

Interpretación de pruebas genéticas y biomarcadores en la distrofia muscular de Duchenne

Interpretation of Genetic Tests and Biomarkers in Duchenne Muscular Dystrophy

Interpretação de testes genéticos e biomarcadores na distrofia muscular de Duchenne

Carolina Rivera-Nieto¹

Fernando Suárez-Obando²

Norma Carolina Barajas-Viracachá³

Paulo César Becerra-Ortiz⁴

Edna Julieth Bobadilla-Quesada⁵

Carlos Ernesto Bolaños-Almeida⁶

José Manuel Cañón-Zambrano⁷

¹ Jefe del servicio de Genética Médica. Hospital Pediátrico. Fundación Cardio Infantil-la Cardio. Bogotá, Colombia. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8853-6509>

² El Dr. Suarez falleció posteriormente a su participación como autor de este artículo. En ese momento era el director del Instituto de Genética Humana. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá, Colombia. Perteneció al departamento de Genética. Hospital Universitario San Ignacio. Bogotá, Colombia. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6336-5347>

³ Neuróloga infantil, Fundación Cardiovascular de Colombia, Hospital Internacional de Colombia, Piedecuesta, Santander. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9494-2618>

⁴ Departamento de Medicina Física y Rehabilitación. Somefyr S.A.S. Cúcuta, Colombia. ORCID: <https://orcid.org/000-0002-9494-2618>

⁵ Departamento Neurología Infantil. Hospital Universitario San Ignacio. Bogotá, Colombia. Unidad de Neuropediatría. Junta de Enfermedades Neuromusculares. Fundación HOMI (Hospital pediátrico La Misericordia) Bogotá, Colombia. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5023-4644>

⁶ Unidad de Neuropediatría, Coordinador laboratorio de sueño. Fundación HOMI (Hospital pediátrico La Misericordia) Bogotá, Colombia. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0064-723X>

⁷ Neurólogo Pediatra Instituto Neurológico de Colombia INDEC Medellín. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3709-0500>

Sandra Milena Castellar-Leones^{8*}
Manuel Huertas-Quiñones⁹
Jenny Libeth Jurado-Hernández¹⁰
Juan David Lasprilla-Tovar¹¹
Nicolás J. Laza-Gutiérrez¹²
Isabel C. Londoño Ossa¹³
Sergio Alejandro Nossa Almanza¹⁴
Blair Ortiz-Giraldo¹⁵
Fernando Ortiz-Corredor¹⁶
Sandra Janeth Ospina-Lagos¹⁷
Juan Carlos Prieto¹⁸

⁸ Profesora de Medicina Física y Rehabilitación. Hospital Universitario Nacional. Universidad Nacional de Colombia (Bogotá, Colombia). Miembro de la Junta de Enfermedades Neuromusculares de Biotecgen. Bogotá, Colombia. <https://orcid.org/0000-0002-4559-2965>

⁹ Profesor titular. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, Colombia. Departamento de Cardiología Pediátrica. Coordinador de Clínica de Falla Cardiaca y Trasplante Cardíaco Pediátrico. Instituto de Cardiopatías Congénitas. Fundación Cardioinfantil-Instituto de Cardiología. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2552-9870>

¹⁰ Neumóloga pediatra, Fundación Cardioinfantil y Fundación Neumológica Colombiana. Jefe de la Unidad de Neumología Pediátrica. Bogotá, Colombia. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6610-9207>

¹¹ Endocrinólogo pediatra. HOMI-Fundación Hospital pediátrico la Misericordia. Bogotá, Colombia. Endocrinólogo pediatra. Clínica Marly Jorge Cavelier Gaviria. Bogotá, Colombia. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7165-0057>

¹² Departamento Neurología Infantil. NeuroXtimular SAS IPS. Barranquilla, Colombia. ORCID: <https://orcid.org/0009-0007-1255-8553>

¹³ Fisiatra, especialista en rehabilitación Miembro de la Junta de Enfermedades Neuromusculares de la Fundación Clínica Infantil Club Noel. Departamento de Rehabilitación Pediátrica. Hospital Universitario Del Valle. Cali, Colombia. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9902-3514>

¹⁴ Departamento Ortopedia Infantil. Instituto Roosevelt. Bogotá, Colombia. <https://orcid.org/0000-0002-6917-715X>

¹⁵ Departamento Neurología Infantil. Hospital San Vicente Fundación Medellín. Colombia. <https://orcid.org/0000-0002-9165-4004>

¹⁶ Profesor Universidad Nacional de Colombia. Jefe del Departamento de Medicina Física y Rehabilitación. Bogotá, Colombia. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7427-3576>

¹⁷ Genetista. Profesora asistente Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, Colombia. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0397-0910>

¹⁸ Profesor asistente. Instituto de Genética Humana Universidad Javeriana. Bogotá, Colombia. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8706-0775>

Edicson Ruiz-Ospina¹⁹

Felipe Ruiz-Botero²⁰

María Claudia Salcedo-Maldonado²¹

Diana Pilar Soto-Peña²²

Lina Marcela Tavera-Saldaña²³

María Julia Torres-Nieto²⁴

Diana Carolina Sánchez-Peñaarete²⁵

Recibido: 1 de febrero de 2024 • **Aprobado:** 16 de enero de 2025

Doi: <https://doi.org/10.12804/revistas.urosario.edu.co/revsalud/a.13656>

Para citar este artículo: Rivera-Nieto C, Suárez-Obando F, Barajas-Viracachá NC, Becerra-Ortiz PC, Bobadilla-Quesada EJ, Bolaños-Almeida CE, Cañón-Zambrano JM, Castellar-Leones SM, Huertas-Quiñones M, Jurado-Hernández JL, Lasprilla-Tovar JD, Laza-Gutiérrez NJ, Londoño Ossa IC, Nossa Almanza S, Ortiz-Giraldo B, Ortiz-Corredor F, Ospina-Lagos SJ, Prieto JC, Ruiz-Ospina E, Ruiz-Botero F, Salcedo-Maldonado MC, Soto-Peña DP, Tavera-Saldaña LM, Torres-Nieto MJ, Sánchez-Peñaarete DC. Interpretación de pruebas genéticas y biomarcadores en la distrofia muscular de Duchenne. Rev Cienc Salud. 2025;23(esp.):1-16. <https://doi.org/10.12804/revistas.urosario.edu.co/revsalud/a.13656>

