecha                              | Diagnóstico | Reporte de biopsia                                                 | Localización          |
| Síndrome miopático                    | BTHLM1      | Daño miopático y probable miopatía metabólica de tipo mitocondrial | Músculo deltoides     |
| Neuropatía                            | CMT2A1      | Necrosis focal de fibras con infiltración adiposa                  | Músculo vasto derecho |

|                                                                                                                                                                                                                                       |        |                                            |                        |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------|--------------------------------------------|------------------------|
| Síndrome miopático                                                                                                                                                                                                                    | CMT2C  | Datos de neuropatía motora sensitiva       | Nervio sural izquierdo |
| Síndrome miopático                                                                                                                                                                                                                    | DMD    | Infiltración adiposa y fibrosis endomisial | Músculo Gastrocnemio   |
| Alt. de la conducción cardíaca                                                                                                                                                                                                        | LQT13  | Sospechosa de amiloidosis                  | Corazón                |
| Síndrome miopático                                                                                                                                                                                                                    | MFM2   | Fibras rojas y rasgadas                    | Músculo vasto          |
| Síndrome miopático                                                                                                                                                                                                                    | MTDPS2 | Distrofina -                               | Muscular               |
| Abreviaturas: BTHLM1: Miopatía de Bethlem asociada a COL6A3, CMT: Charcot-Marie-Tooth, DMD: Distrofia muscular de Duchenne, LQT: Síndrome de QT largo, MFM2: Miopatía miofibrilar tipo 2, MTDPS Síndrome de depleción mitocondrial 2. |        |                                            |                        |

La electromiografía se encontró reportada en el expediente en 15 pacientes, Figura 10. Siendo el patrón neuropático el más frecuente con 53.33% seguido de un patrón miopático en un 40%. El patrón mixto fue el menos frecuente. Los diagnósticos de los pacientes con este estudio fueron en su mayoría Enfermedad Charcot-Marie-Tooth y DMD. También algunas miopatías como la miofibrilar y la Bethlem tuvieron la electromiografía alterada.

Patrones electromiográficos en trastornos neuromusculares

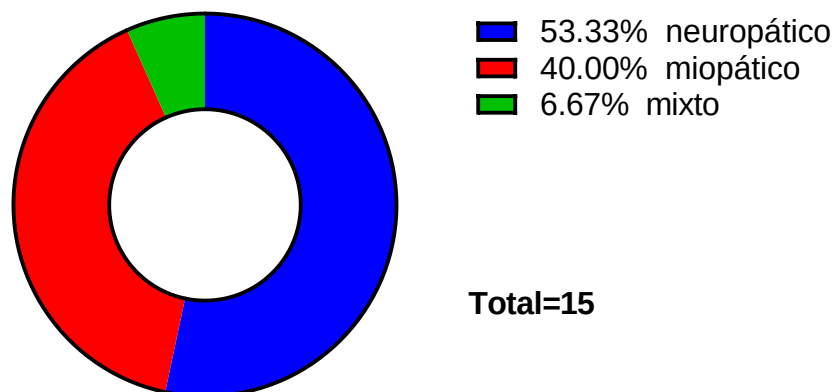


Figura 10. Se muestran registros de reportes EMG en 15 pacientes. Se muestran porcentajes de patrones.

Para poder realizar un diagnóstico certero, especialistas no genetistas solicitaron un primer estudio molecular (según lo referido en el expediente), antes de realizarse una valoración en el Servicio de Genética Médica, Tabla 6. En 9 de los 29 pacientes el resultado no fue concluyente o fue negativo.



| <b>Tabla 6. Estudios moleculares solicitados previamente en algunos pacientes (9 casos)</b> |                                   |                           |                  |
|---------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------|---------------------------|------------------|
| <b>Nº</b>                                                                                   | <b>Enfermedad</b>                 | <b>Estudio solicitado</b> | <b>Resultado</b> |
| 2                                                                                           | DMD                               | MLPA                      | No concluyente   |
| 1                                                                                           | Distrofia muscular de cinturas    | Panel 12 genes            | Negativo         |
| 2                                                                                           | Enfermedad de Niemann-Pick tipo C | Secuenciación             | Negativo         |
| 1                                                                                           | SMN1 y SMN2                       | MLPA                      | Negativo         |
| 2                                                                                           | Enfermedades Lisosomales          | MLPA                      | Negativo         |
| 1                                                                                           | Enfermedad de Charcot-Marie-Tooth | <i>PMP22</i>              | Negativo         |

Una vez que los pacientes fueron evaluados en el Servicio de Genética, se encontró que el resultado del 2o estudio molecular, solicitado por médicos genetistas, fue relacionada con la patología sospechada en 29 pacientes.

Se proporcionan las variantes más relevantes encontradas en esta investigación en el anexo 1.

## 10 Discusión

Los NMD son condiciones genéticas altamente discapacitantes y progresivas, que representan un reto clínico dado que se superponen varios de estos padecimientos entre sí. Nuestra población fue heterogénea, se estudiaron casos tanto adultos como pediátricos y con predominio del sexo masculino; lo cual contrasta, dado que la mayoría de las investigaciones se centra solo en población pediátrica como lo publicado por Gallano P. y cols., en una cohorte de 207 pacientes pediátricos españoles, 119 hombres y 88 mujeres<sup>11</sup>.

