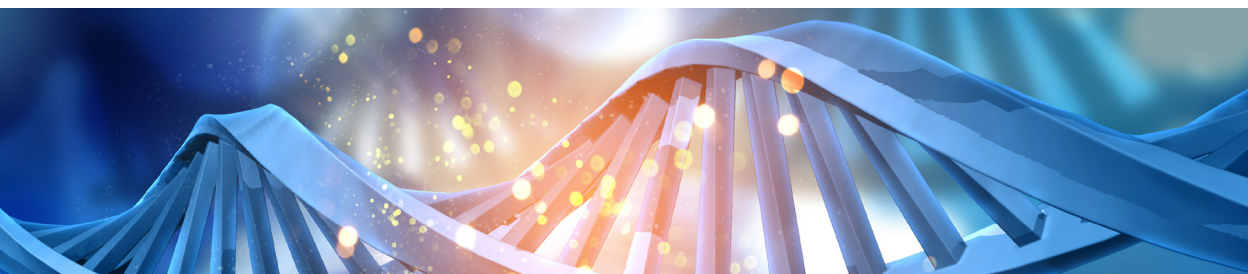
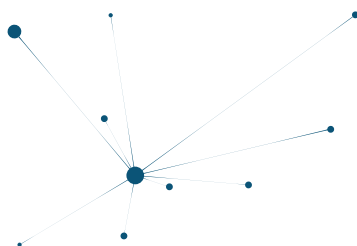


# RECOMENDACIONES PARA EL **ABORDAJE DE ESTUDIOS GENÉTICOS** EN TRASTORNOS DEL MOVIMIENTO, ATAXIAS Y PARAPARESIAS

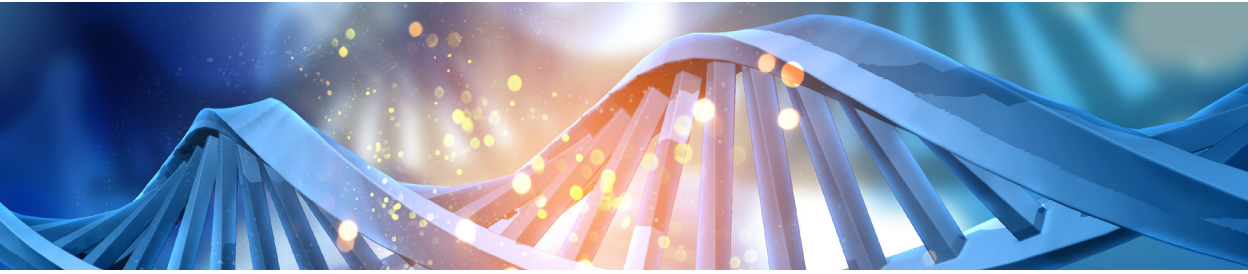


Silvia Jesús Maestre Diego Santos García

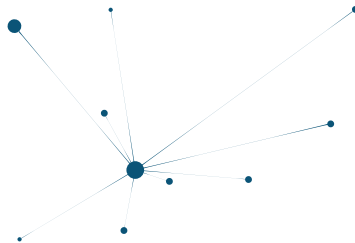




RECOMENDACIONES PARA EL  
**ABORDAJE DE ESTUDIOS GENÉTICOS**  
EN TRASTORNOS DEL MOVIMIENTO,  
ATAXIAS Y PARAPARESIAS



Silvia Jesús Maestre Diego Santos García



Los contenidos expresados en cada uno de los capítulos reflejan la opinión de los autores de cada uno de ellos. En ningún caso, los miembros del comité de redacción o la editorial de la obra han de compartir necesariamente el contenido de cada uno de los capítulos, debiéndose remitir el lector a la bibliografía original o a los autores de cada supuesto en caso de precisar información adicional sobre lo publicado.

© 2023 Sociedad Española de Neurología  
© 2023 Ediciones SEN

ISBN: 978-84-124320-6-0

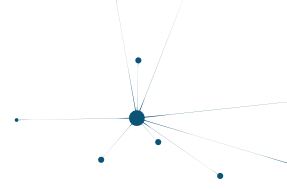


Fuerteventura, 4, oficina 4  
28703 - San Sebastián de los Reyes (Madrid)  
e-mail: [edicionessen@sen.org.es](mailto:edicionessen@sen.org.es)  
<http://www.edicionessen.es>

Ediciones SEN es la editorial de la Sociedad Española de Neurología. Se funda en el año 2012 con la intención de ofrecer obras de calidad, escritas por autores de prestigio mediante la publicación médica, científica y técnica, en el campo de las neurociencias. El compromiso que tenemos con nuestros lectores, es publicar las obras más actualizadas con alto contenido y soporte científico, en todos y cada uno de los avances de la especialidad de Neurología. Bajo Ediciones SEN, la Sociedad Española de Neurología ha editado varios volúmenes.

El titular del copyright se opone expresamente a cualquier utilización del contenido de esta publicación sin su expresa autorización, lo que incluye la reproducción, modificación, registro, copia, explotación, distribución, comunicación pública, transformación, transmisión, envío, reutilización, publicación, tratamiento o cualquier otra utilización total o parcial en cualquier modo, medio o formato de esta publicación.

La infracción de los derechos mencionados puede ser constitutiva de delito contra la propiedad intelectual (artículos 270 y siguientes del Código Penal). Reservados todos los derechos. Ninguna parte de esta publicación puede ser reproducida ni transmitida en ninguna forma o medio alguno, electrónico o mecánico, incluyendo las fotocopias o las grabaciones en cualquier sistema de recuperación de almacenamiento de información, sin el permiso escrito de los titulares del copyright.



# PREFACIO

---

Desde el nacimiento de la Genética Humana en el siglo XIX hasta el momento actual, el desarrollo de las técnicas de identificación de factores genéticos ha ampliado enormemente el conocimiento generado en relación a la etiología de las enfermedades y sus mecanismos fisiopatológicos. En las últimas décadas, debido a la rápida expansión de las técnicas de secuenciación de última generación, el campo de la genética en Neurología y, específicamente, en los trastornos del movimiento, se ha extendido considerablemente. Con la identificación de nuevos genes asociados a formas mendelianas de enfermedades y la existencia de factores de riesgo que aumentan la susceptibilidad de sufrir ciertos trastornos, el abordaje del diagnóstico genético de los pacientes con trastornos del movimiento se complica. A este hecho hay que sumar la dificultad añadida que supone encontrar cambios genéticos cuya implicación en el fenotipo de nuestros pacientes no está clara, como es el caso de las variantes de significado incierto. Todo lo anterior cobra más importancia si tenemos en cuenta que el futuro del tratamiento de algunas enfermedades neurodegenerativas que cursan con trastornos del movimiento puede ir dirigido a la identificación de ciertas variantes patogénicas y terapias más específicas en base a los mecanismos etiopatogénicos implicados. Esto es algo que se está empezando a tener muy presente en la enfermedad de Parkinson.

En este escenario, surge la necesidad de plantear unas pautas que sirvan de apoyo al neurólogo en su práctica clínica diaria y que pueda dirigir el trabajo diagnóstico ante la sospecha de entidades de etiología genética. Es por ello que desde el seno de la actual Junta Directiva del Grupo de Estudio de Trastornos del Movimiento de la Sociedad Española de Neurología surge esta iniciativa. Se trata de un proyecto colaborativo en el que se ha contado con la participación del Grupo de Estudio de Ataxias y Paraparesias con el fin de abordar también estas entidades. Así, se ha configurado un Comité Editorial en el que han participado miembros de ambas Juntas Directivas.

## **PREFACIO**

---

El objetivo principal de este manual se basa en proporcionar una herramienta útil para el clínico en su práctica diaria y así poder orientar los estudios etiológicos, desde un punto de vista genético, para así obtener un diagnóstico final en nuestros pacientes.

Finalmente nos gustaría enfatizar el agradecimiento a todos los autores de este manual por su implicación desinteresada en este proyecto y el esfuerzo invertido para la publicación de este manual.

Los coordinadores del manual,

**Silvia Jesús Maestre**

Hospital Universitario Virgen del Rocío/Instituto de Biomedicina de Sevilla.  
Secretaria del GETM de la SEN

**Diego Santos García**

CHUAC (Complejo Hospitalario Universitario de A Coruña), A Coruña  
Coordinador del GETM de la SEN



# AUTORES

---

## COORDINADORES

### **Silvia Jesús Maestre**

Unidad de Trastornos del Movimiento, Servicio de Neurología y Neurofisiología Clínica, Instituto de Biomedicina de Sevilla, Hospital Universitario Virgen del Rocío/CSIC/Universidad de Sevilla, Sevilla.

Centro de Investigación Biomédica en Red sobre Enfermedades Neurodegenerativas (CIBERNED), España.

### **Diego Santos García**

Complejo Hospitalario Universitario de A Coruña, A Coruña.

## COMITÉ EDITORIAL

### **María José Abenza Abildua**

Sección de Neurología, Hospital Universitario Infanta Sofía, Madrid.

### **María Álvarez Saucó**

Servicio de Neurología, Hospital General Universitario de Elche, Elche.

### **Silvia Jesús Maestre**

Unidad de Trastornos del Movimiento, Servicio de Neurología y Neurofisiología Clínica, Instituto de Biomedicina de Sevilla, Hospital Universitario Virgen del Rocío/CSIC/Universidad de Sevilla, Sevilla.

Centro de Investigación Biomédica en Red sobre Enfermedades Neurodegenerativas (CIBERNED), España.

### **Álvaro Sánchez Ferro**

Servicio de Neurología, Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid.

### **Diego Santos García**

Unidad de Trastornos del Movimiento, Servicio de Neurología, Complejo Hospitalario Universitario de A Coruña, A Coruña.

## ÍNDICE DE AUTORES

### **Astrid Daniela Adarmes Gómez**

Unidad de Trastornos del Movimiento, Servicio de Neurología y Neurofisiología Clínica, Instituto de Biomedicina de Sevilla, Hospital Universitario Virgen del Rocío/CSIC/Universidad de Sevilla, Sevilla.

Centro de Investigación Biomédica en Red sobre Enfermedades Neurodegenerativas (CIBERNED), España.

### **Sara Bandres-Ciga**

Laboratory of Neurogenetics, National Institute on Aging, National Institutes of Health, Estados Unidos.

### **Carlos Casanovas**

Unidad Neuromuscular, Departamento de Neurología, Hospital Universitario de Bellvitge. Grupo de Enfermedades Neurometabólicas. Instituto de Investigaciones Biomédicas de Bellvitge (IDIBELL).

Departamento de Ciencias Clínicas, Campus de Ciencias de la Salud de Bellvitge, Universidad de Barcelona.

Centro de Investigación Biomédica en Red sobre Enfermedades Neurodegenerativas (CIBERNED), España.

### **Mario Cornejo-Olivas**

Centro de Investigación Básica en Neurogenética, Instituto Nacional de Ciencias Neurológicas y Carrera de Medicina, Universidad Científica del Sur, Lima, Perú.

### **Lola Díaz Feliz**

Unidad de Movimientos Anormales, Servicio de Neurología, Fundación Jiménez Díaz, Madrid.

### **Carmen Espinós Armero**

Laboratorio de Enfermedades Raras Neurodegenerativas, Centro de Investigación Príncipe Felipe (CIPF), Valencia.

## AUTORES

---

### **Pedro J. García Ruiz-Espiga**

Unidad de Movimientos Anormales, Servicio de Neurología, Fundación Jiménez Díaz, Madrid.

### **Pilar Gómez-Garre**

Unidad de Trastornos del Movimiento, Servicio de Neurología y Neurofisiología Clínica, Instituto de Biomedicina de Sevilla, Hospital Universitario Virgen del Rocío/CSIC/Universidad de Sevilla, Sevilla.

Centro de Investigación Biomédica en Red sobre enfermedades Neurodegenerativas (CIBERNED), Madrid, España.

### **Isabel Hinarejos Martínez**

Laboratorio de Enfermedades Raras Neurodegenerativas, Centro de Investigación Príncipe Felipe (CIPF), Valencia.

### **Jon Infante Ceberio**

Servicio de Neurología. CSUR ataxias y paraplejas espásticas hereditarias, Hospital Universitario Marqués de Valdecilla, Santander. Centro de Investigación Biomédica en Red sobre Enfermedades Neurodegenerativas (CIBERNED), España.

### **Silvia Jesús Maestre**

Unidad de Trastornos del Movimiento, Servicio de Neurología y Neurofisiología Clínica, Instituto de Biomedicina de Sevilla, Hospital Universitario Virgen del Rocío/CSIC/Universidad de Sevilla, Sevilla.

Centro de Investigación Biomédica en Red sobre Enfermedades Neurodegenerativas (CIBERNED), España.

### **Dolores Martínez Rubio**

Laboratorio de Enfermedades Raras Neurodegenerativas, Centro de Investigación Príncipe Felipe (CIPF), Valencia.

### **Ignacio F. Mata**

Genomic Medicine Institute, Cleveland Clinic, Estados Unidos.

### **Alejandra Medina-Rivera**

Laboratorio Internacional de Investigación sobre el Genoma Humano, Universidad Nacional Autónoma de México, México.

### **Karina Milla-Neyra**

Centro de Investigación Básica en Neurogenética, Instituto Nacional de Ciencias Neurológicas, Lima, Perú.

### **José Esteban Muñoz García**

Unidad de Parkinson y Trastornos del Movimiento, Servicio de Neurología, Institut Clínic de Neurociències, Hospital Clínic de Barcelona, Barcelona.

### **Javier Pagonabarraga Mora**

Unidad de Trastornos del Movimiento, Servicio de Neurología, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona.

### **Cèlia Painous Martí**

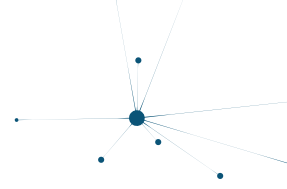
Unidad de Parkinson y Trastornos del Movimiento, Servicio de Neurología, Institut Clínic de Neurociències, Hospital Clínic de Barcelona, Barcelona.

### **María Teresa Perrián Tocino**

Unidad de Trastornos del Movimiento, Servicio de Neurología y Neurofisiología Clínica, Instituto de Biomedicina de Sevilla, Hospital Universitario Virgen del Rocío/CSIC/Universidad de Sevilla, Sevilla.

Centro de Investigación Biomédica en Red sobre enfermedades Neurodegenerativas (CIBERNED), Madrid, España.





## AUTORES

---

### **Paula Reyes-Pérez**

Laboratorio Internacional de Investigación sobre el Genoma Humano, Universidad Nacional Autónoma de México, México.

### **Idoia Rouco Axpe**

Consulta de ataxias y paraparesias espásticas hereditarias, Servicio de Neurología Hospital Universitario de Cruces, Barakaldo, Bizkaia.

### **Íñigo Ruiz-Barrios**

Unidad de Trastornos del Movimiento, Servicio de Neurología, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona.

### **Alejandra E. Ruiz-Contreras**

Laboratorio de Neurogenómica Cognitiva, Coordinación de Psicobiología y Neurociencias, Facultad de Psicología, Universidad Nacional Autónoma de México, México.

### **Javier Ruiz Martínez**

Unidad de Trastornos del Movimiento, Servicio de Neurología, Hospital Universitario Donostia. Área de enfermedades Neurodegenerativas, Instituto de Investigación Biodonostia, Donostia-San Sebastián (Guipúzcoa).

### **María José Trujillo Tiebas**

Servicio de Genética, Fundación Jiménez Díaz, Madrid.

### **Valentina Vélez-Santamaría**

Unidad Neuromuscular, Departamento de Neurología. Hospital Universitario de Bellvitge. Grupo de Enfermedades Neurometabólicas, Instituto de Investigaciones Biomédicas de Bellvitge (IDIBELL), Barcelona.





# ÍNDICE

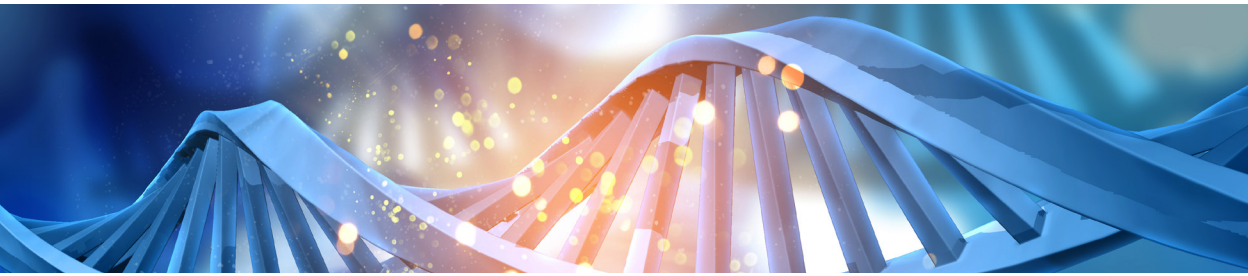
---

<b>PREFACIO</b> .....	<b>5</b>
<b>AUTORES</b> .....	<b>7</b>
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>13</b>
<b>CAPÍTULO 1</b> .....	<b>21</b>
Tipos de variantes genéticas e interpretación. Análisis y predicción <i>in silico</i> de patogenicidad. Estudios funcionales.	
<b>CAPÍTULO 2</b> .....	<b>45</b>
Interpretación de las variantes de significado incierto. ¿Qué hacer ante estos hallazgos?. Consejo genético.	
<b>CAPÍTULO 3</b> .....	<b>61</b>
Descripción de las diferentes técnicas de genotipado y secuenciación. Uso y Limitaciones.	
<b>CAPÍTULO 4</b> .....	<b>85</b>
Estudios genéticos en enfermedad de Parkinson y parkinsonismos.	
<b>CAPÍTULO 5</b> .....	<b>103</b>
Estudios genéticos en distonía.	
<b>CAPÍTULO 6</b> .....	<b>129</b>
Estudios genéticos en coreas.	
<b>CAPÍTULO 7</b> .....	<b>151</b>
Estudios genéticos en el síndrome de Tourette.	
<b>CAPÍTULO 8</b> .....	<b>165</b>
Estudios genéticos en ataxias.	
<b>CAPÍTULO 9</b> .....	<b>185</b>
Estudios genéticos en paraparesias espásticas hereditarias.	
<b>ANEXO</b> .....	<b>205</b>
Abreviaturas	
Glosario de términos	
Tablas	
Recursos de interés	
Clasificación del nivel de evidencia para estudios diagnósticos	





# INTRODUCCIÓN



## Autores

Silvia Jesús Maestre

## Centro

Unidad de Trastornos del Movimiento, UGC Neurología y Neurofisiología Clínica,  
Hospital Universitario Virgen del Rocío,  
Instituto de Biomedicina de Sevilla, Sevilla, España.

Centro de Investigación Biomédica en Red  
Enfermedades Neurodegenerativas (CIBERNED).





Los trastornos del movimiento suponen un grupo de entidades heterogéneas desde un punto de vista fenotípico, abarcando desde los denominados trastornos hipocinéticos en los que la enfermedad de Parkinson (EP) supone la mayor representación hasta trastornos hiperkinéticos englobando la distonía, corea y tics entre otros.

Para establecer un diagnóstico etiológico de los trastornos del movimiento es preciso un abordaje multimodal desde un enfoque semiológico pasando por las características radiológicas y mediante pruebas moleculares, incluyendo las genéticas.

El diagnóstico genético de entidades que cursan con trastornos del movimiento es con frecuencia complicado debido a diferentes factores inherentes a este grupo de enfermedades o trastornos. En enfermedades tales como la EP la etiología es **multifactorial**, estando involucrados factores tóxico-ambientales, metabólicos y genéticos. En ella, la implicación de los factores genéticos se extiende desde formas mendelianas con penetrancia completa hasta factores de riesgo comunes que aumentan el riesgo de sufrir la enfermedad<sup>1</sup>.

