



UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY

Caracterización Clínica y Genética de pacientes uruguayos con un fenotipo de Distrofia de Cinturas

Dres. Abayuba Perna, Cristina Vázquez, Emilio Salazar,

Raúl Rozada, Rosario Guecaimburú, Mariana Legnani,

Juan Ramón Higgin, Jochen Hackembruch

Índice

Resumen	3
Introducción	6
Marco Teórico	9
Objetivos	16
Metodología	17
Resultados	21
Discusión	47
Conclusiones	50
Bibliografía	51
Anexos	56

Resumen

Introducción:

Las Distrofias de Cinturas (LGMD - Limb Girdle Muscle Dystrophies) corresponden a una amplia y heterogénea categoría de miopatías genéticamente determinadas en las cuales los músculos de la cintura pélvica y escapular son los más afectados. Estas se clasifican según su modo de herencia en autosómica dominante y recesiva, existiendo a la fecha un total de 29 tipos.

Hasta incluso comenzado el siglo XXI el diagnóstico de este tipo de enfermedades era muy dificultoso ya que no existían paneles que permitieran estudiar varias mutaciones en un solo estudio. En los últimos años la situación comenzó a cambiar con la aplicación de técnicas de secuenciación de nueva generación (NGS).

Desde el año 2014 en acuerdo con Laboratorio Genzyme y Laboratorio de Biología Molecular GENIA se diseñó y se comenzó a aplicar un panel de NGS para 11 miopatías genéticamente determinadas en la sección de Enfermedades Neuromusculares del Instituto de Neurología del Hospital de Clínicas (Facultad de Medicina, UdelaR).

Como consecuencia de la aplicación de este panel es que nos proponemos describir los principales resultados que surgieron de la aplicación de dicho panel en este grupo de pacientes y las principales características clínicas de aquellos pacientes en los cuales se constató una mutación patogénica.

Metodología: Se realizó un estudio observacional, descriptivo y retro-prospectivo a un grupo de pacientes asistidos en la Policlínica de Enfermedades Neuromusculares del Hospital de Clínicas de Montevideo con un fenotipo clínico de distrofia de cinturas de causa presumiblemente genética y a los cuales se les aplicó un panel genético de nueva generación (NGS) diseñado por laboratorio privado (GENIA) que explora 11 mutaciones diferentes, las cuales fueron elegidas en base a la frecuencia reportada en la literatura y a la epidemiología estimada regional.

La aplicación del panel fue entre Mayo de 2014 y Septiembre de 2021.

En aquellos pacientes en los cuales la aplicación del panel genético encontró una mutación patogénica conocida fueron citados en una única oportunidad para ser re-examinados y tipificados clínicamente en detalle.

Resultados: Se aplicó a 100 pacientes con un fenotipo clínico de distrofias de cinturas de causa presumiblemente genética un panel genético de nueva generación (NGS) que incluyó 11 mutaciones.

De esos 100 pacientes se pudo determinar 31 mutaciones genéticas patogénicas correspondientes a LGMD D3, R1, R2, R3, R9 y R12. Además mediante el protocolo diagnóstico aplicado (gota seca + confirmación genética) se pudo identificar los primeros 5 casos de Enfermedad de Pompe en el

Uruguay y cuya totalidad de pacientes pudieron acceder por diferentes vías al tratamiento recomendado en la actualidad.

Conclusiones: los resultados de este trabajo son el producto de una adecuada interacción entre el sector público y privado y cuyo resultado tuvo un beneficio concreto para los pacientes uruguayos. Se diseñó un panel con características únicas para ese momento incorporando en un mismo panel enfermedades de transmisión dominante y recesiva según nuestra hipótesis de prevalencia regional. Se avanzó en el conocimiento epidemiológico de este tipo de enfermedades, estudiando un número de 100 pacientes y confirmado una peculiaridad epidemiológica del Uruguay con un predominio de una forma de transmisión dominante como es la LGMD D3 (1G).

Se identificaron los primeros 5 casos de enfermedad de Pompe del adulto en Uruguay, entidad desconocida hasta el momento en el Uruguay y con el beneficio adicional de estar recibiendo tratamiento específico.

Se describieron nuevos subtipos de LGMD y nuevas formas de herencia asociadas a otros subtipos de LGMD.

Finalmente se dejan abiertas varias líneas investigación para el futuro, para aquellos pacientes con resultados negativos y para profundizar en el real significado de aquellas mutaciones con significado incierto.

Palabras Claves: LGMD, Enfermedad de Pompe, NGS

Summary:

Introduction:

Limb Girdle Muscle Dystrophies (LGMD) correspond to a wide and heterogeneous category of genetically determined myopathies in which the muscles of the pelvic and shoulder are the most affected. These are classified according to their mode of inheritance in autosomal dominant and recessive, with a total of 29 types to date.

Until the beginning of the 21st century, the diagnosis of this type of disease was very difficult, since there were no panels that allowed studying several mutations in a single study. In recent years, the situation has begun to change with the application of next-generation-sequencing (NGS) techniques. Since 2014, in agreement with the Genzyme Laboratory and the GENIA Molecular Biology Laboratory, an NGS panel has been designed and applied for 11 genetically determined myopathies in the Neuromuscular Diseases section of the Neurology Institute of the Clinical Hospital (Faculty of Medicine, UdelaR).

As a consequence of the application of this panel, we intend to describe the main results that emerged from the application of said panel in this group of patients and the main clinical characteristics of those patients in whom a pathogenic mutation was found.

Methodology:

An observational, descriptive and retro-prospective study was carried out on a group of patients attended at the Polyclinic of Neuromuscular Diseases of the Clinical Hospital in Montevideo with a clinical phenotype of limb-girdle dystrophy of presumably genetic cause and to whom a genetic panel was applied (NGS) designed by a private laboratory (GENIA) that explores 11 different mutations, which were chosen based on the frequency reported in the literature and the estimated regional epidemiology. The application of the panel was between May 2014 and September 2021.

In those patients in whom the application of the genetic panel found a known pathogenic mutation, they were cited in a single opportunity to be re-examined and clinically typified in detail.

Results:

A new generation genetic panel (NGS) including 11 mutations was applied to 100 patients with a clinical phenotype of limb-girdle dystrophies of presumed genetic cause.

Of these 100 patients, it was possible to determine 31 pathogenic genetic mutations corresponding to LGMD D3, R1, R2, R3, R9 and R12. In addition, through the applied diagnostic protocol (dry drop + genetic confirmation) it was possible to identify the first 5 cases of Pompe Disease in Uruguay and all of the patients were able to access the currently recommended treatment through different routes.

Conclusions:

The results of this work are the product of an adequate interaction between the public and private sectors, the result of which had a concrete benefit for Uruguayan patients.

A panel with unique characteristics for that time was designed, incorporating dominant and recessive diseases in the same panel according to our hypothesis of regional prevalence.

Progress was made in the epidemiological knowledge of this type of disease, studying a number of 100 patients and confirming an epidemiological peculiarity of Uruguay with a predominance of a dominant form of transmission such as LGMD D3 (1G).

The first 5 cases of adult Pompe disease in Uruguay were identified, and entity unknown until now in Uruguay and with the benefit of receiving specific treatment.

New LGMD subtypes and new forms of inheritance associated with other LGMD subtypes have been described.

Finally, several lines of research are left open for the future, for those patients with negative results and to delve into the real meaning of those mutations with uncertain significance.

Keywords: LGMD, Pompe Disease, NGS

Introducción

Las miopatías son un grupo de desórdenes musculares en los que cuales existe un trastorno primario a nivel de la función o estructura del músculo esquelético (1).

Su forma de presentación más habitual es la paresia que afecta fundamentalmente a los músculos proximales o de la raíz de los miembros; cintura escápulo-humeral y cintura pelvi-trocantérea.

Las miopatías se clasifican en hereditarias y adquiridas.

El abordaje de un paciente con miopatía requiere de una minuciosa y exhaustiva anamnesis y examen físico, el cual permitirá al clínico distinguir diferentes tipos de patrones de debilidad muscular acordes a la distribución del déficit y finalmente el diagnóstico definitivo se confirmará basado en la información obtenida a través de diferentes estudios paraclínicos, como por ejemplo, medición de la creatin kinasa (CK), estudios neurofisiológicos, biopsia muscular y estudio de genética molecular.

Las distrofias musculares son el mayor componente del grupo de miopatías hereditarias.

Las Distrofias de Cinturas (LGMD - Limb Girdle Muscle Dystrophies), fueron descritas por primera vez por Walton y Nattrass en 1954 y corresponden a una amplia y heterogénea categoría de miopatías genéticamente determinadas en las cuales los músculos de la cintura pélvica y escapular son los más afectados (2).

Salvo para la Enfermedad de Pompe actualmente no existen tratamientos disponibles para las LGMD, las terapias disponibles son de soporte y apuntan a mejorar la calidad de vida de los pacientes, basadas en tratamientos de rehabilitación, terapia ocupacional, tratamiento sintomático y detección precoz de complicaciones entre otros.

El espectro fenotípico es amplio, lo que traduce la falta de una etiología común.

La primera clasificación de LGMD fue realizada en el año 1995 y las mismas se dividían en dos grandes categorías basadas en el modo de herencia. De esta forma teníamos; LGMD 1 con un patrón de herencia autosómico dominante y LGMD 2 con un patrón de herencia autosómico recesivo (3, 4, 5). Esta clasificación incluía la enfermedad de Pompe entre las LGMD tipo 2.

Sin embargo, en la reunión N°229 del European Neuro Muscular Center realizada en Holanda en el año 2017 se decidió reformar la clasificación y nomenclatura de LGMD a fin de excluir otras entidades clínicas tales como distrofias musculares congénitas y ciertas miopatías (5,6).

De ahí que la definición de LGMD se estableció en los siguientes 8 aspectos; genéticamente determinada, afectación primaria del músculo esquelético, debilidad muscular proximal inicialmente y progresiva, estar presente en al menos 2 familias no relacionadas, haber logrado el individuo la deambulación de forma independiente previo al diagnóstico, elevación de CK en sangre, evidencia

de cambios degenerativos en la RNM músculo y evidencia de cambios distróficos en la biopsia muscular.

Y respecto a la nomenclatura se mantuvo la clasificación en dos categorías según el modo de herencia pasando a llamarse actualmente; LGMD D (herencia autosómico dominante) y LGMD R (herencia autosómica recesiva).

Con estas modificaciones en la nomenclatura y clasificación se han establecido un total de 29 LGMD, siendo 5 de herencia autosómica dominante (10%) y 24 de herencia autosómica recesiva (90%).

Las formas más comunes de LGMD R a nivel mundial son LGMD R1 (alteración de la calpaina 3), LGMD R2 (alteración de la disferlina), LGMD R5 (alteración del sarcoglicano gamma), LGMD R3 (sarcoglicano alfa), LGMD R4 (sarcoglicano beta), LGMD R6 (sarcoglicano delta), LGMD R9 (alteración de la proteína relacionada con la fukutina) y LGMD R12 (alteración de la proteína anoctamina 5) (7).

La evolución clínica y los fenotipos varían y se solapan ampliamente, destacándose la Enfermedad de Pompe (EP), una enfermedad metabólica rara de herencia autosómica recesiva que se produce debido déficit total o parcial de la α -glucosidasa ácida (GAA) que tiene un tratamiento específico en base a terapia de remplazo enzimático (TRE) una vez efectuado el diagnóstico y que a pesar de no ser clasificada como una distrofia muscular de herencia autosómica recesiva tiene un patrón de presentación clínico que lleva a incluirla como diagnóstico diferencial en aquellos pacientes con debilidad muscular proximal.

Hasta incluso comenzado el siglo XXI el diagnóstico de este tipo de enfermedades era muy dificultoso ya que no existían paneles que permitieran estudiar varias mutaciones en un solo estudio. El neurólogo clínico tenía que estar muy orientado en cuanto al fenotipo (situación poco frecuente) como para recomendar un estudio genético de una sola enfermedad (y por otro lado eran muy costosos) ya que la probabilidad de “acertar” en un primer intento confirmatorio desde el punto de vista diagnóstico era muy baja.

En los últimos años la situación comenzó a cambiar radicalmente y actualmente las Guías de la Asociación Americana de Neurología recomiendan desde el punto de vista del manejo diagnóstico el abordaje basado en la nueva generación de técnicas de secuenciación (NGS), orientados por las características clínicas, el patrón de herencia y las manifestaciones asociadas (8, 9).

NGS permite la evaluación de diversos genes simultáneamente, mejorando el diagnóstico de enfermedades mendelianas que tienen fenotipos variados (por ejemplo, LGMD).

De acuerdo con esta metodología se llega a la confirmación diagnóstica en un porcentaje importante de pacientes, lo que implica detectar una mutación patogénica previamente descrita y en un gen asociado al fenotipo del paciente en cuestión.

Un aspecto novedoso es que en un porcentaje no despreciable de pacientes se obtienen mutaciones genéticas de significado incierto siendo en estos casos de utilidad otros exámenes paraclínicos como la imagenología, la anatomía patológica, la neurofisiología y la evaluación cardiovascular y respiratoria.

La sección de Enfermedades Neuromusculares del Instituto de Neurología del Hospital de Clínicas (Facultad de Medicina, UdelaR) funciona como un centro de referencia nacional de la patología neuromuscular en general asistiendo a pacientes de todo el territorio nacional tanto del medio público como privado, funcionando como centro de asistencia y diagnóstico en algunas oportunidades y en otras como centro de segunda opinión.

Desde el año 2014 en acuerdo con Laboratorio Genzyme y el Laboratorio de Biología Molecular GENIA se comenzó a aplicar un panel de NGS para 11 miopatías genéticamente determinadas que entran dentro del grupo de LGMD.

La aplicación de dicho panel se realizó con fines diagnósticos de los cuales dicho resultado tenía implicancias no solamente desde el punto de vista de una mayor precisión diagnóstica y terapéutica y desde el punto de vista genético y fenotípico sino también desde el punto de vista terapéutico ya que una de las mutaciones exploradas es para enfermedad de Pompe, enfermedad de causa genética con tratamiento específico.

Como consecuencia de la aplicación de este panel es que nos proponemos mediante un estudio observacional, descriptivo y retro-prospectivo, describir los principales resultados que surgieron de la aplicación de dicho panel en este grupo de pacientes y las principales características clínicas de aquellos pacientes en los cuales se constató una mutación patogénica.

Marco Teórico

Las miopatías son un grupo de desórdenes musculares en los que cuales existe un trastorno primario a nivel de la función o estructura del músculo esquelético (1).

Su forma de presentación más habitual es la paresia que afecta fundamentalmente a los músculos proximales o de la raíz de los miembros; cintura escapulo-humeral y cintura pelvi-trocantérea (1,10).

Las miopatías pueden ser diferenciadas de otros trastornos motores como por ejemplo, enfermedad de la motoneurona, neuropatías periféricas y enfermedades de la unión neuromuscular a través de hallazgos clínicos y paraclínicos (1, 10).

El primer objetivo a la hora de aproximarnos a un paciente con una enfermedad muscular es determinar el sitio de la lesión. Una vez localizado el sitio, el siguiente paso es determinar si la miopatía se debe a un defecto en la estructura del músculo (por ejemplo, distrofias musculares), en los canales (por ejemplo, canalopatías) o a una disfunción del metabolismo muscular (ejemplo, miopatías metabólicas).

El segundo objetivo es determinar la causa de la miopatía; en general las miopatías se clasifican en hereditarias y adquiridas.

Y el tercer objetivo es determinar si existe un tratamiento específico y en caso de no haberlo, optimizar el manejo terapéutico en función de la calidad de vida (1, 10).

El abordaje de un paciente con miopatía requiere de una minuciosa y exhaustiva anamnesis y examen físico, el cual permitirá al clínico distinguir diferentes tipos de patrones de debilidad muscular acordes a la distribución del déficit.

Entre ellos se incluyen debilidad proximal con afectación de cinturas, debilidad distal, debilidad escapulo-peroneal (proximal miembro superior y distal miembro inferior), debilidad distal de miembro superior y proximal de miembro inferior, ptosis palpebral con o sin oftalmoplejía, debilidad de extensores de cuello, debilidad bulbar y debilidad axial.

Finalmente el diagnóstico definitivo se confirmará basado en la información obtenida a través de diferentes estudios paraclínicos, como por ejemplo la medición de la creatin kinasa.

La determinación de la creatin kinasa (CK) es el método de estudio más utilizado en pacientes con sospecha de miopatía (1, 10, 11).

La CK suele estar elevada en la mayoría de los pacientes con enfermedad muscular pero puede ser normal en formas progresivas de miopatías.

El grado de elevación de CK puede ser también útil a la hora de distinguir diferentes formas de distrofias musculares.

Los niveles de CK no solo se elevan en las miopatías, sino que también se pueden ver en endocrinopatías como hipotiroidismo, uso de fármacos hipolipemiantes (como por ejemplo estatinas), alcoholismo, ejercicio físico prolongado, traumatismo muscular, infecciones.

Es de destacar que el hallazgo de niveles elevados de CK puede ocurrir en individuos aparentemente sanos (hiperckemia asintomáticas), lo cual en algunas series representa la segunda causa de hiperckemias crónicas.

Recordar que los niveles de CK varían acorde a la raza y el género.

Existen otros parámetros sanguíneos que se pueden medir en pacientes con sospecha de enfermedad muscular, pero son menos significativos que la medición de CK. Entre estos se incluyen enzimas hepáticas como alanino y aspartato aminotransferasas (ALT y AST respectivamente) y la medición de la lactato deshidrogenasa (LDH).

Otros métodos de estudios en pacientes con patología muscular incluyen análisis de orina para determinación de la mioglobulinuria, estudios neuro-fisiológicos como Electromiograma (EMG) el cual evidencia potenciales miopáticos de corta duración, disminución de la amplitud de las unidades motoras con reclutamiento progresivo, entre otros, biopsia muscular y estudios de genética molecular (1, 11).

Las distrofias musculares son el mayor componente del grupo de miopatías hereditarias (1).

El término “distrofia” hace referencia a la necrosis del tejido muscular (provocado por diferentes formas de mutaciones genéticas que afectan proteínas localizadas en el sarcolema, núcleo muscular, membrana basal y matriz extracelular) y al remplazo de fibras musculares por tejido adiposo y fibrosis, lo cual conduce progresivamente a la debilidad muscular por pérdida de la función muscular.

Las distrofias musculares a su vez tienen diferentes características clínicas que orientan a su diagnóstico; entre ellas se encuentran el patrón proximal o distal de debilidad, modo de herencia, edad de inicio de los síntomas y la presencia o ausencia de síntomas y signos sistémicos.

También suele suceder que muchas distrofias musculares como por ejemplo, las de cintura tienen fenotipos que se solapan con diferentes genotipos (1, 10).