Sin embargo, en un estudio de origen chileno, se estudiaron pacientes adultos con diagnóstico de LGMD de los cuales 42.7% fueron mujeres<sup>13</sup>. Lo anterior indica que, según el tipo de NMD que se estudie, habrá un predominio en el género y edad de los pacientes analizados. Mientras que la DMD se sospecha y diagnostica en niños, la LGMD es frecuentemente diagnosticada en mujeres adultas.

Dentro del abordaje de los pacientes con debilidad e hipotonía se realiza la medición de CK respecto a edad y sexo. En este reporte, se encuentra con mayor frecuencia, niveles elevados de CK en los masculinos, teniendo una *n* de casi el doble al compararse vs femeninos.

Tales niveles máximos son claramente sugerentes de DMD como se ha descrito en la literatura<sup>2</sup>. Al realizar la prueba de Kolmogorov-Smirnov se reportó una  $p=0.0225$  al comparar las concentraciones de CK del sexo femenino y el sexo masculino, lo cual nos sugiere que el diagnóstico de DMD tiene una elevación estadísticamente significativa en la concentración de CK con relación a otros diagnósticos en sexo femenino en esta población.

En las investigaciones de Burlo de 2022 se ha establecido que la elevación de la creatinina cinasa en niños de manera persistente y severa hace sospechar de daño muscular. Puede estar asociado con medicamentos como las estatinas, actividad muscular, miositis virales y endocrinopatías<sup>15</sup>. En esta investigación se evidencia que la elevación de la creatinina cinasa está relacionado con el diagnóstico y no por las causas mencionadas anteriormente.

Por otro lado, la biopsia y la electromiografía se emplearon con cierta frecuencia en el protocolo de estudio de pacientes con enfermedades NMD; sin embargo, estudios recientes sugieren que, en el caso de enfermedades en las que existen métodos diagnóstico no invasivos, que eviten experiencias negativas en el paciente, estos se recomiendan utilizar sobre los métodos invasivos; resaltando la importancia y conocimiento que se debe tener en la indicación de las pruebas moleculares. Ya que, como pudimos observar en algunos pacientes, se solicitaron estudios moleculares por especialistas de otras áreas, los cuales no arrojaron información contundente, ocasionando retraso en el diagnóstico y gastos hospitalarios excesivos<sup>16</sup>.

La tabla 5 que muestran los datos relacionados con las biopsias realizadas en los pacientes con NMD en la mayoría de los casos la biopsia no corresponde con el diagnóstico molecular confirmado. Dados estos datos y la poca disponibilidad de realizar biopsias en el CMN “20 de Noviembre” sería importante considerar primero la interconsulta a Genética médica antes que la realización de este procedimiento invasivo y con bajo rendimiento para el diagnóstico confirmatorio. Ese abordaje ya ha sido propuesto en la literatura en la que se establece la biopsia principalmente muscular en los casos que no han sido resueltos después de un estudio molecular<sup>12</sup>.

En los resultados de electromiografía de la figura 10 podemos evidenciar que existe una mayor frecuencia de patrón neuropático sobre el patrón miopático. Esto puede deberse a diversos factores tales como el abordaje de las neuropatías donde son más enfáticos en realizar este estudio, así como potenciales evocados mientras que para miopatías o distrofias este estudio en ocasiones se puede omitir dado que la clínica es clara y estos pacientes no se benefician de este estudio invasivo. Sin embargo, en el caso de las neuropatías en ocasiones es necesario contar con evidencia objetiva dado el diagnóstico diferencial con desordenes psicosomáticos.

Los diagnósticos más comunes fueron DMD, CMT, NDAXOA y NEM, siendo DMD el más frecuente en este estudio; así como lo reportado para la población mexicana general. En nuestro caso se reportó una edad promedio al diagnóstico de 9 años, lo cual puede deberse al retraso en la referencia a nuestro servicio y al uso de técnicas moleculares en servicios no entrenados para estas.

Charcot-Marie-Tooth, es el tercer diagnóstico más frecuente en este estudio, lo cual coincide con lo reportado por el Instituto Nacional de Rehabilitación, con una  $n=17$  pacientes, con características EMG compatibles con el diagnóstico y donde se detectaron duplicaciones de *PMP22* por medio de electroforesis capilar y corroborado con FISH<sup>17</sup>. En 2014 se validó la técnica de qPCR corroborada por FISH, para la detección de esta duplicación<sup>18</sup>.

A pesar de que, en nuestro estudio se incluye el análisis intencionado de esta duplicación, no se reportó ningún caso positivo. Sin embargo, gracias al uso de NGS fue detectada una variante puntual en NM\_000304.4(*PMP22*):c.449G>T.

En cuanto a la miopatía nemalínica en el caso familiar una de las variantes se encontraba reportada con el ID rs773952935; sin embargo, la segunda variante no se encontró, por lo que es el primer caso mexicano y mundial en la que se encuentra la variante. Hasta ahora, en México, no se han publicado casos confirmados en la literatura científica.