Por otro lado, los trastornos del movimiento de etiología genética tienen una serie de peculiaridades que dificultan el abordaje de los mismos. En una proporción no desdeñable de entidades, tales como la DYT-TOR1A, la **penetrancia** es incompleta<sup>2</sup>. Así, la descendencia puede presentar cuadros clínicos severos sin que los progenitores presenten ninguna manifestación, aún siendo portadores de variantes patogénicas. Por otro lado, la **expresividad clínica** de los trastornos puede ser variable<sup>3</sup>. De esta forma, en una misma familia puede existir variabilidad fenotípica en cuanto a la expresión y severidad de los síntomas. Esto da lugar a que una enfermedad pueda pasar desapercibida entre familiares y, por tanto, dificultar la categorización de los trastornos y su diagnóstico final. También, en relación con la expresión fenotípica, hay que tener en cuenta el fenómeno de **pleiotropía** por el que variantes en un mismo gen pueden ocasionar fenotipos diferentes, no relacionados entre sí. Este fenómeno lo observamos en relación a DYT/PARK-ATP1A3 que se asocia con un parkinsonismo de inicio agudo, hemiplejía alternante en la infancia o el síndrome de CAPOS, entre otras manifestaciones<sup>4</sup>. En relación al patrón de herencia no debemos olvidar que, ante la ausencia de clínica o mutaciones en los progenitores, un paciente, como caso esporádico, puede presentar mutaciones **de novo** que expliquen su patología y, por tanto, presentar una etiología genética y poder transmitirla a la descendencia. Adicionalmente, en relación a la transmisibilidad de los factores genéticos hay que considerar el fenómeno de **imprinting**. Éste ocasiona que ciertos genes sean expresados de un modo específico dependiendo del sexo del progenitor del que procede. Este mecanismo lo podemos observar en la DYT/MYC-SGCE en la que existe *imprinting* materno y, por tanto, la enfermedad se expresa habitualmente cuando el alelo mutado pro-

cede del padre<sup>5</sup>. Finalmente, a la hora de interpretar los resultados de un estudio se debe de considerar que, en ciertas patologías, tales como en la MxMD-*ADCY5* coexisten, en un mismo individuo, líneas celulares con diferente carga genética, siguiendo el fenómeno de **mosaicismo**<sup>6</sup>. Esto conlleva que en estos casos, si la sospecha diagnóstica es alta, pudiera ser preciso estudiar la presencia de variantes patogénicas en más de un tejido. Todas estas peculiaridades ocasionan que, en un porcentaje importante de casos, el abordaje de los estudios genéticos en trastornos del movimiento sea complejo. Así, el objetivo de este manual es facilitar el trabajo diagnóstico y orientar los estudios genéticos a la cabecera del paciente en trastornos del movimiento.

## **NOMENCLATURA DE LOS TRASTORNOS DEL MOVIMIENTO DE ORIGEN GENÉTICO**

Hasta el 2016, las formas monogénicas de los trastornos del movimiento tales como la EP o la distonía se nombraban con un sistema estandarizado que agrupaba símbolos (PARK, DYT, etc) y números. El símbolo hacía referencia al locus de la región cromosómica ligada al trastorno familiar o a un fenotipo específico en cuestión, aunque el gen no fuera conocido, seguido de un número que designaba el orden de descripción de dichos trastornos. Así, este prefijo hacía referencia al fenotipo predominante, tal como PARK para parkinsonismo<sup>7</sup> o DYT para distonía<sup>8</sup>. De esta forma se originó el sistema por el que se nombraban estos trastornos como PARK1, PARK2, PARK3, etc y DYT1, DYT2, DYT3, etc. Esta clasificación, aunque ha sido empleada durante años, contaba con ciertas limitaciones<sup>9</sup>. Presentaba dificultades para correlacionar los hallazgos con algunos fenotipos, la asignación de diferentes símbolos para el mismo trastorno, o incluso el hecho de que se realizaban asociaciones entre un gen o locus y un trastorno del movimiento, aún sin confirmar su implicación. Estas cuestiones, entre otras, hizo que en 2016 la *“Movement Disorders Task Force for the Nomenclature of Genetic Movement Disorders”* emitiera un nuevo sistema para denominar los trastornos del movimiento de origen genético<sup>10</sup>. Esta clasificación se resume en una serie de recomendaciones que han sido actualizadas recientemente:

1. Incluir sólo trastornos cuyos genes causativos hayan sido identificados.
2. El prefijo debe asignarse en relación al trastorno del movimiento que predomine en la mayoría de los casos asociado a una forma genética.
  - En los casos en los que existan dos trastornos del movimiento predominantes o en los que un mismo gen de lugar a dos fenotipos igual de prevalentes, se puede emplear el prefijo de ambos. Ej: DYT/MYC, DYT/PARK.





- En la actualización de 2022 se incluyen los trastornos del movimiento mixtos<sup>11</sup>. En este supuesto, cuando un gen se asocia a más de dos trastornos del movimiento diferentes y no sea posible distinguir el fenotipo predominante, se categorizaría siguiendo este nuevo concepto como trastorno del movimiento mixto (MxMD).
  - En la nueva revisión, se excluye la categorización en base a los hallazgos de la neuroimagen para designar entidades como la neurodegeneración por acúmulo de hierro cerebral (NBIA) o por calcificaciones cerebrales (PFBC). Así, en estos casos se designará el prefijo según el fenotipo predominante y se añadirá un sufijo que hace referencia a los hallazgos característicos de neuroimagen en estos casos. Ej: DYT-PANK2-(NBIA).
- 3.** El sufijo se sustituye por el nombre del gen.
- Ej: DYT1 pasa a ser DYT-TOR1A.
- 4.** No se incluyen los genes de riesgo, sólo aquéllos relacionados con las formas monogénicas de la enfermedad.
- Ej: las variaciones patogénicas en el gen de la glucocerebrosidasa (*GBA*) es un factor de riesgo importante para EP, sin embargo, al tratarse de un factor de riesgo, no se incluye dentro del listado PARK.
- 5.** Previo a la inclusión de un gen en el listado y asignarle un prefijo, es preciso que exista evidencia científica suficiente que avale la relación de causalidad entre el genotipo-fenotipo. Ésta se resume en los siguientes puntos:
- Presencia de las variantes en múltiples individuos afectados no relacionados entre sí.
  - Evidencia para la segregación o asociación estadística de una variante con la enfermedad.
  - La variante debe conservarse a través de diferentes especies.
  - Los análisis *in silico* de la variante deberían predecir una alteración de la actividad bioquímica del producto génico y este hecho debería ser apoyado por pruebas funcionales en tejido humano ya sea celular, en modelos animales, anomalías bioquímicas o histológicas.

**Actualización 2022<sup>11</sup>:** En la última revisión de la “*MDS Task Force for the Nomenclature of Genetic Movement Disorders*” los expertos, debido a las peculiaridades de los tras-

tornos del movimiento de etiología genética (penetrancia incompleta, fenocopias, etc.) encontraban dificultades para avalar científicamente la asociación entre el genotipo y fenotipo siguiendo estos puntos previos. Así, en esta actualización se han basado en la clasificación del “*United States’ National Institutes of Health*” (apoyado por el programa ClinGen) para acreditar la asociación de ciertos genes con fenotipos específicos. De este modo, categorizan la relación genotipo-fenotipo en seis categorías: evidencia definitiva, evidencia fuerte, evidencia moderada, evidencia limitada, evidencia no reportada o evidencia contradictoria. De esta forma, en la nueva clasificación, incluyen sólo aquellos genes con evidencia definitiva o fuerte como causativos y, por tanto, asociados a prefijos PARK, DYT, etc.

## ESTUDIOS GENÉTICOS EN TRASTORNOS DEL MOVIMIENTO

El presente manual pretende aportar una visión global sobre cómo enfocar los estudios genéticos a la cabecera del paciente y con ello obtener un diagnóstico etiológico. Para ello, inicialmente, en los primeros capítulos se abordarán conceptos básicos de genética, tales como los tipos de variantes y su interpretación así como los estudios genéticos existentes para el genotipado y secuenciación. Tras ello, se realizará una aproximación de los principales trastornos del movimiento desde el punto de vista semiológico y se marcarán las pautas que deben dirigir el diagnóstico en los casos de probable origen genético.

### TIPOS DE VARIANTES GENÉTICAS

En relación al tipo de variantes genéticas, hay que tener en cuenta algunos conceptos. En los capítulos 1 y 2 se describen en detalle los tipos de cambios existentes y su interpretación. De forma resumida, para la interpretación de las variantes en relación a su asociación con determinados fenotipos, se emplea la nomenclatura siguiendo las recomendaciones de la “*American College of Medical Genetics and Genomics*” y de la “*Association for Molecular Pathology*” clasificando las variantes como sigue<sup>12</sup>:

- **Variantes Benignas** y **variantes probablemente benignas**. Son variantes que no se asocian a la patología y que suelen ser frecuentes en la población. No deben reportarse en este tipo de variantes en los informes genéticos.
- **Variantes de significado clínico incierto** (VUS de sus siglas en inglés “*Variant of Unknown Significant*”) son variantes cuyo papel etiológico en la enfermedad es desconocido y de las que no se puede establecer una correlación genotipo-fenotipo clara.



Puede que no haya suficiente evidencia científica para confirmar o descartar su asociación con determinadas enfermedades o la evidencia puede ser contradictoria. En el capítulo 2 se abordarán los aspectos principales para su interpretación.

- **Variantes probablemente patogénicas** y **variantes patogénicas**: son variantes en las que existe suficiente evidencia científica en relación a su asociación causal con determinadas enfermedades.

Hay que tener en cuenta que los términos de mutación/polimorfismo tienden a ser desvancados y se deben usar los términos previamente descritos recomendados por la ACMG. Sin embargo, dado que el término **mutación** está ampliamente extendido y se emplea con asiduidad en práctica clínica, a lo largo del manual se hará referencia al concepto mutación como equivalente a variante deletérea o patogénica asociada a enfermedad.

## TÉCNICAS DE GENOTIPADO Y SECUENCIACIÓN EN TRASTORNOS DEL MOVIMIENTO

En el capítulo 3 se abordan las diferentes técnicas empleadas para el genotipado y secuenciación. Así, se describirán desde técnicas clásicas como la secuenciación Sanger hasta las últimas técnicas de “*Next Generation Sequencing*” tales como secuenciación de exoma y genoma completos. En este capítulo se abordarán las ventajas y limitaciones de cada técnica así como los aspectos fundamentales a considerar para la interpretación de los resultados.

## ABORDAJE DE ESTUDIOS GENÉTICOS EN TRASTORNOS DEL MOVIMIENTO

En la segunda parte del manual, de los temas 4-9, se abordarán los aspectos principales a la hora de dirigir el estudio etiológico, desde el punto de vista genético, a la cabecera del paciente. Así, siguiendo los signos guía y según el patrón de herencia se plantean diferentes niveles secuenciales de diagnóstico genético. Este planteamiento pretende ser de utilidad para el clínico en su práctica diaria y que pueda facilitar y promover el diagnóstico etiológico desde el punto de vista genético.

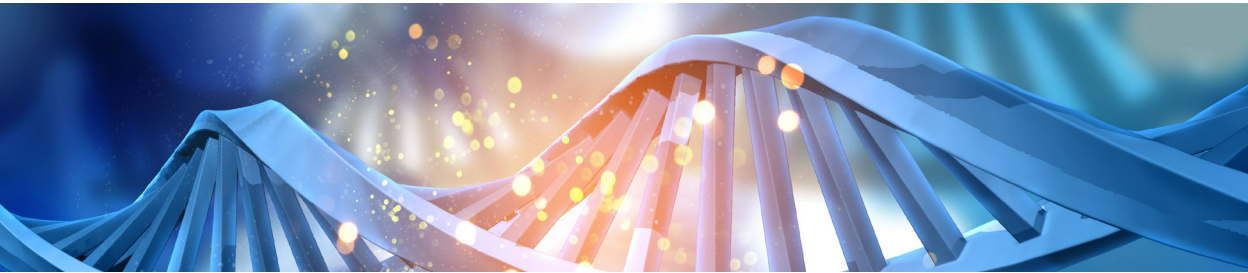
**BIBLIOGRAFÍA**

1. Bloem BR, Okun MS, Klein C. Parkinson's disease. *Lancet*. 2021;397(10291):2284-303.
2. Martino D, Gajos A, Gallo V, Cif L, Coubes P, Tinazzi M, et al. Extragenetic factors and clinical penetrance of DYT1 dystonia: an exploratory study. *J Neurol*. 2013;260(4):1081-6.
3. Caceres-Redondo MT, Carrillo F, Palomar FJ, Mir P. DYT-1 gene dystonic tremor presenting as a "scan without evidence of dopaminergic deficit". *Mov Disord*. 2012;27(11):1469.
4. Vezyroglou A, Akilapa R, Barwick K, Koene S, Brownstein CA, Holder-Espinasse M, et al. The Phenotypic Continuum of ATPLA3-Related Disorders. *Neurology*. 2022.
5. Peall KJ, Kurian MA, Wardle M, Waite AJ, Hedderly T, Lin JP, et al. SGCE and myoclonus dystonia: motor characteristics, diagnostic criteria and clinical predictors of genotype. *J Neurol*. 2014;261(12):2296-304.
6. Chen DH, Meneret A, Friedman JR, Korvatska O, Gad A, Bonkowski ES, et al. ADCY5-related dyskinesia: Broader spectrum and genotype-phenotype correlations. *Neurology*. 2015;85(23):2026-35.
7. Puschmann A. Monogenic Parkinson's disease and parkinsonism: clinical phenotypes and frequencies of known mutations. *Parkinsonism Relat Disord*. 2013;19(4):407-15.
8. Kramer PL, de Leon D, Ozelius L, Risch N, Bressman SB, Brin MF, et al. Dystonia gene in Ashkenazi Jewish population is located on chromosome 9q32-34. *Ann Neurol*. 1990;27(2):114-20.
9. Marras C, Lohmann K, Lang A, Klein C. Fixing the broken system of genetic locus symbols: Parkinson disease and dystonia as examples. *Neurology*. 2012;78(13):1016-24.
10. Marras C, Lang A, van de Warrenburg BP, Sue CM, Tabrizi SJ, Bertram L, et al. Nomenclature of genetic movement disorders: Recommendations of the international Parkinson and movement disorder society task force. *Mov Disord*. 2016;31(4):436-57.
11. Lange LM, Gonzalez-Latapi P, Rajalingam R, Tijssen MAJ, Ebrahimi-Fakhari D, Gabbert C, et al. Nomenclature of Genetic Movement Disorders: Recommendations of the International Parkinson and Movement Disorder Society Task Force - An Update. *Mov Disord*. 2022;37(5):905-35.
12. Richards S, Aziz N, Bale S, Bick D, Das S, Gastier-Foster J, et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med*. 2015;17(5):405-24.



# CAPÍTULO 1

Tipos de variantes genéticas e interpretación.  
Análisis y predicción *in silico*  
de patogenicidad.  
Estudios funcionales



## Autores

Dolores Martínez Rubio  
Isabel Hinarejos Martínez  
Carmen Espinós Armero

## Centro

Laboratorio de Enfermedades Raras Neurodegenerativas,  
Centro de Investigación Príncipe Felipe (CIPF).





## 1.1 INTRODUCCIÓN

La Genética Humana, al igual que todas las ramas relacionadas con genética, nació con las leyes establecidas por el fraile Gregor Mendel en 1865. Desde entonces hasta ahora, el conocimiento sobre esta disciplina ha aumentado considerablemente y continúa aumentando. Uno de los primeros hitos recientes fue el descubrimiento de la estructura de la doble hélice de DNA en 1953 por Rosalind Franklin, James Watson y Francis Crick. También merece la pena mencionar el gran avance alcanzado con la anotación del genoma humano en 2001-2003 por Celera Genomics (EE. UU.) dirigida por Craig Venter y por el NIH ("*National Institutes of Health*", EE. UU.) dirigido por Francis Collins y en la que también participó Reino Unido, Francia, Alemania, Japón y China. Hasta la fecha, la genética humana vive una revolución constante incrementada desde 2011 con las primeras máquinas de secuenciación masiva. Aún con ello, las tres leyes (uniformidad, segregación y transmisión independiente) determinadas por el fraile Gregor Mendel con sus estudios con guisantes son la base de la transmisión de rasgos hereditarios definidos por las secuencias de DNA formadas por cuatro bases (adenina, timina, guanina y citosina) que son dependientes de los cambios que se introducen en los procesos de replicación y división de este material genético.

## 1.2 TIPOS DE VARIANTES GENÉTICAS

Existen diferentes regiones en un gen; las regiones codificantes o exónicas son aquellas que contienen genes que se expresan a RNA mensajero (mRNA) y se traducen a proteínas, mientras que las intrónicas son aquellas que contienen genes no codificantes que no se expresan a mRNA y no se traducen a proteínas. La inmensa mayoría de variantes deletéreas se han descrito en las regiones codificantes o exónicas<sup>1</sup>. Sin embargo, es necesario prestar atención también a las variantes que se encuentran en regiones no codificantes. Cambios localizados en elementos reguladores podrían causar enfermedad porque participan en la regulación del gen. También pueden ser patogénicas las mutaciones intrónicas, tanto las situadas en las secuencias flanqueantes a exones como las intrónicas profundas porque están implicadas en el correcto procesamiento del mRNA ("*splicing*"). Igualmente, las variantes en regiones promotoras pueden estar implicadas en el desarrollo de enfermedades, por su papel aumentando o disminuyendo la tasa de transcripción, o en las regiones 5' y 3' UTR ("*untranslated regions*") porque están implicadas en la correcta traducción del mRNA, su estabilidad y su localización. En líneas generales, con el empleo de las herramientas de secuenciación masiva que posibilitan secuenciar más y mejor, hemos tenido acceso a más regiones del genoma, lo que nos ha permitido descubrir otros tipos de variantes.

En relación a las variantes patogénicas o mutaciones, estas pueden afectar a una o muy pocas bases de DNA, denominándose puntuales. Estas pueden ser de muchos tipos diferentes. Puede tratarse de una sustitución de una base o bien de deleciones y/o inserciones (duplicaciones) de pocas bases. Puede también tratarse de mutaciones estructurales que impliquen la repetición en tándem de una misma secuencia o reordenamientos complejos de fragmentos de DNA.

### 1.2.1 Variante de un solo nucleótido

Un SNP ("*Single Nucleotide Polymorphism*") es el cambio de un único nucleótido que se considera benigno por lo que debe estar en una frecuencia superior al 1% en la población sana. Se entiende que cambios con frecuencia superior al 1% en población sana son inocuos. Esta definición debe interpretarse con cautela porque existen mutaciones patológicas con una frecuencia superior como por ejemplo la deleción en *CFTR* p.F508 del implicada en fibrosis quística, que tiene una frecuencia de 1,24% en europeos. Los SNPs son las variantes más comunes en el genoma humano y se pueden localizar en regiones codificantes, intrónicas e intergénicas. Un SNP se caracteriza por una amplia distribución en el genoma y una baja tasa de mutación ( $10^{-9}$ ) que hace que éstos sean los polimorfismos más ampliamente utilizados para estudios de mapeo genómico y de asociación genética (GWAS, "*Genome Wide Association Study*"), pese a no resultar muy informativos al tratarse de marcadores bialélicos (habitualmente solo presentan dos variantes, la secuencia original y la versión mutada).

Relacionado con este término, las SNVs ("*Single Nucleotide Variant*") que igualmente implican un cambio que afecta a una única base, pero su frecuencia en población sana no tiene porqué ser superior al 1%. Una SNV puede ser deletérea y causar enfermedad. En este caso, la SNV suele presentar una frecuencia muy baja o incluso ser novel.

En general, una variante que afecta a una única base puede ser:

- Variantes sinónimas o silenciosas ("*silent/synonymous*") son las que el cambio de una base nucleotídica da lugar a un codón que no modifica el aminoácido codificado originalmente a partir de la secuencia de referencia. De este modo, la variante no tendría un impacto en la secuencia proteica resultante. Sin embargo, estas variantes pueden alterar el procesamiento del transcrito ("*splicing*") y por ello, es recomendable evaluar su posible patogenicidad en el mRNA.
- Variantes de cambio de aminoácido ("*missense*") son aquellas sustituciones que dan lugar a un codón distinto.





- Mutación STOP o sin sentido ("*nonsense*") es una sustitución que crea un codón de parada, por lo que daría lugar a una terminación prematura de la proteína.
- Variante neutral consiste en un cambio de una única base que conduce a una sustitución de un aminoácido que no afecta a la función de la proteína.

### 1.2.2 Duplicaciones, inserciones, deleciones e *indels*

Las duplicaciones consisten en la inserción de una o más copias de una secuencia de DNA, mientras que las inserciones refieren a la incorporación de una o más bases, no necesariamente las mismas. Las deleciones son el proceso contrario: pérdida de una o más bases. Las *indels*, son los dos fenómenos anteriores simultáneamente. Es decir, sucesos en los que hay pérdida de una o más bases y también incorporación de una o más bases. El orden en que se producen estas dos alteraciones habitualmente no se conoce. Cualquiera de estas alteraciones (duplicación, inserción, deleción o *indels*) puede conducir a un cambio en la pauta de lectura ("*frameshift*"), que normalmente genera un codón de parada y una terminación prematura de la proteína asociada.