La primera clasificación de LGMD fue realizada en el año 1995 y las mismas se dividían en dos grandes categorías basadas en el modo de herencia. De esta forma teníamos; LGMD 1 con un patrón de herencia autosómico dominante y LGMD 2 con un patrón de herencia autosómico recesivo (2, 3, 4, 5).

Sin embargo, en la reunión N°229 del European Neuro Muscular Center realizada en Holanda en el año 2017 se decidió reformar la clasificación y nomenclatura de LGMD a fin de excluir otras entidades clínicas tales como distrofias musculares congénitas y ciertas miopatías (5,6).

La definición de LGMD se estableció en los siguientes 8 aspectos; genéticamente determinada, afectación primaria del músculo esquelético, debilidad muscular proximal inicialmente y progresiva, estar presente en al menos 2 familias no relacionadas, haber logrado el individuo la deambulación de forma independiente previo al diagnóstico, elevación de CK en sangre, evidencia de cambios degenerativos en la RNM músculo y evidencia de cambios distróficos en la biopsia muscular.

Y respecto a la nomenclatura se mantuvo la clasificación en dos categorías según el modo de herencia pasando a llamarse actualmente; LGMD D (herencia autosómico dominante) y LGMD R (herencia autosómica recesiva).

Con estas modificaciones en la nomenclatura y clasificación se han establecido un total de 29 LGMD, siendo 5 de herencia autosómica dominante (10%) y 24 de herencia autosómica recesiva (90%).

Las formas más comunes de LGMD R a nivel mundial son LGMD R1 (alteración de la calpaina 3), LGMD R2 (alteración de la disferlina), LGMD R5 (alteración del sarcoglicano gamma), LGMD R3 (sarcoglicano alfa), LGMD R4 (sarcoglicano beta), LGMD R6 (sarcoglicano delta), LGMD R9 (alteración de la proteína relacionada con la fukutina) y LGMD R12 (alteración de la proteína anoctamina 5) (7).

La tabla 1 muestra la clasificación actual de LGMD.

Tabla 1. Clasificación actual de LGMD

Nomenclatura Antigua	Nomenclatura Actual	Gen Involucrado	Modo de Herencia
LGMD 1D	LGMD D1 DNAJB6-related	DNAJB6	Autosómico Dominante
LGMD 1F	LGMD D2 TNPO3-related	TNPO3	Autosómico Dominante
LGMD 1G	LGMD D3 HNRNPDL-related	HNRNPDL	Autosómico Dominante
LGMD 1I	LGMD D4 calpain3-related	CAPN	Autosómico Dominante
Miopatía Dominante Bethlem	LGMD D5 collagen 6-related	COL6A1, COL6A2, COL6A3	Autosómico Dominante
LMGD 2A	LGMD R1 calpain3-related	CAPN	Autosómico Recesiva
LGMD 2B	LGMD R2 dysferlin-related	DYSF	Autosómico Recesiva
LGMD 2C	LGMD R5 γ -sarcoglycan-related*	SGCG	Autosómico Recesiva
LGMD 2D	LGMD R3 α -sarcoglycan-related	SGCA	Autosómico Recesiva
LGMD 2E	LGMD R4 β -sarcoglycan-related	SGCB	Autosómico Recesiva

LGMD 2F	LGMD R6 δ -sarcoglycan-related	SGCD	Autosómico Recesiva
LGMD 2G	LGMD R7 telethonin-related	TCAP	Autosómico Recesiva
LGMD 2H	LGMD R8 TRIM 32-related	TRIM32	Autosómico Recesiva
LGMD 2I	LGMD R9 FKRP-related	FKRP	Autosómico Recesiva
LGMD 2J	LGMD R10 titin-related	TTN	Autosómico Recesiva
LGMD 2K	LGMD R11 POMT1-related	POMT1	Autosómico Recesiva
LGMD 2L	LGMD R12 anoctamin5-related	ANO5	Autosómico Recesiva
LGMD 2M	LGMD R13 Fukutin-related	FKTN	Autosómico Recesiva
LGMD 2N	LGMD R14 POMT2-related	POMT2	Autosómico Recesiva
LGMD 2O	LGMD R15 POMGnT1-related	POMGnT1	Autosómico Recesiva
LGMD 2P	LGMD R16 α -dystroglycan-related	DAG1	Autosómico Recesiva
LGMD 2Q	LGMD R17 plectin-related	PLEC	Autosómico Recesiva
LGMD 2S	LGMD R18 TRAPPC11-related	TRAPPC11	Autosómico Recesiva
LGMD 2T	LGMD R19 GMPPB-related	GMPPB	Autosómico Recesiva
LGMD 2U	LGMD R20 ISPD-related	ISPD	Autosómico Recesiva
LGMD 2Z	LGMD R21 POGLUT1-related	POGLUT1	Autosómico Recesiva
Miopatía Recesiva Bethlem	LGMD R22 collagen 6-related	COL6A1, COL6A2, COL6A3	Autosómico Recesiva
Distrofia Muscular Relacionada a Laminina α 2	LGMD R23 laminin α 2-related	LAMA2	Autosómico Recesiva
Distrofia Muscular Relacionada a POMGNT2	LGMD R24 POMGNT-related	POMGNT2	Autosómico Recesiva

* Sarcoglycan-related LGMDs ubicados en función del orden de descubrimiento de genes

La prevalencia global es de 0.8 a 6 casos por 100000 habitantes, con variaciones geográficas importantes y con una prevalencia individual variable, desde subtipos con solo algunos casos descritos a nivel mundial y otras más prevalentes como la LGMD R1 (7, 12, 13).

Como se mencionó en la introducción salvo para la Enfermedad de Pompe actualmente no existen tratamientos disponibles para las LGMD y las terapias disponibles son de soporte y apuntan a mejorar la calidad de vida de los pacientes, basadas en tratamientos de rehabilitación, terapia ocupacional, tratamiento sintomático y detección precoz de complicaciones entre otros (1, 14, 15).

El espectro fenotípico es amplio, lo que traduce la falta de una etiología común.

Las distintas alteraciones genéticas vinculadas a las LGMD se traducen en alteraciones de distintas proteínas componentes del sarcolema, núcleo, del aparato contráctil o componentes de la matriz extracelular (figura 3), pero que tienen una vía final común que es el daño del miocito y la degeneración de las fibras musculares (1, 16).

La CPK habitualmente está elevada, aunque en rangos muy variables. La biopsia muscular, con técnicas básicas como hematoxilina-eosina solo es capaz de mostrar cambios distróficos inespecíficos, especialmente degeneración y regeneración de fibras musculares como elementos más constantes y es solo con técnicas de Inmunohistoquímica donde el anatomopatólogo puede aproximarse a un subgrupo más específico. Esto se debe a la variabilidad en la edad de inicio, severidad y a la progresión de la enfermedad.

Desde la identificación del primer gen asociado a LGMD en 1994 se han identificado más de 30 genes mutados, con espectros fenotípicos variados y con perspectivas de que se continúen describiendo mutaciones genéticas vinculadas a las LGMD, a la luz de las nuevas técnicas de secuenciación genética como la secuenciación dirigida, la secuenciación de exoma entero y la de genoma entero, entre otras técnicas (8, 9, 17, 18).

A su vez, los distintos patrones de afectación muscular distrófica pueden orientar a cual LGMD nos estamos enfrentando, incluso algunos autores plantean que se puede realizar un planteo del tipo de LGMD hasta en el 50% de los casos basados solamente en el patrón de afectación muscular y el patrón de herencia. No obstante el concepto es que la heterogeneidad clínica es grande e incluso para un mismo gen mutado hay distintos fenotipos que muchas veces se solapan con otras enfermedades neuromusculares (1).

Muchas de estas LGMD no solo afectan el músculo estriado sino que pueden asociar también compromiso del músculo cardíaco, del sistema de conducción cardíaco y el sistema osteoarticular (1, 19).

Es de destacar que aunque no sea clasificada como una distrofia muscular de herencia autosómica recesiva en la nomenclatura actual, la Enfermedad de Pompe también conocida como déficit de maltasa ácida y glucogénesis tipo II, es una enfermedad metabólica rara con un amplio espectro clínico de presentación el cual tiene síntomas y signos que se solapan con las variedades de herencia autosómica recesivas de las LGMD (1, 7, 20).

Se propone que la Enfermedad de Pompe de inicio en el adulto (LOPD) debe ser considerada como un diagnóstico diferencial importante en los pacientes que se presenten con un patrón de debilidad muscular proximal (1, 7, 20).

La prevalencia estimada de Enfermedad de Pompe varía de 1:40,000 a 1:60,000 casos (20, 21).

Hasta la aplicación de panel que se presenta en este trabajo, no había ningún caso diagnosticado de Enfermedad de Pompe del adulto en nuestro país.

La enfermedad fue descrita por Johannes Cassianus Pompe (1901-1945), médico y patólogo de Países Bajos en el año 1932 y más tarde, en 1963, Henri-Géry Hers, fisiólogo y bioquímico belga, identificó la deficiencia en la actividad de la α -glucosidasa ácida (GAA) a nivel lisosomal en los músculos, corazón e hígado (20, 21).

La EP es consecuencia de un déficit total o parcial de GAA, el cual se traduce principalmente como una miopatía metabólica vacuolar por depósito de glucógeno lisosomal y a una alteración de los mecanismos de autofagia principalmente a nivel de músculo (esquelético, cardíaco y liso) y del sistema nervioso (20).

Es una enfermedad hereditaria autosómica recesiva en la que se han descrito más de 450 mutaciones a nivel del gen de la GAA ubicado en el brazo largo del cromosoma 17 (17q25.3).

La mutación más frecuente en pacientes caucásicos es IVS 1 (-13 T>G) que está presente en uno de los alelos en más del 50% de los pacientes. Este gen de aproximadamente 18,3 kb contiene 20 exones y una secuencia de 2.859 nucleótidos que codifican una enzima inmadura de 952 aminoácidos que alcanza su forma metabólicamente activa a nivel de los lisosomas.

Las mutaciones pueden ser únicas o combinadas y la actividad enzimática resultante puede ser nula, lo que da cuadros más severos en general de inicio temprano, o puede haber actividad enzimática residual de grado variable con cuadros de inicio tardío (20, 22, 23).

Clínicamente se describe una forma infantil de la EP (IOPD) que se manifiesta en las primeras semanas de vida y es severa, con un desenlace fatal generalmente antes del primer año de vida. Por otro lado, cuando la enfermedad se manifiesta luego del año de vida, corresponde a una EP de inicio tardío (LOPD) y puede iniciarse en la niñez, en la juventud o en la adultez. En la LOPD la progresión es más lenta y la forma de presentación clínica es variable, con distintos grados de afectación a nivel del sistema muscular, cardiovascular, respiratorio y osteoarticular

El momento de aparición de los síntomas está en relación con el grado de actividad residual de la enzima la cual puede ser cercana al 10% cuando aparece en la niñez, pudiendo llegar al 40% en los casos del adulto (20, 21).

El fenotipo de estos pacientes es variable pero se pueden reconocer tres fenotipos principales: el miopático, el cardiovascular y el osteoarticular. Se pueden ver otras manifestaciones además de las descritas clásicamente, ya que el acúmulo de glucógeno es en todas las células lo que traduce la naturaleza multisistémica de la enfermedad.

El examen de elección para el diagnóstico de la EP es la medida de la actividad enzimática de la GAA. Se puede realizar una primera medida con un test de gota de sangre seca, que tiene alta sensibilidad y especificidad, poco invasivo y se obtienen resultados rápidamente. Si el test de la gota seca es positivo para la enfermedad debe realizarse un segundo examen para confirmar la misma, que

puede ser la medida de la actividad enzimática en linfocitos o un análisis mutacional del gen de la GAA (20, 21, 22, 23).

La EP es de las pocas miopatías con un tratamiento específico desde la aprobación en 2006 de la terapia de remplazo enzimático (TRE) con rhGAA, por parte de la Agencia Europea de Medicamentos y en 2010 por la Food and Drug Administration (FDA) (1, 7, 20, 21).

No obstante, de acuerdo con las Guías de la Asociación Americana de Neurología, una de las tendencias actuales desde el punto de vista del manejo diagnóstico es el abordaje basado en la nueva generación de técnicas de secuenciación (NGS), orientados por las características clínicas, el patrón de herencia y las manifestaciones asociadas.

NGS permite la evaluación de diversos genes simultáneamente, mejorando el diagnóstico de enfermedades mendelianas que tienen fenotipos variados (por ejemplo, LGMD).

De acuerdo con esta metodología se llega a la confirmación diagnóstica en un porcentaje importante de pacientes, lo que implica detectar una mutación patogénica previamente descrita y en un gen asociado al fenotipo del paciente en cuestión.

En un porcentaje no despreciable de pacientes se obtienen mutaciones genéticas de significado incierto y es en estos casos donde son de utilidad otros exámenes paraclínicos como la imagenología, la anatomía patológica, la neurofisiología y la evaluación cardiovascular y respiratoria. Cabe destacar que desde que se usa este abordaje se han ampliado la cantidad de fenotipos asociados a mutaciones genéticas específicas (1, 7, 8).

Un elemento clave en el manejo de los pacientes con distrofia muscular, lo que incluye a las distrofias de cinturas, es la evaluación de las manifestaciones asociadas.

Dentro de esta evaluación se destacan la evaluación cardiovascular y respiratoria. Como regla general los pacientes con compromiso cardíaco o respiratorio secundario a distrofia son paucisintomáticos por lo cual la esfera cardiorrespiratoria debe ser evaluada en forma sistemática, no obstante, dependiendo del tipo de LGMD la evaluación debe ser más o menos exhaustiva, ya que algunos tipos asocian compromiso cardíaco y/o respiratorio de forma típica y otras no lo asocian (1, 10, 12).

Objetivos

General:

- Conocer la epidemiología de las Distrofias de cinturas en Uruguay.

Específicos:

- Describir las características clínicas en un grupo de pacientes con un fenotipo de distrofia de cinturas presumiblemente de causa genética y en los cuales la combinación de la aplicación del test de la gota seca para Pompe y de un panel genético de nueva generación (diseñado y aplicado por primera vez en Uruguay, que exploran 11 mutaciones) determinó la presencia de una mutación patogénica.
- Describir la frecuencia de las mutaciones patogénicas encontradas con la aplicación de dicho panel de nueva generación en la población mencionada anteriormente.

Metodología

Se realizó un estudio observacional, descriptivo y retro-prospectivo a un grupo de pacientes asistidos en la Policlínica de Enfermedades Neuromusculares del Hospital de Clínicas de Montevideo con un fenotipo clínico de distrofia de cinturas de causa presumiblemente genética y a los cuales se les aplicó un panel genético de nueva generación (NGS) que explora 11 mutaciones diferentes.

Dicho panel se diseñó en nuestro país por un laboratorio privado (GENIA) y se aplicó por primera vez con fines diagnósticos en pacientes uruguayos con un resultado cuyas implicancias eran no solamente desde el punto de vista de una mayor precisión diagnóstica (genética) sino también desde el punto de vista terapéutico ya que una de las mutaciones encontradas es para enfermedad de Pompe, enfermedad de causa genética con tratamiento específico.

El carácter prospectivo mencionado del estudio viene dado por el hecho que aquellos pacientes en los cuales la aplicación del panel genético encontró una mutación patogénica conocida fueron citados en una única oportunidad para ser re-examinados y tipificados clínicamente en detalle.

La aplicación del panel fue entre Mayo de 2014 y Septiembre de 2021.

Los criterios para la aplicación del panel fueron pacientes de 14 hasta 64 años inclusive, habitantes de la República Oriental del Uruguay con un síndrome miopático de distribución en cinturas y etiología desconocida y/o debilidad respiratoria aislada de causa neuromuscular de etiología no aclarada.

No se aplicó el panel a pacientes con un fenotipo evocador de Distrofia Miotónica o Distrofia Fascioescapulohumeral, pacientes con CPK elevada mayor a 500 UI/ml de causa no aclarada así como aquellos con familiares de primer o segundo grado previamente incluidos en el estudio.

Se realizó difusión de la aplicación del panel mediante vía e-mail y a través de la Sociedad de Neurología del Uruguay, a todos los neurólogos del país que tuvieran pacientes con los criterios de inclusión mencionados, para que realizaran la interconsulta con la Policlínica de Enfermedades Neuromusculares del Instituto de Neurología.

A todos los pacientes con el fenotipo clínico mencionado se les realizó en primer lugar Test de la Gota Seca que consiste en la extracción de una muestra de sangre capilar o venosa de la cual se colocan 5 gotas en un papel de filtro diseñado específicamente para la determinación de la actividad de diferentes enzimas, en este caso la actividad de la alfa-glicosidasa ácida lisosomal. Posteriormente esa muestra se envió al Laboratorio Chamoles de Buenos Aires y ante un resultado compatible con la enfermedad de Pompe se confirmó con análisis genético.

En aquellos pacientes con gota seca negativa, se realizó análisis genético para LGMD mediante secuenciación dirigida a 10 genes cuyas mutaciones son responsables de las siguientes Distrofias de Cintura: LGMD 2A, 2B, 2C, 2D, 2E, 2F, 2I, 2L, 1C y 1G en la vieja clasificación y que actualmente según la nueva clasificación son; LGMD R1, R2, R3, R4, R5, R6, R9, R12, Enfermedad Muscular Ondulante y D3.

Estas mutaciones fueron elegidas en base a la frecuencia reportada en la literatura y a la epidemiología estimada regional. Dicho panel fue realizado por el laboratorio GENIA de Montevideo. Con el tiempo esta secuencia de análisis se modificó y se incluyó en el panel NGS la mutación para GAA (Enfermedad de Pompe) por lo que en primera instancia se aplicó el panel y en aquellos casos que se encontró una mutación patogénica homocigota para GAA se les solicitó el estudio de actividad enzimática con el Test de la gota seca.

Desde el punto de vista técnico se realizó la extracción de ADN a partir de la sangre del paciente, se cuantificó por PCR en tiempo real y se amplificó mediante el pool de primers para distrofia, constituido por un pool de primers con tecnología AmpliSeq™, diseñado con el pipeline versión 3.0 para amplificar los exones y bordes exón-intrón de los genes seleccionados. Los amplicones se analizaron por secuenciación mediante Next Generation Sequencing (NGS) en la plataforma Personal Genome Machine® System.