La importancia del diagnóstico de la neurodegeneración con ataxia y atrofia óptica de inicio tardío va más allá de la confirmación molecular, esta descrito como un síndrome hereditario de cáncer asociado con paraganglioma feocromocitoma por lo que podría llegar a tener crisis adrenérgicas fulminantes que requieren una estricta vigilancia<sup>19</sup>. Dado el enfoque integral de la consulta de genética médica se hizo un cambio a un manejo integral en la familia de este estudio. Se han descrito cuatro fenotipos asociados a variantes patogénicas en la subunidad A del complejo succinato deshidrogenasa, dos de ellos autosómicos recesivos, siendo cardiomiopatía dilatada y deficiencia de complejo dos mitocondrial; los otros dos fenotipos con tipo de herencia autosómico dominante siendo feocromocitoma paraganglioma tipo 5 y neurodegeneración con ataxia y atrofia óptica de inicio tardío<sup>19</sup>.

Ante la búsqueda en la literatura científica en la base de datos de PubMed para el 2024 con los términos “Hyperkalemic Periodic Paralysis” and “Mexican” no se encontraron casos de HYPP confirmados molecularmente; por lo anterior nuestro caso sería el primero en reportarse en población mexicana.

Las alteraciones respiratorias fueron contempladas en este estudio de una manera más detallada que solo la necesidad de intubación. Dada la consistencia de laringomalacia en la miopatía nemalínica es un dato que debería tomarse en cuenta al sospechar este diagnóstico.

En este estudio se ha caracterizado a los pacientes tanto de manera clínica como molecular, aportando de esta manera la correlación clínica con nuevas variantes genéticas no reportadas previamente. Por lo menos a 9 de los pacientes se les realiza estudio molecular previo; sin embargo, fue hasta la realización de un estudio NGS, solicitado por un médico Genetista, que se estableció su diagnóstico definitivo. Por lo anterior, podemos concluir que esta investigación cumplió con su objetivo de la descripción clínica y molecularmente a los pacientes con diagnóstico de NMD.

Además de lo anterior, tras ofrecer asesoramiento genético, el médico genetista llevó a cabo una evaluación de las familias de los casos índice, considerando los patrones de herencia y la posibilidad de otros casos realizó segregación de las variantes genéticas identificadas. Por otra parte, se completó el abordaje clínico con un acompañamiento multidisciplinario con otras especialidades como cardiología, neumología y endocrinología entre otras.

Una de las ventajas que brinda el diagnóstico preciso de los trastornos neuromusculares de origen genético es la posibilidad de beneficiarse de las nuevas terapias en desarrollo<sup>10</sup>. En esta investigación se han identificado dos pacientes que cuentan con el diagnóstico de DMD confirmado molecularmente con una delección del exón 52 y se verían beneficiados de terapias de oligonucleótidos antisentido dirigidos al exón 51 o 53 como se estableció en el estudio TREAT-NMD<sup>20</sup>.

## **11 Conclusiones.**

Se acepta la hipótesis en donde la caracterización clínica y molecular de los pacientes mexicanos con NMD de origen genético del Servicio de Genética Médica ayudó a obtener un diagnóstico preciso y manejo integral.

Los resultados obtenidos brindaron variantes genéticas en la población mexicana previamente no reportadas y un diagnóstico preciso en 29 pacientes.

Esta investigación identificó 2 pacientes con diagnóstico de DMD confirmado molecularmente con un diagnóstico preciso de delección del exón 52 que son candidatos a terapia génica con oligonucleótido antisentido.

Se identificó un tratamiento personalizado con base en el resultado del estudio genético en 2 de los 29 pacientes.

## 12 Bibliografía

1. Barbosa-Gouveia, S., Vázquez-Mosquera, M. E., González-Vioque, E., Hermida-Ameijeiras, Á., Sánchez-Pintos, P., de Castro, M. J., León, S. R., Gil-Fournier, B., Domínguez-González, C., Camacho Salas, A., Negrão, L., Fineza, I., Laranjeira, F., & Couce, M. L. (2022). Rapid molecular diagnosis of genetically inherited neuromuscular disorders using next-generation sequencing technologies. *Journal of Clinical Medicine*, 11(10), 2750. <https://doi.org/10.3390/jcm11102750>
2. Rose, L., McKim, D., Leasa, D., Nonoyama, M., Tandon, A., Bai, Y. Q., Amin, R., Katz, S., Goldstein, R., & Gershon, A. (2019). Trends in incidence, prevalence, and mortality of neuromuscular disease in Ontario, Canada: A population-based retrospective cohort study (2003-2014). *PLOS ONE*, 14(3), e0210574. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0210574>
3. Efthymiou, S., Manole, A., & Houlden, H. (2016). Next-generation sequencing in neuromuscular diseases. *Current Opinion in Neurology*, 29(5), 527-536. <https://doi.org/10.1097/WCO.0000000000000374>
4. Dowling, J. J., Weihl, C. C., & Spencer, M. J. (2021). Molecular and cellular basis of genetically inherited skeletal muscle disorders. *Nature reviews. Molecular cell biology*, 22(11), 713–732. <https://doi.org/10.1038/s41580-021-00389-z>
5. Lace, B., Micule, I., Kenina, V., Setlere, S., Strautmanis, J., Kazaine, I., Taurina, G., Murmane, D., Grinfelde, I., Kornejeva, L., Krumina, Z., Sterna, O., Radovica-Spalvina, I., Vasiljeva, I., Gailite, L., Stavusis, J., Livcane, D., Kidere, D., Malniece, I., & Inashkina, I. (2022). Overview of neuromuscular disorder molecular diagnostic experience for the population of Latvia. *Neurology Genetics*, 8(3), e685. <https://doi.org/10.1212/NXG.0000000000000685>
6. Fussiger, H., Pedroso, J. L., & Saute, J. A. M. (2022). Diagnostic reasoning in neurogenetics: a general approach. *Arquivos de Neuro-Psiquiatria*, 80(9), 944-952.
7. Walter, M. C., & Reilich, P. (2017). Recent developments in Duchenne muscular dystrophy: facts and numbers. *Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle*, 8(5), 681-685.
8. Nuzzo, T., Russo, R., Errico, F., D'Amico, A., Tewelde, A. G., Valletta, M., Hassan, A., Tosi, M., Panicucci, C., Bruno, C., Bertini, E., Chambery, A., Pellizzoni, L., & Usiello, A. (2023). Nusinersen mitigates neuroinflammation in severe spinal muscular atrophy patients. *Communications Medicine*, 3(1), 28.
9. Hu, C., & Li, X. (2020). Gene therapeutic strategies and relevant clinical trials in neuromuscular disorder in China. *Gene Therapy*, 27(7-8), 321-328.