Resumen

Entre las principales alteraciones que caracterizan la distrofia muscular de Duchenne (DMD) se encuentran: daño de las fibras musculares durante la contracción, daño muscular crónico subsecuente, así como inflamación y posterior remplazo de las fibras musculares por tejido fibroso. Este tipo de alteraciones se refleja mediante biomarcadores de la enfermedad. Los biomarcadores en DMD son útiles para hacer el diagnóstico, el seguimiento y la evaluación de la respuesta al tratamiento. La indicación para solicitar los distintos biomarcadores varía de acuerdo con la edad y la historia natural de la enfermedad. Su correcta utilización permite ofrecer un enfoque terapéutico adecuado, un seguimiento correcto y una rehabilitación

¹⁹ Profesor de Medicina Física y Rehabilitación Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, Colombia. Médico fisiatra Fundación Hospital de la Misericordia. Bogotá, Colombia. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3664-4903>

²⁰ Profesor Departamento de Ciencias Básicas Médicas, Centro de Investigaciones en Anomalías Congénitas y Enfermedades Raras (CIACER). Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad ICESI, Cali, Colombia. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9536-7080>

²¹ Fisiatra. Miembro de la Junta de Enfermedades Neuromusculares del Instituto Roosevelt. Bogotá, Colombia. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3207-4701>

²² Coordinadora de Fisioterapia. Instituto Roosevelt. Bogotá, Colombia. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0401-1404>

²³ Profesora titular de la Universidad del Quindío, Armenia, Colombia. Neuróloga Pediatra. Directora Científica Neuroconexión IPS. Armenia, Colombia. Profesora titular. Universidad del Quindío. Armenia, Colombia. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6589-0249>

²⁴ Neurología infantil. Consultorio particular (Valledupar, Colombia). Neurología infantil. Consultorio particular. Valledupar, Colombia. ORCID: <https://orcid.org/0009-0003-1567-3451>

²⁵ Junta de Enfermedades Neuromusculares del Instituto Roosevelt. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4612-3324>

* Autora de correspondencia: smcastellarl@unal.edu.co

satisfactoria. En la presente revisión se describen los diferentes tipos de biomarcadores y métodos diagnósticos para pacientes con DMD, y se recomienda su adecuada utilización, dependiendo de la edad y la historia natural de la enfermedad.

Palabras clave: distrofia muscular de Duchenne; biomarcadores; pruebas genéticas.

Abstract

Among the main characteristics of Duchenne muscular dystrophy (DMD) are the damage of muscle fibers during contraction, subsequent chronic muscle damage, inflammation, and subsequent replacement of muscle fibers by fibrous tissue. Biomarkers of the disease can reflect these types of alterations. Biomarkers in DMD are helpful for diagnosis, follow-up, and evaluation of the response to treatment. The indication for requesting different biomarkers varies according to the age and natural history of the disease, and their correct use allows for an adequate therapeutic approach, correct follow-up, and successful rehabilitation. The present review describes the different types of biomarkers and diagnostic methods used in patients with DMD and recommends their appropriate use according to their age and natural history of the disease.

Keywords: Duchenne muscular dystrophy; biomarkers; genetic testing.

Resumo

Entre as principais alterações que caracterizam a distrofia muscular de Duchenne (DMD) estão: danos às fibras musculares durante a contração, subsequente dano muscular crônico, inflamação e consecutiva substituição das fibras musculares por tecido fibroso. Esse tipo de alteração pode ser refletido por meio de biomarcadores da doença. Os biomarcadores na DMD são úteis para diagnóstico, monitoramento e avaliação da resposta ao tratamento. A indicação para solicitação dos diferentes biomarcadores varia de acordo com a idade e a história natural da doença e seu uso correto permite uma abordagem terapêutica adequada, acompanhamento correto e reabilitação satisfatória. Esta revisão descreve os diferentes tipos de biomarcadores e métodos diagnósticos utilizados em pacientes com DMD e recomenda-se seu uso adequado de acordo com a idade e a história natural da doença.

Palavras-chave: distrofia muscular de Duchenne; biomarcadores; teste genético.

Introducción

Guillaume Benjamin Amand Duchenne, por quien la distrofia muscular de Duchenne (DMD) recibe su nombre, fue uno de los pioneros en el reporte y descripción de la DMD (1-5). Con posterioridad a la descripción fenotípica de la enfermedad, realizó la primera biopsia de tejidos profundos en un paciente vivo con estudio electrofisiológico (6-12). Ello le permitió describir los hallazgos patológicos de la enfermedad, especialmente el daño muscular que la caracteriza (13).

Posteriormente, sir William Richard Gowers describió la ausencia de reflejos patelares en los pacientes con DMD y la propensión a la afectación de ciertos músculos como resultado de la enfermedad (gastrocnemios, cuádriceps, glúteos y, con menor frecuencia, tríceps y bíceps), con una debilidad mayor en los flexores y extensores de la cadera y el cuádriceps (13). Igualmente, describió lo que se conoce hoy como el *signo de Gowers* (10,14,15), que es una forma particular como estos pacientes se levantan del piso. Así mismo, describió en los reportes de las biopsias

en estos pacientes la presencia de un *tumor graso* o una *masa de tejido adiposo* (13,16), que determinan la presencia de cambios musculares secundarios a un cambio fibroso, por un sobrecrecimiento del tejido conectivo del músculo y no una atrofia del músculo como se pensaba (13).

La DMD se debe a mutaciones en el gen que codifica la distrofina, localizado en Xp21 (17,18). La distrofina es una proteína cuya función es absorber el impacto durante la contracción de la fibra muscular, al unir la actina del aparato contráctil al tejido conectivo que rodea el músculo (17,19). La pérdida de la distrofina lleva al daño de las fibras musculares durante la contracción, con daño muscular crónico subsecuente, inflamación y posterior remplazo de las fibras musculares por tejido fibroso (17). En 1986, se describió un fenotipo alterno a la DMD, conocido como la distrofia muscular de Becker (DMB), que se caracteriza por la presencia de una proteína parcialmente funcional y un fenotipo menos severo (17).