La utilización de este pool de primers permite amplificar un 99.1% de la secuencia codificante de los genes del total de los genes en cuestión. Para realizar la secuenciación por NGS se realiza en un primer paso la biblioteca para cada muestra, este paso requiere ligar los adaptadores a los fragmentos amplificados. Luego se procede a la amplificación clonal por emulsión en el Ion One Touch 2. Al terminar se procede al enriquecimiento en las esferas que hayan tenido una buena amplificación, para eso se procesan las perlas en el Enrichment System. Luego se procede a cargar el chip correspondiente y secuenciar en el Ion Torrent PGM machine. El resultado de las secuencias se alinean con el genoma de referencia hg19, y se procede al llamado de variantes en el Variant Caller. Luego se suben los datos a la nube al Ion Reporter para generar un informe con la posición de la variante en el transcripto y el cambio de aminoácido, y predicciones de distintos algoritmos sobre la posible patogenicidad del cambio de aminoácido. Este resultado fue remitido a los especialistas para el informe clínico.

En la tabla 2 se muestra el panel inicialmente aplicado.

Tabla 2. Panel de NGS para LGMD (Uruguay)

Type	Name	Target (bp)	Missed (bp)	Covered (%)
Gene (CDS Only)	LGMD1C	496	21	95,77
Gene (CDS Only)	HNRNPDL	544	0	100
Gene (CDS Only)	CAPN3	3,021	0	100
Gene (CDS Only)	DYSF	7,65	5	99,93
Gene (CDS Only)	SGCG	1,016	0	100
Gene (CDS Only)	LGMD2D	1,344	0	100
Gene (CDS Only)	SGCB	1,077	11	98,98
Gene (CDS Only)	SGCD	1,249	0	100
Gene (CDS Only)	FKRP	1,508	153	89,85
Gene (CDS Only)	ANO5	3,25	0	100

LGMD 1C Caveolina

HNRNPDL LGMD 1G

CAPN3 Calpaina

DYSF Disferlina

SGCG Gamma Sarcoglicanopatía

LGMD 2D Alfa Sarcoglicanopatía

SGCB Beta Sarcoglicanopatía

SGCD Delta Sarcoglicanopatía

FKRP Fukutina

ANO5 Anoctamina

Las situaciones posibles para el resultado de la aplicación del panel genético y el test de la gota seca fueron: A) Negativo para todas las mutaciones exploradas B) Diagnóstico de Enfermedad de Pompe C) Positivo para alguna de las mutaciones patogénicas exploradas D) Mutación de significado incierto.

En el presente trabajo se muestran los resultados de la situación B (Pompe) o C (Mutación patogénica).

Las principales características de los pacientes se obtuvieron del protocolo de enfermedades neuromusculares que se aplica y como se mencionó anteriormente en aquellos pacientes en los cuales se constató la presencia de mutaciones genéticas patogénicas de las explicitadas en el panel se los citó al Hospital de Clínicas o se concurrió a domicilio para un examen clínico más exhaustivo a fin de llenar la ficha clínica elaborada para el presente estudio (ANEXO 1) y a ellos se les solicitó previamente un consentimiento informado (ANEXO 2).

Se trata por lo tanto de una investigación de diseño por un lado retrospectivo pero en el cual se agrega en un subgrupo de pacientes un examen presencial actualizado.

Este trabajo fue aprobado por el Comité de Ética del Hospital de Clínicas (ANEXO 3) y se registró en el Ministerio de Salud Pública (MSP) (ANEXO 4).

Con la información recolectada tanto clínica como genética y del test de gota seca se elaboró una base de datos anonimizada de aquellos pacientes en los cuales se obtuvo el consentimiento informado utilizando una base de datos mediante el software SPSS versión 22. Los resultados del trabajo son expresados en frecuencias de las mutaciones encontradas y en las principales características clínico evolutivos de dichos pacientes.

La financiación de la implementación del panel genético de NGS se realizó por parte del Laboratorio GENIA, el test de gota seca por Laboratorio Chamoles y la confirmación genética para enfermedad de Pompe (en dos casos) en la Universidad de Duke estuvo a cargo del Laboratorio Genzyme – Sanofi. Los integrantes del equipo de trabajo de la policlínica de Enfermedades Neuromusculares que asistieron a los pacientes no recibieron ningún tipo de remuneración por parte del laboratorio.

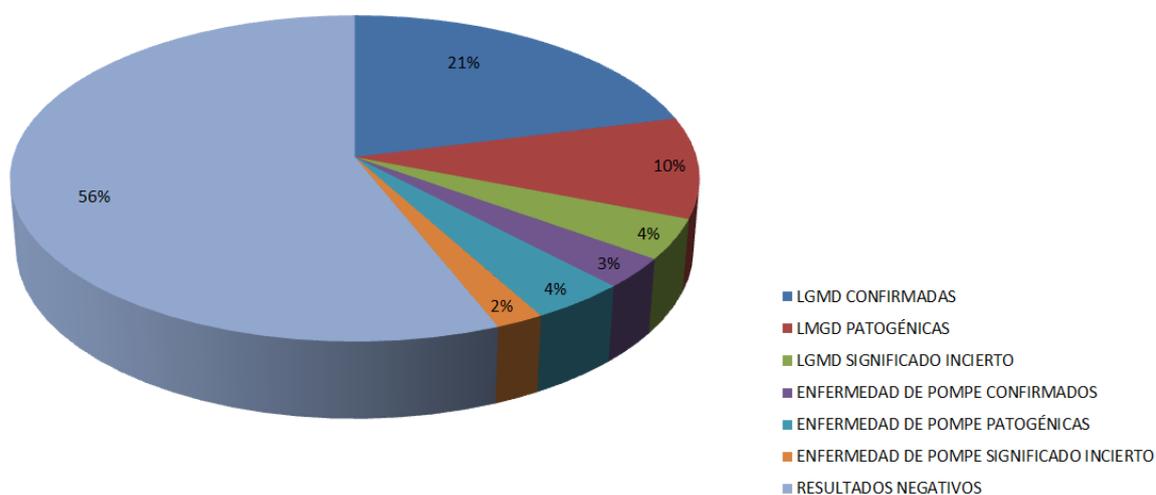
Resultados

Se aplicó a 100 pacientes con un fenotipo clínico de distrofias de cinturas de causa presumiblemente genética un panel genético de nueva generación (NGS) que incluyó 11 mutaciones.

De esos 100 pacientes se obtuvieron los siguientes resultados; 31 mutaciones genéticas patogénicas LGMD (diagnóstico confirmado en 21 pacientes y diagnóstico patogénico en 10 pacientes), 4 mutaciones de significado incierto LGMD, 3 casos confirmados EP, 4 mutaciones patogénicas EP, 2 mutaciones significado incierto EP y 56 resultados negativos (Gráfica 1).

La gráfica 1 muestra los resultados del panel genético aplicado.

Gráfica 1. Resultados de Panel Genético



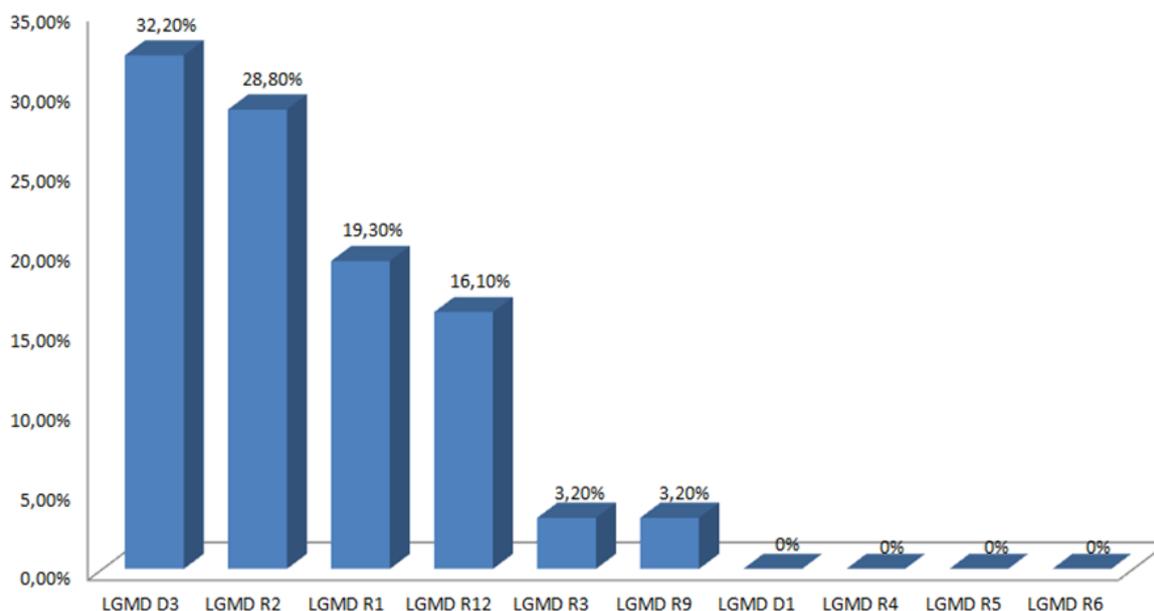
De los 31 pacientes con mutaciones genéticas patogénicas para LGMD se desprenden los siguientes datos:

❖ Frecuencia de LGMD

Del total de 31 pacientes con mutaciones genéticas patogénicas para LGMD se observó que los subtipos más frecuentes de LGMD fueron; LGMD D3 (32.2%), LGMD R2 (25.8%), LGMD R1 (19.5%) y LGMD R12 (16.1%).

La gráfica 2 muestra la frecuencia de LGMD.

Gráfica 2. Frecuencia de LGMD



Respecto a LGMD de herencia recesiva, nuestra frecuencia epidemiológica es muy similar respecto a otros países de América Latina tales como Argentina, Brasil y Chile siendo LGMD R2 la más frecuente seguida de LGMD R1 y más atrás se encuentra LGMD R11 (7, 24, 25, 26).

No se registraron casos de Enfermedad Muscular Ondulante (antes denominada LGMD 1C) así como tampoco de otras Sarcoglicanopatías como LGMD R4, LGMD R5 y LGMD R6.

❖ Sexo y Raza

En la mayoría de los subgrupos de LGMD, ambos sexos se vieron afectados por igual.

18 pacientes correspondieron al sexo masculino mientras que 13 al sexo femenino.

En el caso de LGMD D3 se observó una predominancia en el sexo masculino siendo 80% (8/10) y solo se registraron 2 casos en el sexo femenino. Algo similar ocurre en el caso de LGMD R12 donde se observó que 80% (4/5) de los casos correspondieron al sexo masculino y solo 1 caso perteneció al sexo femenino.

Respecto a la raza, 30/31 fueron de raza blanca y se registró un único caso de raza negra.

❖ Procedencia

Del total de 31 pacientes, 1 solo nació en el exterior (Argentina).

Contamos con pacientes de 13 departamentos mientras que de 6 departamentos no tenemos pacientes registrados (Flores, Maldonado, Rivera, Rocha, San José y Treinta y Tres)

En la figura 1 se muestra el mapa de Uruguay según la procedencia de LGMD.

Figura 1. Mapa de Uruguay según la procedencia de LGMD



De 31 pacientes, 8 pertenecen a Montevideo mientras que el 23 de los pacientes restantes son del interior del país.

Destacamos el caso de LMGD D3 (1G en la clasificación antigua) donde se registraron un total de 10 pacientes, siendo 7 procedentes del departamento de Colonia y 1 paciente de Paysandú pero que también nació en Colonia. Además vale señalar que de todos los pacientes nacidos en Colonia (8), 7 son oriundos de la ciudad de Nueva Palmira y el restante de la ciudad de Rosario.

❖ Historia Familiar

En el caso de LGMD D3 se registraron en todos los casos antecedentes familiares.

En el caso de LGMD recesivas se encontró consanguinidad en 5 pacientes mientras que en 7 pacientes no se encontraron antecedentes familiares ni historia de consanguinidad.

Destacar que en los casos de LGMD R1 y LGMD R2 se registraron antecedentes familiares en varias generaciones.

❖ Edad de Inicio

La edad de inicio de los síntomas fue entre 18 y 60 años, con una media de 37 años y 2 meses.

En el caso de LGMD D3 la edad media de inicio fue 45 años y 5 meses mientras que en las LGMD recesivas las edades medias de inicio de los síntomas fueron; LGMD R1 (30 años), LGMD R2 (33 años) y LGMD R12 (35 años).

Destacar que en los casos de LGMD D3 se observó que la edad de inicio de síntomas en el sexo masculino fue más temprana respecto al sexo femenino.

❖ Funcionalidad

Se observó que 13 pacientes requirieron asistencia para la marcha a través del uso de bastón canadiense. Estos pacientes correspondían a los subgrupos LGMD D3, LGMD R2, R9 y R12.

En 3 pacientes con LGMD R1 se observó pérdida de la deambulación antes de los 25 años de inicio de la enfermedad, requiriendo uso de silla de ruedas.

❖ CPK Media

Se obtuvieron valores de CPK en 24 pacientes.

Destacar la CPK media en los siguientes subgrupos de LGMD; LGMD D3 (491.3 UI/mL), LGMD R1 (903 UI/mL) LGMD R2 (4054.57 UI/mL), LGMD R9 (760 UI/mL) y LGMD R12 (3202.4 UI/mL).

❖ Caracterización Clínica

• **LGMD D3**

LGMD D3 es el subtipo más frecuente en nuestro registro (32.2%) y a su vez dentro de LGMD de herencia autosómica dominante.

En todos los casos el estudio genético mostró una mutación en heterocigosis en el gen HNRNPDL a nivel del codón 378 c.1132G>C p. (Asp378His) a nivel del cromosoma 4 de tipo missense (cambio de sentido).

Se registraron 10 pacientes en total, 8 de ellos oriundos del departamento de Colonia y de los cuales 7 procedían de la ciudad de Nueva Palmira.

Se observó una predominancia en el sexo masculino (8/10) y la edad media de inicio fue 45 años siendo más temprana para el sexo masculino respecto al sexo femenino.

Como comorbilidades, se encontró en 4 pacientes la presencia de cataratas bilaterales que requirieron intervención quirúrgica y en 3 casos la presencia de Diabetes Mellitus Tipo II, las cuales se describen para esta entidad (10, 27, 28).

En el 70% de los casos se observó debilidad en miembros superiores al inicio mientras que el 30% restante inicio con debilidad en miembros inferiores. No se observó debilidad a nivel facial.

En todos los casos se constató la presencia de escapula alada.

Se evidencio debilidad en miembros inferiores sobre todo a nivel del compartimento posterior.

En la mitad de los casos se encontró como hallazgo debilidad distal de miembros inferiores en la dorsiflexión de pie observándose como steppage.

En ninguno de los 10 casos se registró limitación en la flexión de dedos de manos y pies como se observa en otros países tales como Brasil y China (10, 27, 28).

La presencia de calambres en miembros inferiores se describió en la mayoría de los casos.

Los valores de CPK media fueron normales o ligeramente aumentados con una media de 491.3 UI/mL.

No se observó compromiso cardíaco ni respiratorio.

Destacar que ninguno de los casos cuenta con resonancia de músculo.

En todos los casos se evidencio discapacidad con una lenta progresión, en concordancia con su pronóstico el cual es relativamente benigno (10, 28).

- **LGMD R1**

LGMD R1 representa el segundo subtipo más frecuente en nuestro registro (19.5%) dentro de las LGMD de herencia autosómica recesivo, lo cual comparte con los datos epidemiológicos de otros países de América Latina (7, 24, 25, 26).

En total se registraron 6 pacientes, 2 de ellos procedentes de Montevideo y los restantes procedentes del interior del país (Colonia, Durazno y Florida); destacándose el caso de una familia procedente de Villa del Carmen (Durazno) donde se constataron dos casos con resultado patogénico para CAPN3 y donde además se identificaron numerosos casos con similar cuadro clínico y en distintas generaciones.

De los 6 pacientes, se pudo valorar a 5 ya que el paciente restante falleció previo al inicio del trabajo por motivos que desconocemos.

A nivel del sexo, se observó una ligera predominancia en el sexo femenino (4/6) lo cual se describe para esta entidad y la edad medio de inicio fue de 25 años. Respecto a la edad, se describe un inicio habitual entre los 5-20 años (75% de los casos) en aquellos casos de herencia autosómica recesiva, mientras que en los casos de herencia autosómica dominante suele iniciar unas décadas después (10, 29).

Dentro de las variantes descritas para mutaciones en el gen de calpaina (CAPN3) (10, 29); Distrofia Muscular de Cinturas (LGMD R1 y LGMD D4 dependiendo de si herencia es autosómica recesiva y/o dominante), Fenotipo Distrofia Muscular de Miyoshi, Pseudometabólica, HiperCKemia Asintomática,

encontramos en los casos observados la presencia de la variante Distrofia Muscular de Cinturas y en uno de esos casos además se constató también el Fenotipo Distrofia Muscular de Miyoshi. No se registraron la presencia de otras variantes.

Clínicamente se observó que el inicio fue en miembros inferiores en todos los casos, excepto en uno donde comenzó en miembros superiores y además el grado de afectación fue predominantemente superior en miembros inferiores respecto a miembros superiores. Este hallazgo se describe clásicamente en esta entidad, donde se menciona que el fenotipo pelvi-trocantérea "Leyden Mobius" es más frecuente que el fenotipo escapulo-peroneal "Erb" (10, 29).

En todos los casos se evidenció un inicio de forma simétrica.

No se evidencio compromiso facial en ninguno de ellos, lo cual se describe para esta entidad (10).

En miembros superiores, se encontró escapula alada en todos los casos observados, siendo esta de grado moderado a severo, lo cual se observa en estos pacientes. Respecto al compromiso de la debilidad muscular esta predomino en músculos abductores, aductores y flexores como bíceps braquial. El compromiso distal únicamente se observó en dos pacientes cuya evolución de la enfermedad es de aproximadamente 20 años y la misma se ha comportado de forma muy severa.

Y en miembros inferiores, se observó mayor afectación de logias aductoras sobre abductoras y también de logias posteriores sobre anteriores, predominando el compromiso de ciertos músculos tales como; isquiotibiales, aductores, recto interno y glúteo mayor. Este patrón de afectación muscular es el que se describe clásicamente en estos pacientes.

Un hallazgo muy característico descrito y que se pudo observar en todos los pacientes es la preservación del músculo cuádriceps (10, 29).

El compromiso distal se evidenció en tres pacientes, dos de ellos cuya evolución de la enfermedad es de aproximadamente 20 años y ha sido severa y en una paciente en la cual se observó el fenotipo Distrofia Muscular de Miyoshi donde el compromiso muscular predomino en músculos de la logia posterior de pierna con imposibilidad de pararse sobre los talones.

Otros hallazgos descriptos para esta enfermedad como son la presencia de contracturas, retracciones tendinosas, pseudohipertrofia de pantorrillas e hiperlordosis lumbar; solo se observaron en pocos pacientes en los cuales se constató historia de contracturas.