10. Mendonça, R. H., & Zanoteli, E. (2022). Gene therapy in neuromuscular disorders. *Arquivos de Neuro-Psiquiatria*, 80(5 Suppl 1), 249-256. <https://doi.org/10.1590/0004-282X-ANP-2022-S135>
11. Gonzalez-Quereda, L., Rodriguez, M. J., Diaz-Manera, J., Alonso-Perez, J., Gallardo, E., Nascimento, A., Ortez, C., Natera-de Benito, D., Olive, M., Gonzalez-Mera, L., Lopez de Munain, A., Zulaica, M., Poza, J. J., Jerico, I., Torne, L., Riera, P., Milisenda, J., Sanchez, A., Garrabou, G., Llano, I., ... Gallano, P. (2020). Targeted Next-Generation Sequencing in a Large Cohort of Genetically Undiagnosed Patients with Neuromuscular Disorders in Spain. *Genes*, 11(539). <https://doi.org/10.3390/genes11050539>
12. Nicolau, S., Milone, M., & Liewluck, T. (2021). Guidelines for genetic testing of muscle and neuromuscular junction disorders. *Muscle & Nerve*, 64(3), 255-269. <https://doi.org/10.1002/mus.27337>
13. Cerino, M., González-Hormazábal, P., Abaji, M., Courrier, S., Puppo, F., Mathieu, Y., Tringali, A., Earle, N., Castiglioni, C., Díaz, J., Campero, M., Hughes, R., Vargas, C., Cortés, R., Kleinstein, K., Acosta, I., Urtizberea, J. A., Lévy, N., Bartoli, M., Krah, M., Jara, L., Caviedes, P., Gorokhova, S., & Bevilacqua, J. A. (2022). Genetic profile of patients with limb-girdle muscle weakness in the Chilean population. *Genes*, 13(6), 1076. <https://doi.org/10.3390/genes13061076>
14. Marinella, G., Astrea, G., Buchignani, B., Cassandrini, D., Doccini, S., Filosto, M., Galatolo, D., Gallone, S., Giannini, F., Lopercolo, D., Maioli, M. A., Magri, F., Malandrini, A., Mandich, P., Mari, F., Massa, R., Mata, S., Melani, F., Moggio, M., Mongini, T. E., Pasquariello, R., Pegoraro, E., Ricci, F., Ricci, G., Rodolico, C., Rubegni, A., Siciliano, G., Sperti, M., Ticci, C., Tonin, P., & Santorelli, F. M. (2022). A schematic approach to defining the prevalence of COL VI variants in five years of next-generation sequencing. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(23), 14567. <https://doi.org/10.3390/ijms232314567>
15. Burlo, F., Grigoletto, V., Pastore, S., Vaivoda, A., Trombetta, A., Tamaro, G., Magnolato, A., Tommasini, A., & Taddio, A. (2023). Elevated creatine kinase is mainly harmless in children but persistent and severe hyperCKaemia should raise suspicions of serious muscle damage. *Acta Paediatrica*, 112(1592-1593). <https://doi.org/10.1111/apa.16755>
16. Herman, I., Lopez, M. A., Marafi, D., Pehlivan, D., Calame, D. G., Abid, F., & Lotze, T. E. (2021). Clinical exome sequencing in the diagnosis of pediatric neuromuscular disease. *Muscle & Nerve*. <https://doi.org/10.1002/mus.27112>
17. Hernández-Zamora, E., Arenas-Sordo, M. de L., Escobar-Cedillo, R. E., González-Huerta, N. C., Leyva-García, N., & Maldonado-Rodríguez, R. (2007). Estrategias para el diagnóstico clínico y molecular de Charcot-Marie-Tooth 1A. Estudio en pacientes mexicanos. *Gaceta Médica de México*, 143(5), 383-389.