### 1.2.3 Mutaciones dinámicas

Aproximadamente el 10-15% del genoma humano está constituido por secuencias de DNA repetidas en tándem. Los minisatélites o VNTRs ("*Variable Number Tandem Repeats*") consisten en repeticiones de una secuencia de 9-64 pares de bases pudiendo alcanzar un tamaño entre 0,1-20 kilobases. Los microsatélites o STRs ("*Short Tandem Repeats*") son repeticiones de una secuencia de aproximadamente 1-13 pares de bases con un tamaño total inferior a 150 pares de bases. Los minisatélites se localizan en los telómeros y los microsatélites están dispersos a lo largo de todos los cromosomas. La tasa de mutación asociada a estas variantes es de  $10^{-4}$ - $10^{-5}$ , por lo que no son tan estables como los SNPs, pero sí mucho más informativos al ser multialélicos.

Las mutaciones dinámicas consisten en la repetición en tándem normalmente de tres a cinco pares de bases (aunque pueden ser mayores) de modo que, tratándose de repeticiones inestables, pueden expandirse y por encima de un umbral, ser patológicas. Las mutaciones dinámicas se caracterizan por poder presentar diferente tamaño de expansión, localización en el gen (región UTR "*Untranslated Region*", intrón, exón), y mecanismo de enfermedad (pérdida o ganancia de función, acumulación tóxica de mRNA o proteína). El trastorno causado por una mutación dinámica paradigma es la enfermedad de Huntington en la que en el exón 1 del gen *HTT* se repite un triplete CAG que codifica para glutamina, de ahí que se le llame enfermedad polyQ (poliglutamina). Son también en-

fermedades polyQ varias SCAs (“*Spinocerebellar ataxia*”; SCA1, SCA2, SCA3, SCA6, SCA7, SCA17). En este grupo de trastornos se generan agregados de glutamina que resultan tóxicos, causando la neurodegeneración subyacente.

Otra característica asociada los trastornos causados por mutaciones dinámicas es el fenómeno de anticipación que refiere al hecho de que la enfermedad debuta a edad más temprana y con un cuadro más grave a medida que esta se transmite generación tras generación, debido a la expansión sucesiva de la repetición. Actualmente la detección de este tipo de mutaciones se ve facilitada por la disponibilidad de aproximaciones como la secuenciación de genoma con lectura larga<sup>2,3</sup>.

#### 1.2.4 Variantes estructurales

Las variantes estructurales son alteraciones genómicas que pueden afectar a fragmentos de más de 1 kilobase, si bien actualmente bajo esta denominación se incluyen de menor tamaño (> 50 pares de bases)<sup>4</sup>. Estas variantes se clasifican según alteren el número o la disposición de los genes.

Las **CNVs** (“*Copy Number Variations*”) son variantes estructurales que afectan al número de genes y por ello, no son balanceadas; hay pérdida y/o ganancia de genes. Se definen como segmentos de DNA que se repiten con número de copias variable comparándolo con un genoma de referencia. Las CNVs incluyen inserciones, deleciones y duplicaciones en tándem o no. Las duplicaciones no en tándem son anomalías cromosómicas complejas que consisten en la duplicación de una secuencia y su inserción en el mismo sentido o en sentido inverso en otra parte del genoma. Existen otras alteraciones complejas como la disomía uniparental (DUP), que tiene lugar cuando las dos copias de un cromosoma, ya sea en su totalidad o parcialmente, proviene del mismo progenitor. También es de destacar que elementos móviles del genoma (familia L1 o LINE, “*Long Interspersed Nuclear Element*”; familia Alu o SINE, “*Short Interspersed Nuclear Element*”) pueden conducir a este tipo de variaciones.

En cuanto a las variantes estructurales que alteran la disposición de los genes están las **translocaciones y las inversiones**. Estas generalmente son anomalías balanceadas porque no suelen conllevar pérdida y/o ganancia de genes. Las translocaciones son fragmentos de un cromosoma que se transfiere a otro y pueden ser recíprocas, cuando los fragmentos se intercambian entre dos cromosomas, o Robertsonianas, cuando un cromosoma completo se une a otro por el centrómero. Las inversiones son fragmentos de cromosoma que han sufrido una rotación de 180°; es decir, un segmento cromosómico cambia de sentido dentro del propio cromosoma y, por tanto, altera el orden de los *loci* contenidos



comparado con la secuencia de referencia. Las inversiones pueden ser pericéntricas (las más comunes) o paracéntricas si incluyen al centrómero o no, respectivamente.

### 1.3 NOMENCLATURA

Para nombrar correctamente las variantes genéticas, han de seguirse las recomendaciones de la “*Human Genome Variant Society*” (HGVS; <http://varnomen.hgvs.org>), tomando como referencia la secuencia canónica del gen de interés. El código de esta secuencia consenso debe indicarse siempre junto a la descripción de la variante. De esta forma se evitan equívocos cuando el gen da lugar a diferentes transcritos o se actualizan las versiones del genoma. A modo de resumen, se detallan las indicaciones básicas con una serie de ejemplos:

#### Cambio en la secuencia codificante

- **c.86A>G**: en la posición 86 de la región codificante (es decir, desde el codón de inicio ATG, siendo la “A” la posición número 1) se ha producido la sustitución de una adenina por una guanina.
- **c.1171dupA**: en la posición 1171 de la región codificante se ha producido una duplicación de una adenina.
- **c.570\_571delCA**: las bases citosina y adenina, localizadas en las posiciones 570 y 571 de la secuencia codificante, han sido delecionadas.
- **c.51+4A>T**: de esta manera se nombran las variantes que se encuentran en regiones intrónicas. En este caso, la posición codificante es la número 51, y a partir de esta, contando las cuatro siguientes bases nucleotídicas que ya serían intrónicas, se encuentra el cambio de una adenina a una timina. Si en lugar de un signo “+” aparece un signo “-”, se ha de localizar la variante en las posiciones anteriores desde la posición codificante.

#### Cambio en la secuencia aminoacídica

- **p.Lys29Arg**: en la posición 29 de la secuencia proteica, se ha producido un cambio de una lisina a una arginina.
- **p.Leu56\***: en la posición 56 de la secuencia proteica, se ha sustituido una leucina por un codón de parada prematuro.

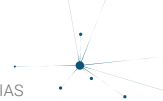
- **p.His580Profs\*2:** se ha producido un cambio de aminoácido en la posición 580, de una histidina a una prolina, y además se ha modificado la pauta de lectura dando lugar a un codón de parada en la segunda posición aminoacídica tras la posición mutada, es decir: prolina- otro aminoácido no detallado-STOP.

## 1.4 INTERPRETACIÓN DE VARIANTES

Con el aumento de información disponible gracias al avance de las tecnologías de secuenciación masiva, el diagnóstico genético presenta mayor dificultad por la complejidad en la interpretación las variantes identificadas. Resulta crucial establecer criterios comunes y herramientas que permitan alcanzar un diagnóstico genético certero, con correlaciones genotipo-fenotipo apropiadas en la medida de lo posible.

Para la interpretación de variantes, se recomienda seguir la guía publicada por “*The American College of Medical Genetics and Genomics*” (ACMG)<sup>5</sup>, cuyos criterios se recogen en las [Tablas 1 y 2](#). Empleando esta guía, las variantes son clasificadas como benigna, probablemente benigna, patogénica, probablemente patogénica, y de significado incierto (VUS, “*Variant of Uncertain Significance*”). Cabe destacar que un elevado número de las variantes genéticas resultan ser VUS para las que no existe evidencia suficiente que permita su clasificación, ni como patológica, ni como benigna (para más información [ver capítulo 2](#)). El uso de herramientas informáticas, como los algoritmos de predicción, son útiles para esclarecer el posible efecto patológico de una variante, así como las bases de datos en las que distintos grupos de investigación pueden compartir los hallazgos identificados (sirvan de ejemplo <https://platform.rd-connect.eu/> o <https://genematcher.org/>).

Cuando una variante se clasifica como benigna o probablemente benigna, en principio, se descartaría su implicación en la enfermedad como cambio causal y, por tanto, no es preciso continuar con su estudio. Las variantes que sobre todo deben explorarse son aquellas predichas como patogénicas, probablemente patogénicas, o VUS. La [Figura 1](#) muestra los pasos a seguir en su estudio que se explican con más detalle en los siguientes apartados de este capítulo. De ellos, los tres primeros se debieran aplicar en el análisis de las variantes seleccionadas como posibles mutaciones implicadas en un caso / una familia: (1) consulta de bases de datos de población sana y de mutaciones patológicas; (2) confirmación de la variante y análisis de segregación; y (3) análisis *in silico*. Si tras estos análisis, la variante seleccionada se mantiene como firme candidata a ser mutación deletérea responsable de la enfermedad, se podrían abordar estudios funcionales. Estas aproximaciones son *ad hoc* para cada mutación / gen, y se diseñan teniendo en cuenta el papel que juega el gen mutado en la fisiopatología de la enfermedad. En ocasio-



nes, el poco conocimiento que se tiene sobre el gen alterado hace imposible el diseño de un experimento a propósito de una variante específica.

**Tabla 1. Criterios para la evaluación de la patogenicidad de variantes genéticas.**

EVIDENCIA DE PATOGENICIDAD	CATEGORÍA
Muy alta	<ul style="list-style-type: none"> <li>• PVS1: variante nula en un gen en el cual la pérdida de función es un mecanismo conocido de enfermedad.</li> </ul>
Alta	<ul style="list-style-type: none"> <li>• PS1: El mismo cambio de aminoácido ha sido descrito como una variante patológica, independientemente del cambio a nivel de nucleótido.</li> <li>• PS2: <i>De novo</i> (maternidad y paternidad confirmadas) en paciente que cursa con una patología sin historia familiar previa.</li> <li>• PS3: Estudios funcionales, <i>in vitro</i> o <i>in vivo</i>, que indiquen un efecto dañino en el gen o en el producto génico como consecuencia de la variante.</li> <li>• PS4: La prevalencia de la variante en pacientes es significativamente superior en comparación a su frecuencia en población control.</li> </ul>
Moderada	<ul style="list-style-type: none"> <li>• PM1: Localizado en un <i>hot-spot</i> mutacional o un dominio funcional crítico para la funcionalidad de la proteína.</li> <li>• PM2: No se ha identificado en bases de datos de población control, o se encuentra en muy baja frecuencia en el caso de enfermedades autosómicas recesivas.</li> <li>• PM3: Para enfermedades recesivas, se detecta la variante en trans con otra variante patológica.</li> <li>• PM4: La longitud de la proteína cambia por una inserción o deleción en pauta en una región no repetitiva, o bien por la pérdida de un codón de parada.</li> <li>• PM5: Cambio de aminoácido novel, en un residuo en el que otras variantes de este tipo han sido clasificadas como patológicas.</li> <li>• PM6: Se asume <i>de novo</i>, pero no se ha confirmado la maternidad/paternidad.</li> </ul>
Probable	<ul style="list-style-type: none"> <li>• PP1: La variante cosegrega con la enfermedad en múltiples familiares afectados, en un gen con una asociación robusta a dicha patología.</li> <li>• PP2: Cambio de aminoácido en un gen que presenta una baja tasa de cambios de este tipo benignos y, además, en el que el cambio de aminoácido es un mecanismo común de enfermedad.</li> <li>• PP3: Diversas líneas de evidencia computacional dan soporte al efecto deletéreo del gen o del producto génico (conservación de secuencia, impacto en el procesamiento de transcritos, etc.).</li> <li>• PP4: El fenotipo del paciente o la historia familiar es específica para una enfermedad con una única etiología genética.</li> <li>• PP5: Fuentes reconocidas reportan la variable como patológica, pero no es accesible la evidencia para abordar una evaluación independiente.</li> </ul>

PVS: "*pathogenic very strong*"; PS: "*pathogenic strong*"; PM: "*pathogenic moderate*"; PP: "*pathogenic probable*".

**Tabla 2.** Combinación de criterios para la clasificación de variantes patológicas o probablemente patológicas.

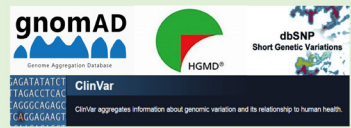
PATOLÓGICO	PROBABLEMENTE PATOLÓGICO
(i) PVS1 + <ul style="list-style-type: none"> <li>&gt;1 PS1-PS4</li> <li>&gt;2 PM1-PM6</li> <li>1 PM1-PM6 + 1 PP1-PP5</li> <li>&gt;2 PP1-PP5</li> </ul> (ii) >2 PS1-PS4                     (iii) 1 PS1-PS4 + <ul style="list-style-type: none"> <li>&gt;3 PM1-PM6</li> <li>2 PM1-PM6 + &gt;2 PP1-PP5</li> <li>1 PM1-PM6 + &gt;4 PP1-PP5</li> </ul>	(i) 1 PVS1 + 1 PM1-PM6                     (ii) 1 PS1-PS4 + 1-2 PM1-PM6                     (iii) 1 PS1-PS4 + >2 PP1-PP5                     (iv) >3 PM1-PM6                     (v) 2 PM1-PM6 + >2 PP1-PP5                     (vi) 1 PM1-PM6 + >4 PP1-PP5

PVS: "pathogenic very strong"; PS: "pathogenic strong"; PM: "pathogenic moderate"; PP: "pathogenic probable".

**Figura 1.** Pasos a seguir en el estudio de una variante candidata a ser causa genética de una enfermedad en un/a paciente.

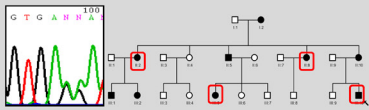
**1.- Variante genética de interés**

- Consultar bases de datos de población control
- Consultar bases de datos de variantes deletéreas



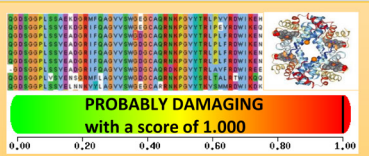
**2.- Análisis genéticos**

- Confirmar la variante en el paciente
- Análisis de segregación: estudiar familiares



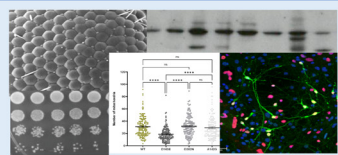
**3.- Análisis in silico**

- Predictores de patogenicidad
- Estudio de conservación del residuo
- Otros: estructura proteica, tendencia a agregar



**4.- Estudios funcionales ad hoc, entre otros,**

- Expresión de la proteína (western-blot)
- Análisis de transcritos / minigenes
- Estudios de localización subcelular





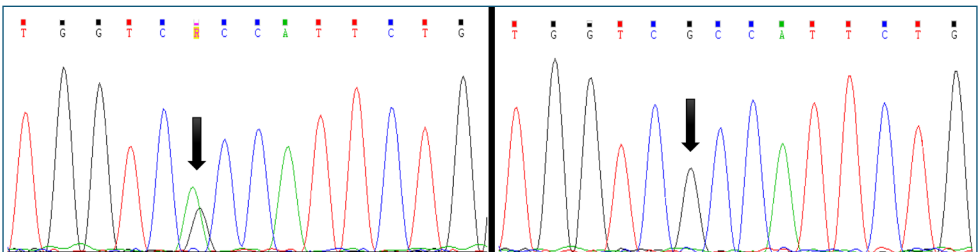
**1.4.1 Análisis genéticos adicionales**

Toda variante genética detectada debe ser estudiada posteriormente para ganar evidencias que señalen su carácter deletéreo o bien, benigno. Las herramientas basadas en secuenciación masiva proporcionan una gran cantidad de información y se debe ser cauto en su interpretación, especialmente con los grupos de enfermedades como los trastornos del movimiento que, aún siendo muchas de sus formas monogénicas, su genética es complicada<sup>6</sup>. Las técnicas actuales para la identificación de las variantes se describen en el capítulo correspondiente (Capítulo 3). A continuación, se enfatizan algunos análisis adicionales a tener en cuenta.

**1.4.1.1 Validación de la variante**

Una vez identificada la variante de interés mediante secuenciación masiva (por panel de genes, exoma o genoma), resulta indispensable validar la presencia de dicho cambio en la persona portadora, para descartar posibles artefactos inherentes a la técnica de secuenciación masiva. Para llevar a cabo dicha validación, la técnica de referencia es la tradicional secuenciación Sanger, descrita en el capítulo 3, cuyo resultado es un electroferograma, tal y como se ilustra en la Figura 2.

**Figura 2.** Ejemplo de electroferograma obtenido a partir de secuenciación Sanger de una región genómica de interés, la mutación investigada está indicada con una flecha.

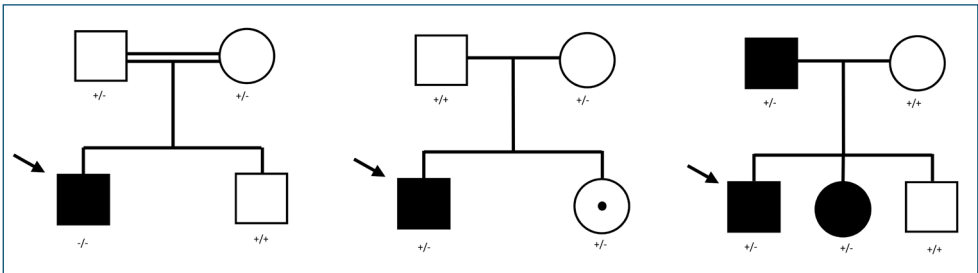


A la izquierda, paciente portador en heterocigosis de la variante, observándose dos picos: uno correspondiente al alelo de referencia (G), y otro correspondiente al alelo mutado (A). A la derecha, individuo sano sin la variante, observándose un único pico que corresponde al nucleótido de referencia (G) en homocigosis.

### 1.4.1.2 Segregación de la variante

Una vez validada la variante en la persona estudiada, los estudios de segregación permiten conocer si el cambio genético cosegrega con la enfermedad en la familia, es decir, si todos los familiares afectados son portadores de la misma mutación que el/la probando o caso índice (Figura 3. Adicionalmente en el capítulo 2, se muestran otros ejemplos de estudios de segregación). Se debe comprobar también que los familiares sanos no tienen la variante candidata. El análisis de segregación permite, además, establecer el modo de herencia de la enfermedad en la familia. Este es un aspecto a tener en cuenta cuando se sospecha de la patogenicidad de un cambio en un gen para que el que ya se ha establecido previamente un determinado modo de herencia. No deben obviarse conceptos, definidos en el glosario de términos, que pueden enmascarar la transmisión de la mutación en la familia, como la penetrancia incompleta, la pseudodominancia, etc.

**Figura 3.** Ejemplos de árboles genealógicos en los que se indica la cosegregación de la variante genética en la familia.



Ejemplos de árboles genealógicos en los que se indica la cosegregación de la variante genética en la familia. En el panel izquierdo, progenitores consanguíneos sanos, portadores en heterocigosis de la variante candidata, la transmiten a uno de sus hijos que presenta la enfermedad siguiendo una herencia autosómica recesiva. En el panel central, la madre sana es portadora en heterocigosis de una variante deletérea; la transmite tanto a su hijo como a su hija, pero solo el hijo manifiesta la enfermedad, al tratarse de un gen asociado a patología con herencia recesiva ligada al cromosoma X. En el panel derecho, el padre afectado es portador de una variante en heterocigosis y la transmite a uno de sus hijos y a su hija, por lo que en esta familia la enfermedad sigue una herencia autosómica dominante. +: alelo de referencia; -: alelo con la variante patológica; ●: portadora; los hombres se representan con círculos y los hombres con cuadrados. Los símbolos en negro corresponden a los individuos enfermos y la flecha marca quién es el probando.

### 1.4.2 Análisis de variantes en bases de datos

Una de las estrategias más empleadas en secuenciación masiva, en el contexto de enfermedades monogénicas, es el filtrado de variantes basado en su frecuencia en individuos afectados y en población control. Esta frecuencia poblacional es una de las evidencias





principales a tener en cuenta, según las recomendaciones de la ACMG para evaluar la causalidad de una variante candidata tras el filtrado<sup>5</sup>.