Los valores de CPK presentaron una media de 903 UI/mL, destacando que en esta entidad es habitual valores que van desde lo normal hasta cercanos a 10.000 UI/mL (10).

En ninguno de todos los pacientes se evidenció compromiso cardíaco ni respiratorio lo cual es típico de observar en esta enfermedad (10, 29).

En 3 pacientes se realizó resonancia de músculo, sin embargo contamos con el informe de uno solo de los casos donde se evidencia compromiso bilateral dado por disminución del volumen muscular e infiltración grasa a nivel de ambos glúteos mayores.

Se obtuvo el resultado de biopsia de músculo en uno de los pacientes. En la misma se destaca la presencia de fibrosis endomisial, fibras hipertróficas y presencia de fibras lobuladas (hallazgo muy característico pero no patognomónico de CAPN3). Debemos remarcar que no se aplicó técnica de Western Blot la cual suele ser la técnica de referencia respecto a la Inmunohistoquímica, a la hora de detectar la disminución de CAPN3.

Finalmente, señalar que la evolución de los pacientes ha sido lenta. Destacamos el caso de 3 pacientes donde se ha llevado a la pérdida de la deambulación con asistencia para la marcha (silla de ruedas) antes de los 25 años de iniciada la enfermedad; lo cual clásicamente se describe para esta entidad (10, 29).

- **LGMD R2**

LGMD R2 representa el subtipo más frecuente en nuestro registro (25.8%) dentro de las LGMD de herencia autosómica recesiva, y es un aspecto epidemiológico que comparte con otros países de Latinoamérica tales como Argentina, Brasil y Chile (7, 24, 25, 26).

Se registraron un total de 8 pacientes, 3 de ellos procedentes de Montevideo y los restantes procedentes del interior del país (Artigas, Canelones, Cerro Largo y Tacuarembó); destacándose el caso de una familia procedente de Cerro Largo donde se observó la mutación para disferlina en más de una generación.

De los 8 pacientes, únicamente se pudo valorar a 6 dado que los 2 restantes fallecieron previamente al inicio del trabajo; en un caso por patología cardiovascular y en el otro se desconoce.

Respecto al sexo, se observó una predominancia en el sexo femenino (6/8) y la edad medio de inicio fue 33 años, la cual es ligeramente tardía para lo que se registra internacionalmente siendo la edad promedio de presentación los 19 años (10, 30, 31, 32).

Dentro de las 3 variantes clásicas descriptas para mutaciones en el gen de disferlina (DYSF) (10, 30, 32); Distrofia Muscular de Cinturas (LGMD R2), Miopatía Distal de Miyoshi y Miopatía Distal Tibial Anterior y de las variantes menos frecuentes como Miopatía Axial (Síndrome Espina Rígida), Pseudometabólica e HiperCKemia Aislada encontramos en nuestro registro una franca predominancia del fenotipo LGMD R2 seguido de Miopatía Distal de Miyoshi y Miopatía Distal Tibial Anterior, no encontrando en nuestro registro la presencia de fenotipos atípicos. Un aspecto a destacar es que en muchos pacientes se observó combinación de fenotipos, hecho muy descrito en la literatura para esta entidad (1, 33).

Un hallazgo a destacar y que se logró determinar fue que en 3 pacientes con antecedentes de destreza atlética en su adolescencia se correlacionó con un inicio sintomático más temprano para la enfermedad y género como consecuencia además una pérdida más precoz en la marcha. Este aspecto ha sido recientemente descrito en la literatura (34, 35, 36, 37). Se postula también que la resonancia muscular también tendría un papel importante en la progresión de la enfermedad (38, 39).

Clínicamente se observó en todos los casos excepto uno, que el inicio fue en miembros inferiores con una ligera asimetría lo cual se describe para esta entidad y que comparte también con LGMD R12 (10, 30, 32).

No se evidencio en ningún caso compromiso a nivel craneal.

En miembros superiores, se observó escapula alada en 4 pacientes siendo esta de grado leve y de aparición en la evolución lo cual se describe clásicamente para esta entidad y también se observó atrofia distal del bíceps braquial (bola de bíceps) (10, 30, 32).

Respecto a la debilidad muscular a nivel proximal afectó predominantemente a los músculos; bíceps braquial (siendo el más frecuentemente comprometido), supraespinoso y pectorales. Un hecho a destacar y que se describe en esta entidad es la preservación del músculo deltoides, lo cual se observó en la mayoría de los pacientes (10, 30). No se observó debilidad muscular distal en miembros superiores.

Se evidencio paresia de tronco en casi todos los casos debido al compromiso del músculo erector spinae, lo cual se observa de forma habitual en esta entidad (10).

Y a nivel de miembros inferiores, la debilidad muscular fue de mayor severidad en comparación a miembros superiores.

Como hallazgos característicos en esta entidad, se identificó la presencia del Signo del Diamante en todos los pacientes debido a la atrofia del músculo cuádriceps (10, 30). También se observó la presencia de atrofia a nivel de logia posterior (predominantemente) y anterior de piernas.

La debilidad muscular se observó tanto a nivel proximal siendo los músculos más comprometidos; glúteo mayor, psoas ilíaco, cuádriceps, isquiotibiales y aductores como a nivel distal siendo los músculos más comprometidos; tríceps sural y tibial anterior.

Los valores de CPK fueron muy elevados con una media de 4054.57 UI/mL, lo cual es habitual en esta entidad siendo una de las distrofias musculares de cinturas con valores más altos (1, 40).

La presencia de compromiso cardíaco se observó en solo 2 pacientes y vino dado por historia de infarto agudo de miocardio que requirió revascularización. Este hecho es inusual en esta entidad (10,

30). Y por otro lado no se evidencio compromiso respiratorio en ninguno de los pacientes registrados lo cual también es característico en esta entidad (10, 30).

Remarcar que en ninguno de los pacientes se obtuvo resonancia de músculo así como tampoco biopsia muscular.

Se evidenció una lenta progresión, requiriendo en casos de mayor evolución el uso de bastón para asistencia en la marcha.

Finalmente, resaltar que en ninguno de todos los casos se realizó tratamiento farmacológico específico dado que hasta en un 16% de los casos se interpreta como Polimiositis, siendo uno de sus principales diagnósticos diferenciales y en donde sí se realizan medidas terapéuticas específicas de tipo farmacológicas (10, 31).

- **LGMD R3**

Se registró un único caso de LGMD R3 (alfa-sarcoglicanopatía) donde el estudio genético mostró una única mutación en heterocigosis en c.850C>T p. (Arg284Cys) a nivel del cromosoma 17 de tipo missense (cambio de sentido).

Esta mutación se clasifica como patogénica.

Se trata de un paciente de sexo masculino de 34 años que comenzó con los síntomas a los 25 años.

No cuenta con historia familiar así como tampoco hay antecedentes de consanguinidad.

Inicialmente fue valorado por Traumatología dado que notaba curvatura de la columna que lo obligaba a estar encorvado y lumbalgia permanente; sin embargo en la evolución comenzó a agregar debilidad en ambos miembros superiores a predominio proximal siendo los músculos periescapulares, pectorales y tríceps braquial los más afectados. Además se constata pseudohipertrofia de trapecios y escapula alada grado 1 bilateral (mayor a derecha).

En miembros inferiores refiere mialgias y calambres pero niega debilidad muscular. Al examen se constata pseudohipertrofia de pantorrillas y paresia para isquiotibiales.

Hay ausencia de debilidad muscular axial, distal, contracturas, disfagia, macroglosia, intolerancia al ejercicio, mioglobinuria así como compromiso cognitivo.

Ha presentado una evolución lenta preservando a la fecha la deambulacion y no requiriendo asistencia para la marcha. Este hallazgo se ha descrito para alfa-sarcoglicanopatía y es inverso a lo que ocurre con otras sarcoglicanopatías (beta y gamma) donde la progresión es muy rápida llevando a una pérdida de la deambulacion de forma precoz (10, 41, 42, 43, 44).

A nivel cardíaco refiere haber presentado episodios de bradicardia y sincope que en estudios de valoración no arrojaron alteraciones. La presencia de estos habla de compromiso cardiaco, el cual es

excepcional para alfa-sarcoglicanopatía en antítosis a lo que ocurre con beta-sarcoglicanopatía que es la que mayor asocia compromiso cardiovascular (10, 41, 42, 43, 44).

Tampoco se evidencio compromiso respiratorio con necesidad de asistencia ventilatoria mecánica, algo que si ocurre en otras sarcoglicanopatías como el caso de las de tipo beta (10, 41, 42, 43, 44).

A nivel de los estudios complementarios presenta; CPK 229 UI/mL, estudios cardíacos (Ecocardiograma Transtorácico y Electrocardiograma) normales así como Estudio Funcional Respiratorio normal.

Finalmente resaltar que no cuenta con resonancia de músculo así como tampoco con biopsia muscular.

- **LGMD R9**

Se registró un único caso de LGMD R9 donde el estudio genético mostró una única mutación en heterocigosis en c.427C>A p. (Arg143Ser) a nivel del cromosoma 19 de tipo missense (cambio de sentido) y en el cual se comparten hallazgos clínicos con pacientes reportados para esta misma mutación (44, 45).

Se trata de un paciente de sexo masculino de 61 años que comenzó con los síntomas a los 45 años, lo cual es una edad tardía para este subtipo de LGMD (10, 45, 46, 47, 48).

No cuenta con historia familiar así como tampoco hay antecedentes de consanguinidad.

Como morbilidad presenta un neoplasma testicular que requirió como tratamiento radioterapia.

Clínicamente ha presentado compromiso únicamente de miembros inferiores a predominio proximal y distal; siendo los músculos de la región glútea e isquiotibiales los más afectados a nivel proximal mientras que a nivel distal los músculos más comprometidos son los de la logia anterior y posterior. Además presenta marcada atrofia a nivel de ambos glúteos y gemelos.

Hay ausencia de compromiso cognitivo, compromiso facial y miembros superiores así como mioglobinuria e hipertrofia muscular, el cual es un hallazgo que se observa en la mayoría de los pacientes con LGMD R9 (10, 45, 46, 47, 48).

Ha presentado una evolución lenta requiriendo recientemente el uso de bastón para deambular, lo cual se ha visto para esta edad de presentación de inicio tardío (10, 45, 46, 47, 48).

Se destaca en este paciente la ausencia de compromiso cardiovascular y respiratorio; lo cual se encuentra en la mayoría de los pacientes con LGMD R9 y que no se correlaciona con la duración ni severidad de la enfermedad (10, 45, 46, 47, 48).

Presentó una CPK 761 UI/mL a los 8 años de inicio de la enfermedad, sabiendo que los valores característicamente elevados al inicio del cuadro, luego disminuyen con el tiempo.

A nivel imagenológico (RM Músculo) se evidenció atrofia de masa muscular con infiltración grasa en compartimiento posterior de ambos muslos en forma bilateral y simétrica así como en región glútea bilateral (10).

- **LGMD R12**

LGMD R12 es el tercer subtipo más frecuente en nuestro registro (16.10%) dentro de las LGMD de herencia autosómica recesivas.

Se registraron un total de 5 pacientes, 3 de ellos procedentes del interior del país (Artigas, Paysandú y Salto) y 2 de ellos procedentes de Montevideo, todos ellos con mutaciones para ANO5 de herencia autosómica recesiva.

Destacamos que no se detectó ningún paciente con mutaciones para ANO5 de herencia autosómica dominante.

Se identificó la presencia de consanguinidad en 3 de los casos y en los 2 restantes no se identificó consanguinidad así como tampoco historia familiar.

Se observó una predominancia en el sexo masculino (4/5) lo cual es concordante con los registros a nivel internacional y la edad media de inicio fue de 35 años lo cual también se describe para este tipo de distrofia muscular, siendo uno de los subgrupos dentro de LGMD con edad de presentación más tardía (10, 40, 49, 50).

Dentro de las 3 variantes descritas para mutaciones de herencia autosómica recesiva en el gen de ANO5 (10, 51); Distrofia Muscular de Cinturas (LGMD R12), Intolerancia al Ejercicio – Fuerzas normales – CK elevada y Miopatía Distal Tipo-Miyoshi (MMD3) identificamos 4 pacientes con la primera variante, siendo la variante más frecuente y 1 caso con la segunda variante.

Dentro de los pacientes con Distrofia Muscular de Cinturas (LGMD R12) las mutaciones encontradas en el estudio genético fueron; c.1359C>G p. (Tyr453Ter) que se registró en 2 pacientes, en uno de ellos la mutación es en homocigosis mientras que en el otro es en heterocigosis, c.1356C>G p. (Y452) y c.172C>T p. (Arg58Trp).

En 75% de los casos el inicio fue en miembros superiores y en el 25% restante fue en miembros inferiores, destacando que en todos los casos se observó asimetría respecto a la afectación muscular; aspecto descrito de forma característica para este tipo de distrofia muscular de cinturas (10, 49, 50).

En miembros superiores se constató en todos los casos escápula alada y atrofia focal a nivel del bíceps braquial lo cual es típico en esta entidad (10, 49, 50). Además se evidenció paresia a nivel de los músculos de la cintura escapular y en mayor medida del bíceps braquial, lo cual también se describe de forma habitual en estos pacientes (10, 49, 50).

En miembros inferiores se constató en 3 de los pacientes atrofia a nivel de cuádriceps y glúteos, lo cual es un aspecto típico en estos pacientes y en 2 pacientes se observó pseudohipertrofia de pantorrillas, lo cual es poco común en esta entidad (10, 49, 50). Respecto a la debilidad muscular se constató mayor afectación en los siguientes músculos; cuádriceps, glúteos e isquiotibiales; lo cual es acorde a lo que se describe en la literatura (10, 49, 50).

Se observó también en la mayoría de los pacientes la presencia de hiperlordosis lumbar asociado a paresia de la musculatura abdominal.

Destacar que uno de los 4 pacientes, se observó historia de mialgias intensas en miembros inferiores e intolerancia al ejercicio lo cual llevo a dejar las actividades deportivas.

En solo 1 de los pacientes se evidencio compromiso cardíaco, el cual vino dado por la presencia de un Infarto Agudo de Miocardio (IAM) de cara inferior que no requirió tratamiento de reperfusión y en el cual el Ecocardiograma evidenció FEVI (fracción de eyección del ventrículo izquierdo) disminuida, dilatación leve de la aorta torácica y ventrículo izquierdo levemente dilatado. Sin embargo, el IAM no es una entidad descrita en este tipo de patología por lo cual creemos no esté relacionado con la enfermedad muscular subyacente, dado que el compromiso cardíaco en estos pacientes viene dado por arritmias cardíacas, bradicardia y miocardiopatías sea hipertróficas y/o dilatadas (10, 49, 50). En el resto de los pacientes no se registró historia de patología cardíaca tanto a nivel clínico como a nivel de estudios complementarios (Ecocardiograma Transtorácico y Electrocardiograma).

En ninguno de los 4 casos se evidencio compromiso respiratorio; lo cual es muy atípico para esta entidad (10).

Por último destacar que el compromiso en la funcionalidad dado por la necesidad de asistencia para la marcha con uso de bastón se observó en aquellos pacientes con larga evolución del cuadro clínico siendo en los 2 casos que se registró, un tiempo de evolución de la enfermedad mayor a 20 años (45, 46, 47, 48).

La variante Intolerancia al Ejercicio – Fuerzas normales – CK elevada se observó en 1 solo paciente y a nivel mundial resaltar que se han reportado pocos casos de la misma (10, 51).

En este caso la mutación encontrada en homocigosis en el panel genético fue c.899T>A p. (I300N)

Se trata de un paciente de sexo masculino de 50 años que comenzó hace 7 años con historia de mialgias intensas post ejercicio y mioglobinuria que desapareció a los pocos meses y que en la evolución agrega intolerancia al ejercicio.

Al examen se constata pseudohipertrofia de pantorrillas con fuerzas conservadas.

Se destaca como antecedente la presencia de destreza atlética desde la infancia con realización de triatlones de forma periódica. Remarcar que este antecedente de destreza atlética se comparte con las Disferlinopatías (LGMD R2) (10, 40).

Cuenta con valores promedios de CK de 7000 UI/mL.

Además cuenta con resonancia de músculo que evidencia atrofia músculos gemelos internos especialmente en pierna derecha con infiltración grasa y edema intrasustancia de músculos soleos también a predominio derecho. Estos hallazgos son los descritos a nivel imagenológico en este tipo de variante (10).

De la valoración cardíaca cuenta con Electrocardiograma normal y Ecocardiograma Transtorácico que evidencia miocardiopatía dilatada leve.

No presenta compromiso respiratorio así como tampoco afectación en su funcionalidad diaria.

Por último señalar que no contamos en este paciente con biopsia muscular; donde se describe en la literatura la presencia de depósitos de amiloide a nivel del músculo, aspecto que se comparte con las Disferlinopatías y también la presencia de cambios mitocondriales como son la presencia de fibras rojas rasgadas, necrosis e inflamación endomisial (51, 52).

❖ Caracterización Genética

De los 31 pacientes con mutaciones genéticas patogénicas para LGMD; 21 presentaron mutaciones confirmatorias mientras que 10 presentaron mutaciones patogénicas.

De las 21 mutaciones con diagnóstico confirmatorio LGMD; 11 fueron LGMD recesivas (LGMD R) y 10 LGMD dominantes (LGMD D).

• **LGMD D3**

En todos los casos el estudio genético mostró una mutación en heterocigosis en el gen HNRNPDL a nivel del codón 378 c.1132G>C p. (Asp378His) a nivel del cromosoma 4 de tipo missense (cambio de sentido).

Destacar que a nivel mundial, LGMD dominantes son raras y representan aproximadamente menos del 10% de los casos totales (6, 7).

En el caso de LGMD D3 es muy infrecuente y únicamente se han registrado casos en Argentina, Brasil, China, España, Italia y Uruguay y además resaltar que el fenotipo clínico es muy variable según la distribución geográfica (10, 27, 28).

En nuestro país, representa una de las LGMD más frecuentes y que se restringe en la mayoría de los casos a la ciudad de Nueva Palmira (Colonia). Y destacar que en el caso de España y Uruguay donde

comparten la misma mutación, se ha planteado un posible efecto fundador con un origen ancestral en común (27, 53).

- **LGMD R1**

El gen de la Calpain-3 (CAPN3) se ubica a nivel del cromosoma 15 y en la actualidad hay más de 500 mutaciones descritas (10).

En nuestro registro, se identificaron 7 mutaciones diferentes (Tabla 3).