18. Cortés, H., Hernández-Hernández, Ó., Bautista-Tirado, T., Escobar-Cedillo, R. E., Magaña, J. J., & Leyva-García, N. (2014). Detección de la duplicación del gen PMP22 en pacientes con neuropatía periférica: estudio en la población mexicana. *Revista Neurológica*, 59(3), 111-117
19. Courage, C., Jackson, C. B., Hahn, D., Euro, L., Nuoffer, J.-M., Gallati, S., & Schaller, A. (2016). SDHA mutation with dominant transmission results in complex II deficiency with ocular, cardiac, and neurologic involvement. *American Journal of Medical Genetics Part A*. <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.37986>
20. Bladen, C. L., Salgado, D., Monges, S., Foncuberta, M. E., Kekou, K., Kosma, K., & Lochmüller, H. (2015). The TREAT-NMD DMD Global Database: Analysis of more than 7,000 Duchenne Muscular Dystrophy Mutations. *Human Mutation*, 36(4), 395-402. <https://doi.org/10.1002/humu.22758>

| Anexo 1. Detalles de variantes genéticas significativas reportadas en esta investigación |                     |                    |                |                     |                        |              |
|------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------|--------------------|----------------|---------------------|------------------------|--------------|
| Gen                                                                                      | Locus               | Efecto en proteína | Tipo de efecto | Frecuencia (gnomAD) | Clasificación Clinvar  | Cigotidad    |
| SCN10A                                                                                   | chr3-38739010 A>T   | p.Asn1900Lys       | Non Synonymous | 0.000016            | UNCERTAIN_SIGNIFICANCE | Heterocigoto |
| SLC25A42                                                                                 | chr19-19216484 C>T  | p.Ala110Val        | Non Synonymous | 0.000044            | UNCERTAIN_SIGNIFICANCE | Heterocigoto |
| KCNJ5                                                                                    | chr11-128781499 T>C | p.Ile111Thr        | Non Synonymous | N/A                 | N/A                    | Heterocigoto |
| SCN10A                                                                                   | chr3-38753922 G>A   | p.Ala1273Val       | Non Synonymous | 0.00002             | N/A                    | Heterocigoto |
| KIDINS220                                                                                | chr2-8877101 C>T    | p.Val1205Ile       | Non Synonymous | 0.000008            | UNCERTAIN_SIGNIFICANCE | Heterocigoto |
| ETFA                                                                                     | chr15-76566757 C>T  | p.Ala271Thr        | Non Synonymous | 0.000032            | UNCERTAIN_SIGNIFICANCE | Heterocigoto |
| COL6A3                                                                                   | chr2-238285734 C>T  | p.Gly917Asp        | Non Synonymous | N/A                 | UNCERTAIN_SIGNIFICANCE | Heterocigoto |
| PLEC                                                                                     | chr8-145009213 G>A  | p.Arg264Cys        | Non Synonymous | 0.000004            | N/A                    | Heterocigoto |
| CRYAB                                                                                    | chr11-111779647 C>T | p.Arg123Gln        | Non Synonymous | 0.000028            | UNCERTAIN_SIGNIFICANCE | Heterocigoto |
| TTN                                                                                      | chr2-179435326 C>T  | p.Asp25178Asn      | Non Synonymous | 0.000032            | N/A                    | Heterocigoto |
| COL6A3                                                                                   | chr2-238273073 G>A  | N/A                | Other          | 0.00039             | Conflict               | Heterocigoto |
| ATP7B                                                                                    | chr13-52549257 A>G  | p.Met33Thr         | Non Synonymous | 0.00064             | Conflict               | Heterocigoto |
| PLEC                                                                                     | chr8-145001647 C>T  | p.Arg1229Gln       | Non Synonymous | 0.000045            | UNCERTAIN_SIGNIFICANCE | Heterocigoto |
| MYH3                                                                                     | chr17-10545750 G>A  | p.Thr624Met        | Non Synonymous | 0.000064            | UNCERTAIN_SIGNIFICANCE | Heterocigoto |
| AGRN                                                                                     | chr1-978638 C>T     | p.Leu469Phe        | Non Synonymous | 0.000017            | UNCERTAIN_SIGNIFICANCE | Heterocigoto |
| CAPN3                                                                                    | chr15-42693951 C>T  | p.Arg490Trp        | Non Synonymous | 0.00019             | Conflict               | Heterocigoto |