Las variantes que son relativamente frecuentes en la población suelen contribuir poco o nada al fenotipo clínico (ver apartado 1.2.1 Variante de un solo nucleótido). Sin embargo, las variantes noveles o con muy baja frecuencia (ver siguiente sección) tienen más opciones de tener implicaciones clínicas. Son excelentes candidatas a ser la mutación causal de trastornos mendelianos o monogénicos, que en su mayoría son enfermedades raras, y el objeto de atención del profesional de la medicina. Así pues, es crucial para la priorización e interpretación de los cambios candidatos la disponibilidad de repositorios públicos de variantes, obtenidas generalmente a partir de grandes proyectos de secuenciación de exomas o genomas en cohortes de individuos control o con diferentes patologías (Tabla 1 del anexo). Por otro lado, la existencia de bases de datos que compilan variantes genéticas asociadas a enfermedad permite identificar rápidamente aquellas cuya patogenicidad ya ha sido establecida. Estas herramientas, además, posibilitan el acceso de forma sencilla a asociaciones genotipo-fenotipo basadas en la literatura o directamente proporcionadas por los clínicos. El intercambio y la actualización de esta información son especialmente importantes en los trastornos del movimiento debido a su gran heterogeneidad genética y al solapamiento clínico entre las múltiples formas genéticas.

#### 1.4.2.1 Frecuencia de la variante candidata en población sana

Como hemos comentado, conocer la frecuencia alélica de una variante en población sana es uno de los pilares para evaluar su posible implicación en una enfermedad. Para referirse a la frecuencia alélica se emplea el concepto de frecuencia del alelo menos común (MAF, "Minor Allele Frequency"), dato que aparece asociado a cada variante en las diferentes bases de datos poblacionales. Las variantes con una MAF total (o en una subpoblación étnica) mayor del 5% son consideradas benignas por las recomendaciones de la ACMG, por lo que no merece la pena profundizar en su análisis ni deben ser incluidas en el estudio familiar puesto que, en base al conocimiento actual, no presentan utilidad clínica e incluso podrían dificultar la interpretación.

Por otro lado, se considera la variante probablemente benigna en estos casos:

- Presenta una MAF mayor de 0,05 (5%).
- La frecuencia alélica de la variante en población control es superior a lo esperado para la prevalencia de la enfermedad.
- La variante se observa en enfermedades con herencia dominante en individuos sanos a una edad en la cual la clínica debería cursar con penetrancia completa.

Alternativamente, la ausencia de la variante (o su presencia en muy baja frecuencia para enfermedades recesivas) en cohortes de individuos sanos sería indicativo de posible carácter patológico.

Teniendo en cuenta el ingente número de variantes que pueden detectarse mediante secuenciación de exoma (entre 9.000-20.000 variantes por individuo) o de genoma (entre 3-5 millones), conocer y descartar cuáles de ellas son comunes y benignas agiliza la identificación de las causales, y esto puede llevarse a cabo gracias a los repositorios públicos de variantes genéticas. Desde un punto de vista histórico, el proyecto “1000 Genomes”, fue la primera iniciativa de secuenciación del genoma de un gran número de individuos considerados sanos, cuyo objetivo era proporcionar un catálogo de la variación genética humana. El proyecto presentó sus resultados en 2015, tras la reconstrucción de los genomas de 2.504 individuos de 26 poblaciones diferentes<sup>7</sup>.

En la actualidad, la base de datos poblacional más consultada es probablemente “*Genome Aggregation Database*” o “*gnomAD*” (Tabla 1 del anexo), donde investigadores colaboran para aglutinar y estandarizar datos de una gran variedad de proyectos de secuenciación a gran escala de exoma y genoma, haciéndolos libres y fácilmente accesibles a la comunidad científica. La información proporcionada abarca a más de 100.000 individuos, con lo que la presencia de variantes de muy baja frecuencia ha sido enriquecida, reforzando así la evidencia necesaria para la interpretación de hallazgos genéticos en enfermedades raras.

Debido a la dificultad de conseguir financiación para la secuenciación de sujetos sanos exclusivamente, estos repositorios se nutren también de la información genética de cohortes de individuos con diversas patologías y que pueden servir como pseudocontroles para otras lo bastante independientes. Algunos ejemplos son el proyecto *NHLBI-GO “Exome Sequencing Project”* (cuyo objetivo de estudio fueron afecciones cardíacas, pulmonares y hematológicas) y “*The Cancer Genome Atlas (TCGA) Dataset*”. En el caso de los trastornos del movimiento, el uso de “*gnomAD*” como población de referencia es conveniente y fiable. Es cierto que quizás haya que tener una mayor cautela con las enfermedades de inicio en edad adulta, por lo que resulta muy útil la especificación del número de alelos de cada variante por rango de edad.

Otro hecho a tener en cuenta es que las diferencias en las frecuencias alélicas entre grupos de distinto origen pueden dar lugar a una disparidad en la incidencia de algunas enfermedades monogénicas. Muchos de estos recursos consideran estas singularidades incluyendo y detallando el número de alelos en varias subpoblaciones mundiales (europea, africana, latina, judía ashkenazi, etc.). Aun así, muchos grupos se encuentran poco



representados y, puesto que se ha observado una estratificación poblacional de las variantes raras, se hacen necesarios repositorios de datos genéticos de grupos más acotados como, por ejemplo, la base de datos “*Collaborative Spanish Variant Server*” (CSVS) (Tabla 1 del anexo), que recoge un total de 2.027 genomas y exomas de individuos españoles. En conjunto, todas estas bases de datos componen un mapa detallado del paisaje de la variabilidad genética humana, desde lo más común hasta lo más excepcional.

#### 1.4.2.2 ¿Variante patológica? Consulta de bases de datos de mutaciones deletéreas

Tras el filtrado de variantes en función del grado de su presencia en población control y otros parámetros, los cambios candidatos se investigan finalmente en relación a su posible implicación en el fenotipo clínico del paciente.

Una de las principales bases de datos de variantes de patologías es “*Human Gene Mutation Database*” o HGMD (Tabla 1 del anexo). Se trata de una colección de mutaciones germinales en genes nucleares que causan o están asociadas con enfermedades hereditarias, recabadas fundamentalmente de la literatura científica. Integra y estandariza la nomenclatura de las mutaciones, y ofrece además una visión global del tipo de variantes y fenotipos asociados a cada gen, indicando las fuentes bibliográficas en las que se mencionan.

“*ClinVar*” es un repositorio de libre acceso que agrupa las variantes remitidas directamente por numerosos laboratorios de diagnóstico genético y muestra su procedencia, los fenotipos clínicos asociados, las interpretaciones dadas a la variante y las evidencias en que éstas se han basado. Así, de forma sencilla puede observarse si existe consenso o, por el contrario, conflicto sobre el carácter patológico de la variante.

Un avance en el intercambio de información ha sido la creación de plataformas con apoyo bioinformático, donde los clínicos y científicos colaboradores comparten datos genéticos y descripciones clínicas, buscando confirmar o refutar asociaciones genotipo-fenotipo. Por ejemplo, la identificación de pacientes que comparten variantes en un mismo gen y que tienen características fenotípicas similares apoya su naturaleza deletérea y permite el descubrimiento de nuevos genes responsables de trastornos. Estas iniciativas son indispensables para acelerar el conocimiento especialmente en enfermedades raras. Algunos ejemplos son “*RD-Connect Project*” (Europa) (<https://rd-connect.eu>), “*MyGene2*” (EE. UU.) (<https://mygene2.org>) o “*DECIPHER*” (Reino Unido).

Por supuesto, existen bases de datos específicas cuyo contenido se centra en determinados trastornos o genes, algunas de libre acceso como “*GRIN database*” (<https://alf06.uab>).

es/grindb), un recurso para la interpretación de variantes que afectan a receptores de glutamato y que pueden conducir a trastornos del neurodesarrollo, o “Gene4PD” (<http://gene.med.tech/gene4pd>), especializada en enfermedad de Parkinson. Para emplear todas estas herramientas de forma adecuada es importante estar familiarizado con la nomenclatura de las variantes, considerar la versión de genoma de referencia que se está empleando, y tener en cuenta que existen mutaciones “clásicas” cuya nomenclatura puede haberse modificado al conocerse nuevos transcritos del gen o modificaciones en las normas que se siguen en su nomenclatura. Es igualmente relevante considerar la frecuencia de su actualización y comprender que la interpretación de las variantes depende mucho de la evidencia en el momento del análisis genético y, con el tiempo, es susceptible de revisión.

## 1.5 EVALUACIÓN *IN SILICO* DE PATOGENICIDAD

Existen distintos algoritmos de predicción *in silico* que permiten estimar la patogenicidad de las variantes genéticas candidatas. En la [Tabla 2 del anexo](#) se listan algunas de estas herramientas. Además, se dispone de programas informáticos que proporcionan información adicional útil para dilucidar si una variante es deletérea o no.

- **Conservación del residuo**

La conservación entre especies, tanto del nucleótido como del residuo aminoacídico afectado por la mutación, se puede evaluar mediante software como “Clustal Omega” (<https://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalo/>), que es un programa capaz de generar alineamientos de secuencias múltiples. Si se introducen una serie de secuencias que correspondan al gen o proteína de interés en distintas especies, es posible compararlas y analizar cómo de conservada evolutivamente se encuentra la región estudiada, a nivel de posición de la mutación o del conjunto de un dominio funcional.

- **Estudio del efecto de la mutación en la estructura de la proteína**

Algunos de los algoritmos expuestos en la [Tabla 2 del anexo](#) consideran, para predecir el efecto de una variante genética sobre la proteína codificada, las propiedades físico-químicas de los aminoácidos implicados. Sin embargo, la repercusión de las variantes va a depender además de la organización espacial de los aminoácidos, pudiendo afectar a la estabilidad de las proteínas o a su función, según el dominio estructural en el que se localicen.

Existen herramientas sencillas, como “Cupsat” (<http://cupsat.tu-bs.de/>), que tienen en cuenta la estructura secundaria de la proteína y, simplemente introduciendo la mutación, predicen si se puede desestabilizar. Por otro lado, “PremPS” (<https://lilab.jysw.suda>



edu.cn/research/PremPS/) y "PyMOL" (<https://pymol.org/2/>) son recursos más complejos que consideran las estructuras terciarias y cuaternarias de las proteínas y posibilitan su visualización tridimensional interactiva, permitiendo modelar formas mutantes que se compararán con la salvaje. Así, por ejemplo, se podría observar si se crea un obstáculo espacial para la unión del sustrato en el centro catalítico de un enzima, o si se afecta la región de contacto entre dos subunidades de una macromolécula.

- **Análisis de la tendencia de formar agregados proteicos de la proteína mutada**

La posible patogenicidad de un cambio de aminoácido puede evaluarse mediante algoritmos predictores de la tendencia de las proteínas para formar agregados. Una opción es "Aggrescan" (<http://bioinf.uab.es/aggrescan/>), un portal en el que, introduciendo la secuencia de la proteína de interés, se obtiene un perfil de aminoácidos entre los que se destaca aquellas regiones con tendencia a formar agregados. Si la mutación causa la creación o desaparición de uno de estos perfiles, podría ser indicativo de que la proteína mutada tiende a formar agregados.

- **Expresión de la proteína/mRNA**

La base de datos "The Human Protein Atlas" (<https://www.proteinatlas.org/>) puede emplearse para conocer el perfil de expresión del gen de interés, como RNA o como proteína, en distintos tejidos y líneas celulares. Se proporciona amplia información de la proteína, como su localización subcelular, el posible enriquecimiento en alguno de los tejidos, la función biológica, su asociación a patología, etc.

## 1.6 ESTUDIOS FUNCIONALES

A pesar del gran progreso en el desarrollo de las técnicas de secuenciación masiva y bioinformáticas, las tasas de diagnóstico genético en la mayoría de series de pacientes con trastornos del movimiento y otros grupos de enfermedades muestran un éxito de alrededor del 50%<sup>8,9</sup>.

La interpretación de variantes raras de significado clínico incierto (VUS) se ha convertido en uno de los principales retos, haciendo cada vez más necesario complementar los hallazgos genéticos con aproximaciones experimentales que aporten evidencias concluyentes respecto a su patogenicidad<sup>10</sup>.

Expondremos aquí algunos de los ensayos funcionales que pueden tener un impacto positivo en el diagnóstico genético, centrándonos en aquellos con unos tiempos de espera asequibles para el paciente y el laboratorio de investigación. Podemos analizar la repercusión

sión de las variantes a partir de material biológico procedente del paciente, como sangre periférica o fibroblastos derivados de biopsia de piel obtenida con técnicas mínimamente invasivas. Sin embargo, no se debe olvidar que muchos de los genes implicados en trastornos del movimiento se expresan de forma específica en sistema nervioso y es posible que otros tejidos no sean válidos para investigar el efecto de la variante patológica en el mecanismo de enfermedad. En estos casos son especialmente útiles los estudios *in vitro* empleando modelos celulares en cultivo, donde se expresa de forma exógena y transitoria el gen modificado con la variante de interés.

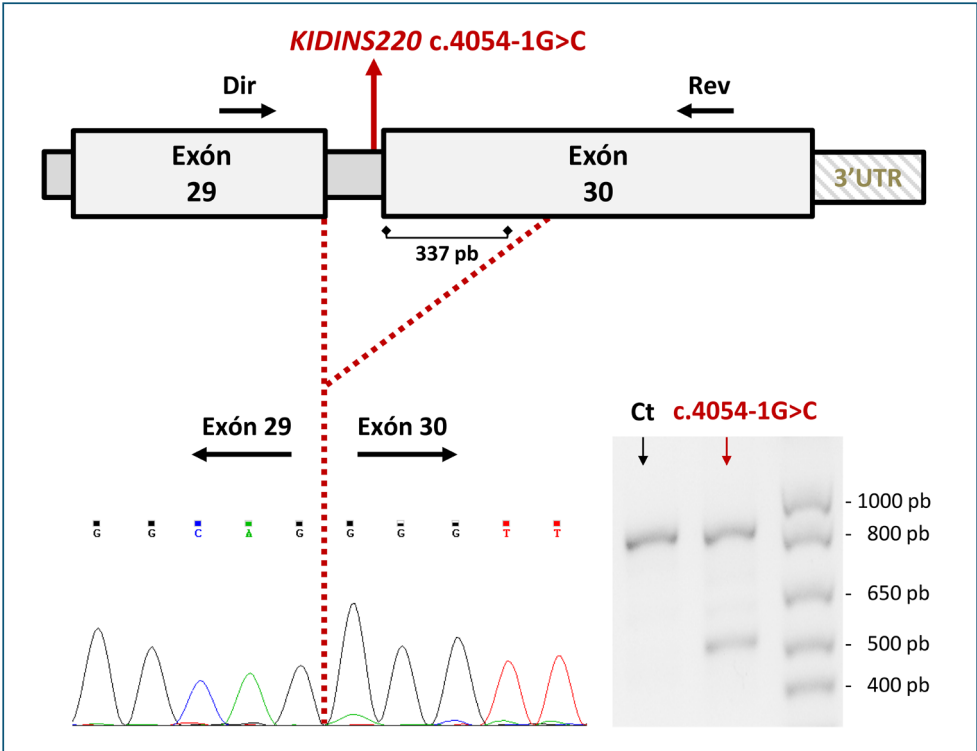
### **1.6.1 Análisis de mutaciones de *splicing* mediante minigenes y análisis de transcritos**

Para que se lleve a cabo adecuadamente la síntesis proteica, es necesario eliminar del transcrito del mRNA precursor los intrones y unir los exones entre sí, mediante el mecanismo del "*splicing*" generando el mRNA maduro. Algunas variantes alteran regiones reguladoras de este proceso provocando la aparición de transcritos aberrantes (perdiendo un exón o reteniendo parte de un intrón, por ejemplo) y proteínas anómalas. Este mecanismo es especialmente habitual en determinados genes como por ejemplo *CPLANE1* (MIM 614571) o *POLR3A* (MIM 614258). El estudio de este tipo de mutaciones es posible empleando aproximaciones sencillas mediante análisis de transcrito o minigenes<sup>11</sup>.

A partir de sangre periférica del paciente se puede extraer el mRNA, retrotranscribirlo a DNA codificante e investigar mediante PCR ("*Polymerase Chain Reaction*") los transcritos generados y compararlos con los de referencia. Generalmente, este tipo de ensayos se utilizan cuando las variantes (que suelen ser intrónicas, sinónimas o sin sentido) afectan las regiones adyacentes a las uniones intrón-exón y/o los predictores *in silico* pronostican una alteración del "*splicing*". Cuando los niveles de expresión del gen en sangre son muy bajos o inexistentes se puede realizar el estudio mediante minigenes. Estas construcciones consisten en un inserto genómico, que contiene la variante, clonado en un plásmido con señales de "*splicing*" que nos permitirán ver el patrón de transcripción del fragmento de interés en un modelo celular *in vitro*. La Figura 4 muestra un ejemplo de análisis de transcrito de una mutación en *KIDINS220* (MIM 615759) asociado con un fenotipo de paraparesia espástica autosómica dominante similar al descrito por Zhao *et al.*<sup>12</sup>.



**Figura 4.** Análisis funcional de una mutación de "splicing".



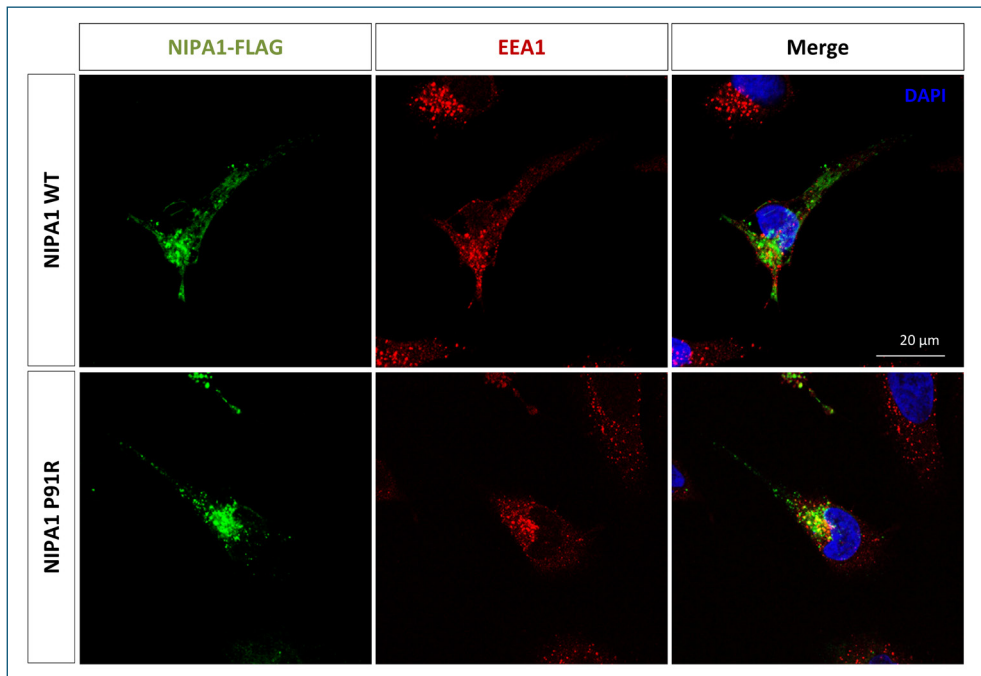
A partir de sangre periférica de un paciente que porta en heterocigosis la mutación c.4054-1G>C en *KIDINS220* se detecta, además del transcrito de referencia, del mismo tamaño que el de la muestra control (Ct), un transcrito alternativo de menor tamaño debido a la pérdida de 337 pares de bases al comienzo del exón 30. El alelo mutado daría lugar a una proteína alterada por pérdida de la pauta de lectura.

### 1.6.2 Expresión de proteína mutada en fibroblastos/modelo celular

Algunas variantes ocasionan en la proteína resultante no solo una alteración en su función sino además su degradación total o parcial, como en el caso de las que pueden dar lugar a un codón de parada prematuro (mutaciones sin sentido o por cambio de pauta de lectura) o alteran la estabilidad de su estructura y conformación, como sucede con algunas variantes de cambio de sentido y sinónimas. Esta ausencia o disminución en su expresión respecto a la proteína salvaje es un indicativo de patogenicidad de la variante y puede ser detectada directamente en células procedentes del paciente o *in vitro*, mediante transfección de la región codificante del gen insertada en un plásmido en modelos celulares para su sobreexpresión. Las técnicas más empleadas para detectar los niveles de proteína están basadas en la detección de anticuerpos que se unen de forma específica a

un epítipo de la proteína. La detección puede visualizarse y cuantificarse mediante reacciones de quimioluminiscencia o de fluorescencia, directamente sobre células fijadas en un soporte para su posterior análisis microscópico, o a partir de extractos celulares transferidos a una membrana en el caso del *western-blot*. La ausencia de proteína codificada por *FBXO7* (MIM 260300), asociado a una forma mendeliana de Parkinson con herencia autosómica recesiva, detectada por *western-blot* en fibroblastos de la paciente condujo al estudio de su posible degradación, estableciéndose que la mutación p.S123\* en homocigosis produciría una proteína aberrante que era eliminada por el mecanismo de protección celular "*non-sense mediated decay*"<sup>13</sup>.