Tabla 3. Frecuencia de mutaciones LGMD R1

N° Paciente	Gen	Cromosoma	Mutación	Efecto
1	CAPN3	15	Heterocigosis variante c.223 dup p. (Tyr75Leufs*5)	Corrimiento marco de lectura
			Heterocigosis variante c.1432 C>T p. (Arg448Cys)	Cambio de sentido (missense)
2	CAPN3	15	Heterocigosis variante c.1466 G>A p. (Arg489Gln)	Cambio de sentido (missense)
3	CAPN3	15	Heterocigosis variante c.1466 G>A p. (R489Q)	Cambio de sentido (missense)
4	CAPN3	15	Heterocigosis variante c.146 G>A p. (R49H)	Cambio G>A
5	CAPN3	15	Heterocigosis variante c.398 C>T p. (Ala133Val)	Cambio de sentido (missense)
6	CAPN3	15	Heterocigosis variante c.328 C>T p. (R110*)	Codón STOP a nivel transcripto

Un aspecto a destacar es que en nuestro registro se encontró en su gran mayoría mutaciones sin sentido (missense) lo cual está descrito clásicamente para mutaciones en CAPN3 (10, 54, 55).

No se identificaron mutaciones de carácter novel.

Las mutaciones para CAPN3 se heredan en la mayoría de los casos de forma autosómica recesiva (10). Sin embargo, en el año 2016 el equipo del Dr. Vissing y colaboradores publican en la revista Brain la primera mutación relacionada a herencia autosómica dominante (c.643_663del21) (56).

Posteriormente comenzaron a surgir otras mutaciones asociadas a esta forma de herencia tales como c.598_621del15, c.700G>A p. (Gly234Arg), c.1327T>C p. (Ser443Pro), c.1333G>A p. (Gly445Arg), c.1435A>G p. (Ser479Gly), c.1661A>C p. (Tyr554Ser), c.1706T>C p. (Phe569Ser) y c.348C>A p. (Ala166Asp) que fue reportada en México (57, 57).

En estas publicaciones se ha observado que aquellos pacientes con mutaciones en el gen CAPN3 presentan fenotipos moderados en comparación a los que se heredan de forma autosómica recesiva.

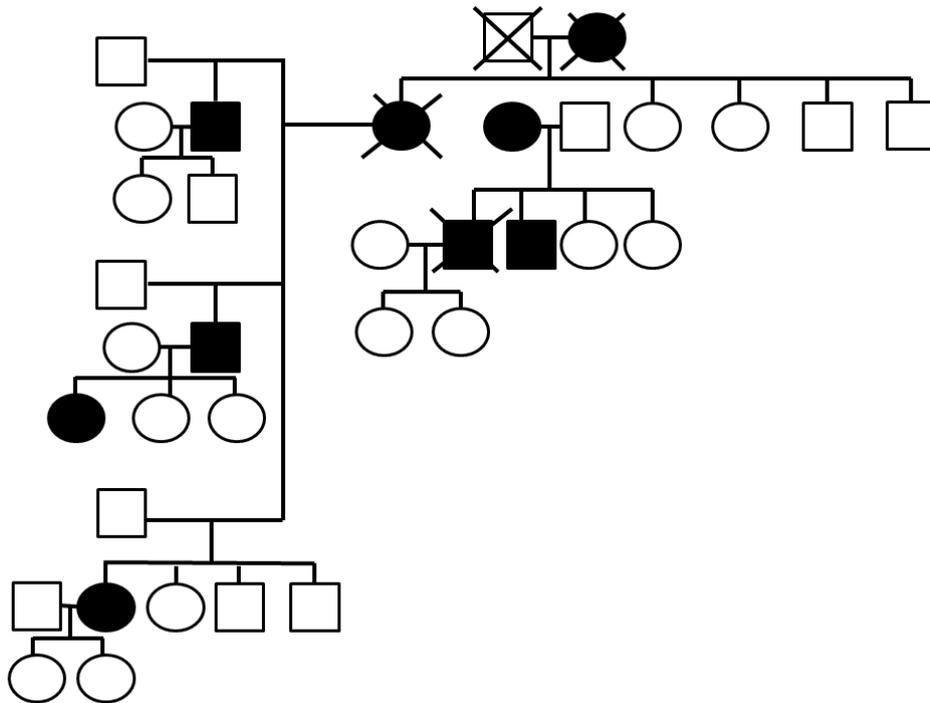
Resaltar que a partir de la nueva clasificación de LGMD en el año 2017, las mutaciones en el gen de CAPN3 con herencia autosómica dominante pasan a denominarse LGMD D4 (previamente LGMD 1I) (6).

En nuestro registro reportamos una familia procedente de Villa del Carmen (Durazno) donde constatamos 2 casos con resultado patogénico para LGMD y además se identifican numerosos casos con similar cuadro clínico y en distintas generaciones (Figura 2). Resaltar que en dicha familia no se constató historia de consanguinidad y a su vez existe el antecedente de procedencia africana y española (vasco).

En el caso de la mutación encontrada y compartida por ambos (Heterocigosis variante c.1466 G>A p.) de efecto missense (cambio de sentido) se ha descrito para herencia autosómica recesiva y no para herencia autosómica dominante como sucede aquí. Otro hecho llamativo es que a diferencia de lo descrito en la literatura donde aquellos pacientes con herencia autosómica dominante presentan fenotipos menos severos que los de herencia autosómica recesiva; aquí vemos lo contrario, ya que en ambos pacientes se observó una afectación severa.

En virtud de lo descrito, creemos que se debería profundizar mediante el uso de resonancia de músculo en aquellos pacientes más jóvenes y en quienes no haya estudio genético aún para determinar si existe una afectación selectiva de ciertos músculos como se observa en CAPN3. Además, la realización de biopsia muscular (mediante la técnica de referencia Western Blot) sería de gran utilidad también para determinar hallazgos que pudiesen ser orientadores y no patognomónicos de CAPN3. Si se pudiese demostrar la presencia de esta mutación en otros individuos de la familia, estaríamos ante la presencia de un "scoop" (primicia).

Figura 2. Árbol Genealógico Familia LGMD R1



Finalmente, señalar que no se ha establecido una correlación entre el genotipo y la severidad del fenotipo clínico en pacientes con LGMD R1; sin embargo, se ha observado que en aquellos pacientes con dos mutaciones nulas (null mutations) tienen un fenotipo más grave en comparación a aquellos pacientes con dos mutaciones sin sentido (missense) (10, 54, 58).

- **LGMD R2**

El gen de la disferlina (DYSF) se ubica a nivel del cromosoma 2 y en la actualidad se han descrito más de 450 mutaciones diferentes (10).

En nuestro registro, se identificaron 11 mutaciones diferentes (Tabla 4).

Tabla 4. Frecuencia de mutaciones LGMD R2

N° Paciente	Gen	Cromosoma	Mutación	Efecto
1	DYSF	2	Heterocigosis variante c.797G>A p. (Gly266Glu)	Missense (cambio de sentido)
			Heterocigosis variante c.3201_3202 p. (Leu1068fs)	Corrimiento marco de lectura
2	DYSF	2	Homocigosis variante c.2810+1G>A	Pérdida sitio de splicing
3	DYSF	2	Heterocigosis variante c.895G>A p. (G299R)	Missense (cambio de sentido)
			Heterocigosis variante c.1852G>A p. (G618R)	Missense (cambio de sentido)
4	DYSF	2	Heterocigosis variante c.2971C>T p. (R959W)	Missense (cambio de sentido)
			Heterocigosis variante c.3203_3204 p. (L.1050fs*63)	Corrimiento marco de lectura
5	DYSF	2	Heterocigosis variante c.5668-7G>A	Pérdida sitio de splicing
6	DYSF	2	Heterocigosis variante c.5694_5695 p. (S1900fs*14)	Corrimiento marco de lectura
7	DYSF	2	Heterocigosis variante c.4052A>G p. (N1351S)	Missense (cambio de sentido)
			Heterocigosis variante c.3702+9G>T	Mutación intrónica
8	DYSF	2	Heterocigosis variante c.4052A>G p. (N1351S)	Missense (cambio de sentido)
			Heterocigosis variante c.3702+9G>T	Mutación intrónica

La mutación c.5694_5695 p. (S1900fs*14) no ha sido reportada hasta la fecha de hoy tanto en las diferentes bases de datos como en la bibliografía, por lo cual se considera de carácter novel.

Las mutaciones para Disferlina (DYSF) se heredan de forma autosómica recesiva. Sin embargo, se ha observado en casos muy excepcionales una transmisión de tipo pseudodominante (31, 59).

En nuestro registro identificamos una familia donde ocurre este fenómeno y que se detalla en el siguiente árbol genealógico (Figura 3).

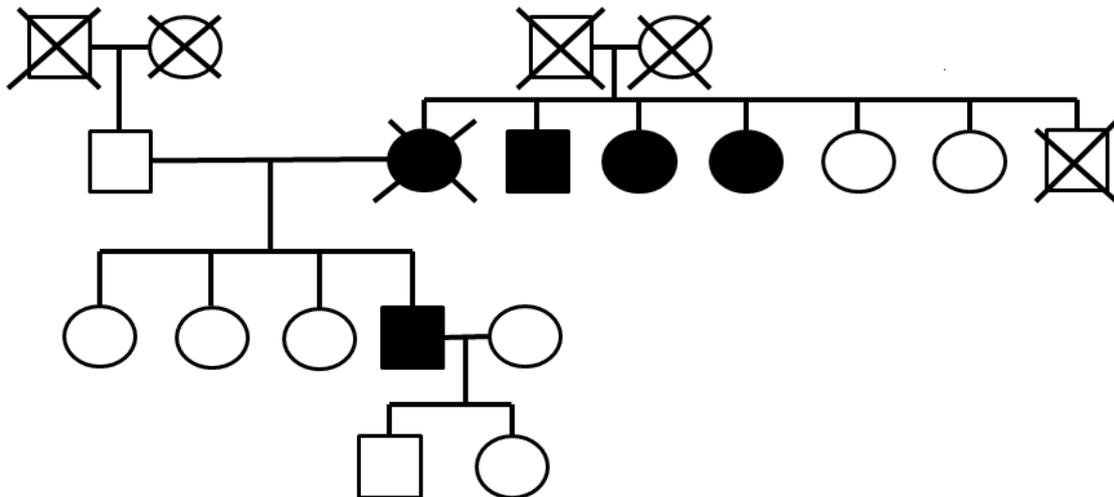
La transmisión de tipo pseudodominante se define cuando la herencia de tipo recesivo imita un patrón dominante, es decir aquella situación donde solo se hereda un alelo recesivo y sin embargo este se expresa (31, 59).

Este fenómeno se ha descrito tanto para herencia ligada a cromosomas sexuales y en menor medida para herencia autosómica recesiva. Y dentro de las posibles explicaciones para ello se

encuentran; alta frecuencia de portadores en la familia así como la consanguinidad en la familia (31, 59).

En el caso de esta familia no se identificó la presencia de consanguinidad.

Figura 3. Árbol Genealógico Familia LGMD R2



Finalmente, un aspecto distintivo de esta entidad es que existe heterogeneidad fenotípica significativa entre estos pacientes a pesar de que compartan la misma mutación en el gen DYSF; es decir que se puede observar LGMD R2, Miopatía de Miyoshi y/o Miopatía Distal Tibial Anterior en miembros de una misma familia. Es por ello se establece que existe variabilidad inter e intrafamiliar (10, 34). Este fenómeno como ya vimos previamente también ocurre en mutaciones de CAPN3.

- **LGMD R3**

Se registró un único caso de LGMD R3 (alfa-sarcoglicanopatía) donde el estudio genético mostró una única mutación en heterocigosis en c.850C>T p. (Arg284Cys) a nivel del exón 7 del cromosoma 17 de tipo missense (cambio de sentido).

Esta mutación se clasifica como patogénica.

LGMD R3 (alfa-sarcoglicanopatía) se expresa en el músculo esquelético así como en el músculo cardíaco (10).

Dentro de las mutaciones de LGMD R3, la más frecuente reportada es c.229C>T p. (Arg77Cys) ubicada en el exón 3 del cromosoma 17 y es también de tipo missense. Este exón se cataloga como un hot spot región en la literatura para mutaciones (10, 60, 61, 62).

La prevalencia de las sarcoglicanopatías varía a lo largo del mundo, correspondiendo globalmente a una 10-20% de las LGMD, siendo LGMD R3 la más frecuente (10, 41, 42, 43).

LGMD R3 es más frecuente en Europa y América, mientras que LGMD R4 se haya sobre todo en EEUU y LGMD R5 en África del Norte y Brasil (10, 41, 42, 43).

En el caso de LGMD R3 se destacan ciertos aspectos; mayor expresión proteica, mayor heterogeneidad genética a diferencia de LGMD R4, menor tasa de consanguinidad, edad de presentación más tardía respecto a lo habitual (5-15 años), fenotipo clínico moderado, preservación de la deambulación y compromiso cardíaco y respiratorio de forma excepcional (10, 41, 42, 43, 61, 62).

Finalmente resaltar que en el caso de LGMD R3 tanto el estudio genético como la biopsia muscular juegan un rol fundamental. Esto se debe a que la mutación c.229C>T p. (Arg77Cys) se asocia una reducción de la expresión proteica menor a 30% (punto de corte que se utiliza en diferentes estudios para determinar porcentaje de reducción proteica) lo cual conlleva a un peor pronóstico dado por inicio precoz de síntomas, progresión rápida y pérdida más temprana de la deambulación. En cambio, en aquellos casos donde la expresión proteica sea mayor lo cual se asocia a la mutación c.850C>T p. (Arg284Cys) se ha observado un mejor pronóstico dado por inicio tardío de síntomas, progresión lenta y preservación de la deambulación.

Es debido a este que se ha demostrado que la cantidad de expresión de la proteína alfa-sarcoglicano está inversamente relacionada con la severidad de la enfermedad (42, 60, 61, 62).

- **LMGD R9**

El estudio genético mostró una única mutación en heterocigosis en c.427C>A p. (Arg143Ser) a nivel del cromosoma 19 de tipo missense (cambio de sentido).

Esta mutación ha sido descrita con una frecuencia de presentación muy baja y se clasifica como benigna y/o probablemente benigna en las diferentes bases de datos (44, 45); siendo la mutación c.826C>A p. (Leu276Ile) la más frecuente en toda la literatura respecto a LGMD R9 (10).

Recordar que LGMD R9 se engloba dentro del grupo de las alfa-distroglicanopatías.

Los pacientes descritos con la mutación c.427C>A p. (Arg143Ser) como el caso de nuestro paciente se caracterizan por; presentar un único alelo mutado en heterocigosis, edad de presentación variable (3 a 37 años), ausencia de historia familiar, no presentar hipertrofia muscular, debilidad muscular en miembros inferiores mayor que en miembros superiores y a su vez asociar debilidad distal en algunos pacientes y en la mayoría de los casos no presentar compromiso cardíaco (45, 46).

- **LGMD R12**

Las mutaciones para Anoctamina 5 (ANO5) pueden ser heredadas de forma autosómica recesiva (en la mayoría de los casos) y de forma autosómica dominante la cual fue descrita en Japón en el año 1969 y que se expresa clínicamente como Displasia Gnatodiafisaria, enfermedad caracterizada por fragilidad ósea, esclerosis de huesos tubulares y lesiones de tipo cemento-óseas a nivel maxilar (49, 63).

Las mutaciones para ANO5 de herencia autosómica recesiva más frecuentes son c.191dupA p. (Asn64fs) y c.2272C > T p. (Arg758Ter), las cuales fueron reportadas en el norte de Europa planteándose un posible efecto fundador en dicha zona (10, 49, 64, 65).

Es interesante remarcar que la incidencia de ANO5 es muy baja en aquellas poblaciones de origen no europeo encontrándose pocos casos reportados (64, 65).

Dentro de las mutaciones para ANO5 de herencia autosómica recesivas encontramos; c.1359C>G p. (Tyr453Ter) que se registró en 2 pacientes, en uno de ellos la mutación es en homocigosis mientras que en el otro es en heterocigosis, c.1356C>G p. (Y452), c.172C>T p. (Arg58Trp) y c.899T>A p. (I300N). Todas ellas se asociaron a la variante Distrofia Muscular de Cinturas (LGMD R12).

En el caso de c.1359C>G p. (Tyr453Ter), la mutación produce stop y truncamiento de la proteína generando una variante proteica la cual se clasifica como patogénica. Se encuentra a nivel del cromosoma 11.

En el caso de c.172C>T p. (Arg58Trp), la mutación en homocigosis produce un cambio de sentido generando una variante proteica la cual se clasifica como patogénica. Similar a la anterior, se encuentra a nivel del cromosoma 11.

Destacar que ambas mutaciones ya se encuentran reportadas en bases de datos, siendo c.172C>T p. (Arg58Trp) quien presente una mayor frecuencia de presentación (10, 7, 49).

En el caso de c.1356C>G p. (Y452), la mutación en homocigosis produce stop y truncamiento de la proteína generando una variante proteica la cual se clasifica como probablemente patogénica.

Resaltar que hasta la fecha de hoy y en las diferentes bases de datos y en la bibliografía, no ha sido reportada; por lo cual se considera de carácter novel.

Por último en el caso de c.899T>A p. (I300N), la mutación en homocigosis produce un cambio C por A en la posición 22271803 a nivel del cromosoma 11 generando una variante probablemente patogénica.

Esta mutación se asoció al fenotipo Intolerancia al Ejercicio – Fuerzas normales – CK elevada y al igual que sucede con c.1356C>G p. (Y452), a la fecha de hoy y en las diferentes bases de datos y en la bibliografía, no ha sido reportada; por lo cual se considera de carácter novel.

Enfermedad de Pompe (EP)

La aplicación de test de gota seca y su posterior confirmación genética permitió el diagnóstico de los primeros 5 casos de Pompe del adulto en el Uruguay. En los dos primeros casos la confirmación genética fue estudio realizado en la Universidad de Duke y los restantes fue mediante el panel de NGS que como se mencionó en metodología la mutación para Pompe no estaba incorporada al inicio. Destacamos que en los dos primeros casos el tratamiento de sustitución enzimática (Myozyme) se obtuvo por un régimen de donación que tiene el laboratorio Sanofi y que se mantiene hasta día de hoy. El primer caso (diagnosticado en abril de 2014) cumplió 8 años de tratamiento. En los restantes 3 casos el tratamiento se obtuvo por recurso de amparo. En todos los casos la implementación del tratamiento de sustitución enzimática logro la estabilización del cuadro clínico de los pacientes.

A continuación se describen los 5 casos:

- Caso 1

Paciente de sexo femenino de 58 años, sin antecedentes personales a destacar y que cuenta con antecedentes familiares de un hermano fallecido a los 63 años con diagnóstico de Distrofia de Cinturas sin realización de estudio genético. No refiere historia de consanguinidad ni parentesco.