| POMGNT2                                                                                  | chr3-43122502 G>A   | p.Arg141Cys        | Non Synonymous | 0.00012             | UNCERTAIN_SIGNIFICANCE | Heterocigoto |
| SCN4A                                                                                    | chr17-62022835 C>T  | p.Glu1202Lys       | Non Synonymous | 0.00006             | Conflict               | Heterocigoto |
| SLC25A42                                                                                 | chr19-19218778 C>T  | p.Pro192Ser        | Non Synonymous | 0.00036             | UNCERTAIN_SIGNIFICANCE | Heterocigoto |
| STAC3                                                                                    | chr12-57643000 C>T  | p.Val53Met         | Non Synonymous | 0.00055             | UNCERTAIN_SIGNIFICANCE | Heterocigoto |
| POLG                                                                                     | chr15-89876854 T>C  | p.Gln44Arg         | Non Synonymous | 0.0002              | Conflict               | Heterocigoto |
| KIF1C                                                                                    | chr17-4904517 C>T   | p.Thr62Met         | Non Synonymous | 0.000004            | UNCERTAIN_SIGNIFICANCE | Heterocigoto |
| SPTLC1                                                                                   | chr9-94809971 T>A   | p.Ile303Phe        | Non Synonymous | 0.000024            | UNCERTAIN_SIGNIFICANCE | Heterocigoto |
| MYOM1                                                                                    | chr18-3067356 G>A   | p.Ser1654Leu       | Non Synonymous | 0.00095             | Conflict               | Heterocigoto |
| CAPN3                                                                                    | chr15-42682291 C>T  | p.Arg315Trp        | Non Synonymous | 0.000016            | UNCERTAIN_SIGNIFICANCE | Heterocigoto |
| SCN5A                                                                                    | chr3-38639227 C>T   | p.Gly752Arg        | Non Synonymous | 0.000004            | Conflict               | Heterocigoto |
| PNPLA2                                                                                   | chr11-819802 C>T    | p.Leu29Phe         | Non Synonymous | 0.00024             | UNCERTAIN_SIGNIFICANCE | Heterocigoto |
| GAA                                                                                      | chr17-78083791 G>A  | p.Asp459Asn        | Non Synonymous | 0.000072            | Conflict               | Heterocigoto |
| RELN                                                                                     | chr7-103629573 C>T  | N/A                | Other          | 0.000016            | UNCERTAIN_SIGNIFICANCE | Heterocigoto |
| ETFB                                                                                     | chr19-51850179 G>A  | p.Arg191Cys        | Non Synonymous | 0.000028            | Conflict               | Heterocigoto |
| MYH14                                                                                    | chr19-50779256 C>G  | p.Asp1159Glu       | Non Synonymous | 0.0000041           | N/A                    | Heterocigoto |
| SDHA                                                                                     | chr5-235427 G>A     | p.Gly412Ser        | Non Synonymous | 0.000084            | UNCERTAIN_SIGNIFICANCE | Heterocigoto |
| MPZ                                                                                      | chr1-161277088 T>C  | p.Thr65Ala         | Non Synonymous | N/A                 | Conflict               | Heterocigoto |
| MYH7                                                                                     | chr14-23894190 C>T  | p.Met822Ile        | Non Synonymous | N/A                 | Conflict               | Heterocigoto |
| GAA                                                                                      | chr17-78084532 C>T  | p.Pro482Leu        | Non Synonymous | N/A                 | Conflict               | Heterocigoto |
| TTN                                                                                      | chr2-179629370 C>T  | p.Gly3291Arg       | Non Synonymous | N/A                 | N/A                    | Heterocigoto |
| TRIM32                                                                                   | chr9-119460040 C>T  | p.Ser7Phe          | Non Synonymous | 0.00002             | UNCERTAIN_SIGNIFICANCE | Heterocigoto |
| OPA1                                                                                     | chr3-193361865 C>G  | p.Ala527Gly        | Non Synonymous | N/A                 | N/A                    | Heterocigoto |
| GAA                                                                                      | chr17-78085870 G>A  | p.Gly576Ser        | Non Synonymous | 0.018               | Conflict               | Heterocigoto |