El correcto diagnóstico de los pacientes con DMD permite el adecuado enfoque terapéutico, de seguimiento y de rehabilitación del paciente afectado. En la presente revisión se describen los diferentes tipos de biomarcadores y métodos diagnósticos en pacientes con DMD, que mejoran el enfoque diagnóstico en estos pacientes.

Biomarcadores y pruebas genéticas

De acuerdo con el Instituto Nacional de Salud de los Estados Unidos, los biomarcadores son “aquellas características biológicas, bioquímicas, antropométricas, fisiológicas, etc., objetivamente mensurables, capaces de identificar procesos fisiológicos o patológicos, o bien una respuesta farmacológica a una intervención terapéutica” (20). Un biomarcador debe cumplir con dos condiciones: a) ser objetivamente medible o b) reflejar algo de interés, ya sea un proceso bioquímico o un desenlace clínico como el resultado de una intervención terapéutica (por ejemplo, un resultado bioquímico, la antropometría y la medición de la función motora) (20). Algunos biomarcadores diagnósticos detectan o confirman la presencia de una enfermedad o condición de interés, y algunos biomarcadores de seguimiento determinan el estadio de la enfermedad o la mejoría luego de recibir un tratamiento, entre otros factores (20).

En los pacientes con DMD, los biomarcadores resultan útiles de acuerdo con la edad y la historia natural de la enfermedad (figura 1). Las concentraciones de distrofina son un marcador durante toda la historia natural de la enfermedad. Además, pese a que se recomienda analizar las cantidades de creatina cinasa (ck) y el reporte de mutaciones en el periodo neonatal o dentro del tamizaje neonatal, estos marcadores diagnósticos pueden ir más allá de los cuatro años, pues hay diagnósticos que se hacen tardíamente (entre los 10 y los 14 años).

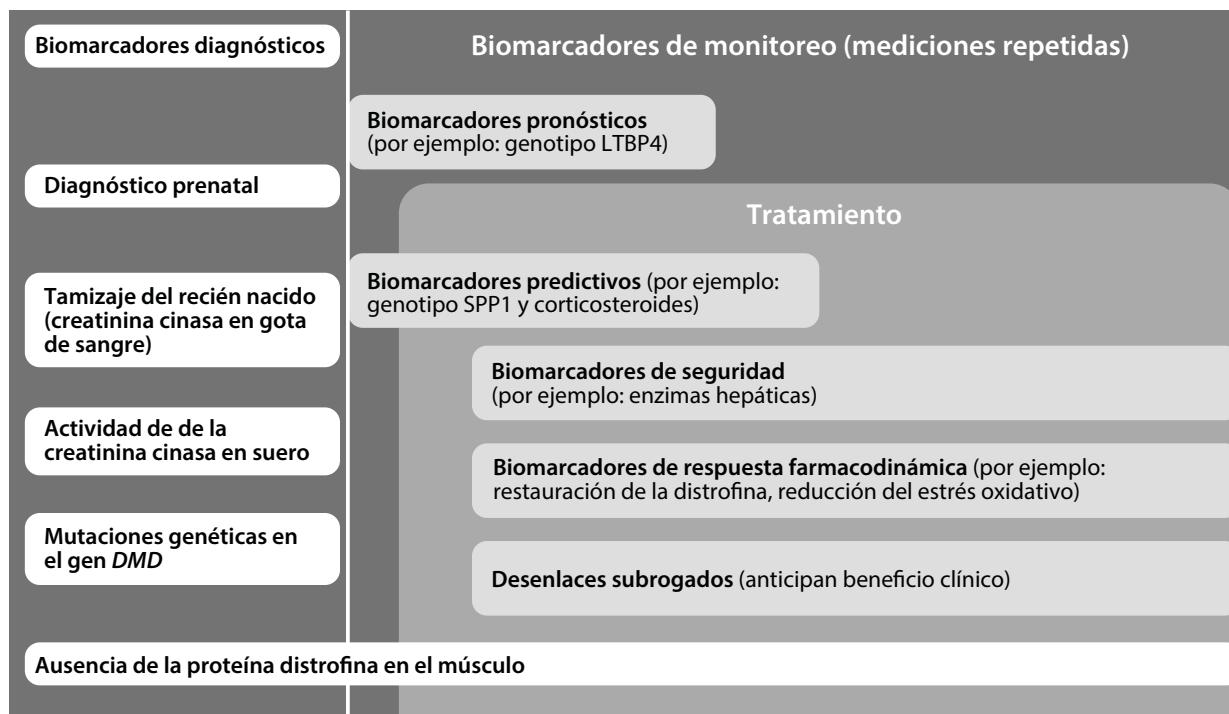


Figura 1. Biomarcadores en distrofia muscular de Duchenne

Fuente: tomado y adaptado de (20).

A pesar de haber sido descritos hace mucho tiempo, en nuestro entorno el uso de biomarcadores “de monitoreo” no es rutinario, principalmente por los costos asociados. Sin embargo, es importante tener en cuenta que los biomarcadores genómicos, como la proteína 4 de unión latente al factor de crecimiento transformante tipo β (LTBP4), identifican modificaciones genéticas que se correlacionan con la edad de pérdida de la deambulación, independientemente del tratamiento con esteroides (21,22). La LTBP4, a su vez, estimula la expresión de fosfoproteína secretada 1 (SPP1) en los mioblastos. El SPP1 es un marcador de predicción, en el cual un genotipo particular (genotipo G) tiene una relación con la pobre respuesta a corticosteroides (23,24).

En la DMD, algunos biomarcadores que inicialmente se determinaron como *de seguimiento* ahora son biomarcadores *de tamizaje o de diagnóstico*, que se asocian con pérdida tardía de la marcha y estiman si hay o no una pérdida de la marcha temprana (25).