Cuadro clínico comienza hace aproximadamente 30 años dado por paresia de ambos miembros inferiores de forma simétrica que determino inestabilidad de la cintura pélvica y alteración de la marcha.

En el último tiempo ha presentado elementos de compromiso respiratorio

Niega compromiso en miembros superiores y a nivel craneal, bajo peso así como tampoco elementos de compromiso cognitivo, cardíaco ni sistémico.

De los hallazgos a nivel del examen físico se destaca: función cognitiva preservada y a nivel de pares craneanos se evidencia hipoacusia neurosensorial bilateral y macroglosia. Cefaloparesia leve. A nivel espinal en miembros superiores no se observa paresia pero se obtiene hiporreflexia simétrica y bilateral; mientras que en miembros inferiores se evidencia hipotonía, paresia a predominio proximal de forma simétrica y bilateral con afectación de músculos como psoas íliaco, glúteos medio y mayor, aductores e isquiotibiales y además hay ausencia de respuesta idiomuscular con arreflexia

simétrica y bilateral. A nivel de tronco se evidencia paresia de músculos abdominales pero sin Signo de Beevor. Esfuerzo de tos y conteo inspiratorio fueron normales. Por último señalar que a nivel de la estática y marcha se observa ligera escoliosis, Signo de Gowers, hiperlordosis lumbar con protrusión abdominal (Postura de Tenor) y marcha de Trendelemburg.

A nivel de estudios complementarios cuenta con CPK 528 UI/mL, estudio eléctrico que evidencia actividad espontánea a forma de fibrilaciones, valoración cardíaca (Ecocardiograma Transtorácico y Electrocardiograma) normal y estudio funcional respiratorio que evidencia insuficiencia ventilatorio-respiratorio.

Dado compromiso miopático en cintura pélvica con hipoacusia neurosensorial y arreflexia se sospechó Enfermedad de Pompe de Inicio del Adulto por cual se le solicitó Test de Gota Seca para EP, que evidenció resultado compatible con enfermedad y se confirmó diagnóstico mediante análisis mutacional del gen de la GAA que mostró dos mutaciones en heterocigosis.

Finalmente confirmado el diagnóstico se inició terapia de remplazo enzimático (Myozyme) gracias a un régimen de donación del Laboratorio Sanofi y el cual se mantiene vigente a la fecha de hoy. Desde el año 2014 que se comenzó el tratamiento a la fecha, la enfermedad se ha mantenido estable. No requiere asistencia para la marcha. Y actualmente se encuentra en trámites administrativos para inicio de BiPAP.

- Caso 2

Paciente de sexo masculino de 56 años, sin antecedentes personales a destacar. Hay ausencia de historia familiar así como tampoco historia de consanguinidad ni parentesco.

Cuadro clínico comienza hace 6 años con caídas dada debilidad muscular en miembros inferiores a nivel proximal y de forma simétrica y alteración en la marcha.

A los 2 años de inicio de cuadro clínico ingresa a Unidad de Cuidados Intensivos (CTI) en contexto de intoxicación por pintura de vehículos que determina infección respiratoria grave y desde ese entonces requiere uso de BiPAP tras realización de estudios respiratorios.

En los últimos años refiere compromiso de ambos miembros superiores a predominio proximal pero de menor entidad en comparación a miembros inferiores.

Niega escoliosis, espina rígida, bajo peso así como tampoco compromiso a nivel craneal, cognitivo, cardíaco ni sistémico.

De los hallazgos a nivel del examen físico se destaca: función cognitiva preservada y a nivel de pares craneanos se evidencia macroglosia y paresia lingual. No se observa alteraciones auditivas. No se observa cefaloparesia. A nivel espinal en miembros superiores se evidencia hipotonía, paresia a predominio proximal de forma simétrica y bilateral con afectación de músculos como serrato mayor

(donde se destaca la presencia de escapula alada), deltoides, supraespinoso y tríceps braquial y arreflexia simétrica y bilateral; mientras que en miembros inferiores se evidencia hipotonía, paresia a predominio proximal de forma simétrica y bilateral con afectación de todos los grupos musculares destacando una ligera preservación por el cuádriceps y abductores y además hay ausencia de respuesta idiomuscular con arreflexia simétrica y bilateral.

A nivel de tronco se evidencia paresia de músculos abdominales con Signo de Beevor. Esfuerzo de tos y conteo inspiratorio disminuidos.

Y a nivel de la estática y marcha se observa Signo de Gowers, hiperlordosis lumbar con protrusión abdominal (Postura de Tenor) y marcha de Trendelemburg.

A nivel de estudios complementarios cuenta con CPK 157 UI/mL, estudio eléctrico que evidencia patrón miopático y valoración cardíaca (Ecocardiograma Transtorácico y Electrocardiograma) normal Dado compromiso miopático con afectación de cinturas escapulo-humeral y pelvi-troncanterea y compromiso respiratorio con necesidad de uso de BiPAP se solicitó Test de Gota Seca para EP, que evidencio resultado compatible con la enfermedad.

Confirmado el diagnóstico se inició terapia de remplazo enzimático (Myozyme) gracias a un régimen de donación del Laboratorio Sanofi y el cual se mantiene vigente a la fecha de hoy.

Desde hace 3 años que se comenzó el tratamiento, la enfermedad se ha mantenido estable. Si requiere asistencia para la marcha mediante uso de bastón.

- Caso 3

Paciente de sexo masculino de 44 años, sin antecedentes personales a destacar. Hay ausencia de historia familiar así como tampoco historia de consanguinidad ni parentesco.

Cuadro clínico comienza hace 5 años con debilidad muscular a nivel proximal de ambos miembros inferiores, que generó caídas y alteración en la marcha.

En la evolución agrega elementos de compromiso respiratorio tales como cefalea matinal, hipersomnolencia diurna y despertares nocturnos.

Niega escoliosis, espina rígida, bajo peso así como tampoco compromiso en miembros superiores, a nivel craneal, cognitivo, cardíaco ni sistémico.

De los hallazgos a nivel del examen físico se destaca: función cognitiva preservada, no se evidencia a nivel de pares craneanos hipoacusia neurosensorial. No cefaloparesia. A nivel espinal en miembros superiores no se observa paresia pero se obtiene hiporreflexia simétrica y bilateral; mientras que en miembros inferiores se evidencia hipotonía, paresia a predominio proximal de forma simétrica y bilateral, ausencia de respuesta idiomuscular y arreflexia simétrica y bilateral.

A nivel de tronco se evidencia paresia de músculos abdominales. Esfuerzo de tos y conteo inspiratorio disminuidos. Por último señalar que a nivel de la estática y marcha se observa Signo de Gowers y marcha de Trendelemburg.

A nivel de estudios complementarios cuenta con CPK 1330 UI/mL, estudio eléctrico que evidencia patrón miopático, biopsia muscular que evidencia endomio fibroso y necrosis muscular en actividad, estudio funcional respiratorio con evidencia de afectación respiratoria de grado moderado-severo y valoración cardíaca (Ecocardiograma Transtorácico y Electrocardiograma) normal.

Con planteo de probable Enfermedad de Pompe de Inicio del Adulto se solicitó inicialmente Test de Gota Seca que evidencio resultado compatible con enfermedad y se confirmó diagnóstico mediante análisis mutacional del gen de la GAA que mostró dos mutaciones en heterocigosis.

Confirmado el diagnóstico se inició terapia de remplazo enzimático (Myozyme) a través de recurso de amparo y el cual se mantiene vigente a la fecha de hoy.

Desde hace 3 años que se inició el tratamiento hasta la actualidad, la enfermedad se ha mantenido estable. Utiliza BiPAP y en la asistencia para la marcha requiere en ocasiones de uso de bastón.

- Caso 4

Paciente de sexo femenino de 56 años, con antecedente personal de osteoporosis en tratamiento médico. Existe historia familiar de dos hermanos afectados (hombre de 44 años fallecido por insuficiencia respiratoria y mujer de 44 años), una de ellas con diagnóstico confirmatorio de Enfermedad de Pompe y que recibe tratamiento actualmente. No hay historia de consanguinidad ni parentesco.

Cuadro clínico comienza hace 3 años aproximadamente con elementos de compromiso respiratorio tales como cefalea matinal, despertares nocturnos e hipersomnolencia diurna excesiva.

En la evolución refiere ligera debilidad en miembros inferiores a predominio proximal y de forma simétrica y bilateral que no determina repercusiones en su funcionalidad.

Niega escoliosis, espina rígida, bajo peso así como tampoco compromiso en miembros superiores, a nivel craneal, cognitivo, cardíaco ni sistémico.

De los hallazgos a nivel del examen físico se destaca: función cognitiva preservada, no se evidencian alteraciones a nivel de pares craneanos. No cefaloparesia. A nivel espinal en miembros superiores se evidencia hipotonía, fuerzas normales y arreflexia; mientras que en miembros inferiores se evidencia hipotonía, paresia leve a predominio proximal de forma simétrica y bilateral para músculos como psoas iliaco y glúteos, ausencia de respuesta idiomuscular y arreflexia simétrica y bilateral.

A nivel de tronco se evidencia paresia severa de músculos abdominales con Signo de Beevor. Esfuerzo de tos pobre y conteo inspiratorio muy disminuido. Y a nivel de la estática y marcha se observa hiperlordosis lumbar con protrusión abdominal (Postura de Tenor).

A nivel de estudios complementarios cuenta con CPK 152 UI/mL, estudio funcional respiratorio con evidencia de afectación respiratoria de grado severo y valoración cardíaca (Ecocardiograma Transtorácico y Electrocardiograma) normal

Dado sospecha de Enfermedad de Pompe de Inicio del Adulto por compromiso respiratorio y en menor grado miopático se solicitó inicialmente Test de Gota Seca que evidencio resultado compatible con enfermedad y se confirmó diagnóstico mediante análisis mutacional del gen de la GAA que mostró dos mutaciones en heterocigosis.

Con planteo de probable Enfermedad de Pompe de Inicio del Adulto se solicitó Confirmado el diagnóstico se inició terapia de remplazo enzimático (Myozyme) a través de recurso de amparo y el cual se mantiene vigente a la fecha de hoy.

Desde hace 3 años que se inició el tratamiento hasta la actualidad, la enfermedad se ha mantenido estable. Utiliza BiPAP y no requiere de asistencia para la marcha.

- Caso 5

Paciente de sexo femenino de 44 años, con antecedente personal de hipertiroidismo sin tratamiento actualmente. Antecedente de historia familiar con dos hermanos afectados (hombre de 44 años fallecido por insuficiencia respiratoria y mujer de 56 años), una de ellas con diagnóstico confirmatorio de Enfermedad de Pompe y que recibe tratamiento actualmente. No hay historia de consanguinidad ni parentesco.

Comienza a notar síntomas a los 25-30 años aproximadamente tales como disnea de decúbito, antepnea, hipersomnolencia diurna, despertares nocturnos y cefalea matinal. Sin otra signo-sintomatología acompañante.

A partir de los 40 años comienza a notar debilidad de tronco (imposibilidad de realizar pruebas físicas tales como hacer abdominales) debilidad muscular en ambos miembros inferiores en forma simétrica y bilateral a predominio proximal. En la evolución comenzó a notar también debilidad muscular en ambos miembros superiores de forma simétrica pero de menor entidad que en miembros inferiores y disfagia paradójica que no determinó en ningún momento complicaciones nutricionales ni respiratorias.

No refiere compromiso cognitivo, cardíaco ni sistémico.

De los hallazgos a nivel del examen físico se destaca: función cognitiva preservada, a nivel de pares craneanos se evidencia fascies miopática, hipoacusia neurosensorial de grado leve, disartria parética

y paresia lingual. Cefaloparesia grado leve. A nivel espinal en miembros superiores se evidencia hipotonía, paresia proximal grado leve simétrica y bilateral con hiporreflexia simétrica y bilateral; mientras que en miembros inferiores se evidencia hipotonía, paresia a predominio proximal simétrica y bilateral con ausencia de respuesta idiomuscular y arreflexia simétrica y bilateral.

A nivel de tronco se evidencia paresia severa de músculos abdominales con Signo de Beevor. Esfuerzo de tos pobre y conteo inspiratorio muy disminuido. Y por último a nivel de la estática y marcha se observa escoliosis, espina rígida, Signo de Gowers e hiperlordosis lumbar con protrusión abdominal (Postura de Tenor).

A nivel de estudios complementarios cuenta con CPK 437 UI/mL, estudio funcional respiratorio con evidencia de afectación respiratoria de grado severo y valoración cardíaca (Ecocardiograma Transtorácico y Electrocardiograma) normal.

Dado antecedente familiar de Enfermedad de Pompe de Inicio del Adulto se solicitó inicialmente Test de Gota Seca que evidencio resultado compatible con enfermedad y se confirmó diagnóstico mediante análisis mutacional del gen de la GAA que mostró dos mutaciones en heterocigosis.

Confirmado el diagnóstico se inició terapia de remplazo enzimático (Myozyme) a través de recurso de amparo y el cual se mantiene vigente a la fecha de hoy.

Desde hace 3 años que se inició el tratamiento hasta la actualidad, la enfermedad se ha mantenido estable. Utiliza BiPAP y no requiere de asistencia para la marcha.

Discusión

La sección de Enfermedades Neuromusculares del Instituto de Neurología del Hospital de Clínicas tiene una larga y rica historia, teniendo como referentes históricos a los Profesores Héctor Defféminis y Mario Medici siendo referencia nacional de la patología neuromuscular desde hace muchos años. En dicha policlínica asistimos a un volumen importante de pacientes portadores de síndrome miopático que nos envían colegas tanto del medio público como privado de todo el territorio nacional.

Un porcentaje no despreciable de estos cumplen con la definición fenotípica de Distrofia de Cinturas, no obstante hace unos años era muy difícil avanzar en la definición etiológica ya que no contábamos con auxiliares diagnósticos fundamentales como es el análisis genético.

Sin embargo, este último obstáculo ha podido por lo menos en parte ser superado y contamos actualmente con la posibilidad de aplicar técnicas de secuenciación genética dirigida y análisis genéticos específicos a nuestros pacientes.

Cuando se ideó el panel uruguayo en ese momento en el mundo los paneles de secuenciación de NGS que se aplicaban habitualmente (eso todavía sigue pasando aunque en menor medida) se dividían según el patrón de herencia de la enfermedad planteada por el clínico: por un lado paneles para LGMD dominantes y otro para enfermedades recesivas, el panel uruguayo tuvo la peculiaridad (y fue el único en América Latina con estas características) de incluir en un mismo panel enfermedad de herencia dominante y recesiva. Los argumentos para hacer esto fueron que ya era conocido que la mutación HNRNDPL (dominante) era muy frecuente en nuestro país y por la mutación de caveolina es muy frecuente como forma dominante de LGMD. Como se menciona en el marco teórico esta forma es considerada actualmente de forma independiente del resto de las LGMD.

Por otro lado la aplicación del panel de secuenciación NGS es muy útil ya que permite avanzar en el diagnóstico etiológico, en primer lugar para descartar Enfermedad de Pompe, la cual es la única miopatía genéticamente determinada con un tratamiento específico en base a terapia de reemplazo enzimático, lo cual mejora el pronóstico funcional y vital de los mismos. En la Enfermedad de Pompe de inicio tardío, la forma de presentación más frecuente es la afectación de cinturas.

En segundo lugar poder avanzar en el diagnóstico genético del tipo de LGMD, lo cual se traduce en la posibilidad de poder plantear un pronóstico funcional y vital más adecuado al paciente, realizar un seguimiento individualizado según el patrón de afectación muscular, el compromiso cardiovascular y respiratorio asociado a la LGMD diagnosticada y poder orientarlo desde el punto de vista del consejo genético.

Como valor agregado es la primera vez que se realiza un estudio sobre la etiología de las LGMD en nuestro país, lo cual permite aproximarnos a la incidencia regional de los distintos subtipos de estas,

surgiendo como resultado muy trascendente que la Distrofia de Cinturas más frecuente en nuestro país es la LGMD D3 (1G) lo cual le da un carácter particular a la epidemiología de este tipo de enfermedades en el Uruguay.

Este panel genético se diseñó en base a la frecuencia global y regional de las distintas LGMD y se pudo determinar 31 mutaciones genéticas patogénicas correspondientes a LGMD D3, R1, R2, R3, R9 y R12. Además mediante el protocolo diagnóstico aplicado (gota seca + confirmación genética) se pudo identificar los primeros 5 casos de Enfermedad de Pompe en el Uruguay y cuya totalidad de pacientes pudieron acceder por diferentes vías al tratamiento recomendado en la actualidad.

De los hallazgos encontrados en nuestro estudio hemos podido demostrar que la frecuencia epidemiológica de las distintas LGMD es muy similar a otros países de Latinoamérica como Argentina, Brasil y Chile.

La caracterización clínica de estos pacientes ha podido demostrar datos muy sugestivos de ciertas LGMD como por ejemplo; debilidad distal de miembros inferiores en la dorsiflexión del pie asociado al patrón de debilidad muscular en cinturas en LGMD D3, pérdida de la deambulacion antes de los 35 años o antes de los 25 años de evolución de la enfermedad en LGMD R1, antecedente de destreza atlética, asimetría clínica, preservación del músculo deltoides y presencia de signo del Diamante en LGMD R2, presencia de pseudohipertrofia en LGMD R3, compromiso imagenológico del compartimiento posterior de muslos así como región glútea con conservación de músculos anteriores del muslo en LGMD R9 y presencia de la variante Intolerancia al Ejercicio – Fuerzas normales – CK elevada y predilección de la debilidad muscular en bíceps braquial y cuádriceps en LGMD R12.

De la caracterización genética destacamos en nuestro estudio la mutación c.1132G>C p. (Asp378His) la cual es compartida en España y Uruguay lo cual sugiere un efecto fundador con un origen ancestral en común. También se logró la identificación de mutaciones de carácter novel como c.5694_5695 p. (S1900fs*14) en LGMD R2 y c.1356C>G p. (Y452) y c.899T>A p. (I300N) en el caso de LGMD R12. Finalmente se identificó dos familias, una de ellas pertenecientes a LGMD R1 y la otra a LGMD R2 donde se observó el fenómeno de herencia autosómica dominante y pseudodominancia.

La caracterización clínica de pacientes con Enfermedad de Pompe de Inicio Adulto permitió identificar que el patrón miopático con compromiso axial dado por paresia de musculatura abdominal y Signo de Beevor y Postura de Tenor es el más frecuente de todos seguido del patrón con escoliosis y espina rígida, el compromiso respiratorio se observó en todos los pacientes requiriendo como tratamiento el uso de BiPAP y que el tratamiento específico mediante la terapia de remplazo enzimático logro una estabilidad clinica en todos los casos.

A nivel de los estudios complementarios utilizados en el abordaje de estos pacientes destacamos que se pudo conocer el valor promedio de CK en los diferentes subtipos identificados.