|                 |                        |               |                   |           |                        |              |
|-----------------|------------------------|---------------|-------------------|-----------|------------------------|--------------|
| <i>SPEG</i>     | chr2-220354240 C>T     | p.Ser2834Leu  | Non<br>Synonymous | 0.000096  | UNCERTAIN_SIGNIFICANCE | Heterocigoto |
| <i>COQ8A</i>    | chr1-227172258 A>G     | p.Asn470Ser   | Non<br>Synonymous | 0.000076  | UNCERTAIN_SIGNIFICANCE | Heterocigoto |
| <i>KLHL41</i>   | chr2-170367038 A>G     | p.Lys251Glu   | Non<br>Synonymous | 0.00012   | UNCERTAIN_SIGNIFICANCE | Heterocigoto |
| <i>PLEC</i>     | chr8-144996085 C>T     | p.Gly2635Ser  | Non<br>Synonymous | N/A       | N/A                    | Heterocigoto |
| <i>LRAM1</i>    | chr9-130221329 G>A     | p.Gly101Arg   | Non<br>Synonymous | 0.000084  | UNCERTAIN_SIGNIFICANCE | Heterocigoto |
| <i>CCDC78</i>   | chr16-774394 G>A       | p.Arg294Trp   | Non<br>Synonymous | 0.0000081 | UNCERTAIN_SIGNIFICANCE | Heterocigoto |
| <i>BSCL2</i>    | chr11-62459886 C>T     | p.Gly275Glu   | Non<br>Synonymous | N/A       | N/A                    | Heterocigoto |
| <i>SMCHD1</i>   | chr18-2666184 T>G      | p.Phe72Leu    | Non<br>Synonymous | N/A       | UNCERTAIN_SIGNIFICANCE | Heterocigoto |
| <i>MYO18B</i>   | chr22-26286749 G>A     | p.Asp1448Asn  | Non<br>Synonymous | 0.0004    | UNCERTAIN_SIGNIFICANCE | Heterocigoto |
| <i>TOR1AIP1</i> | chr1-179886712<br>C>G  | p.Ala364Gly   | Non<br>Synonymous | N/A       | N/A                    | Heterocigoto |
| <i>SGPL1</i>    | chr10-72628168 A>C     | p.Lys228Thr   | Non<br>Synonymous | 0.00002   | UNCERTAIN_SIGNIFICANCE | Heterocigoto |
| <i>SBF1</i>     | chr22-50904481 G>T     | p.Leu307Met   | Non<br>Synonymous | 0.000096  | UNCERTAIN_SIGNIFICANCE | Heterocigoto |
| <i>PHKA1</i>    | chrX-71839080 G>T      | p.Pro738Thr   | Non<br>Synonymous | 0.00014   | UNCERTAIN_SIGNIFICANCE | Heterocigoto |
| <i>MYH14</i>    | chr19-50783569 G>A     | p.Arg1407His  | Non<br>Synonymous | 0.00013   | Conflict               | Heterocigoto |
| <i>RYR1</i>     | chr19-38948877 G>A     | p.Gly705Arg   | Non<br>Synonymous | 0.000008  | Conflict               | Heterocigoto |
| <i>SCN4A</i>    | chr17-62021184 G>A     | p.Thr1313Met  | Non<br>Synonymous | 0.000004  | PATHOGENIC             | Heterocigoto |
| <i>TK2</i>      | chr16-66565334 G>A     | p.Thr108Met   | Non<br>Synonymous | 0.000064  | Conflict               | Heterocigoto |
| <i>WNK1</i>     | chr12-1006826 A>G      | p.Asn2143Ser  | Non<br>Synonymous | 0.000024  | UNCERTAIN_SIGNIFICANCE | Heterocigoto |
| <i>TRPV4</i>    | chr12-110240813<br>G>A | p.Arg232Cys   | Non<br>Synonymous | N/A       | Conflict               | Heterocigoto |
| <i>CHRNA1</i>   | chr2-175618946 C>T     | p.Pro180=     | Synonymous        | 0.000032  | UNCERTAIN_SIGNIFICANCE | Heterocigoto |
| <i>KIF1B</i>    | chr1-10421773 G>A      | p.Val1399Ile  | Non<br>Synonymous | 0.000008  | UNCERTAIN_SIGNIFICANCE | Heterocigoto |
| <i>SLC52A3</i>  | chr20-744240 G>A       | p.Ser325Phe   | Non<br>Synonymous | 0.000008  | UNCERTAIN_SIGNIFICANCE | Homocigoto   |
| <i>PUS1</i>     | chr12-132426450<br>A>G | p.Met387Val   | Non<br>Synonymous | 0.000004  | UNCERTAIN_SIGNIFICANCE | Heterocigoto |
| <i>TK2</i>      | chr16-66551705 G>A     | p.Ser175Phe   | Non<br>Synonymous | N/A       | N/A                    | Heterocigoto |
| <i>KLHL40</i>   | chr3-42733467<br>TG>CA | p.Cys617His   | Non<br>Synonymous | N/A       | UNCERTAIN_SIGNIFICANCE | Heterocigoto |
| <i>PHKB</i>     | chr16-47703285 A>G     | p.Asn863Ser   | Non<br>Synonymous | 0.00002   | UNCERTAIN_SIGNIFICANCE | Heterocigoto |
| <i>TTN</i>      | chr2-179641335 C>T     | p.Arg1752His  | Non<br>Synonymous | 0.00018   | Conflict               | Heterocigoto |
| <i>MYH11</i>    | chr16-15917126 G>A     | p.Arg163Trp   | Non<br>Synonymous | 0.000044  | UNCERTAIN_SIGNIFICANCE | Heterocigoto |
| <i>PLEC</i>     | chr8-144993970 C>T     | p.Asp3340Asn  | Non<br>Synonymous | N/A       | N/A                    | Heterocigoto |
| <i>SYNE1</i>    | chr6-152614804 G>A     | p.Thr5977Met  | Non<br>Synonymous | 0.000096  | UNCERTAIN_SIGNIFICANCE | Heterocigoto |
| <i>LARGE1</i>   | chr22-33828181 C>T     | p.Arg286His   | Non<br>Synonymous | 0.00017   | UNCERTAIN_SIGNIFICANCE | Heterocigoto |
| <i>TTN</i>      | chr2-179392225 T>C     | p.Asn35876Ser | Non<br>Synonymous | 0.000008  | UNCERTAIN_SIGNIFICANCE | Heterocigoto |
| <i>POLG</i>     | chr15-89868725 G>A     | p.Pro635Leu   | Non<br>Synonymous | 0.000016  | UNCERTAIN_SIGNIFICANCE | Heterocigoto |
| <i>SCN11A</i>   | chr3-38908927 C>G      | p.Glu1279Gln  | Non<br>Synonymous | N/A       | UNCERTAIN_SIGNIFICANCE | Heterocigoto |
| <i>MORC2</i>    | chr22-31337980 C>T     | p.Val199Met   | Non<br>Synonymous | 0.000004  | UNCERTAIN_SIGNIFICANCE | Heterocigoto |
| <i>LAMB2</i>    | chr3-49159265 G>A      | p.Arg1651Trp  | Non<br>Synonymous | 0.00022   | UNCERTAIN_SIGNIFICANCE | Heterocigoto |
| <i>CAPN3</i>    | chr15-42693988 T>C     | p.Ile502Thr   | Non<br>Synonymous | 0.00015   | Conflict               | Heterocigoto |
| <i>AMPD2</i>    | chr1-110171409 T>C     | p.Val518Ala   | Non<br>Synonymous | N/A       | N/A                    | Heterocigoto |
| <i>CHRNA2</i>   | chr2-233394656 G>T     | p.Glu210*     | Stop Gain         | 0.000032  | PATHOGENIC             | Heterocigoto |
| <i>PNPLA2</i>   | chr11-821765 A>G       | p.His109Arg   | Non<br>Synonymous | 0.00014   | UNCERTAIN_SIGNIFICANCE | Heterocigoto |
| <i>PLEC</i>     | chr8-145000021 G>A     | p.Arg1359Cys  | Non<br>Synonymous | 0.00013   | UNCERTAIN_SIGNIFICANCE | Heterocigoto |