**Figura 5.** Imagen de microscopía confocal que muestra la sobreexpresión en células HeLa de la proteína NIPA1 en su forma nativa, en el panel superior, y con la mutación p.P91R (panel inferior).



El triple marcaje muestra la disposición subcelular del núcleo (azul), endosomas (rojo) y la etiqueta que se expresa unida a NIPA1 exógeno (verde). La suma de la fluorescencia roja y verde da lugar a una señal amarilla en la muestra con la proteína mutante que representa la colocalización de NIPA1 p.P91R con endosomas. Barra de escala = 20 µm.





### 1.6.3 Estudios de localización subcelular

Las proteínas mutantes pueden ver alterada su ubicación presentándose en estructuras o compartimentos celulares que no les corresponden como, por ejemplo, es el caso de aquellas en las que se han inhabilitado las señales de localización nuclear o mitocondrial necesarias para que las proteínas recién sintetizadas se dirijan a esos orgánulos donde desempeñarán su función. Por otro lado, aunque la localización de la proteína sea la correcta, si su estructura es inestable la célula tiende a eliminarla y su localización o acúmulo en estructuras relacionadas con la degradación y reciclaje de proteínas es un signo indirecto de su anomalía.

Mediante técnicas de inmunofluorescencia y con anticuerpos marcados con fluoróforos diferentes que se unen de forma específica a la proteína investigada o al orgánulo de interés, se observa mediante microscopía de fluorescencia la coincidencia de ambas señales, es decir, la posible colocalización de una proteína con estructuras subcelulares (Figura 5).

### 1.6.4 Estudios de expresión génica

En ocasiones, las variantes con efectos deletéreos no afectan a las zonas codificantes del gen sino a regiones reguladoras, como los promotores, pudiendo disminuir la expresión del gen si se alteran sitios esenciales de unión de factores que modulan el proceso de transcripción. Para investigar estas variantes se utilizan ensayos *in vitro* en modelos celulares, transfectando vectores que contienen un gen reportero que codifica una proteína cuya actividad es fácilmente medible y que se transcribe bajo el control del promotor en el que se encuentra la variante. Uno de los sistemas más empleados es la determinación de la luminiscencia debida a la actividad de la proteína luciferasa, que reflejará la capacidad de activación transcripcional del promotor analizado y, por lo tanto, de la participación de la variante en la regulación de la expresión del gen. La sustitución c.-447C>T localizada en la región promotora de *ATP7B* (MIM 606882) implicada en la enfermedad de Wilson, causaría una disminución de la actividad del gen en un 25% comparado con la actividad del gen de referencia tal y como se demostró mediante ensayo de luciferasa<sup>14</sup>, lo que apoyaría su patogenicidad.

### 1.6.5 Análisis de actividad enzimática

Cuando la variante a investigar afecta a un gen que codifica un enzima con función conocida y sospechamos que puede verse modificada su estructura (especialmente su sitio activo) tenemos la oportunidad de examinar *in vitro* si su actividad se ve comprometida.

Los resultados más robustos respecto a la patogenicidad de la variante se obtienen produciendo el enzima de interés y sus formas mutantes en sistemas de expresión de proteínas recombinantes, establecidos en líneas celulares o microorganismos como bacterias o levaduras. Tras la purificación de estas proteínas, pueden emplearse diversos métodos basados en espectrofotometría, colorimetría o fluorescencia, entre otros, para monitorizar el producto resultante de la actividad catalítica al añadirle su sustrato. Así, por ejemplo, la producción en *Escherichia coli* de la proteína humana urocánica y su forma mutada p.R450C, permitió determinar la ausencia de actividad catalítica de esta última mediante espectrofotometría tras la adición de su sustrato, el ácido urocánico. Este hallazgo respaldó su implicación en un caso de aciduria urocánica (MIM 276880), trastorno metabólico extremadamente raro del metabolismo de las histidinas, que cursa con ataxia y discapacidad intelectual<sup>15</sup>.

## 1.7 CONCLUSIONES

El diagnóstico genético se ha visto enormemente favorecido en los últimos años por el avance de las técnicas de secuenciación masiva. No obstante, este aumento en la cantidad de información disponible dificulta también la gestión e interpretación de los datos. Respecto al ámbito específico de la investigación en trastornos del movimiento y enfermedades neurodegenerativas, además, es frecuente el solapamiento tanto clínico como genético, dificultando en gran medida el diagnóstico. El desarrollo de las herramientas mostradas en este capítulo pretende facilitar esta compleja tarea. Cuando no se conoce la patogenicidad de una alteración genética, la priorización de cambios candidatos ha de realizarse siguiendo las recomendaciones del ACMG y, para ello, es necesario manejar algoritmos de predicción *in silico*, bases de datos poblacionales y ensayos funcionales, entre otros. Se hace evidente que la clasificación de una variante como patológica, probablemente patológica o de significado incierto requiere de un abordaje complejo y multidisciplinar, con el fin de obtener la suficiente evidencia y alcanzar los criterios establecidos.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Cooper DN, Chen JM, Ball EV, et al. Genes, mutations, and human inherited disease at the dawn of the age of personalized genomics. *Hum Mutat.* Jun 2010;31(6):631-655.
2. Mitsuhashi S, Matsumoto N. Long-read sequencing for rare human genetic diseases. *J Hum Genet.* Sep 27 2019.
3. Logsdon GA, Vollger MR, Eichler EE. Long-read human genome sequencing and its applications. *Nat Rev Genet.* Oct 2020;21(10):597-614.



4. Alkan C, Coe BP, Eichler. Genome structural variation discovery and genotyping. *Nature Rev. Genetics* May 2011; 12(5): 363-376.
5. Richards S, Aziz N, Bale S, et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med.* May 2015;17(5):405-424.
6. Olgiati S, Quadri M, Bonifati V. Genetics of movement disorders in the next-generation sequencing era. *Mov Disord.* Apr 2016;31(4):458-470.
7. Genomes Project C, Auton A, Brooks LD, et al. A global reference for human genetic variation. *Nature.* Oct 1 2015;526(7571):68-74.
8. Sun M, Johnson AK, Nelakuditi V, et al. Targeted exome analysis identifies the genetic basis of disease in over 50% of patients with a wide range of ataxia-related phenotypes. *Genet Med.* Jan 2018;21(1):195-206.
9. Wright CF, West B, Tuke M, et al. Assessing the Pathogenicity, Penetrance, and Expressivity of Putative Disease-Causing Variants in a Population Setting. *Am J Hum Genet.* Feb 7 2018;104(2):275-286.
10. Brnich SE, Abou Tayoun AN, Couch FJ, et al. Recommendations for application of the functional evidence PS3/BS3 criterion using the ACMG/AMP sequence variant interpretation framework. *Genome Med.* Dec 31 2019;12(1):3.
11. Anna A, Monika G. Splicing mutations in human genetic disorders: examples, detection, and confirmation. *J Appl Genet.* Aug 2018;59(3):253-268.
12. Zhao M, Chen YJ, Wang MW, et al. Genetic and Clinical Profile of Chinese Patients with Autosomal Dominant Spastic Paraplegia. *Mol Diagn Ther.* Oct 19 2019;23(6):781-789.
13. Correa-Vela M, Lupo V, Montpeyo M, et al. Impaired proteasome activity and neurodegeneration with brain iron accumulation in FBX07 defect. *Ann Clin Transl Neurol.* Aug 6 2020;7(8):1436-1442.
14. Sanchez-Monteagudo A, Alvarez-Sauco M, Sastre I, et al. Genetics of Wilson disease and Wilson-like phenotype in a clinical series from eastern Spain. *Clin Genet.* May 2020;97(5):758-763.
15. Espinos C, Pineda M, Martinez-Rubio D, et al. Mutations in the urocanase gene UROC1 are associated with urocanic aciduria. *J Med Genet.* Jun 2009;46(6):407-411.

## Agradecimientos

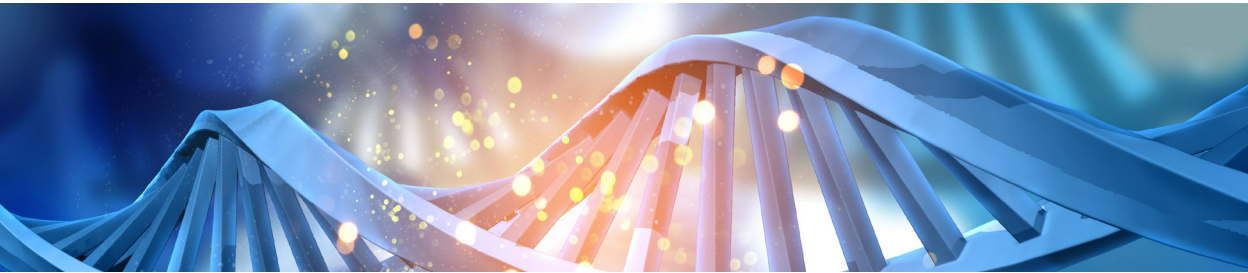
Quisiéramos expresar nuestro agradecimiento a todo el equipo del laboratorio de Enfermedades Raras Neurodegenerativas del CIPF (Centro de Investigación Príncipe Felipe), a nuestras compañeras por su disposición permanente a colaborar y facilitar el trabajo. Igualmente agradecer a las entidades que nos financian: Instituto de Salud Carlos III (PI18/00147, PI21/00103), Generalitat Valenciana (PROMETEO/2018/135), Fundació Per Amor a l'Art (FPAA-Wilson). Isabel Hinarejos disfruta de un contrato predoctoral financiado por el Instituto de Salud Carlos III (FI19/00072).





## CAPÍTULO 2

# Interpretación de las variantes de significado incierto. ¿Qué hacer ante estos hallazgos? Consejo genético



### Autores

Pilar Gómez-Garre  
María Teresa Perrián

### Centro

Unidad de Trastornos del Movimiento, Servicio de Neurología y Neurofisiología Clínica,  
Instituto de Biomedicina de Sevilla,  
Hospital Universitario Virgen del Rocío/CSIC/Universidad de Sevilla.  
Centro de Investigación Biomédica en Red sobre enfermedades Neurodegenerativas  
(CIBERNED), Madrid.





## 2.1 INTRODUCCIÓN

En la actualidad, existe una tendencia creciente a utilizar las tecnologías de secuenciación de nueva generación (NGS) para complementar el diagnóstico y pronóstico clínico e incluso para la elección del tratamiento en el ámbito de los trastornos del movimiento de etiología genética. El continuo desarrollo de las tecnologías de secuenciación ha permitido la secuenciación rápida y económica de numerosos genes al mismo tiempo, incluso del exoma y del genoma completos (WES y WGS, siglas del inglés de “*Whole Exome Sequencing*” y “*Whole Genome Sequencing*”, respectivamente), y ha hecho que estos métodos sean cada vez más accesibles en la práctica clínica. El objetivo de estos estudios es encontrar una variante patogénica en un gen conocido como causante de la enfermedad en un paciente con un fenotipo compatible. Sin embargo, debido a la falta de asociaciones fenotipo-genotipo robustas y a la gran cantidad de variantes únicas identificadas a través de estudios WES (alrededor de 20-90000 variantes por individuo) y WGS (alrededor de 3-5 millones), el proceso de interpretación de variantes se ha convertido en el cuello de botella del diagnóstico molecular<sup>1</sup>. Uno de los principales problemas es la detección de un número creciente de variantes de significado incierto, conocidas como VSC, VUS, o VOUS (siglas de Variante Sin Clasificar y del inglés “*Variants Of Unknown Significance*”, respectivamente), de las que se desconoce su significado clínico. Esta situación se complica aún más cuando se abordan enfermedades complejas en las que se debe tener en cuenta el efecto de múltiples variantes en diversos genes para proporcionar un perfil genético más preciso. Así, es muy frecuente que el resultado de un test de diagnóstico genético solicitado al paciente como prueba complementaria resulte ser no informativo; es decir, no se haya identificado ninguna variante genética que pueda explicar el cuadro clínico del paciente.

## 2.2 VARIANTES DE SIGNIFICADO INCIERTO, ¿QUÉ SON?

En el año 2015, el “*American College of Medical Genetics*” (ACMG) junto con la Asociación de Patología Molecular (AMP) presentaron unas guías para la interpretación y clasificación de variantes en base a su probabilidad de causar una determinada enfermedad<sup>2</sup>. Actualmente, estas recomendaciones son ampliamente usadas en los laboratorios de diagnóstico genético de todo el mundo. Estas guías establecen unos criterios de clasificación que presentan distintos grados de evidencia de patogenicidad y benignidad de forma que las variantes se clasifican en 5 categorías: patogénicas, probablemente patogénicas, VUS, probablemente benignas y benignas (Tabla 1). Se consideran como responsables de una enfermedad las variantes que son clasificadas en las categorías “patogénica” y “probablemente patogénica”, y que se localizan en genes bien establecidos como responsables del fenotipo del paciente. El resto de categorías carecen de valor diagnóstico (para más información ver capítulo 1).

Las VUS son aquellas variantes en las cuales no se puede concluir su relación con la enfermedad por diversas razones; así, aparecen cuando: i) las variantes se encuentran en genes relacionados con la patología de interés pero no existen evidencias suficientes para confirmar o descartar su patogenicidad, ii) se encuentran en genes que codifican para proteínas cuya función es desconocida (aún son potencialmente candidatas) pero la naturaleza del cambio en el ADN sugiere que podría afectar a su función, o iii) las variantes parecen tener un efecto en genes causantes de enfermedades conocidas pero no relacionadas con la patología de estudio.

Las VUS suelen aparecer en los informes de diagnóstico genético cuando no se ha identificado ninguna variante patogénica/probablemente patogénica y si además se localizan en un gen que está asociado al fenotipo que presenta el paciente. Sin embargo, su presencia en los informes supone un gran problema, ya que genera una gran incertidumbre diagnóstica, complicando aún más un proceso tan complejo como es el asesoramiento genético.

**Tabla 1. Clasificación de variantes (Tabla adaptada de Mahon, 2015).**

CLASIFICACIÓN	DEFINICIÓN	IMPLICACIÓN CLÍNICA
Variante benigna	Evidencia muy fuerte de que el cambio no está asociado con una mayor susceptibilidad de desarrollar la enfermedad. Estos cambios pueden detectarse en las pruebas genéticas pero no se reportan en los informes rutinarios.	No realizar pruebas genéticas a los familiares de riesgo. El manejo clínico se basa en los antecedentes personales y familiares, pero no en los resultados de las pruebas genéticas.
Variante probablemente benigna	Evidencia fuerte de que el cambio no está asociado con una mayor susceptibilidad a desarrollar la enfermedad.	No realizar pruebas genéticas a los familiares de riesgo. El manejo clínico se basa en los antecedentes personales y familiares, pero no en los resultados de las pruebas genéticas.
Variante de significado incierto	Evidencia limitada y contradictoria sobre si el cambio está asociado con una mayor susceptibilidad de desarrollar la enfermedad.	Los estudios de segregación pueden ayudar a resolver el significado clínico de la variante. El manejo clínico se basa en los antecedentes personales y familiares, pero no en los resultados de las pruebas genéticas.
Variante probablemente patogénica	Evidencia fuerte de que el cambio aumenta el riesgo de desarrollar la enfermedad. Se necesita más evidencia para ser clasificada como patogénica.	Son consideradas para el manejo clínico de la enfermedad. Se pueden ofrecer pruebas genéticas a los familiares de riesgo.
Variante patogénica	Evidencia suficiente de que el cambio es capaz de aumentar el riesgo de desarrollar la enfermedad.	Son consideradas para el manejo clínico de la enfermedad. Se pueden ofrecer pruebas genéticas a los miembros de la familia de riesgo.





## 2.3 MANEJO DE LAS VARIANTES DE SIGNIFICADO INCIERTO

Cuando los médicos reciben un informe genético no concluyente en el que se reportan VUS se plantean una serie de preguntas: ¿Y ahora qué?, ¿se deben comunicar estos resultados a los pacientes?, etc. Estas preguntas son de gran importancia a la hora del consejo genético y suponen un desafío para los genetistas, pero aún más para los profesionales de la salud no expertos en genética, quienes se enfrentan cada vez más a un mayor número de pruebas genéticas y, por lo tanto, a resultados en los que se reportan VUS en la práctica clínica.

### 2.3.1 ¿Y ahora qué?

Según las pautas de clasificación de variantes del ACMG/AMP, las VUS no deben ser consideradas en la toma de decisiones clínicas (Tabla 1). En su lugar, se deben invertir esfuerzos para intentar reclasificar dichas variantes en benignas o patogénicas. Este proceso puede ser laborioso y estar fuera del ámbito competencial del médico. Sin embargo, la clasificación clínica de las variantes genéticas es indispensable si se quiere dar un consejo genético de calidad y hay varias estrategias que el clínico puede llevar a cabo para contribuir a alcanzar ese objetivo<sup>3</sup>. Estas estrategias se han revisado en el capítulo anterior (ver sección 1.4 Interpretación de variantes) y comentamos aquí algunos puntos importantes:

- Lo deseable sería que dispusiese de acceso a un genetista de referencia que pueda dirigir los análisis y estudios precisos para el estudio de las VUS, pero esto no siempre es posible.
- Consulta de bases de datos de variantes. Uno de los primeros pasos vendría de la mano de revisar si la variante ya está descrita. Aunque esta información suele estar reflejada en los informes, lo cierto es que una de las características principales de estos estudios genéticos no concluyentes es que deben ser reanalizados periódicamente. Una fuente de información útil a la hora de evaluar la patogenicidad de las variantes son las bases de datos que llevan asociadas clasificaciones clínicas rigurosas. Ejemplo de ello es la base de datos ClinVar ([www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/)), la cual es una herramienta on-line del NCBI que combina distintas fuentes de información sobre variantes genéticas y su relación con las enfermedades humanas<sup>4</sup>. En ella, la clasificación va acompañada del nivel de confianza de dicha clasificación, expresado mediante un código de estrellas. Una estrella implica que la clasificación está respaldada por un único laboratorio ("submitter"), o bien que distintos laboratorios discrepan acerca de la clasificación de la variante. Dos estrellas implica que la clasificación está respaldada por varios laboratorios. Tres estrellas implica que un panel de expertos designados por ClinVar ha revisado dicha clasificación. Por último, cuatro estrellas implica que la clasificación está universalmente reconocida

e incluida en las guías de manejo clínico. Sin embargo, es importante reconocer que los datos poblacionales disponibles en las bases de datos pueden no ser lo suficientemente robustos para inferir la patogenicidad de una variante en un individuo ya que la patogenicidad puede depender del contexto, estando influenciada por factores no genéticos<sup>5</sup>.

- Otras fuentes a consultar han sido descritas en el capítulo 1 del manual y se sintetizan en la [tabla 1](#) del anexo.
  
- Evaluación *in silico* de la patogenicidad. Las herramientas de predicción *in silico* son algoritmos diseñados para predecir el impacto funcional de la variante basados en la conservación evolutiva, la estructura de proteínas y/o la homología de secuencias. La primera generación de estos algoritmos generalmente se enfocan en características específicas. Ejemplo de ellos son las herramientas SIFT (del inglés “*Sorts Intolerant From Tolerant*”) y PolyPhen-2 (del inglés “*Polymorphism Phenotyping 2*”), las cuales estiman el efecto de una sustitución de nucleótidos en la estabilidad y función de la proteína, o bien “*MutationTaster*” y “*MutationAssesor*”, que llevan a cabo una medición del grado de conservación en posiciones específicas del aminoácido.
  
- En la actualidad no existe un consenso sobre qué herramientas *in silico* o cuántas se deben usar. Es por ello que ha surgido una segunda generación de herramientas de predicción que combina e integra información derivada de múltiples algoritmos los cuales evalúan diferentes características como posibles mecanismos que conducen a la patogénesis. Estas herramientas se denominan generalmente metapredicadores<sup>6</sup> (para más información sobre estudios *in silico*, revisar el [capítulo 1](#) del manual).
  
- Estudios de segregación. La forma de seguimiento más común son los estudios de segregación en familias, que consisten en analizar si la variante está presente en otros miembros de la familia afectados y no afectados. Estos estudios tienen a su favor que las evidencias obtenidas son las más directas y menos ambiguas. Sin embargo, presentan varios problemas ya que pueden suponer mucho tiempo y trabajo, depende de la cooperación y del consentimiento de los miembros de la familia, y además la mayoría de las familias no tienen un tamaño suficiente para este tipo de análisis. Los revisamos en más detalle a continuación de forma complementaria a lo comentado en [capítulo 1](#).
  