Por último, los desenlaces clínicos subrogados de los estudios pivotales se pueden utilizar para definir si hay un beneficio clínico de una intervención farmacológica y, dentro de estos estudios, la inmunohistoquímica define el beneficio de la intervención, sin que esto tenga una correlación clínica (26).

Creatina cinasa

Se ha planteado que el abordaje inicial del tamizaje neonatal para la DMD se mida con la actividad de la CK en suero, utilizando métodos como la fluorescencia (27-30). Sin embargo, es importante tener en cuenta que las concentraciones de CK están elevadas en niños sin DMD desde el nacimiento, con valores que alcanzan incluso un máximo de 10 a 20 veces el valor de referencia en niños normales de mayor edad. Estas concentraciones pueden permanecer elevadas incluso hasta los dos años (31,32). Asimismo, la CK debe evaluarse en los niños con DMD, en relación con el estadio de la enfermedad, dado que el incremento severo inicial decrece progresivamente a una tasa del 25 % por año y vuelve a los valores normales cuando una cantidad considerable de tejido muscular ha sido remplazada por tejido graso, necrótico o fibrótico (31,33).

Los valores de la CK varían levemente según la etnia o el género del paciente (en los hombres caen debido a la edad) y pueden estar elevados en condiciones diferentes a la DMD (34). Una de las limitantes de los marcadores bioquímicos es, pues, su variabilidad biológica entre individuos y cifras fuera de rango que no necesariamente son indicativas de una patología.

Creatina cinasa en la distrofia muscular de Duchenne

En los pacientes con DMD, distintos estudios han indicado valores elevados tempranamente, así como medias de los valores mayores (35). Se estima que cifras muy elevadas en la evaluación temprana predecirían un fenotipo más leve, en comparación con cifras bajas con una elevación más tardía (36).

En resumen, la CK es definitiva como biomarcador y hace parte del diagnóstico, aunque hay otras causas de elevación de la CK y la correlación puede no ser directa en pacientes que han recibido tratamiento, además de la variabilidad biológica de las variantes patogénicas.

Creatina cinasa: fracción muscular como parte del tamizaje corriente de sus concentraciones. La creatina cinasa en su fracción muscular (CK-MM) es una enzima que cataliza la fosforilación de creatina en músculo, por lo cual es un buen referente de su fisiología (37). Las limitaciones de este marcador se relacionan con valores muy altos en una etapa muy temprana, aun cuando se presenta en percentiles. Ello se interpretaría como un falso positivo, y frente a lo cual es difícil saber si se relaciona con una miopatía o hace parte de la fisiología neonatal. Dada la variabilidad en las concentraciones de la CK-MM en los primeros días de vida, se sugiere realizar múltiples puntos de corte para la CK-MM que se relacionen con la edad, cuando se use la CK-MM como estrategia de detección en recién nacidos (38).

Inmunohistoquímica

La inmunohistoquímica en el diagnóstico de la DMD tiene limitaciones en la evaluación histopatológica de enfermedades neuromusculares, dado que requiere un equipo especializado. Por otra parte, el procedimiento de biopsia implica considerar los riesgos asociados con la intervención quirúrgica y el acto anestésico de la cual deriva la muestra (39). Igualmente, dependiendo

del estado de la enfermedad, existe la posibilidad de tomar una muestra de tejido fibroso que no es útil para el análisis. Otra técnica descrita es el Western Blot en tejido, mediante la cual se determina la presencia de distrofina a través de electroforesis; sin embargo, es un proceso largo, complejo y costoso, que no hace parte del estándar de manejo (40).

Genotipificación

El gen de la distrofina (Xp21) está compuesto por 2.4 millones de pares de bases que se contienen en 79 exones y codifica la expresión de la distrofina, una proteína de 427 kDa, varias isoformas y una expresión variable en diferentes tejidos (41). Esta variabilidad de expresión se relaciona con un fenotipo variable, con alteraciones en el neurodesarrollo y cambios en el comportamiento, el estado cognitivo y el desarrollo del lenguaje, entre otros aspectos (41).

En los pacientes con DMD, las mutaciones puntuales *de novo* están presentes en uno de cada tres pacientes (17); sin embargo, pueden faltar o estar duplicados algunos exones (deleción y duplicación). También se ha reportado la presencia de delecciones en el 60 %-85 % de los casos y duplicaciones en el 10 %-15 %, lo cual hace que el gen se constituya en un biomarcador que permite diagnosticar de forma objetiva la enfermedad (42).

Las delecciones y duplicaciones se relacionan con la severidad del cuadro clínico, teniendo en cuenta si generan o no corrimiento del marco de lectura. Una delección es la falta de material genético; mientras que una duplicación es el exceso de este. Si la delección/duplicación conserva el marco de lectura del gen (*in-frame*), se produce una proteína (usualmente más corta), pero que sigue siendo parcialmente funcional. Por esto, la delección/duplicación *in-frame* usualmente se asocia con un fenotipo más leve (DMB). Por otro lado, si la delección/duplicación interrumpe la transcripción del gen al no conservar el marco de lectura (*out-frame*), la proteína no se produce, con lo cual se da el fenotipo clínico de DMD (43).

Reacción en cadena de la polimerasa múltiple

En la DMD, con la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) múltiple se busca la detección simultánea de múltiples exones en una sola reacción. Es una técnica que ha presentado limitaciones en DMD, por el hecho de que no amplifica la totalidad de los exones del DMD (solamente amplifica de 20 a 30 exones de los 79 del gen), de tal modo que si la delección o duplicación del paciente se presenta en los exones no amplificados, el estudio no podría descartar la DMD, por lo cual a la fecha se ha dejado de utilizar.

Amplificación de sonda dependiente de ligadura múltiple

La amplificación de sonda dependiente de ligadura múltiple (MLPA, por sus siglas en inglés) es una variante de la PCR múltiple en la cual se utilizan sondas de dos oligonucleótidos marcadas con fluorocromo que reconocen sitios adyacentes del ácido desoxirribonucleico (ADN)

y amplifican simultáneamente por PCR todas las sondas. Después los fragmentos se separan por electroforesis y se analizan con varios controles de ADN negativos de referencia. Es una técnica de muy buena calidad, pero su principal limitación es que no puede ser desarrollada *in house*, dado que la patente de la tecnología (sondas) pertenece a la compañía que la creó (44).