Una mención especial merece la resonancia de músculo así como la biopsia de músculo dado su enorme aporte tanto para la aproximación como para el diagnóstico de esta patología y que en el caso de nuestro registro en aquellos casos donde pudimos contar con su uso nos permitió aproximarnos al diagnóstico; empero creemos que estas herramientas deben comenzar a implementarse de mayor medida tanto para LGMD así como para el resto de las patologías de la esfera neuromuscular, en este sentido deben ser prioridad en un futuro la formación y capacitación de especialistas en estas áreas para mejorar aún más las herramientas diagnósticas en la patología neuromuscular.

Respecto al tratamiento de estos pacientes, creemos es fundamental mantener un continuo seguimiento con los equipos tratantes de cada pacientes a fin de mejorar la calidad de vida y fomentar además la neurorehabilitación, la cual juega un rol importante en esta patología así como en la mayoría de las patologías de la esfera neuromuscular.

Un resultado a considerar es aquellos pacientes con mutaciones de significado incierto, los cuales pueden ser en un futuro patogénicos y asociarse a una LGMD específica, por lo cual es clave el seguimiento de estos pacientes.

Señalar también que en nuestro estudio registramos resultados negativos en 56 pacientes, sin embargo el panel genético aplicado se limitó a 10 LGMD (2 dominantes y 8 recesivas), sabiendo que existen más de 20 LGMD y que muchas miopatías genéticas se presentan bajo la forma de LGMD pero no lo son, lo cual da un gran valor para futuras investigaciones.

Finalmente, creemos que es fundamental continuar aplicando y mejorar este tipo de panel genético e incluyendo en el mismo a la Enfermedad de Pompe dada las implicaciones terapéuticas que conlleva.

Conclusiones

- Los resultados de este trabajo son el producto de una adecuada interacción entre la academia (en este caso la Sección de Enfermedades Neuromusculares del Instituto de Neurología), la industria farmacéutica (Genzyme – Sanofi) y un laboratorio de diagnóstico del medio privado (GENIA) y cuyo resultado tuvo un beneficio concreto para los pacientes uruguayos.
- Se diseñó un panel con características únicas para ese momento incorporando en un mismo panel enfermedades de transmisión dominante y recesiva según nuestra hipótesis de prevalencia regional.
- Se avanzó en el conocimiento epidemiológico de este tipo de enfermedades, estudiando un número importante de pacientes (n=100, sin parentesco entre sí) teniendo en cuenta la población de nuestro país y que se trata de enfermedades poco frecuentes, y confirmando una peculiaridad epidemiológica del Uruguay con un predominio de una forma de transmisión dominante como es la LGMD D3 (1G).
- Se identificaron los primeros 5 casos de enfermedad de Pompe del adulto en Uruguay, entidad desconocida hasta el momento en el Uruguay y con el beneficio adicional de estar recibiendo tratamiento específico.
- Asimismo, se describieron por primera vez subtipos como LGMD R12 (2L) y se conocieron diferentes variantes fenotípicas y de formas de herencia de otros subtipos LGMD R2 (2B) y LGMD R1 (2A).
- Deja abierta varias líneas de investigación para el futuro, algunas ejecutándose actualmente como es la aplicación de nuevos paneles en aquellos pacientes con resultado negativo en el panel, la aplicación de la técnica de MLPA en aquellas mutaciones patogénicas en heterocigosis para enfermedades recesivas y la profundización en el conocimiento de la verdadera significación de las mutaciones denominadas de “significado incierto”.

Agradecimiento: Leticia Repetto, Lucía Guggeri, Juan Martín Marqués, Antonella Carozzi, Alejandra Torres, Andrés Pereira y Carlos Azambuja, del laboratorio GENIA, y a todos los colegas neurólogos que aportaron pacientes y cuya colaboración fue fundamental para el reclutamiento de pacientes a nivel nacional.

Bibliografía

1. A clinical Approach to the patient with myopathy. Richard J. Barohn. University of Kansas Medical Center, Kansas City, KS
2. WALTON, J. N. (1954). On the classification and natural history of the myopathies. *Transactions of the American Neurological Association*, 13(79 Meeting), 19–21.
3. Murphy, A. P., & Straub, V. (2015). The Classification, Natural History and Treatment of the Limb Girdle Muscular Dystrophies. *Journal of Neuromuscular Diseases*, 2, S7–S19. <https://doi.org/10.3233/JND-150105>
4. Bushby, K. M. D., & Beckmann, J. S. (1995). 30th and 31st ENMC international workshops, Naarden, The Netherlands, Held 6-8 January 1995. *Neuromuscular Disorders*, 5(4), 337–343. [https://doi.org/10.1016/0960-8966\(95\)00005-8](https://doi.org/10.1016/0960-8966(95)00005-8)
5. Benarroch, L., Bonne, G., Rivier, F., & Hamroun, D. (2019). The 2020 version of the gene table of neuromuscular disorders (nuclear genome). *Neuromuscular Disorders*, 29(12), 980–1018. <https://doi.org/10.1016/j.nmd.2019.10.010>
6. Straub, V., Murphy, A., & Udd, B. (2018). 229th ENMC international workshop: Limb girdle muscular dystrophies – Nomenclature and reformed classification Naarden, the Netherlands, 17–19 March 2017. *Neuromuscular Disorders*, 28(8), 702–710. <https://doi.org/10.1016/j.nmd.2018.05.007>
7. Bevilacqua, J. A., Guecaimburu, R., Perna, A., Dubrovsky, A., Jr, M. C. F., Vargas, S.,... Daba, N. (2020). The Latin American experience with a next generation sequencing genetic panel for recessive limb-girdle muscular weakness and Pompe disease, 2, 1–11
8. KALKHORAN, Sara; BENOWITZ, Neal L.; RIGOTTI, N. A. (2018). 乳鼠心肌提取 HHS Public Access. *Revista Del Colegio Americano de Cardiología*, 72(23), 2964–2979. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(19\)30033-X.Clinical](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(19)30033-X.Clinical)
9. Nigro, V., & Savarese, M. (2016). Next-generation sequencing approaches for the diagnosis of skeletal muscle disorders. *Current Opinion in Neurology*, 29(5), 621–627. <https://doi.org/10.1097/WCO.0000000000000371>
10. Neuromuscular Disease Center, Washington University, St. Louis, MO, USA. En <http://neuromuscular.wustl.edu/>
11. Clinically normal subjects with chronic hyperCKemia. (2006), 1585–1587.
12. The Limb-Girdle Muscular Dystrophies. Matthew P. Wicklund, MD, John T. Kissel, MD. *Neurologic Clinics* 2014; 32:729-749.
13. Limb-girdle muscular dystrophies - international collaborations for translational research. Thompson R, Straub V. *Nature Reviews. Neurology* 2016 May;12(5):294-309.
14. Evidence-based guideline summary: Diagnosis and treatment of limb-girdle and distal dystrophies. Pushpa Narayan swami, Michael Weiss, Duygu Selcen, et al.. *Neurology*. 2015 Apr 21; 84(16): 1720-1.
15. Limb girdle muscular dystrophies: update on genetic diagnosis and therapeutic approaches. Vincenzo Nigro, Stefania Aurino, b and Giulio Piluso. *Current Opinion in Neurology* 2011; 24:429-436.
16. Diagnosis of limb-girdle muscular dystrophies in the molecular biology era: do clinical findings still matter? Lineu Cesar Werneck. *Arquivos de Neuropsiquiatria* 2015; 73(12):983-984.
17. Limb girdle muscular dystrophies: update on genetic diagnosis and therapeutic approaches. Vincenzo Nigro, Stefania Aurino, b and Giulio Piluso. *Current Opinion in Neurology* 2011; 24:429-436

18. Common recessive limb girdle muscular dystrophies differential diagnosis: why and how? Ana Cotta, et al.. *Arquivos Neuropsiquiatria* 2014;72(9):721-734.
19. Zanoteli, E. (2013). Limb-girdle muscular dystrophies
20. Enfermedad de Pompe: primer caso de inicio en el adulto descrito en Uruguay confirmado genéticamente. Rozada R, Perna A, Hackembruch J, et al.. *Archivos de Medicina Interna (Archivos del Instituto de Neurología)* 2015; 37(2):102-105
21. Soho, H. V. (2011). I Simposio internacional sobre la enfermedad de Pompe.
22. Kishnani, P. S., Beckemeyer, A. A., & Mendelsohn, N. J. (2012). The New Era of Pompe Disease: Advances in the Detection, Understanding of the Phenotypic Spectrum, Pathophysiology, and Management, 7(January), 1–7. <https://doi.org/10.1002/ajmc.31324>
23. Wenninger, S., Strigl-pill, N., Schoser, B., & Schu, A. (2012). Toward Deconstructing the Phenotype of Late-Onset Pompe Disease Cohorts Found in the Literature, 88, 80–88. <https://doi.org/10.1002/ajmc.31322>
24. Winckler, P. B., da Silva, A. M. S., Coimbra-Neto, A. R., Carvalho, E., Cavalcanti, E. B. U., Sobreira, C. F. R., Marrone, C. D., Machado-Costa, M. C., Carvalho, A. A. S., Feio, R. H. F., Rodrigues, C. L., Gonçalves, M. V. M., Tenório, R. B., Mendonça, R. H., Cotta, A., Paim, J. F. O., Costa e Silva, C., de Aquino Cruz, C., Bená, M. I., ... Saute, J. A. (2019). Clinicogenetic lessons from 370 patients with autosomal recessive limb-girdle muscular dystrophy. *Clinical Genetics*, 96(4), 341–353. <https://doi.org/10.1111/cge.13597>
25. Schiava, M., Marchesoni, C., García de Rosa, M. L., Estrada, N., Cejas, L. L., Pardal, A., Pirra, L., Repetto, L., Torres, A., Dubrovsky, A., & Reisin, R. (2022). Genetic characterization of Limb Girdle Muscular Dystrophies and Pompe Disease in a large Argentine cohort. *Neurology Perspectives*. <https://doi.org/10.1016/j.neurop.2022.03.003>
26. Cerino, M., González-Hormazábal, P., Abaji, M., Courier, S., Puppo, F., Mathieu, Y., Trangulao, A., Earle, N., Castiglioni, C., Díaz, J., Campero, M., Hughes, R., Vargas, C., Cortés, R., Kleinsteuber, K., Acosta, I., Urtizberea, J. A., Lévy, N., Bartoli, M.,... 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>
27. Vicente, L. M., Martí, P., Azorín, I., Olivé, M., Muelas, N., & Vilchez, J. J. (2020). HNRNPDL-related limb girdle muscular dystrophy in a Spanish family with scapulo-peroneal phenotype, the first family in Europe. *Journal of the Neurological Sciences*, 414(March), 3–5. <https://doi.org/10.1016/j.jns.2020.116875>
28. Berardo, A., Lornage, X., Johari, M., Evangelista, T., Cejas, C., Barroso, F., Dubrovsky, A., Bui, M. T., Brochier, G., Saccoliti, M., Bohm, J., Udd, B., Laporte, J., Romero, N. B., & Taratuto, A. L. (2019). HNRNPDL-related muscular dystrophy: expanding the clinical, morphological and MRI phenotypes. *Journal of Neurology*, 266(10), 2524–2534. <https://doi.org/10.1007/s00415-019-09437-3>
29. Angelini, C., & Fanin, M. (2017). Calpainopathy Summary Genetic counseling GeneReview Scope. 1–30.
30. Díaz, J., Woudt, L., Suazo, L., Garrido, C., Caviedes, P., Cárdenas, A. M., Castiglioni, C., & Bevilacqua, J. A. (2016). Broadening the imaging phenotype of dysferlinopathy at different disease stages. *Muscle and Nerve*, 54(2), 203–210. <https://doi.org/10.1002/mus.25045>
31. Andoni, U. J., Guillaume, B., France, L., Karine, N., Martin, K., & Nicolas, L. (2008). Dysferlinopathies. 56(3), 289–297.
32. Klinge, L., Aboumoussa, A., Eagle, M., Hudson, J., Sarkozy, A., Vita, G., Charlton, R., Roberts, M., Straub, V., Barresi, R., Lochmüller, H., & Bushby, K. (2010). New aspects on patients affected by dysferlin deficient muscular dystrophy. *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry*, 81(9), 946–953. <https://doi.org/10.1136/jnnp.2009.178038>
33. Legnani, M., Higgie, J. R., Rozada, R., Hackembruch, H. J., & Perna, A. (n.d.). Dysferlinopathies in Uruguay, clinical aspects and practical diagnostic approach.

34. Moore, U., Jacobs, M., Fernandez-Torron, R., LLauger Rossello, J., Smith, F. E., James, M., Mayhew, A., Rufibach, L., Carlier, P. G., Blamire, A. M., Day, J. W., Jones, K. J., Bharucha-Goebel, D. X., Salort-Campana, E., Pestronk, A., Walter, M. C., Paradas, C., Stojkovic, T., Mori-Yoshimura, M., ... Diaz-Manera, J. (2020). Intensive Teenage Activity Is Associated With Greater Muscle Hyperintensity on T1W Magnetic Resonance Imaging in Adults With Dysferlinopathy. *Frontiers in Neurology*, 11(December). <https://doi.org/10.3389/fneur.2020.613446>
35. Moore, U. R., Jacobs, M., Fernandez-Torron, R., Jang, J., James, M. K., Mayhew, A., Rufibach, L., Mittal, P., Eagle, M., Cnaan, A., Carlier, P. G., Blamire, A., Hilsden, H., Lochmüller, H., Grieben, U., Spuler, S., Rocha, C. T., Day, J. W., Jones, K. J., ... Straub, V. (2018). Teenage exercise is associated with earlier symptom onset in dysferlinopathy: A retrospective cohort study. *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry*, 89(11), 1224–1226. <https://doi.org/10.1136/jnnp-2017-317329>
36. Moore, U., Jacobs, M., Fernandez-Torron, R., LLauger Rossello, J., Smith, F. E., James, M., Mayhew, A., Rufibach, L., Carlier, P. G., Blamire, A. M., Day, J. W., Jones, K. J., Bharucha-Goebel, D. X., Salort-Campana, E., Pestronk, A., Walter, M. C., Paradas, C., Stojkovic, T., Mori-Yoshimura, M., ... Diaz-Manera, J. (2020). Intensive Teenage Activity Is Associated With Greater Muscle Hyperintensity on T1W Magnetic Resonance Imaging in Adults With Dysferlinopathy. *Frontiers in Neurology*, 11(December). <https://doi.org/10.3389/fneur.2020.613446>
37. Moore, U. R., Jacobs, M., Fernandez-Torron, R., Jang, J., James, M. K., Mayhew, A., Rufibach, L., Mittal, P., Eagle, M., Cnaan, A., Carlier, P. G., Blamire, A., Hilsden, H., Lochmüller, H., Grieben, U., Spuler, S., Rocha, C. T., Day, J. W., Jones, K. J., ... Straub, V. (2018). Teenage exercise is associated with earlier symptom onset in dysferlinopathy: A retrospective cohort study. *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry*, 89(11), 1224–1226. <https://doi.org/10.1136/jnnp-2017-317329>
38. Gómez-Andrés, D., Díaz, J., Munell, F., Sánchez-Montáñez, Á., Pulido-Valdeolivas, I., Suazo, L., Garrido, C., Quijano-Roy, S., & Bevilacqua, J. A. (2019). Disease duration and disability in dysferlinopathy can be described by muscle imaging using heatmaps and random forests. *Muscle and Nerve*, 59(4), 436–444. <https://doi.org/10.1002/mus.26403>
39. Díaz, J., Woudt, L., Suazo, L., Garrido, C., Caviedes, P., Cárdenas, A. M., Castiglioni, C., & Bevilacqua, J. A. (2016). Broadening the imaging phenotype of dysferlinopathy at different disease stages. *Muscle and Nerve*, 54(2), 203–210. <https://doi.org/10.1002/mus.25045>
40. Wicklund, M. P. (2019). The Limb-Girdle Muscular Dystrophies. *CONTINUUM Lifelong Learning in Neurology*, 25(6), 1599–1618. <https://doi.org/10.1212/CON.0000000000000809>
41. Nalini, A., Gayathri, N., Thaha, F., Das, S., & Shylashree, S. (2010). Sarcoglycanopathy: Clinical and histochemical characteristics in 66 patients. *Neurology India*, 58(5), 691–696. <https://doi.org/10.4103/0028-3886.72164>
42. Alonso-Pérez, J., González-Quereda, L., Bello, L., Guglieri, M., Straub, V., Gallano, P., Semplicini, C., Pegoraro, E., Zangaro, V., Nascimento, A., Ortez, C., Comi, G. Pietro, Dam, L. ten, de Visser, M., van der Kooi, A. J., Garrido, C., Santos, M., Schara, U., Gangfuß, A.,... Díaz-Manera, J. (2020). New genotype-phenotype correlations in a large European cohort of patients with sarcoglycanopathy. *Brain*, 143(9), 2696–2708. <https://doi.org/10.1093/brain/awaa228>
43. Guimarães-Costa, R., Fernández-Eulate, G., Wahbi, K., Leturcq, F., Malfatti, E., Behin, A., Leonard-Louis, S., Desguerre, I., Barnerias, C., Nougues, M. C., Isapof, A., Estournet-Mathiaud, B., Quijano-Roy, S., Faysoil, A., Orlikowski, D., Fauroux, B., Richard, I., Semplicini, C., Romero, N. B., ... Stojkovic, T. (2021). Clinical correlations and long-term follow-up in 100 patients with sarcoglycanopathies. *European Journal of Neurology*, 28(2), 660–669. <https://doi.org/10.1111/ene.14592>