|         |                         |                  |                   |           |                        |              |
|---------|-------------------------|------------------|-------------------|-----------|------------------------|--------------|
| VCP     | chr9-35061172 C>A       | p.Ala400Ser      | Non<br>Synonymous | N/A       | UNCERTAIN_SIGNIFICANCE | Heterocigoto |
| CTDP1   | chr18-77457893 G>A      | p.Arg176Gln      | Non<br>Synonymous | 0.000064  | UNCERTAIN_SIGNIFICANCE | Heterocigoto |
| LAMA2   | chr6-129573387<br>AAG>A | p.Arg683Serfs*21 | Frameshift        | 0.00012   | Conflict               | Heterocigoto |
| GSN     | chr9-124088901 C>T      | p.Ala510Val      | Non<br>Synonymous | N/A       | N/A                    | Heterocigoto |
| BIN1    | chr2-127821510 G>T      | p.Asn232Lys      | Non<br>Synonymous | 0.00043   | Conflict               | Heterocigoto |
| TTN     | chr2-179407151 C>T      | p.Arg32444His    | Non<br>Synonymous | 0.000024  | UNCERTAIN_SIGNIFICANCE | Heterocigoto |
| MEGF10  | chr5-126732232 G>A      | p.Gly141Asp      | Non<br>Synonymous | 0.0000099 | UNCERTAIN_SIGNIFICANCE | Heterocigoto |
| RYS1    | chr19-38966054 C>T      | p.Arg1420Cys     | Non<br>Synonymous | 0.000096  | UNCERTAIN_SIGNIFICANCE | Heterocigoto |
| TMEM216 | chr11-61165292 G>A      | p.Val93Met       | Non<br>Synonymous | 0.0001    | UNCERTAIN_SIGNIFICANCE | Heterocigoto |
| AMPD1   | chr1-115236056 G>A      | p.Gln12*         | Stop Gain         | 0.096     | Conflict               | Heterocigoto |
| PLEC    | chr8-145003352 C>T      | p.Ala1060Thr     | Non<br>Synonymous | N/A       | N/A                    | Heterocigoto |
| SYNE2   | chr14-64568674 C>T      | p.Ser4136Leu     | Non<br>Synonymous | 0.000032  | UNCERTAIN_SIGNIFICANCE | Heterocigoto |
| BIN1    | chr2-127821190 T>C      | p.Ser244Gly      | Non<br>Synonymous | 0.000032  | UNCERTAIN_SIGNIFICANCE | Heterocigoto |
| SYNE1   | chr6-152589217 G>A      | p.Ser6263Leu     | Non<br>Synonymous | 0.00014   | UNCERTAIN_SIGNIFICANCE | Heterocigoto |
| RYS1    | chr19-39014564 T>C      | p.Ile3484Thr     | Non<br>Synonymous | 0.000056  | UNCERTAIN_SIGNIFICANCE | Heterocigoto |
| SYNE2   | chr14-64557739 A>T      | p.Thr3984Ser     | Non<br>Synonymous | 0.000008  | UNCERTAIN_SIGNIFICANCE | Heterocigoto |
| PMP22   | chr17-15134267 C>A      | p.Gly150Val      | Non<br>Synonymous | N/A       | PATHOGENIC             | Heterocigoto |
| RYS1    | chr19-38931460 T>C      | p.Phe41Ser       | Non<br>Synonymous | 0.000021  | Conflict               | Heterocigoto |
| LAMA2   | chr6-129785588 C>T      | p.Arg2383*       | Stop Gain         | 0.000024  | PATHOGENIC             | Heterocigoto |
| WNK1    | chr12-1017677 A>G       | p.Gln2290Arg     | Non<br>Synonymous | N/A       | N/A                    | Heterocigoto |
| CCT5    | chr5-10263318 A>G       | p.Glu464Gly      | Non<br>Synonymous | 0.000048  | UNCERTAIN_SIGNIFICANCE | Heterocigoto |
| TYMP    | chr22-50964675 A>G      | p.Asp386=        | Synonymous        | 0.000064  | UNCERTAIN_SIGNIFICANCE | Heterocigoto |
| TTN     | chr2-179463962 G>A      | p.His18853Tyr    | Non<br>Synonymous | 0.000032  | UNCERTAIN_SIGNIFICANCE | Heterocigoto |
| TTN     | chr2-179441724 G>A      | p.Arg23113Trp    | Non<br>Synonymous | 0.00006   | UNCERTAIN_SIGNIFICANCE | Heterocigoto |