Dada la alta prevalencia de duplicaciones/delecciones en los pacientes con DMD, en una aproximación inicial la realización de este estudio es costo-eficaz, al ser el método de elección para duplicaciones/delecciones (17). En caso de resultados no definitivos, se debe analizar al paciente de manera complementaria por medio de secuenciación (45). Además, si en el sitio de unión de la ligasa del MLPA hay una mutación, no se podrían ligar las sondas y no se amplificaría el exón, lo que generaría un resultado falso positivo.

En otras ocasiones, al observar una delección de un exón único, esta se puede originar en una falla parcial en la amplificación (llamada en inglés *allelic dropout*: un alelo no se amplifica), secundaria a la presencia de una variante puntual o de un polimorfismo de una sola base en el sitio de unión de la sonda de MLPA (46). Dicha variante podría ser incluso una variante patogénica, de tal modo que la aparente delección de un solo exón enmascararía una variante puntual, por lo cual es necesario en estos casos hacer otros análisis para determinar la causa de la delección única del exón. Se resalta que cuando hay delección de un exón único, es necesario secuenciar todo el gen, dadas las implicaciones terapéuticas que tendría omitir una mutación puntual susceptible de manejo con terapias *read through* (47).

Secuenciación por técnicas de siguiente generación

La secuenciación por técnicas de siguiente generación (NGS, por sus siglas en inglés) amplifica miles de secciones del genoma, con posterior secuenciación por síntesis. De ello se obtiene una gran cantidad de ampliaciones sobre los que se hace la secuenciación. Adicionalmente, la NGS permite detectar ciertos segmentos intrónicos que presenten alteraciones y puedan explicar el fenotipo de DMD. Sin embargo, algunos de estos hallazgos deben ser confirmados por secuenciación clásica, dependiendo de la amplitud y profundidad con que la NGS actúe en determinada sección de los genes, con las limitaciones que esto supone (48).

A la fecha se pueden solicitar paneles genéticos que permiten, además, determinar los genes de miopatías congénitas y que reconocen de una manera costo-eficaz el diagnóstico diferencial (49).

Distrofina-DMD en mujeres

Las mujeres portadoras de una mutación del gen de la distrofina suelen ser asintomáticas; sin embargo, alrededor del 2.5 % al 12 % de las portadoras pueden desarrollar síntomas que incluyen mialgias, debilidad muscular proximal y miocardiopatía. En estas pacientes se puede evidenciar debilidad muscular (en músculos proximales, como la musculatura de la cintura pélvica y del hombro), la cual es generalmente asimétrica. En estas pacientes hay un amplio rango de valores de CK, lo que la convierte en un mal biomarcador de las mujeres portadoras (50).

Algoritmo diagnóstico

Lo anterior ha permitido crear algoritmos diagnósticos que determinan el tipo de prueba genética que se debe realizar, de acuerdo con el fenotipo del paciente y los hallazgos de resultados previos (figura 2) (17).