- Estudios funcionales. Otra alternativa es solicitar la realización de ensayos adicionales que puedan determinar las consecuencias funcionales de una variante, o la realización de determinadas pruebas bioquímicas. Los resultados obtenidos suelen ser también bastante concluyentes, pero, por lo general, no están disponibles en la práctica clínica. Estos estudios han sido descritos en el capítulo previo.



## Estudios de segregación

Una de las evidencias más directas para obtener información sobre las variantes genéticas son los análisis de segregación, los cuales pueden ayudar a evaluar la patogenicidad de las mismas. Este análisis consiste en el estudio de los familiares del probando, tanto afectados como sanos, para determinar si la variante segrega con la enfermedad o se hereda de forma independiente. De hecho, la segregación de una variante con la enfermedad se incluye como parte de las directrices del ACMG/AMP para la clasificación de variantes<sup>7</sup>. Aunque el análisis de cosegregación es un método robusto, este análisis consiste en determinar si una variante se correlaciona con la enfermedad en una familia con mayor frecuencia de la que se esperaría al azar; por tanto, su poder estadístico depende del número de individuos genotipados en el pedigrí, de la distancia de la relación entre los individuos afectados, es decir, si son familiares de primer, segundo grado, etc, así como de la edad mínima de inicio de la enfermedad en los individuos afectados. El principal desafío del análisis de segregación es invertir tiempo y esfuerzo para conseguir un pedigrí lo suficientemente grande para alcanzar un poder estadístico alto. Se desconoce el número de miembros necesarios para determinar la segregación y el alcance del estudio médico necesario para las personas afectadas y no afectadas<sup>8</sup>.

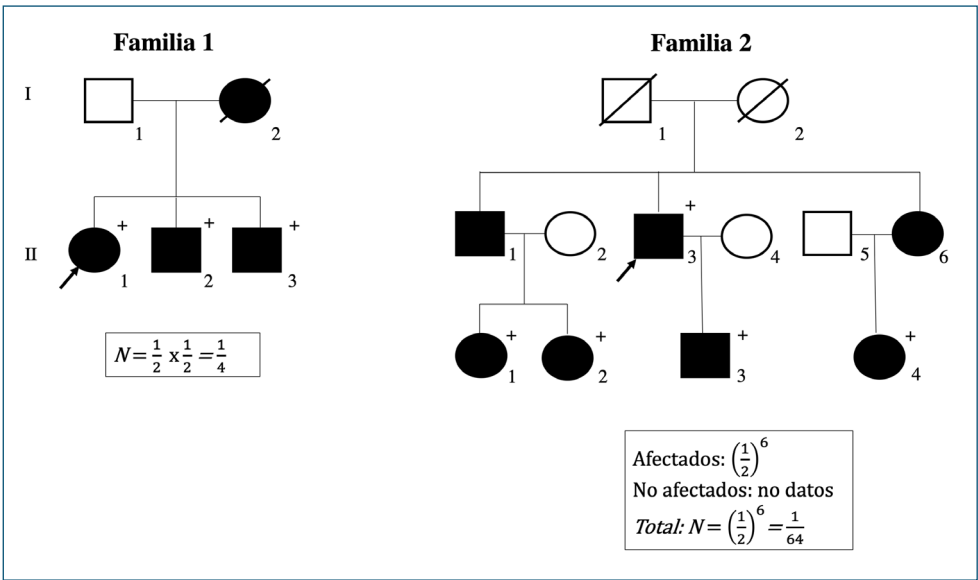
Existen métodos estadísticos sólidos para cuantificar la evidencia de segregación en cualquier gen y enfermedad, sin embargo éstos requieren del uso de herramientas que son complejas de usar sin una formación sólida en estadística y bioinformática aplicadas a la genética. Es por ello que se han propuesto estrategias para simplificar el análisis cuantitativo para que los profesionales de la salud sin esta formación puedan estimar las estadísticas de segregación.

La **cuantificación de la segregación** según el número de miembros afectados y familias no emparentadas ha llevado a proponer tres categorías:

- Débil ( $\geq 3$  individuos afectados con un patrón de herencia dominante;  $\geq 2$  individuos con 2 variantes raras en trans con herencia recesiva).
- Moderada ( $\geq 6$  individuos con herencia dominante o  $\geq 3$  con herencia recesiva en al menos dos familias).
- Fuerte ( $\geq 10$  individuos con herencia dominante o  $\geq 5$  con herencia recesiva en más de dos familias).

También, se puede implementar un cálculo simplificado utilizando el número de individuos afectados con herencia autosómica dominante. Este método calcula la probabilidad de cosegregación observada,  $N = (\frac{1}{2})^m$ , donde  $m$  es el número de meiosis de la variante de interés en una familia. Por ejemplo, si los únicos datos disponibles son que un probando y un padre, ambos afectados, portan la variante para un trastorno dominante, dado que el probando es portador, la probabilidad de que el padre afectado también lo sea es  $(\frac{1}{2})^1 = (\frac{1}{2})$ , ya que se observa una sola meiosis informativa para la segregación. Cabe señalar también que la ausencia de la variante en un individuo no afectado es información de cosegregación (Figura 1).

**Figura 1. Ejemplo de cuantificación de la segregación según el número de miembros afectados.**



Se establecen tres niveles de evidencia según el número de sujetos en los que la variante está ausente<sup>9</sup>:

- "Supporting" o de apoyo ( $\leq 1/8$  en una sola familia,  $\leq 1/4$  en >1 familia).
- Moderada ( $\leq 1/16$  en una sola familia,  $\leq 1/8$  en >1 familia).
- Fuerte ( $\leq 1/32$  en una sola familia,  $\leq 1/16$  en >1 familia)



Los estándares del ACMG-AMP para la clasificación de variantes permiten que los datos de cosegregación se incluyan en la clasificación de variantes, pero no proporcionan orientación sobre cómo incorporar los resultados cuantitativos. Por ejemplo, la no segregación con la enfermedad se considera una evidencia fuerte frente a la patogenicidad de la variante, sin embargo, no se describe en qué consiste la no segregación para enfermedades de penetrancia incompleta o de inicio en el adulto.

### **2.3.2 ¿Deben comunicarse los resultados de las VUS a los pacientes?**

Esta es otra de las grandes cuestiones que plantean las VUS en la práctica clínica. Lo primero es intentar reclasificar las VUS siguiendo los pasos descritos anteriormente para finalmente catalogarlas como patogénicas o benignas. Si, a pesar de los esfuerzos, la variante sigue clasificándose como VUS, se tendría que tener en consideración lo siguiente:

- Existe un consenso generalizado en el que se establece que una vez que los laboratorios reportan las VUS a los médicos, éstos deben informar a los pacientes de dichos resultados. Sin embargo, la forma en la que se transmiten estos resultados es de vital importancia ya que añaden un alto grado de incertidumbre y pueden provocar cierto grado de estrés emocional en el paciente y sus familiares, que no obtienen ningún beneficio concreto. Es por ello que lo deseable es que la transmisión al paciente de esta información se lleve a cabo por profesionales que se hallan formado en asesoramiento genético.
- Por otro lado, hemos dicho que los resultados no concluyentes se deben reanalizar periódicamente. Si un laboratorio reclasifica una VUS, generalmente se entiende que éste es responsable de emitir un informe revisado al médico para que le transmita la información al paciente<sup>10</sup>. Sin embargo, este proceso no siempre resulta sencillo ya que las variantes a menudo se reclasifican muchos años después de la fecha de realización de la prueba. La declaración más reciente del ACMG sobre el deber de recontactar a los pacientes es del año 1999 y establece que los médicos son responsables de volver a contactar a los pacientes a los que brindan atención médica continua, de lo contrario, la responsabilidad recae sobre el médico de atención primaria, o, en última instancia, sobre el propio paciente<sup>11</sup>. No obstante, parece poco práctico esperar que los médicos de atención primaria revisen la clasificación de las VUS, por lo que es recomendable que los centros diseñen un sistema para el seguimiento de los pacientes portadores de VUS en genes que pudieran ser responsables de la enfermedad de los mismos.
- Las VUS son complejas de entender para los pacientes por lo que es frecuente que el portador concluya, de forma errónea, que esa variante es casi seguro la causante de su patología. Es por ello que se deben desarrollar estrategias para aconsejar a los pacien-

tes sobre las VUS, antes y después de las pruebas genéticas, de forma que se maximice la comprensión de las mismas y se minimice el impacto emocional negativo. Al asesorar a los pacientes sobre las pruebas genéticas se debe incidir a priori en que los resultados de los tests pueden incluir la existencia de VUS sin que ello suponga la justificación de la causa de su enfermedad. Además, es necesario informar a los pacientes que, tras un determinado estudio (revisión de bases de datos, estudio de segregación, etc), no existe evidencia de que esa VUS sea la responsable de la enfermedad en cuestión. Así mismo, se debe informar que los resultados deben reanalizarse periódicamente por si esa VUS se reclasifica en el futuro en benigna o patogénica.

## 2.4 CONSEJO GENÉTICO

El consejo genético es, en sí mismo, un proceso complejo que debe ser realizado por profesionales especializados. Pero además, en patologías como los trastornos del movimiento, esta dificultad se ve incrementada debido a varios factores<sup>12</sup>.

En primer lugar, muchos de los trastornos del movimiento tienen causas tanto mendelianas como multifactoriales, que dan lugar al mismo cuadro clínico. Por otro lado, el patrón de herencia puede ser difícil de identificar cuando no existen antecedentes familiares, o estar asociado al cromosoma X, con los problemas de interpretación asociados al proceso de lionización (inactivación del cromosoma X). Además, existe la dificultad de que el problema se encuentre asociado al ADN mitocondrial, lo cual puede confundirse con una herencia asociada al cromosoma X.

Otro desafío es la edad tardía de aparición de muchos de estos trastornos. Los antecedentes familiares pueden parecer negativos debido a la muerte temprana de un miembro de la familia o debido a síntomas no reconocidos que nunca motivaron al sujeto a acudir al neurólogo.

Por otro lado, los trastornos del movimiento a menudo se caracterizan por una penetrancia drásticamente reducida y/o una expresividad variable. La distonía *DYT-TOR1A* es un ejemplo clásico en el que la penetrancia del fenotipo de distonía generalizada es inferior al 40%. Los individuos con la misma mutación en *TOR1A* pueden presentar una distonía generalizada incapacitante o una distonía focal que sólo afecta a la mano.

Otro aspecto de complejidad genética se relaciona con el hecho de que las variantes en algunos genes tienen patrones de herencia tanto autosómicos dominantes como recesivos, según el tipo de variante identificada. Ejemplos de este fenómeno incluyen mutaciones en los genes *AFG3L2*, *SETX* y *SPTBN2*.



Finalmente, existe una superposición considerable en la presentación clínica de muchos trastornos del movimiento. Por ejemplo, la ataxia puede coexistir en una familia con parkinsonismo, neuropatía y/o enfermedades de la neurona motora. Por lo tanto, determinar qué genes estudiar en la práctica clínica puede resultar complejo<sup>12</sup>.

Lo que está claro es que el conocimiento de los antecedentes familiares es una herramienta de gran ayuda, para orientar los test genéticos, pero que hay que saber establecer bien los vínculos. Para ello podemos apoyarnos en algunas recomendaciones que hacemos en los siguientes párrafos.

- El conocimiento de la mayoría de la población sobre los trastornos del movimiento es limitado, por lo que preguntas específicas como “¿algún otro miembro de la familia tuvo distonía o ataxia?” puede no dar lugar a la respuesta deseada. En lugar de utilizar una terminología específica, a menudo es útil comenzar haciendo preguntas amplias como: “¿algún miembro de la familia ha acudido alguna vez al neurólogo?”, “¿algún miembro de la familia ha necesitado usar un andador, bastón o silla de ruedas?”, “¿recuerda a algún familiar con temblores?”. Además, en lugar de centrarse en el diagnóstico, es importante enfocarse en los síntomas: “¿caminaba de forma inusual?”, “¿la enfermedad fue estática o progresiva?”.
- Además, las personas pueden estar sesgadas por su percepción de una enfermedad en particular. Por ejemplo, la impresión de la población en general es que el temblor representa la característica más común de la enfermedad de Parkinson, de forma que cuando los síntomas principales son la rigidez o la bradicinesia éstos pueden pasar inadvertidos. Por otro lado, los miembros de la familia también pueden estar sesgados por la presentación de los síntomas en un probando. Por ejemplo, un paciente con distonía generalizada grave puede hacer pasar desapercibidos síntomas más leves en otros miembros de la familia, como un espasmo del escribiente o una distonía cervical. Para el paciente y la familia, estos síntomas más leves no los relacionan con su enfermedad y pueden atribuir estos hallazgos neurológicos más leves a otras causas. Un ejemplo común es que un miembro de la familia con temblor, disartria o marcha atáxica sea etiquetado como alcohólico. Por tanto, todos estos síntomas se deben incluir en el pedigrí aunque los familiares los atribuya a otras causas diferentes a las genéticas o los síntomas sean leves.
- Por último, la obtención de los antecedentes étnicos o área geográfica de procedencia puede proporcionar pistas importantes en algunos casos. Como ejemplo, un individuo norteafricano con una enfermedad de Parkinson aparentemente idiopática tiene una alta probabilidad de ser portador de una variante en el gen *LRRK2*.

En resumen, el asesoramiento genético es un proceso complejo que debe abarcar desde la fase previa a la solicitud de la prueba genética hasta el comunicado de los resultados y que debe incluir una serie de pasos imprescindibles como son:

- 1.** Recogida de una historia médica personal y familiar detallada, llegando en lo posible a los familiares de tercer grado.
- 2.** Construcción (siempre cuidando de utilizar la nomenclatura estandarizada), análisis e interpretación del árbol genealógico.
- 3.** Explicación al paciente de las motivaciones de la solicitud de la prueba genética y de lo que puede esperar de los resultados que se obtengan, presentando no sólo los beneficios, sino también las limitaciones. En este punto es importante determinar las expectativas y miedos que tiene el paciente respecto a la prueba, ya que evitará o minimizará problemas futuros respecto a cómo el paciente y/o la familia afrontarán los resultados. En este paso sería importante informar sobre la existencia de VUS como posible resultado de los test y transmitir que la existencia de las mismas, en principio, requerirían estudios posteriores y no siempre se asocian con la patología que se está estudiando.
- 4.** En caso de que el estudio incluya a menores, el análisis del equilibrio riesgo/beneficio ha de ser especialmente cuidadoso, así como la información de los resultados.
- 5.** Firma de un consentimiento informado previo al estudio genético.
- 6.** Información de los resultados en la consulta y de los siguientes pasos. El hecho de llevar a cabo este paso en persona nos asegurará que la persona entiende correctamente el resultado genético.
- 7.** En aquellos casos en los que el resultado genético haya sido positivo y esté asociado a trastornos de especial gravedad debe ofrecerse la posibilidad del diagnóstico genético preimplantacional o prenatal. Esta aproximación se puede realizar siguiendo las siguientes estrategias:
  - Si se obtiene un embarazo sin técnicas de reproducción asistida, se puede obtener un estudio genético prenatal adquiriendo una muestra de tejido embrionario mediante biopsia corial (semanas 10-13 de gestación) o amniocentesis (semanas 15-20 de gestación). Tras ello, se realizaría el estudio genético del material extraído. Por otro lado, en los últimos años, se está desarrollando un método no invasivo mediante análisis de sangre materna. Las células embrionarias circulan en sangre





materna a partir de la semana 8 de gestación, así a través de una analítica de sangre periférica de la madre se obtiene material genético embrionario y, por tanto, viable para estudio genético. Esta técnica está cobrando mayor relevancia por su inocuidad y nulo riesgo de complicaciones gestacionales.

- Lo más recomendable, sin embargo, sería realizar el diagnóstico genético preimplantacional. Esta aproximación se realizaría mediante el estudio genético de los embriones generados mediante fecundación *in vitro*. Así se seleccionarían aquellos que no presenten la mutación causante de enfermedad para la implantación uterina. Otra alternativa para los pacientes portadores de enfermedades sería recurrir a la donación de gametos e, igualmente, mediante técnicas de reproducción asistida con fecundación *in vitro*, obtener embriones libres de la enfermedad en cuestión. Estas técnicas cobran especial relevancia en patologías con herencia autosómica dominante y penetrancia completa como, por ejemplo, la enfermedad de Huntington.

Para el abordaje de estos casos, es preciso la derivación a un servicio de reproducción tanto para el asesoramiento prenatal y preimplantacional.

**8.** En caso de resultados inciertos (VUS), como se ha comentado se debe de tener en cuenta los siguientes aspectos:

- Necesidad de estudios ulteriores en los casos en los que sea preciso (análisis *in silico*, estudios de segregación, estudios funcionales, etc).
- Es muy recomendable el establecimiento de un sistema que permita recontactar con el paciente si hay cambios en la interpretación de los resultados genéticos.

## 2.5 ESTRATEGIAS FUTURAS Y CONSIDERACIONES FINALES

Se necesitan pautas y prácticas más actualizadas que tengan en cuenta el gran aumento de VUS reportadas. Es posible que sea necesario cambiar la práctica de notificar al médico especialista cuando se reclasifica una variante. Entre las posibles salidas a este dilema, una propuesta es que los laboratorios no reporten las VUS, sino mantenerlas archivadas y alertar a los médicos si las VUS se reclasifican como patogénicas<sup>13</sup>. Sin embargo, la divulgación de los resultados VUS permite a los médicos realizar su propia investigación (estudios de segregación, funcionales, etc) e incluso rastrear si una VUS ha sido reclasificada en el futuro. Otra posible propuesta sería que las clínicas designaran algún tipo de contacto de reclasificación de VUS que se vuelva responsable de esta información.

Lamentablemente, las VUS, y la clasificación de variantes en general, también son fuentes de disparidades raciales en la genética médica. La clasificación de variantes se basa en los datos existentes en la población, los cuales provienen en gran parte de sujetos de origen europeo. Como resultado, los pacientes de otras etnias, diferentes a la caucásica, tienen una probabilidad significativamente mayor de recibir resultados VUS, lo que nos enfrenta ante una situación injusta. De este modo, la recopilación de datos de poblaciones que están subrepresentadas en la actualidad permitirá abordar las disparidades raciales y étnicas. Mientras tanto, los laboratorios de pruebas genéticas podrían tomar el relevo, ya que resolver la patogenicidad de una variante es beneficioso también para ellos.

En definitiva, la solución a largo plazo para el problema de las VUS es obtener más datos. Los estudios funcionales y los datos a nivel de población permitirán mejorar la clasificación de las variantes. Recalcar la necesidad de formar a los profesionales de la salud no expertos en genética sobre la genética médica, haciendo hincapié en las VUS para evitar las consecuencias de una mala gestión en la práctica clínica en lo referente al diagnóstico y tratamiento de los pacientes.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Gannamani, R., van der Veen, S., van Egmond, M., de Koning, T. J. & Tijssen, M. A. J. Challenges in Clinicogenetic Correlations: One Phenotype – Many Genes. *Movement Disorders Clinical Practice* vol. 8 Preprint at <https://doi.org/10.1002/mdc3.13163> (2021).
2. Richards, S. et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: A joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genetics in Medicine* 17, (2015).
3. Mahon, S. M. Management of patients with a genetic variant of unknown significance. *Oncology Nursing Forum* 42, (2015).
4. Landrum, M. J. et al. ClinVar: Improving access to variant interpretations and supporting evidence. *Nucleic Acids Research* 46, (2018).
5. Marian, A. J. Clinical Interpretation and Management of Genetic Variants. *JACC: Basic to Translational Science* vol. 5 Preprint at <https://doi.org/10.1016/j.jacbts.2020.05.013> (2020).
6. Accetturo, M., Bartolomeo, N. & Stella, A. In-silico analysis of NF1 missense variants in clinvar: Translating variant predictions into variant interpretation and classification. *Int J Mol Sci* 21, (2020).
7. Jarvik, G. P. & Browning, B. L. Consideration of Cosegregation in the Pathogenicity Classification of Genomic Variants. *American Journal of Human Genetics* 98, (2016).
8. Rañola, J. M. O., Liu, Q., Rosenthal, E. A. & Shirts, B. H. A comparison of cosegregation analysis methods for the clinical setting. *Familial Cancer* 17, (2018).
9. Kim, J. J. et al. Systematic bromodomain protein screens identify homologous recombination and R-loop suppression pathways involved in genome integrity. *Genes & development* 33, (2019).
10. Hoffman-Andrews, L. The known unknown: The challenges of genetic variants of uncertain significance in clinical practice. *Journal of Law and the Biosciences* 4, (2017).