44. Kirschner, J., & Lochmüller, H. (2011). Sarcoglycanopathies. *Handbook of Clinical Neurology*, 101, 41–46. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-045031-5.00003-7>
45. Boito, C. A., Melacini, P., Vianello, A., Prandini, P., Gavassini, B. F., Bagattin, A., Siciliano, G., Angelini, C., & Pegoraro, E. (2005). Clinical and molecular characterization of patients with limb-girdle muscular dystrophy type 2I. *Archives of Neurology*, 62(12), 1894–1899. <https://doi.org/10.1001/archneur.62.12.1894>
46. Brockington, M., Yuva, Y., Prandini, P., Brown, S. C., Torelli, S., Benson, M. A., Herrmann, R., Anderson, L. V. B., Bashir, R., Burgunder, J. M., Fallet, S., Romero, N., Fardeau, M., Straub, V., Storey, G., Pollitt, C., Richard, I., Sewry, C. A., Bushby, K., ... Muntoni, F. (2001). Mutations in the fukutin-related protein gene (FKRP) identify limb girdle muscular dystrophy 21 as a milder allelic variant of congenital muscular dystrophy MDC1C. *Human Molecular Genetics*, 10(25), 2851–2859. <https://doi.org/10.1093/hmg/10.25.2851>
47. Miné, Manuèle; Chen, J., Desguerre, I., Marchant, D., Abitbol, M., Ricquier, D., Lonlay, P. De, Bernard, A., & Fe, C. (2006). RAPID COMMUNICATION A Large Genomic Deletion in the PDHX Gene Caused by the Retrotranspositional Insertion of a Full-Length LINE-1 Element. *Hum Mutation*, 0(2), 1–6. <https://doi.org/10.1002/humu>
48. Poppe, M., Bourke, J., Eagle, M., Frosk, P., Wrogemann, K., Greenberg, C., Muntoni, F., Voit, T., Straub, V., Hilton-Jones, D., Shirodaria, C., & Bushby, K. (2004). Cardiac and respiratory failure in limb-girdle muscular dystrophy 2I. *Annals of Neurology*, 56(5), 738–741. <https://doi.org/10.1002/ana.20283>
49. Silva, A. M. S., Coimbra-Neto, A. R., Souza, P. V. S., Winckler, P. B., Gonçalves, M. V. M., Cavalcanti, E. B. U., Carvalho, A. A. D. S., Sobreira, C. F. D. R., Camelo, C. G., Mendonça, R. D. H., Estephan, E. D. P., Reed, U. C., Machado-Costa, M. C., Dourado-Junior, M. E. T., Pereira, V. C., Cruzeiro, M. M., Helito, P. V. P., Aivazoglou, L. U., Camargo, L. V.D., ... Zanolli, E. (2019). Clinical and molecular findings in a cohort of ANO5-related myopathy. *Annals of Clinical and Translational Neurology*, 6(7), 1225–1238. <https://doi.org/10.1002/acn3.50801>
50. Bolduc, V., Marlow, G., Boycott, K. M., Saleki, K., Inoue, H., Kroon, J., Itakura, M., Robitaille, Y., Parent, L., Baas, F., Mizuta, K., Kamata, N., Richard, I., Linszen, W. H. J. P., Mahjneh, I., de Visser, M., Bashir, R., & Brais, B. (2010). Recessive Mutations in the Putative Calcium-Activated Chloride Channel Anoctamin 5 Cause Proximal LGMD2L and Distal MMD3 Muscular Dystrophies. *American Journal of Human Genetics*, 86(2), 213–221. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2009.12.013>
51. Seguí, F., Gonzalez-Quereda, L., Sanchez, A., Matas-García, A., Garrabou, G., Rodriguez, M. J., Gallano, P., Grau, J. M., & Milisenda, J. C. (2020). Anoctamin 5 (ANO5) muscular dystrophy—three different phenotypes and a new histological pattern. *Neurological Sciences*, 41(10), 2967–2971. <https://doi.org/10.1007/s10072-020-04453-y>
52. Milone, M., Liewluck, T., Winder, T. L., & Pianos, P. T. (2012). Amyloidosis and exercise intolerance in ANO5 muscular dystrophy. *Neuromuscular Disorders*, 22(1), 13–15. <https://doi.org/10.1016/j.nmd.2011.07.005>
53. Vieira, N. M., Naslavsky, M. S., Licinio, L., Kok, F., Schlesinger, D., Vainzof, M., Sanchez, N., Kitajima, J. P., Gal, L., Cavaçana, N., Serafini, P. R., Chuartzman, S., Vasquez, C., Mimbacas, A., Nigro, V., Pavanello, R. C., Schuldiner, M., Kunkel, L. M., & Zatz, M. (2014). A defect in the RNA-processing protein HNRPD causes limb-girdle muscular dystrophy 1G (LGMD1G). *Human Molecular Genetics*, 23(15), 4103–4110. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddu127>
54. Richard, I., Roudaut, C., Saenz, A., Pogue, R., Grimbergen, J. E. M. A., Anderson, L. V. B., Beley, C., Cobo, A. M., De Diego, C., Eymard, B., Gallano, P., Ginjaar, H. B., Lasa, A., Pollitt, C., Topaloglu, H., Urtizbera, J. A., De Visser, M., Van Der Kooi, A., Bushby, K., ... Beckmann, J. S. (1999). Calpainopathy - A survey of mutations and polymorphisms. *American Journal of Human Genetics*, 64(6), 1524–1540. <https://doi.org/10.1086/302426>
55. Vissing, J., Barresi, R., Witting, N., Van Ghelue, M., Gammelgaard, L., Bindoff, L. A., Straub, V., Lochmüller, H., Hudson, J., Wahl, C. M., Arnardottir, S., Dahlbom, K., Jonsrud, C., & Duno,

- M. (2016). A heterozygous 21-bp deletion in CAPN3 causes dominantly inherited limb girdle muscular dystrophy. *Brain*, 139(8), 2154–2163. <https://doi.org/10.1093/brain/aww133>
56. González-Mera, L., Ravenscroft, G., Cabrera-Serrano, M., Ermolova, N., Domínguez-González, C., Arteche-López, A., Soltanzadeh, P., Evesson, F., Navas, C., Mavillard, F., Clayton, J., Rodrigo, P., Servián-Morilla, E., Cooper, S. T., Waddell, L., Reardon, K., Corbett, A., Hernandez-Laín, A., Sanchez, A., ... Olivé, M. (2021). Heterozygous CAPN3 missense variants causing autosomal-dominant calpainopathy in seven unrelated families. *Neuropathology and Applied Neurobiology*, 47(2), 283–296. <https://doi.org/10.1111/nan.12663>
 57. Pantoja-Melendez, C. A., Miranda-Duarte, A., Roque-Ramirez, B., & Zenteno, J. C. (2017). Epidemiological and molecular characterization of a mexican population isolate with high prevalence of limb-girdle muscular dystrophy type 2A due to a novel Calpain-3 mutation. *PLoS ONE*, 12(1), 1–13. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0170280>
 58. CHEN, L., TANG, F., GAO, H., ZHANG, X., LI, X., & XIAO, D. (2021). CAPN3: A muscle-specific calpain with an important role in the pathogenesis of diseases (Review). *International Journal of Molecular Medicine*, 48(5), 1–13. <https://doi.org/10.3892/ijmm.2021.5036>
 59. Jalali-Sefid-Dashti, M., Nel, M., Heckmann, J. M., & Gamielien, J. (2018). Exome sequencing identifies novel dysferlin mutation in a family with pauci-symptomatic heterozygous carriers. *BMC Medical Genetics*, 19(1), 4–9. <https://doi.org/10.1186/s12881-018-0613-x>
 60. Vainzof, M., Passos-Bueno, M. R., Pavanello, R. C. M., Marie, S. K., Oliveira, A. S. B., & Zatz, M. (1999). Sarcoglycanopathies are responsible for 68% of severe autosomal recessive limb-girdle muscular dystrophy in the Brazilian population. *Journal of the Neurological Sciences*, 164(1), 44–49. [https://doi.org/10.1016/S0022-510X\(99\)00040-4](https://doi.org/10.1016/S0022-510X(99)00040-4)
 61. Xie, Z., Hou, Y., Yu, M., Liu, Y., Fan, Y., Zhang, W., Wang, Z., Xiong, H., & Yuan, Y. (2019). Clinical and genetic spectrum of sarcoglycanopathies in a large cohort of Chinese patients. *Orphanet Journal of Rare Diseases*, 14(1), 1–13. <https://doi.org/10.1186/s13023-019-1021-9>
 62. Moreira, E. S., Vainzof, M., Suzuki, O. T., Pavanello, R. C., Zatz, M., & Passos-Bueno, M. R. (2003). Genotype-phenotype correlations in 35 Brazilian families with sarcoglycanopathies including the description of three novel mutations. *Journal of Medical Genetics*, 40(2). <https://doi.org/10.1136/jmg.40.2.e12>
 63. Tsutsumi, S., Kamata, N., Vokes, T. J., Maruoka, Y., Nakakuki, K., Enomoto, S., Omura, K., Amagasa, T., Nagayama, M., Saito-Ohara, F., Inazawa, J., Moritani, M., Yamaoka, T., Inoue, H., & Itakura, M. (2004). The novel gene encoding a putative transmembrane protein is mutated in gnathodiaphyseal dysplasia (GDD). *American Journal of Human Genetics*, 74(6), 1255–1261. <https://doi.org/10.1086/421527>
 64. Hicks, P., Sarkozy, A., Muelas, N., Koehler, K., Huebner, A., Hudson, G., Chinnery, P. F., Barresi, R., Eagle, M., Polvikoski, T., Bailey, G., Miller, J., Radunovic, A., Hughes, P. J., Roberts, R., Krause, S., Walter, M. C., Laval, S. H., Straub, V., ... Bushby, K. (2011). P63 A founder mutation in Anoctamin 5 is a major cause of limb girdle muscular dystrophy. *Neuromuscular Disorders*, 21(0 1), S24–S25. [https://doi.org/10.1016/s0960-8966\(11\)70082-7](https://doi.org/10.1016/s0960-8966(11)70082-7)
 65. Jarry, J., Rioux, M. F., Bolduc, V., Robitaille, Y., Khoury, V., Thiffault, I., Tétreault, M., Loisel, L., Bouchard, J. P., & Brais, B. (2007). A novel autosomal recessive limb-girdle muscular dystrophy with quadriceps atrophy maps to 11p13-p12. *Brain*, 130(2), 368–380. <https://doi.org/10.1093/brain/awl270>

Anexos

ANEXO 1

FICHA CLÍNICA

Ficha Patronímica

Nombre:

Apellido (incluir 4 apellidos):

Cédula de Identidad:

Procedencia:

Departamento de nacimiento:

Sexo:

Edad:

Fecha de nacimiento:

Raza:

Ocupación:

Dexteridad:

Nivel educativo:

Institución de salud:

Número de contacto:

Escala de Ranking Modificada Actual:

Manifestaciones Clínicas Iniciales

Debilidad muscular (especificar y detallar al máximo; distribución, forma de inicio, simetrías, compromiso de logias musculares y demás):

Atrofia muscular:

Intolerancia al ejercicio:

Mialgias:

Calambres:

Contracturas:

Retracciones tendinosas:

Mioglobinuria:

Cefaloparesia:

Compromiso respiratorio:

Compromiso deglutorio:

Compromiso de pares craneanos (oftalmológico, debilidad facial, hipoacusia, disfagia, disartria, disfonía y macroglosia):

Pérdida de la deambulaci3n y qu3 utilizo (bast3n, andador, silla de ruedas y postrado en cama):

Historia de actividad f3sica (sobre todo frente a sospecha de LGMD 2B // LGMD 2L):

Compromiso card3aco:

Compromiso sist3mico:

Pseudohipertrofia:

Escapula alada:

Lumbalgia:

Deformidades ortopédicas:

Signo de Gowers:

Debilidad de tronco:

Compromiso cognitivo:

Manifestaciones Clínicas Actuales

Debilidad muscular (especificar y detallar al máximo; distribución, forma de inicio, simetrías, compromiso de logias musculares y demás):

Atrofia muscular:

Intolerancia al ejercicio:

Mialgias:

Calambres:

Contracturas:

Retracciones tendinosas:

Mioglobinuria:

Cefaloparesia:

Compromiso respiratorio:

Compromiso deglutorio:

Compromiso de pares craneanos (oftalmológico, debilidad facial, hipoacusia, disfagia, disartria, disfonía y macroglosia):

Pérdida de la deambulaci3n y qué utilizo (bast3n, andador, silla de ruedas y postrado en cama):

Historia de actividad física intensa:

Compromiso cardíaco:

Compromiso sistémico:

Pseudohipertrofia:

Escapula alada:

Lumbalgia:

Deformidades ortopédicas:

Signo de Gowers:

Debilidad de tronco:

Compromiso cognitivo:

Antecedentes Familiares

Familiograma

Modo de herencia:

Historia de consanguinidad y/o parentesco:

Examen Físico

Peso y Altura:

IMC:

Cardiovascular:

Respiratorio:
Osteoarticular:
Visceromegalias:
Función ejecutiva:
Pares craneanos:
Cuello (cefaloparesia)
Grados de escapula alada:
Sector espinal (atrofias // reflejos):

Fuerzas lado Derecho según MRC en MMSS

Trapezio:
Esternocleidomastoideo:
Supraespinoso:
Infraespinoso:
Deltoides:
Dorsal ancho:
Redondo mayor:
Redondo menor:
Pectoral mayor:
Abductores hombro:
Bíceps braquial:
Tríceps braquial:
Supinador largo:
Extensores radiales 1 y 2:
Flexor común superficial de los dedos:
Músculos intrínsecos de la mano y puño:

Fuerzas lado Izquierdo según MRC en MMSS

Trapezio:
Esternocleidomastoideo:
Supraespinoso:
Infraespinoso:
Dorsal ancho:
Redondo mayor:
Redondo menor:
Pectoral mayor:
Abductores hombro:
Bíceps braquial:
Tríceps braquial:
Supinador largo:
Extensores radiales 1 y 2:
Flexor común superficial de los dedos:
Músculos intrínsecos de la mano y puño:

Fuerzas lado Derecho según MRC en MMII

Glúteo mayor:

Glúteos medio e inferior:

Psoas iliaco:

Aductores:

Abductores:

Isquiotibiales:

Cuádriceps:

Tríceps sural:

Tibial anterior:

Tibial posterior:

Peroneo lateral largo y corto:

Músculos de pie (flexores y extensores)

Fuerzas lado Izquierdo según MRC en MMII

Glúteo mayor:

Glúteos medio e inferior:

Psoas iliaco:

Aductores:

Abductores:

Isquiotibiales:

Cuádriceps:

Tríceps sural:

Tibial anterior:

Tibial posterior:

Peroneo lateral largo y corto:

Músculos de pie (flexores y extensores)

Estática:

Marcha:

Signo de Gowers:

Signo de Beevor:

Esfuerzo de tos:

Conteo inspiratorio:

Espina rígida y escoliosis):

Estudios Complementarios

Estudio genético:

CPK:

Funcional y enzimograma hepático:

ECG:

ETT:

Funcional respiratorio (PIM, PEM y CVF):

RNM miembros:

Estudio de Gota Seca:

Tratamientos

ANEXO 2

CONSENTIMIENTO INFORMADO

Título del Protocolo: **Caracterización Clínica y Genética de pacientes uruguayos con un fenotipo de Distrofia de Cinturas**

Investigadores principales:

Profesor Agregado Dr. Abayuba Perna

Residente de Neurología Dr. Emilio Salazar

Sede donde se realizará el estudio: Sección de Enfermedades Neuromusculares. Piso 2. Ala Este. Instituto de Neurología. Hospital de Clínicas. Facultad de Medicina. UdelaR

A usted se le está invitando a participar en este estudio de investigación médica. Antes de decidir si participa o no, debe conocer y comprender cada uno de los siguientes apartados. Este proceso se conoce como consentimiento informado. Siéntase con absoluta libertad para preguntar sobre cualquier aspecto que le ayude a aclarar sus dudas al respecto.

Una vez que haya comprendido el estudio y si usted desea participar, entonces se le pedirá que firme esta forma de consentimiento, de la cual se le entregará una copia firmada y fechada.

Usted padece una enfermedad neuromuscular por lo cual se le aplicó un protocolo diagnóstico que incluyó diferentes estudios genéticos para su análisis realizados a través del apoyo de Laboratorio Genia / Genética Molecular.

Como este protocolo persiguió un fin diagnóstico y asistencial se lo está invitado a usted a participar voluntariamente de este estudio para divulgar dichos resultados de los cuales no hay precedentes en nuestro país.

A través de este estudio se tiene como objetivos determinar la prevalencia (proporción o cantidad de individuos de un grupo o una población que presentan una característica o evento determinado) de un grupo de enfermedades neuromusculares y determinar las principales características clínicas de las diferentes mutaciones encontradas y así poder divulgar través de publicaciones científicas los resultados de los mismos de forma global y anonimizada.

Dejamos constancia expresa de que se asegurará la confidencialidad de su información identificatoria de datos personales. Para el procesamiento de los datos se elaborara una base de datos anonimizada. Su participación consistirá además de la información del panel genético, en la realización de un examen físico neurológico detallado.

Nombre del médico: -----Firma: -----

Nombre del paciente: ----- Firma: -----

Fecha:

Dr. Salazar

Teléfono de Contacto: 099562333

ANEXO 3

COMITÉ DE ÉTICA HOSPITAL DE CLÍNICAS

UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
HOSPITAL DE CLÍNICAS
"DR. MANUEL QUINTELA"
SECRETARÍA GENERAL
DEPARTAMENTO DE COMISIONES
COMITÉ DE ÉTICA DE LA INVESTIGACIÓN

Montevideo, 31 de marzo de 2021

Se transcribe resolución del Comité de Ética del Hospital de Clínicas de fecha 31 de Marzo de 2021

En relación al proyecto presentado por el Instituto de Neurología

"Caracterización Clínica y Genética de pacientes uruguayos con un fenotipo de Distrofia de Cinturas."

Investigador Responsable: Dr. Emilio Salazar

El Comité de Ética de la Investigación del Hospital de Clínicas resuelve aprobar la realización de este proyecto en esta Institución.

La aprobación otorgada por este Comité de Ética es desde el 31 de marzo de 2021 hasta la fecha de finalización del mismo.



Prof. Dr. Raúl Ruggia
Coordinador del Comité de Ética de la Investigación

ANEXO 4

REGISTRO MSP

 <p>Ministerio de Salud Pública</p>	<p>Dirección General de la Salud División Evaluación Sanitaria</p> <p>Solicitud de registro/autorización de proyectos de investigación en seres humanos</p>
--	--

Montevideo, 28-08-2020.

Constancia de Solicitud de Registro de Proyecto

El presente documento hace constar que el proyecto: Caracterización Clínica y Genética de pacientes uruguayos con un fenotipo de Distrofia de Cinturas fue ingresado el día 28-08-2020, bajo el Nro. 836044 con los siguientes datos:

Datos del investigador coordinador del proyecto

Nombre: Jose Salazar Vaz

Documento de identidad: cedula : 45122100

Institución a la cual pertenece: Hospital de Clínicas. Facultad de Medicina. UdelaR

Función en el proyecto: Avanzar en el diagnóstico etiológico, en primer lugar para descartar Enfermedad de Pompe, la cual es la única miopatía genéticamente determinada con un tratamiento específico en base a terapia de reemplazo enzimático. Avanzar en el diagnóstico genético del tipo de LGMD.

Correo electrónico: emiliosalazarvaz@gmail.com

Teléfono de contacto: 099562333

“Esta constancia no implica la aprobación del protocolo registrado ni la autorización para su realización”