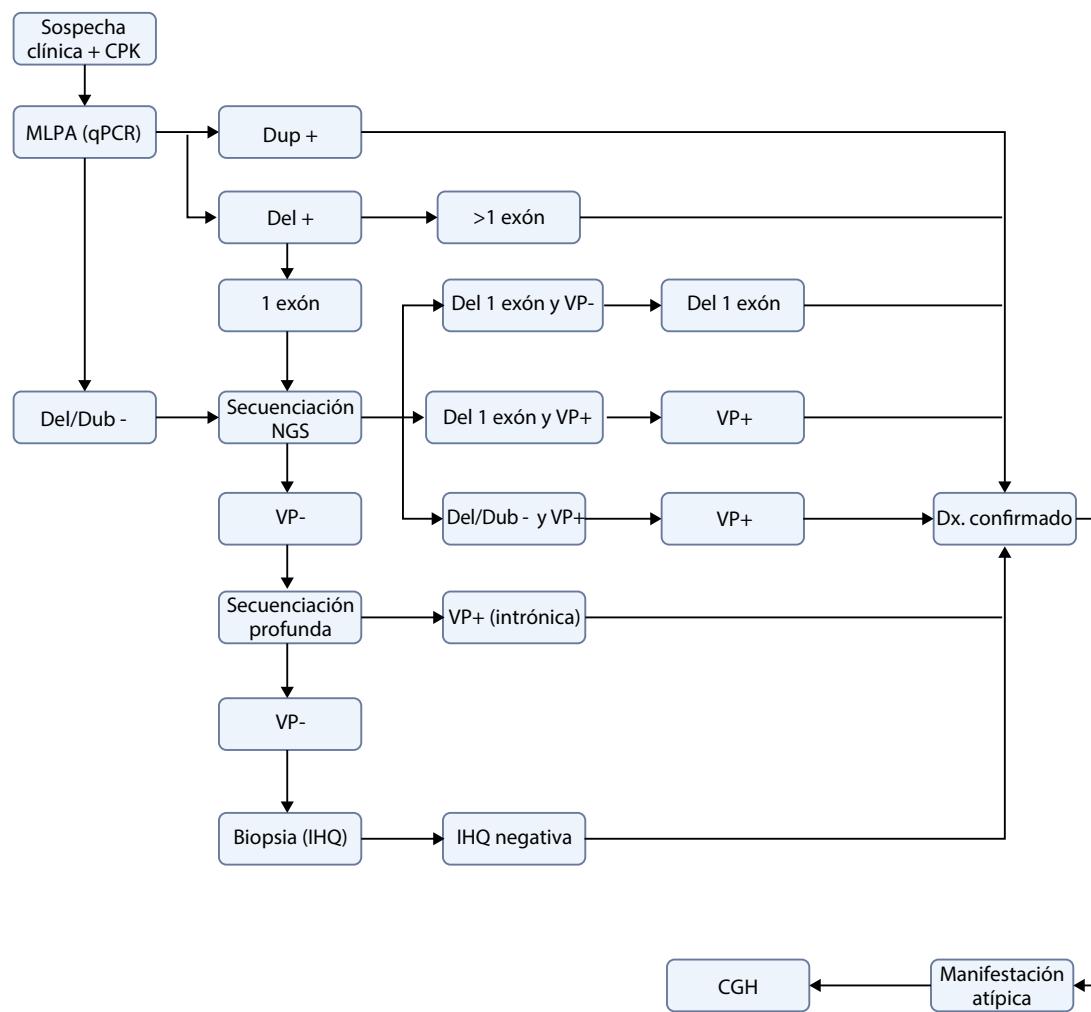


Figura 2. Algoritmo de secuenciación diagnóstica

VP: variante patológica; IHQ: inmunohistoquímica; Del.: delección; CPK: creatina-fosfocinasa; CGH: gonadotropina coriónica humana; MLPA: amplificación de sondas dependiente de ligación múltiple; NGS: secuenciación de nueva generación.

Es importante recalcar que no encontrar una variante patogénica en DMD a través de MLPA y secuenciación no descarta necesariamente el diagnóstico, dado que existen otros mecanismos por medio de los cuales explicar la ausencia de distrofina (51). Pueden haber mutaciones intrónicas en que es necesaria una secuenciación profunda (52). De igual manera, en pacientes con manifestaciones atípicas (por ejemplo, deficiencia de glicerol cinasa, hipoplasia suprarrenal congénita, enfermedad granulomatosa crónica o discapacidad intelectual) se debe realizar

una hibridación genómica comparada o un microensayo de análisis de polimorfismos de una sola base (53); entre tanto, en pacientes femeninas con expresión variable, en las cuales sus hijos no pueden ser genotipificados, se debe aplicar el mismo algoritmo descrito en la figura 2, al igual que en las portadoras de la enfermedad (17).

Asesoría genética en la distrofia muscular de Duchenne

La DMD se hereda de forma recesiva ligada al cromosoma X. El riesgo para los hermanos de un probando depende del estado genético de la madre. Las mujeres heterocigotas tienen un 50% de posibilidades de transmitir la variante patogénica de la DMD en cada embarazo. Los hijos que hereden la variante patógena (homocigotos) se verán afectados; mientras que las hijas que heredan la variante son heterocigotas y pueden presentar una variedad de manifestaciones clínicas (mujeres portadoras). En el caso de los varones con DMD, todas sus hijas serán heterocigotas (portadoras), en tanto que ninguno de sus hijos heredará la variante patógena.

Las pruebas moleculares de portadora para mujeres en riesgo, las pruebas prenatales y las pruebas genéticas previas a la implantación son posibles si se conoce la variante patogénica de la DMD en la familia. Se debe asesorar a las familias acerca del riesgo de recurrencia de la enfermedad y ofrecer opciones reproductivas que incluyen la selección de embriones de mujeres, que serán portadoras. Se debe tener en cuenta que se dispone del diagnóstico genético preimplantación, el diagnóstico prenatal temprano por ADN fetal en sangre materna periférica y la biopsia de vellosidad coriónica. También es necesario ofrecer otras alternativas como la donación de esperma, de óvulos o la adopción (17). Para determinar la secuenciación diagnóstica se propone el algoritmo descrito en la figura 2.

Conclusiones

A la fecha, los biomarcadores actuales y de utilidad clínica son la cK, la MLPA, la secuenciación NGS o Sanger y la distrofina en biopsia. Adicionalmente, los pacientes deben contar con asesoría y el diagnóstico genético preimplantación en los casos en que sea pertinente. Otras técnicas, como el Western Blot, han entrado en desuso. Se debe tener precaución al realizar tamizaje con creatina-fosfocinasa en mujeres o recién nacidos. En pacientes con manifestaciones atípicas asociadas, se recomienda la hibridación genómica comparada.

Contribución de los autores

Todos los autores participaron en la concepción, el diseño, la interpretación de la información, la planeación del artículo, su revisión y aprobaron la versión final del manuscrito.

Financiación

PTC Therapeutics ha financiado el servicio de *medical writing* para este artículo.

Conflicto de intereses

NCBV, CEBA, ILO, FRB, MS-M y LT han recibido honorarios de PTC Therapeutics. JCP han sido conferencistas y ha recibido honorarios para PTC Therapeutics. SMC-L ha sido *speaker* para PTC Therapeutics y ValenTech Pharma. FRC ha recibido pagos por asesorías para PTC Therapeutics. SYOL ha sido conferencista sobre distrofia muscular de Duchenne para PTC Therapeutics, ValenTech y Sarepta. JDLT ha sido conferencista para PTC, Novo Nordisk, Ultragenix y Amryl. DCSP trabaja en PTC Therapeutics como Medical Science Liaison desde el 10 de abril del 2023; sin embargo, la elaboración de este artículo se inició en el 2022, cuando era parte de la Junta de Enfermedades Neuromusculares del Instituto Roosevelt. SN ha sido conferencista para PTC Therapeutics. ER y MH-Q han sido *speakers* para PTC Therapeutics en el tema de distrofia muscular de Duchenne. IL-O ha recibido honorarios por parte de PTC Therapeutics. ERO ha sido *speaker* y *advisory* de Sanofi, BIIB Colombia y PTC Therapeutics.

Referencias

1. Dubowitz V. History of muscle disease. En: Rose FC, Bynum WF, editores. Historical aspects of the neurosciences. New York: Raven Press; 1982. p. 13-222.
2. Duchenne GBA. Album de photographes pathologiques. Paris: Bailliere; 2014.
3. Prendergast RA. Book review: The history of a genetic disease: Duchenne muscular dystrophy or Meryon's disease. Bull History Med. 1996;70. p. 555-6.
4. Kennedy C. Guillaume Benjamin Amand Duchenne. En: Ashwal S, editor. Child neurology: its origins, founders, growth and evolution. San Francisco: Norman; 2021. p. 91-95.
5. Lhermitte J. Duchenne de Boulogne en son temps. Progrés Méd. 1946;74(24):596-602.