11. Hirschhorn, K. et al. Duty to re-contact. *Genetics in medicine : official journal of the American College of Medical Genetics* 1, (1999).
12. Bower, M. & Tuite, P. Overview of Movement Disorders. in *Genetic Counseling for Adult Neurogenetic Disease* (2015). doi:10.1007/978-1-4899-7482-2\_1.
13. Berg, J. S. et al. Erratum: Processes and preliminary outputs for identification of actionable genes as incidental findings in genomic sequence data in the clinical sequencing exploratory research consortium (*Genetics in Medicine* (2013) 15 (860-867) DOI:10.1038/gim.2013.133). *Genetics in Medicine* vol. 16 Preprint at <https://doi.org/10.1038/gim.2013.191> (2014).





# CAPÍTULO 3

## Descripción de las diferentes técnicas de genotipado y secuenciación. Uso y Limitaciones



### Autores

Paula Reyes-Pérez M.Sc.<sup>1</sup>

Alejandra E. Ruiz-Contreras, PhD<sup>2</sup>

Alejandra Medina-Rivera, PhD<sup>1</sup>

Ignacio F. Mata, PhD<sup>3</sup>

Karina Milla-Neyra, BS<sup>4</sup>

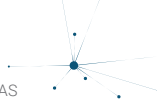
Mario Cornejo-Olivas, MD<sup>4,5</sup>

Sara Bandres-Ciga, PhD<sup>6</sup>

### Centro

1. Laboratorio Internacional de Investigación sobre el Genoma Humano, Universidad Nacional Autónoma de México, México.
2. Laboratorio de Neurogenómica Cognitiva, Coordinación de Psicobiología y Neurociencias, Facultad de Psicología, Universidad Nacional Autónoma de México, México.
3. Genomic Medicine Institute, Cleveland Clinic, Estados Unidos.
4. Centro de Investigación Básica en Neurogenética, Instituto Nacional de Ciencias Neurológicas, Lima, Perú.
5. Carrera de Medicina, Universidad Científica del Sur, Lima, Perú.
6. Laboratory of Neurogenetics, National Institute on Aging, National Institutes of Health, Estados Unidos.





### 3.1 INTRODUCCIÓN

Desde el descubrimiento de la estructura del ADN en la década de los cincuenta del siglo XX hasta la publicación de la secuencia del genoma humano en 2001<sup>1</sup> seguido de la descripción de catálogos detallados para variabilidad genética común (Proyecto HapMap, [www.hapmap.org](http://www.hapmap.org)), hemos sido testigos del avance de nuevas tecnologías para identificar los mecanismos genéticos implicados en la salud humana y en la enfermedad. Hoy en día las técnicas de genotipado y secuenciación se han generalizado y somos capaces de explorar el genoma, su estructura y su variación y examinar sus efectos sobre cualquier fenotipo de una manera sin precedentes. La aplicación de estas tecnologías novedosas está cambiando el panorama de la investigación genética y traslacional. El descubrimiento de genes causantes o que predisponen a padecer enfermedades neurológicas se está acelerando, y el espectro genético-fenotípico se está expandiendo, permitiendo avanzar en el conocimiento de las enfermedades, incluyendo las neurodegenerativas.

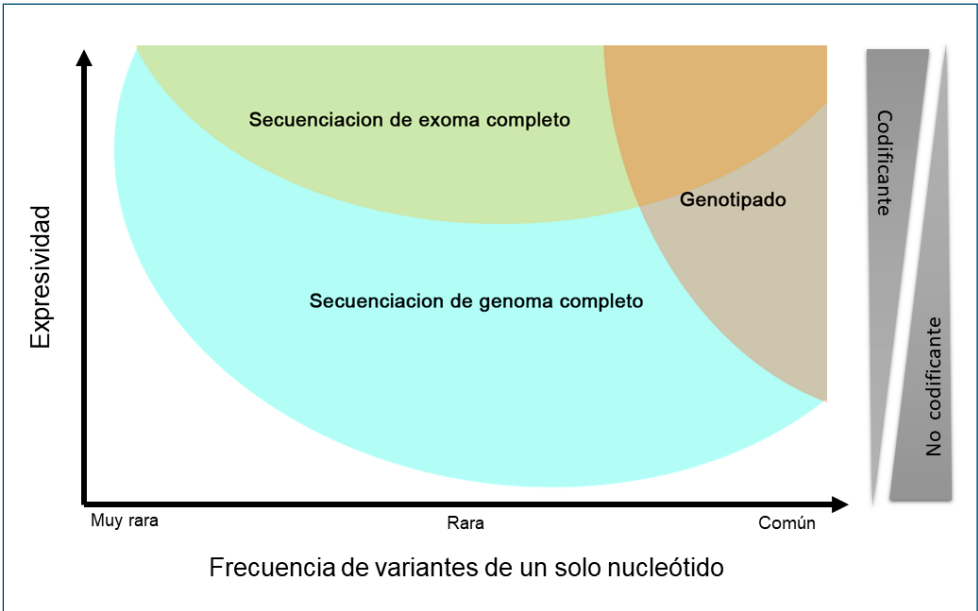
Basándonos en el modelo propuesto por Manolio et al.,<sup>2</sup> para explicar la genética de las enfermedades complejas como son las enfermedades neurodegenerativas, podemos destacar diferentes estrategias y metodologías para el descubrimiento de genes (Figura 1). La invención y mejora de enfoques tecnológicos han permitido la identificación de mutaciones causales muy raras que subyacen a las formas mendelianas de la enfermedad a través de análisis de ligamiento y metodologías de secuenciación. También ha ayudado a encontrar variantes de frecuencia poblacional común de pequeña magnitud de efecto que contribuyen a trastornos esporádicos de aparición tardía a través del análisis de asociación genética a gran escala (GWAS) mediante la tecnología de genotipado e imputación. Estos avances han promovido en gran medida la capacidad de los científicos para identificar factores que confieren riesgo o causan enfermedad. Gracias a toda esta tecnología, el campo de la genética se encuentra en un período de rápido descubrimiento.

Este capítulo pretende ofrecer una visión general de las tecnologías disponibles de genotipado y secuenciación así como su uso actual como pruebas diagnósticas y predictivas de las enfermedades neurológicas, con un especial énfasis en los trastornos del movimiento. También revisaremos sus limitaciones. De esta forma, seguiremos el siguiente esquema:

- En la primera parte explicamos las variantes genéticas que se pueden asociar a enfermedad y las técnicas más adecuadas para poder identificar cada una de ellas.
- Después analizaremos las tecnologías de secuenciación y genotipado actuales para la identificación de mutaciones causales y de factores genéticos de riesgo asociados a trastornos del movimiento.

- A continuación, abordaremos los métodos de imputación así como los paneles y programas informáticos empleados para éstos.
- Finalmente, discutiremos las futuras directrices para estas tecnologías.

**Figura 1.** Esquema del panorama de aplicabilidad de las técnicas actuales para la identificación de alelos de riesgo y causales para el desarrollo de trastornos del movimiento (adaptada a partir de<sup>4</sup>).







## 3.2 TIPOS DE VARIANTES Y LA TECNOLOGÍA MÁS ADECUADA PARA SU DETECCIÓN

Una variante genética es un cambio en una región de una secuencia de ADN que produce diferencias entre poblaciones, representando el 0,01% del genoma humano. Estas diferencias contribuyen a las características particulares de cada individuo y, en algunos casos, pueden ocasionar enfermedades o modificar el riesgo de presentarlas. Como veremos en el capítulo 1 y según la Academia Americana de Genética Médica y Genómica y para estandarizar la interpretación de variantes en el campo clínico, las variantes genéticas se clasifican en: variantes benignas, probablemente benignas, de significado incierto, probablemente patogénicas, y patogénicas<sup>5</sup>. Las variantes genéticas, desde el punto de vista de su estructura, se han descrito en los capítulos 1 y 2. A continuación se describen las técnicas de genotipado más adecuadas según el tipo de variante:

### 3.2.1 Variante de un solo nucleótido (del inglés “*Single nucleotide variant*” o SNV)

Las variantes de un único nucleótido se clasifican como sinónimas o no sinónimas y se pueden localizar en regiones codificantes, intrónicas e intergénicas. Las SNV no sinónimas pueden alterar significativamente la estructura y función de las proteínas, mientras que las SNV en regiones no codificantes pueden ser neutras, o alterar la expresión de genes. Las técnicas para detectar SNVs son variadas, aunque, en la actualidad, se prefieren usar tecnologías de secuenciación mediante “*Next Generation Sequencing*” (NGS) como secuenciación de genoma completo, secuenciación de exoma completo y secuenciación de lecturas largas; así como, el genotipado basado en *microarrays* o micromatrices que se describe en la sección 3.3.2 de este capítulo. Es importante resaltar que se sigue utilizando la tradicional secuenciación “Sanger” para la confirmación de variantes genéticas detectadas a través de técnicas de secuenciación masiva.

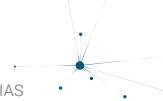
### 3.2.2 INDEL

Este tipo de variante genética se debe a una inserción o delección de nucleótidos de hasta de 1 Kb en el genoma (en la siguiente sección se describen las > de 1 kb). Los microsatélites o “*short tandem repeats*” (STR) están conformados por unidades de repetición de 2 a 7 nucleótidos repetidos en tándem. La expansión anormal de los microsatélites se encuentra relacionado con más de 40 enfermedades neurológicas. Las técnicas preferidas para la identificación de INDELS incluyen tecnologías de secuenciación usando NGS y genotipado basado en micromatrices. Asimismo, es importante el uso de técnicas basadas en PCR y electroforesis capilar, así como “*Southern blot*” para el análisis de STRs dadas las limitaciones de algunas técnicas de secuenciación masiva. Sin embargo, actualmente, las técnicas de secuenciación de lecturas largas permiten su estudio.

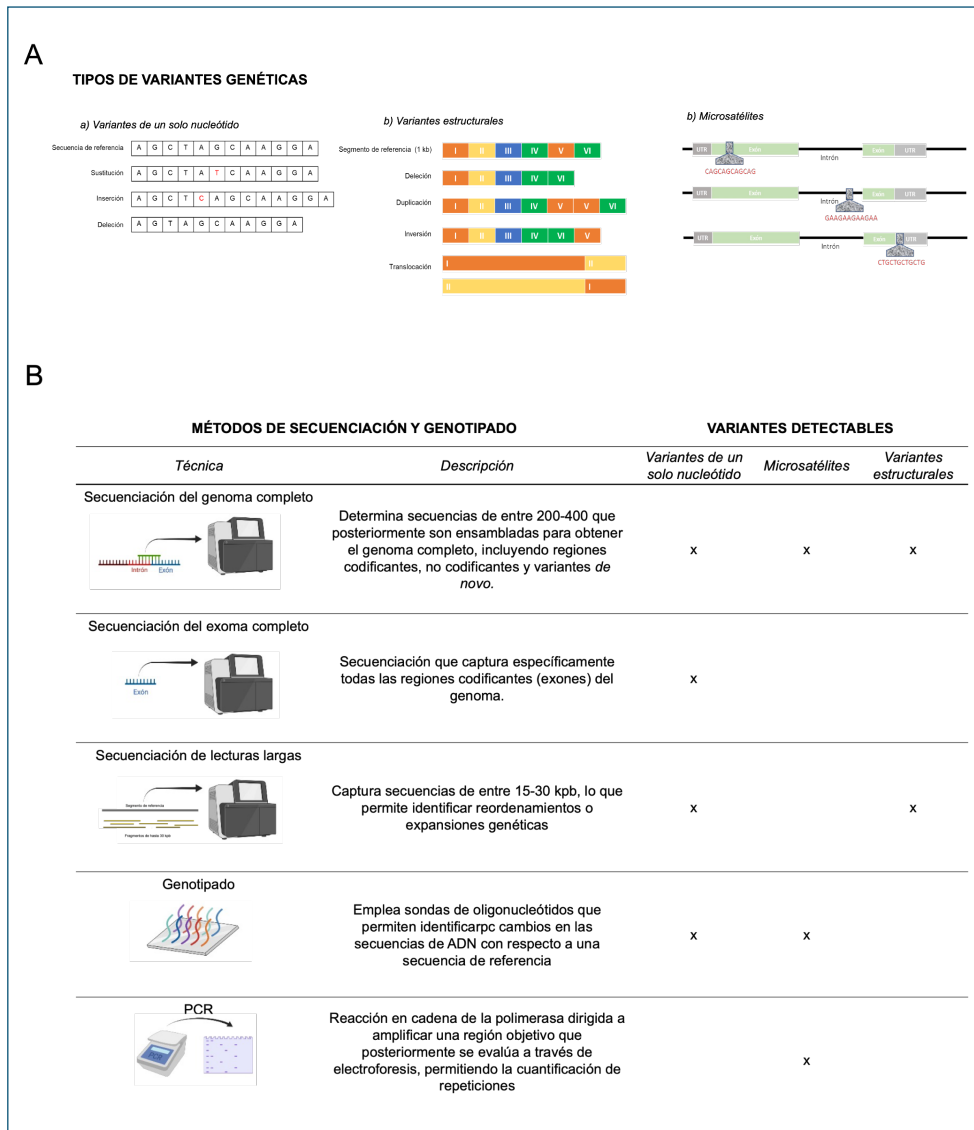
### 3.2.3 Variantes estructurales

Son alteraciones del genoma que involucran regiones de ADN mayores a 1 Kb que pueden ocasionar cambios en el número de copias de una región genómica. Las técnicas preferidas para la identificación de variantes estructurales son la secuenciación por NGS, incluyendo secuenciación de lecturas largas y secuenciación de genoma completo y genotipado por micromatrices. Es importante resaltar el uso de la técnica de hibridación genómica comparada y MLPA (del inglés, "*multiplex ligation-dependent probe amplification*") en la identificación de estas variantes, sin embargo, reseñar su alto coste en comparación con técnicas de secuenciación masiva y micromatrices.

Conocer la naturaleza de las variantes genéticas ayuda a establecer la mejor aproximación técnica para su identificación y, además, reconocer las limitaciones de cada estrategia de genotipado (Figura 2).



**Figura 2. A) Representación de variantes de un solo nucleótido y estructurales y B) Métodos de secuenciación y genotipado preferidos para la detección de cada clase de variante.**



### 3.3 TECNOLOGÍAS ACTUALES PARA LA IDENTIFICACIÓN DE FACTORES GENÉTICOS DE RIESGO ASOCIADOS A LOS TRASTORNOS DEL MOVIMIENTO: TECNOLOGÍAS DE GENOTIPADO

#### 3.3.1 Genotipado personalizado o “customizado”

Derivado del trabajo del Proyecto del Genoma Humano, se han identificado millones de variantes genéticas en la secuencia del ADN. Mediante la tecnología de genotipado se pueden identificar cambios en la secuencia del ADN con respecto a una secuencia de referencia. Estos cambios que se detectan en el genotipo pueden estar asociados con una repercusión sobre el fenotipo, ya sea porque se observe en rasgos complejos fisiológicos o en alguna enfermedad.

El investigador delimita cuáles son los genes candidatos, las variantes genéticas o regiones genómicas que, por la función biológica que se asume puedan tener<sup>6</sup>, puedan ser de interés evaluar en una muestra de individuos usando el genotipado personalizado. Esto puede ser relevante cuando se trabaja con alguna especie o población que no ha sido previamente estudiada. Se pueden analizar secuencias STR, número variable de repeticiones en tándem (VNTR, por sus siglas en inglés, “*variant number of tandem repeats*”) y variante de un solo nucleótido e incluso, haplotipos (combinación específica de variantes genéticas en el genoma que están en desequilibrio de ligamiento).

Cuando se evalúa un número bajo de variantes en tamaños muestrales grandes, se puede utilizar tecnología de genotipado por sondas TaqMan® específicas, también llamado ensayo de discriminación alélica por sondas TaqMan®. Esta técnica de discriminación alélica se basa en la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés), la cual consiste en realizar réplicas de una porción específica del ADN; en este caso, dicha porción contiene la variante de interés. Para este tipo de genotipado es necesario dos tipos de sondas, que son oligonucleótidos complementarios a la secuencia objetivo. Cada una de estas sondas se hibrida específicamente a la secuencia objetivo de un alelo u otro. Por otro lado, cada sonda se une con una molécula que emite fluorescencia (ej: VIC para el alelo 1 y FAM para el alelo 2) y a una molécula silenciadora, que no permite la expresión de las moléculas fluorescentes hasta que la sonda esté hidrolizada, lo cual ocurre cuando la molécula Taq Polimerasa llega a ella. De esta forma, a lo largo de los ciclos de la PCR, y al irse generando más réplicas de la secuencia objetivo, se van amplificando y así van emitiendo distintas fluorescencias en función de los alelos que posea la muestra. Si una muestra emite sólo un tipo de fluorescencia, entonces se dice que la muestra presenta un genotipo homocigoto. En cambio, si presenta fluorescencia de dos tipos, entonces se asume que el genotipo es heterocigoto.



El genotipado customizado, puede realizarse con chips de genotipado que pueden contener hasta 700 mil marcadores y que puede estar dirigido a cualquier región del genoma. Se pueden evaluar simultáneamente millones de variantes en plataformas comerciales que hacen uso de chips de variantes. Estos chips contienen millones de ellas que pueden ser evaluadas simultáneamente y que son muy útiles en GWAS. Por ejemplo, el “*Affymetrix SNP GeneChip*” e “*Illumina GoldenGate BeadChips*” son métodos apropiados de genotipado personalizado o “customizado” según traducción directa del inglés. Esto permite detectar cómo diferentes variantes están asociadas con algún rasgo en particular, o puede compararse en qué proporción están expresadas algunas variantes en alguna población con respecto a otra. Los GWAS, a pesar de que proporcionan información sobre asociaciones genéticas con rasgos fenotípicos, las asociaciones encontradas no llegan a explicar el porcentaje de varianza asociada a factores genéticos que se encuentran en estudios con gemelos. A pesar de esta restricción, detectar estas variantes nos permite avanzar en su asociación con rasgos complejos.

### **3.3.2 Microarrays de cobertura genómica**

#### **3.3.2.1 NeuroX array**

En 2014, investigadores del Consorcio Internacional de Genómica de la Enfermedad de Parkinson (IPDGC) [<https://pdgenetics.org/>] diseñaron una matriz de genotipado llamada NeuroX array<sup>7</sup>. Su objetivo era crear una plataforma que fuera capaz de genotipar variantes de interés para las enfermedades neurodegenerativas de una manera rápida, rentable y accesible. Es por eso que IPDGC se asoció con Illumina para modificar el diseño de la matriz “*Infinium HumanExome BeadChip*” disponible comercialmente para incluir una amplia variedad de contenido personalizado relevante para una investigación más amplia en las enfermedades neurodegenerativas. El contenido de esta matriz personalizada incluía loci de riesgo conocidos identificados a través de estudios de asociación de genoma completo tipo GWAS en enfermedades como la enfermedad de Parkinson, Alzheimer, esclerosis múltiple, demencia frontotemporal, demencia con cuerpos de Lewy, o esclerosis lateral amiotrófica. Además, contiene variantes en genes conocidos como asociados a fenotipos de neurodegeneración, variantes potencialmente de riesgo identificadas mediante la secuenciación del exoma de muestras familiares y poblacionales, así como variantes derivadas de la revisión sistemática de la literatura y bases de datos.

NeuroX, en su versión inicial, incluía un total de 242,901 variantes procedentes de la matriz de genotipado “*HumanExome v1.1*” de Illumina además del contenido personalizado asociado a enfermedades neurológicas y neurodegenerativas con un total de 24.706 variantes de interés. El coste de NeuroX por muestra era de 50 euros, un precio asequible para los laboratorios. Esto permitió que el genotipado de miles de muestras pudiera

lograrse en la mayoría de los laboratorios en un tiempo nunca antes imaginable. Con el tiempo, NeuroX evolucionó primero con el desarrollo de NeuroChip y más tarde con NeuroBooster. Describimos en la siguiente sección la evolución de esta plataforma.

### 3.3.2.2 NeuroChip array

Tres años más tarde, se desarrolló una versión actualizada de la matriz NeuroX llamada NeuroChip<sup>8</sup>, aumentando el contenido de genotipado a nivel de genoma hasta 306.670 variantes, y el contenido “customizado” o personalizado incluyendo 179.467 variantes implicadas en diversas enfermedades neurológicas. Con NeuroChip, se podían imputar más de 5.3 millones de SNP comunes, incrementando la cobertura sustancialmente.