6. Duchenne GBA. Recherches sur la paralysie musculaire pseudo-hypertrophique ou paralysie myo-sclerosique. *Arch Gen Med. 6th Ser.* 1868;11(5-25):179, 305, 421, 552-209, 321, 443, 588.
7. Duchenne GB, Francis A. Countway library of medicine: de l'électrisation localisée et de son application a la pathologie et a la thérapeutique. 2.^a ed. Paris: Bailliere; 1861.
8. Poore GV. Pseudo-hypertrophic paralysis, or myosclerotic paralysis. En: *Selections from the clinical works of Dr Duchenne (de Boulogne)*. London: The New Sydenham Society; 1883. p. 173-91.
9. Schmidt CC. Krankhafte hypertrophie des muskelsystems. En: *Mittheilung von den D Dr Coste u Gioja Jahrbucher der in-und Auslandischen Gesamten Medicin*. Leipzig, Germany: O. Wigand; 1889.
10. Tyler KL, McHenry LC. Fragments of neurologic history: pseudohypertrophic muscular dystrophy and Gowers' sign. *Neurology*. 1983;33(1):88-9.
11. Tyler KL, Roberts D, Tyler HR. The shorthand publications of Sir William Richard Gowers. *Neurology*. 2000;55(2):289-93.
12. Wilkins RH, Brody IA. Duchenne's muscular dystrophy. *Arch Neurol*. 1968;(18):54.
13. Tyler KL. Origins and early descriptions of "Duchenne muscular dystrophy". *Muscle Nerve*. 2003;28(4):402-22.
14. Gowers WR. A manual of diseases of the nervous system. En: *Pseudo-hypertrophic muscular paralysis*. Philadelphia: Blakiston; 1879. p. 378-93.
15. Gowers WR. Short lecture on pseudo-hypertrophic paralysis. En: *Phonographic record of clinical teaching and medical science*. London: Sir Isaac Pitman & Sons; s. f.
16. Clarke JL, Gowers WR. On a case of pseudo-hypertrophic muscular paralysis. *J R Soc Med*. 1874;MCT-57(1):247-59.
17. Aartsma-Rus A, Ginjaar IB, Bushby K. The importance of genetic diagnosis for Duchenne muscular dystrophy. *J Med Genet*. 2016 Mar 1;53(3):145 LP-151.
18. Birnkrant DJ, Bushby K, Bann CM, Apkon SD, Blackwell A, Brumbaugh D, et al. Diagnosis and management of Duchenne muscular dystrophy, part 1: diagnosis, and neuromuscular, rehabilitation, endocrine, and gastrointestinal and nutritional management. *Lancet Neurol*. 2018;17(3):251-67.
19. Koenig M, Monaco AP, Kunkel LM. The complete sequence of dystrophin predicts a rod-shaped cytoskeletal protein. *Cell*. 1988 Apr;53(2):219-28.
20. Al-Khalili Szigyarto C, Spitali P. Biomarkers of Duchenne muscular dystrophy: current findings. *Degener Neurol Neuromuscul Dis*. 2018;8:1-13.
21. van den Bergen JC, Hiller M, Böhringer S, Vijfhuizen L, Ginjaar HB, Chaouch A, et al. Validation of genetic modifiers for Duchenne muscular dystrophy: a multicentre study assessing SPP1 and LTBP4 variants. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2015 Oct;86(10):1060-5.
22. Barp A, Bello L, Politano L, Melacini P, Calore C, Polo A, et al. Genetic modifiers of Duchenne muscular dystrophy and dilated cardiomyopathy. *PloS One*. 2015;10(10):e0141240.

23. Vianello S, Pantic B, Fusto A, Bello L, Galletta E, Borgia D, et al. SPP1 genotype and glucocorticoid treatment modify osteopontin expression in Duchenne muscular dystrophy cells. *Hum Mol Genet.* 2017 Sep;26(17):3342-51.
24. Uaesoontrachoon K, Yoo HJ, Tudor EM, Pike RN, Mackie EJ, Pagel CN. Osteopontin and skeletal muscle myoblasts: association with muscle regeneration and regulation of myoblast function in vitro. *Int J Biochem Cell Biol.* 2008;40(10):2303-14.
25. Eynatten M Von, Breitling LP, Roos M, Baumann M, Rothenbacher D, Brenner H. Circulating adipocyte fatty acid-binding protein levels and cardiovascular morbidity and mortality in patients with coronary heart disease: a 10-year prospective study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2012 Sep;32(9):2327-35.
26. Elangkovan N, Dickson G. Gene therapy for Duchenne muscular dystrophy. *J Neuromuscul Dis.* 2021;8(s2):S303-16.
27. Zellweger H, Ionasescu V, Simpson J, Waziri M, Antinik A. Letter: screening of the newborn for Duchenne muscular dystrophy. *BMJ.* 1975;3(5986):767.
28. Orfanos AP, Naylor EW. A rapid screening test for Duchenne muscular dystrophy using dried blood specimens. *Clin Chim Acta.* 1984;138(3):267-74.
29. Moat SJ, Bradley DM, Salmon R, Clarke A, Hartley L. Newborn bloodspot screening for Duchenne muscular dystrophy: 21 years experience in Wales (UK). *Eur J Hum Genet.* 2013 Oct;21(10):1049-53.
30. Kwon JM, Abdel-Hamid HZ, Al-Zaidy SA, Mendell JR, Kennedy A, Kinnett K, et al. Clinical follow-up for Duchenne muscular dystrophy newborn screening: a proposal. *Muscle Nerve.* 2016 Aug;54(2):186-91.
31. de Freitas Nakata KC, da Silva Pereira PP, Salgado Riveros B. Creatine kinase test diagnostic accuracy in neonatal screening for Duchenne muscular dystrophy: a systematic review. *Clin Biochem.* 2021;98:1-9.
32. Burch PM, Pogoryelova O, Goldstein R, Bennett D, Guglieri M, Straub V, et al. Muscle-derived proteins as serum biomarkers for monitoring disease progression in three forms of muscular dystrophy. *J Neuromuscul Dis.* 2015 Sep 2;2(3):241-55.
33. Eyskens F, Philips E. G.P.10 10 Newborn screening for Duchenne muscular dystrophy. The experience in the province of Antwerp. *Neuromuscul Disord.* 2006;16(9):721.
34. Neal RC, Ferdinand KC, Ycas J, Miller E. Relationship of ethnic origin, gender, and age to blood creatine kinase levels. *Am J Med.* 2009 Jan;122(1):73-8.
35. Rodríguez-Cruz M, Almeida-Becerril T, Atilano-Miguel S, Cárdenas-Conejo A, Bernabé-García M. Natural history of serum enzyme levels in duchenne muscular dystrophy and implications for clinical practice. *Am J Phys Med Rehabil.* 2020 Dec;99(12):1121-8.
36. Wang L, Chen M, He R, Sun Y, Yang J, Xiao L, et al. Serum creatinine distinguishes duchenne muscular dystrophy from becker muscular dystrophy in patients aged \leq 3 years: a retrospective study. *Front Neurol.* 2017;8:196.
37. Hathout Y, Seol H, Han MHJ, Zhang A, Brown KJ, Hoffman EP. Clinical utility of serum biomarkers in Duchenne muscular dystrophy. *Clin Proteomics.* 2016;13(1):1-9.

38. Timonen A, Lloyd-Puryear M, Hougaard DM, Meriö L, Mäkinen P, Laitala V, et al. Duchenne muscular dystrophy newborn screening: evaluation of a new GSP® neonatal creatine kinase-Mm kit in a US and Danish population. *Int J Neonatal Screen.* 2019;5(3).
39. van den Bersselaar LR, Heytens L, Silva HCA, Reimann J, Tasca G, Díaz-Cambronero Ó, et al. European Neuromuscular Centre consensus statement on anaesthesia in patients with neuromuscular disorders. *Eur J Neurol.* 2022 Dec;29(12):3486-507.
40. Soderstrom CI, Larsen J, Owen C, Gifondorwa D, Beidler D, Yong FH, et al. Development and validation of a western blot method to quantify mini-dystrophin in human skeletal muscle biopsies. *AAPS J.* 2022 Dec;25(1):12. <https://doi.org/10.1208/s12248-022-00776-0>
41. Muntoni F, Torelli S, Ferlini A. Dystrophin and mutations: one gene, several proteins, multiple phenotypes. *Lancet Neurol.* 2003 Dec;2(12):731-40.
42. García-Acero M, Pineda T, Guerra-Torres M, García-Robles R, Ayala-Ramírez P, Buitrago T, et al. Análisis del espectro mutacional de la distrofia muscular de Duchenne en un grupo de pacientes colombianos. *Neurol Argent.* 2018;10(3):137-46.
43. Nicolas A, Lucchetti-Miganeh C, Yaou R Ben, Kaplan JC, Chelly J, Leturcq F, et al. Assessment of the structural and functional impact of in-frame mutations of the DMD gene, using the tools included in the eDystrophin online database. *Orphanet J Rare Dis.* 2012 Jul;7:45.
44. Verma PK, Dalal A, Mittal B, Phadke SR. Utility of MLPA in mutation analysis and carrier detection for Duchenne muscular dystrophy. *Indian J Hum Genet.* 2012 Jan;18(1):91-4.
45. Guevara-Fujita ML, Huaman-Dianderas F, Obispo D, Sánchez R, Barrenechea V, Rojas-Málaga D, et al. MLPA followed by target-NGS to detect mutations in the dystrophin gene of Peruvian patients suspected of DMD/DMB. *Mol Genet Genomic Med.* 2021 Sep;9(9):e1759.
46. Ren Z, Zhou C, Xu Y, Deng J, Zeng H, Zeng Y. Mutation and haplotype analysis for Duchenne muscular dystrophy by single cell multiple displacement amplification. *Mol Hum Reprod.* 2007 Jun;13(6):431-6.
47. Buitrago T, García-Acero M, Guerra-Torres M, Pineda T, Gámez T, Suárez-Obando F, et al. Variants in the sequence of the probe hybridization site may affect MLPA performance in patients with Duchenne/Becker muscular dystrophy. *J Appl Lab Med.* 2023;8(3):469-78. <https://doi.org/10.1093/jalm/jfac136>
48. De Palma FDE, Nunziato M, D'Argenio V, Savarese M, Esposito G, Salvatore F. Comprehensive molecular analysis of DMD gene increases the diagnostic value of dystrophinopathies: a pilot study in a southern Italy cohort of patients. *Diagn Basel Switz.* 2021 Oct;11(10):1910. <https://doi.org/10.3390/diagnostics11101910>
49. Guerra-Torres M, Suárez-Obando F, García-Robles R, Ayala-Ramírez P. Distrofia muscular de Duchenne/Becker. *Pediatría (Santiago).* 2019;52(1):8-14.
50. Clerk A, Rodillo E, Heckmatt JZ, Dubowitz V, Strong PN, Sewry CA. Characterisation of dystrophin in carriers of Duchenne muscular dystrophy. *J Neurol Sci.* 1991 Apr;102(2):197-205.
51. Lu X, Han C, Mai J, Jiang X, Liao J, Hou Y, et al. Novel intronic mutations introduce pseudoexons in DMD that cause muscular dystrophy in patients. *Front Genet.* 2021;12:657040.

52. Zaum AK, Stüve B, Gehrig A, Kölbel H, Schara U, Kress W, et al. Deep intronic variants introduce DMD pseudoexon in patient with muscular dystrophy. *Neuromuscul Disord NMD*. 2017 Jul;27(7):631-4.
53. Tao N, Liu X, Chen Y, Sun M, Xu F, Su Y. Delayed diagnosis of complex glycerol kinase deficiency in a Chinese male infant: a case report. *BMC Pediatr*. 2022 Sep;22(1):517. <https://doi.org/10.1186/s12887-022-03568-9>