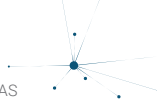
La matriz NeuroChip se ha utilizado ampliamente en diversos estudios<sup>9,10,11,12</sup> en varias enfermedades neurodegenerativas como la enfermedad de Parkinson, la enfermedad de Alzheimer y la parálisis supranuclear progresiva.

### 3.3.2.3 NeuroBooster array

La nueva versión actualizada de la matriz NeuroChip y que se ha comercializado recientemente, se denomina NeuroBooster array, y será la plataforma utilizada para la iniciativa Global Parkinson’s disease Genetics Program (GP2). Se basa en el “*Infinium Global Diversity Array 8*”, que incluye 1,9 millones de variantes y, como NeuroX y NeuroChip, incluye un contenido relacionado con enfermedades neurodegenerativas, en este caso de más de 95.000 variantes. De manera relevante, el chip incluye marcadores genéticos recopilados de personas de diversas etnias, incluyendo entre otras afroamericanos, hispanos, isleños del Pacífico, asiáticos orientales y de ascendencia mixta. Por lo tanto, uno de los objetivos de NeuroBooster array es mejorar la calidad de la imputación en poblaciones de diversas ascendencias genéticas para facilitar el descubrimiento de loci de riesgo en diferentes poblaciones y llevar a cabo estudios trans-étnicos.

## **3.4 TECNOLOGÍAS ACTUALES PARA LA IDENTIFICACIÓN DE MUTACIONES CAUSALES ASOCIADAS A LOS TRASTORNOS DEL MOVIMIENTO: TECNOLOGÍAS DE SECUENCIACIÓN**

Las tecnologías de secuenciación de segunda generación (NGS) hacen referencia a las diferentes plataformas de secuenciación que se comenzaron a desarrollar en los años 2000s. Estas plataformas tuvieron un impacto significativo en el proyecto del genoma hu-



mano ya que permitieron la reducción de costes y el incremento del número de secuencias producidas.

Con anterioridad a la era de la NGS, la mayor parte de la secuenciación se hacía por medio del método Sanger, una técnica que aún es considerada de alta calidad, ya que puede producir secuencias largas con una baja tasa de errores. La secuenciación por Sanger se basa en la síntesis del ADN, donde cada nucleótido se marca con un color y se lee usando electroforesis por capilares<sup>17</sup>. Esta técnica aún es ampliamente utilizada para confirmar variantes genéticas, particularmente en casos donde el objetivo es hacer diagnóstico genético.

Las plataformas de NGS se basan en la paralelización, donde miles o millones de reacciones de secuenciación suceden de forma simultánea. Estas plataformas pueden variar en su coste, en la cantidad de secuencias en paralelo que pueden realizar y en la longitud de las mismas. En general, las plataformas NGS requieren que el material genético inicial sea amplificado, ya que al incrementar el material genético disponible para la lectura, se puede hacer una mejor detección de las bases secuenciadas con una mayor fiabilidad. Sin embargo, la gran desventaja de las plataformas NGS es la alta tasa de errores y la longitud de las secuencias obtenidas (~200 pares de bases). La tasa de error se refiere a la posibilidad de que el secuenciador determine la identidad de un nucleótido de forma errónea. Este hecho se puede compensar aumentando el número de secuencias obtenidas, lo que se conoce como profundidad de secuenciación, y que se refiere al número de veces en promedio que una secuencia única representa un nucleótido del genoma. La longitud de las secuencias hace referencia al número de nucleótidos que pueden ser determinados en una secuencia. Describimos en las siguientes secciones las diferentes técnicas de secuenciación disponibles.

### 3.4.1 Secuenciación Sanger

En 1975, Sanger y Coulson<sup>18</sup> presentaron un método denominado “más – menos” para determinar la secuencia de nucleótidos de una cadena de ADN empleando oligonucleótidos sintéticos y ADN polimerasas de *E. coli* y del bacteriófago T4. Gracias a esta técnica, fue posible determinar la secuencia del genoma del bacteriófago  $\phi$ X174<sup>19</sup>. Desde entonces, la secuenciación Sanger ha sido utilizada ampliamente en múltiples campos de investigación, incluyendo el Proyecto del Genoma Humano<sup>20</sup>.

La secuenciación Sanger inicia con la desnaturalización de la doble hélice del ADN que se desea secuenciar, y emplea una ADN polimerasa para generar una copia de esta cadena. La nueva cadena es sintetizada a partir de un cebador; posteriormente desoxinucleótidos trifosfato (dNTPs) se agregan a la cadena en crecimiento según corresponda<sup>21</sup>. En la re-

acción se incluyen también didesoxinucleótidos trifosfato (ddNTPs) marcados con una molécula fluorescente, que tienen la misma probabilidad de unirse a la secuencia que un dNTP pero cuya unión provoca la terminación de la cadena, produciendo múltiples fragmentos de ADN de longitud variable. Se llevan a cabo 4 reacciones separadas, empleando sólo uno de los 4 didesoxinucleótidos (ddATP, ddGTP, ddCTP, o ddTTP), donde cada base emite fluorescencia en función del nucleótido asociado (A con fluorescencia verde, T con rojo, G con negro y C con azul), que es detectada dentro de la máquina automatizada y que es traducida en un pico<sup>22</sup>.

Las desventajas de esta tecnología incluyen el alto consumo de tiempo así como la aplicación limitada para la secuenciación de fragmentos largos de ADN<sup>23</sup>. Sin embargo, todavía se considera el estándar de referencia para la confirmación de los hallazgos de NGS debido a su alta precisión<sup>24</sup>, por lo tanto, resulta indispensable validar la presencia de la variante observada mediante técnicas de NGS en la persona portadora para suprimir posibles artefactos inherentes a estas técnicas. Por ejemplo, ha sido empleada para validar variantes patogénicas en la presenilina 1 (*PSEN1*) causales del Alzheimer autosómico dominante y asociadas a ataxia, parkinsonismo y espasticidad entre otras<sup>25</sup>. De manera similar, ha sido útil para confirmar variantes en *ADCY5* asociadas a distonía<sup>26,27</sup>, y junctofilina-3 implicada en un raro trastorno similar clínicamente a la enfermedad de Huntington<sup>28</sup>.

### 3.4.2 Secuenciación dirigida

Actualmente, la principal aplicación de las tecnologías NGS es el diagnóstico de enfermedades a través de pruebas dirigidas o “*targeted sequencing*”<sup>29</sup>. Así mismo, una vez que los pacientes han sido diagnosticados clínicamente, se puede utilizar un conjunto definido de paneles de genes específicos para identificar la variante causante de la enfermedad. Los paneles de NGS dirigida comienzan con la captura de un conjunto de genes candidatos en la enfermedad, seguida de una secuenciación paralela masiva. Esta técnica está ganando terreno como herramienta de diagnóstico de rutina en neurología<sup>30</sup>.

Recientemente, se han desarrollado varios métodos incluyendo microarrays basados en fase sólida, PCR basada en microgotas y métodos basados en amplicones o en fase de solución<sup>31</sup>. Existen pruebas dirigidas al diagnóstico genético de enfermedades, disponibles clínicamente para trastornos neurológicos incluyendo enfermedad de Parkinson, distonías, ataxias, enfermedad de Alzheimer, epilepsia, neuropatía hereditaria, microcefalia y distrofia muscular<sup>29</sup> entre otras. Así mismo, empleando un panel de “*Nextera Rapid Capture Custom Enrichment*” para 65 genes asociados con trastornos del movimiento seleccionados con base a una revisión sistemática de la literatura, fue posible identificar variantes patogénicas en 221 pacientes que permitieron un diagnósti-





co genético definitivo de distonía, Parkinson y neurodegeneración con acumulación de hierro cerebral<sup>32</sup>.

En general, la secuenciación dirigida tiene una buena cobertura, reduce los costes, aumenta la velocidad de los análisis, reduce la carga de datos que se someten a análisis computacional y disminuye los hallazgos incidentales y el número de variantes de significado desconocido. Sin embargo, debido a que solo puede probarse un número seleccionado de genes con asociaciones previamente conocidas, es imposible la identificación de posibles nuevos *loci* o genes de interés<sup>33,34</sup>.

### 3.4.3 Secuenciación de genoma completo

El primer genoma humano secuenciado se hizo disponible en el 2003 y tuvo un coste aproximado de casi 900 millones de euros. Gracias al desarrollo de tecnologías de secuenciación NGS, estos costes se han reducido, logrando precios alrededor, o incluso inferiores, a los mil euros por genoma humano secuenciado. Actualmente, la secuenciación de genoma completo se ha introducido de forma común en investigación y, en parte, en la clínica.

Como se mencionó anteriormente, existen tecnologías que permiten secuenciar de forma específica regiones del genoma preseleccionadas, como el exoma. Sin embargo, se sabe que la mayoría de las variantes genéticas asociadas a caracteres humanos se encuentran en regiones no codificantes<sup>35</sup>, adicionalmente, artículos recientes asocian el surgimiento de variantes genéticas *de novo* (que no están presentes en los padres) en trastornos del neurodesarrollo<sup>36</sup>. Es por estas razones que es importante evaluar la posibilidad de hacer secuenciación de genomas completos en casos seleccionados.

La secuenciación de un genoma completo, se logra por medio de la obtención del material genético de la persona de interés. Este material se purifica y se secuencia de acuerdo a las especificaciones de la plataforma que se decida usar. En las plataformas de NGS es necesario fragmentar el ADN para que se logre obtener secuencias de 200-400 pares de bases, por lo que se obtendrán lecturas de esas longitudes que deberán ser ensambladas para obtener el genoma completo.

Al utilizar plataformas NGS para secuenciar genomas humanos, el genoma humano de referencia se usa como mapa para anclar las secuencias y de esta forma poder identificar variantes genéticas. También se puede hacer ensamble *de novo*, el cuál es una estrategia relevante cuando se tiene interés en identificar reordenamientos estructurales. En estos casos se recomienda combinar tecnologías NGS con nuevas plataformas para "*long read sequencing*" o secuenciación de lecturas largas que describimos a continuación.

### 3.4.4 Secuenciación de lecturas largas

Una de las mayores limitaciones de las plataformas NGS, es la necesidad de fragmentar el ADN para poder obtener secuencias relativamente cortas (200-400 pares de bases). Las plataformas de secuenciación de tercera generación son aquellas que permiten la secuenciación de cadenas largas de nucleótidos, en el orden de miles de pares de bases. Las dos tecnologías más utilizadas actualmente son PacBio, que genera secuencias de una longitud de 15 mil bases (Kilobases, Kb), y Oxford Nanopore que genera secuencias de 30 Kbs. El poder contar con secuencias largas tiene un alto impacto en la capacidad para determinar reordenamientos de secuencias o expansiones genéticas.

Sin embargo, una de las limitaciones de estas nuevas tecnologías de secuenciación es la cantidad de secuencias que se obtienen, la cuál es baja en comparación con métodos NGS. Oxford Nanopore produce alrededor de 20 Giga bases, mientras que PacBio genera aproximadamente 700.000 lecturas, una limitación en comparación con las millones de lecturas que se obtienen a través de Illumina. Adicionalmente, PacBio y Oxford Nanopore aún dan una alta tasa de errores en la determinación de bases (del inglés, "calling"), con tasas de error de aproximadamente 15% en comparación con el ~0,1% de Illumina. Actualmente, una de las estrategias para reducir la tasa de error de Oxford Nanopore es por medio de la redundancia, al secuenciar varias veces la misma hebra de ADN. Uno de los análisis es la Secuenciación por Consenso Circular (CCS, del inglés, "Circular Consensus Sequencing")<sup>37</sup> donde, por medio de la circularización del ADN templado, la secuencia se lee dos veces, de tal manera que se obtiene un consenso de estas lecturas. Sin embargo, para lograr esto es necesario acortar la longitud de las lecturas de secuenciación. En este momento, se están desarrollando métodos que permiten integrar códigos de barras de tal manera que se logre tener redundancia sin necesidad de reducir la longitud de la secuencia<sup>38</sup>. Otra propuesta para reducir la tasa de error es combinar la secuenciación larga con tecnologías de NGS como Illumina<sup>39,40</sup>.

## 3.5 OTRAS TECNOLOGÍAS

### 3.5.1 Análisis por restricción de fragmentos de longitud polimórfica (RFLP)

El análisis de fragmentos de restricción de longitud polimórfica RFLP (por sus siglas en inglés "Restriction Fragment Length Polymorphism"), fue la primera técnica de creación de perfiles de ADN lo suficientemente económica como para ver una aplicación generalizada. Los fragmentos de restricción de longitud polimórfica son secuencias específicas de cuatro a



ocho nucleótidos que son reconocidas por enzimas de restricción para cortar una secuencia de ADN, y son utilizadas como marcadores de localización en el ADN genómico. Al visualizarse en electroforesis en gel, el individuo que no contenga el sitio de corte de la enzima tendrá una banda única, mientras que aquel individuo que contenga esta región generará dos bandas representando los dos fragmentos cortados<sup>41</sup>. Aunque actualmente esta técnica ha quedado relegada por las técnicas de secuenciación, se ha utilizado en diagnósticos genéticos de algunas enfermedades monogénicas neurológicas como distonía DYT1-TOR1A<sup>42</sup>; sin embargo, en la actualidad se prefieren técnicas directas de secuenciación.

### 3.5.2 Análisis de longitud de repeticiones por PCR

El análisis de longitud de microsatélites por técnica de PCR se realiza a partir de ADN genómico utilizando habitualmente dos cebadores que marquen una región objetivo que contenga el microsatélite de interés. Posteriormente, con ciclos repetidos de replicación por reacción en cadena de la polimerasa, se obtienen miles de copias de la secuencia objetivo. La lectura de esta secuencia, se realiza con técnica de electroforesis, que se basa en la migración de las secuencias de acuerdo a su peso molecular<sup>43</sup>. La cuantificación de las repeticiones se realiza usando algoritmos específicos de estimación de repeticiones para cada microsatélite. En casos de homocigotismo o de expansiones por encima de 100-150 repeticiones, se debe complementar la técnica con PCR modificada, como la RP-PCR (por sus siglas en inglés "*triplet repeat primed PCR*"). Esta técnica utiliza tres cebadores que permiten la confirmación cualitativa (sin cuantificar el número de repeticiones) de la expansión<sup>44</sup>. Actualmente, se realizan paneles de análisis simultáneo de múltiples microsatélites con técnicas de PCR modificadas<sup>45</sup>.

El análisis de longitud de microsatélites por técnica de PCR tiene su mayor aplicación en el diagnóstico molecular de las enfermedades por expansión de repeticiones. Las enfermedades por expansión de repeticiones comparten una expansión anormal de microsatélites tanto en regiones codificantes como no codificantes. La enfermedad de Huntington, junto a siete ataxias espinocerebelosas (SCA1, SCA2, SCA3, SCA6, SCA12, SCA17 y DRPLA), están causadas por expansiones anormales del triplete (CAG) en regiones codificantes. Existen también enfermedades causadas por secuencias repetitivas distintas a tripletes. En este contexto, la ataxia espinocerebelosa tipo 10 es causada por repeticiones anormales del pentanucleótido ATTCT en el gen *ATXN10*<sup>49</sup>, o las repeticiones del hexanucleótido GGGGCC en el gen *C9ORF72*, también asociado a esclerosis lateral amiotrófica y demencia frontotemporal<sup>50</sup>.

La identificación de secuencias repetitivas por técnicas de secuenciación es aún limitada, aunque la secuenciación de lecturas largas ha demostrado precisión y eficacia para algu-

nas de estas secuencias<sup>51</sup>. Actualmente, ante la sospecha de enfermedades por expansión de repeticiones se recomienda pruebas de gen único o paneles basados en técnicas de PCR con conteo de las repeticiones por electroforesis capilar<sup>52</sup>.

### 3.5.3 Southern Blot

Es una técnica cuantitativa de análisis de longitud de expansiones muy grandes de cientos a miles de repeticiones. Se basa en la utilización de enzimas de restricción para cortar fragmentos de ADN que luego se separan de acuerdo a su peso molecular por electroforesis en gel. Estos fragmentos son posteriormente transferidos a una membrana que se expone a una sonda marcada con un radioactivo o químico<sup>53</sup>. A pesar de ser considerada una de las técnicas estándar para la detección de expansiones muy largas de nucleótidos, es de uso restringido en diagnóstico clínico, debido a que es muy laboriosa, costosa, y requiere grandes cantidades de ADN de alta calidad por cada reacción<sup>54</sup>.

### 3.5.4 Amplificación de sondas dependiente de ligandos múltiples

La técnica de amplificación de sondas por ligación múltiple o MLPA, es una técnica modificada de PCR múltiple utilizada para identificar variantes de número de copias, incluyendo deleciones y duplicaciones. Esta técnica utiliza dos sondas que contienen secuencias universales y que hibridan regiones adyacentes en el ADN para que se de la amplificación. La técnica de MLPA inicia con la desnaturalización del ADN e hibridación de las sondas, seguido de una reacción de ligación y amplificación, y posteriormente electroforesis para separación de los amplicones. El análisis e interpretación de los resultados se realiza previa normalización intramuestral e intermuestral, utilizando programas informáticos específicos. Las deleciones en heterocigosis son relativamente fáciles de interpretar, sin embargo, las deleciones en homocigosis reducen la señal esperada para cada sonda en porcentajes variables dificultando la interpretación correcta de los resultados<sup>55</sup>. Deleciones en el gen *PRKN* y duplicaciones y triplicaciones en el gen *SNCA*<sup>56</sup> se han asociado con formas tempranas de enfermedad de Parkinson. Además, alrededor del 90% de los factores genéticos causales de las distrofinopatías se deben a este tipo de variante estructural detectada por técnica de MLPA<sup>57</sup>.

## 3.6 MÉTODO DE IMPUTACIÓN

La imputación es un proceso que permite inferir genotipos faltantes del panel de referencia de haplotipos o genotipos, aumentando el poder de detección de variantes<sup>16</sup>.



La imputación permite inferir en casos seleccionados información genética cuando no se puede hacer un análisis completo por diferentes razones. El primer ejemplo es la identificación y caracterización de las variantes genéticas que contribuyen al desarrollo de patologías. Generalmente, los investigadores utilizan información genética procedente de familias (estudios familiares) o de personas con y sin la enfermedad (estudios caso-control). Mientras que en los primeros es factible secuenciar el genoma de varios familiares (actualmente el precio por genoma es alrededor de los 355 euros), en los estudios caso-control donde se necesitan miles de personas con y sin la enfermedad, los costes de secuenciar el genoma completo son muy elevados. Por lo tanto, en estos casos se utilizan arrays de genotipación donde de los 3 billones de pares de bases que conforman el genoma humano, entre 250 mil y 2 millones de variantes son examinadas. Aunque esta información es muy útil, es incompleta. Gracias a la imputación, los investigadores son capaces de completar parcialmente esta información, y con ello aumentar la posibilidad de identificar aquellas variantes asociadas a la enfermedad de interés (Figura 3)<sup>13</sup>. Para ello es necesario contar con un panel de referencia que contenga información detallada de haplotipos (grupos de variantes genéticas que tienden a ser heredadas conjuntamente), que nos permitan inferir aquellas variantes no presentes en nuestra muestra de estudio. Existen varios paneles (Tabla 3 del anexo) que están disponibles públicamente, y que varían en el número de muestras incluidas, el número de variantes que contienen y el origen de las muestras.

Este último aspecto es crucial, ya que los haplotipos son específicos de cada población, y por lo tanto debemos utilizar aquel panel que más se asemeje a la población con la que estemos trabajando<sup>14</sup>. Lo que se hace es secuenciar parte de las muestras de estudio, y usar esa información como referencia para la imputación.

Existen muchas opciones a la hora de realizar la imputación<sup>15</sup>. Por ejemplo, distintos programas informáticos que facilitan el proceso están disponibles gratuitamente para la comunidad científica. Estos programas (Tabla 4 del anexo) se pueden dividir en dos grupos: 1) aquellos que requieren cálculo intensivo (y por lo tanto acceso a una poderosa computadora o redes de computadoras) en los cuales todos los genotipos observados son utilizados para inferir cada una de las variantes no presentes y 2) aquellos que son más eficientes y necesitan menos recursos para funcionar, al utilizar únicamente ciertos marcadores cercanos a las variantes no presentes para inferirlas. La utilización de estos programas requiere cierto conocimiento de bioinformática, así como acceso a los paneles de referencia necesarios. Por otro lado, además de los programas mencionados, existen dos servicios gratuitos a través de páginas web, que permiten fácilmente y con conocimientos básicos, inferir variantes en nuestras muestras de estudio. El primero es el Servidor de Imputación de la Universidad de Michigan

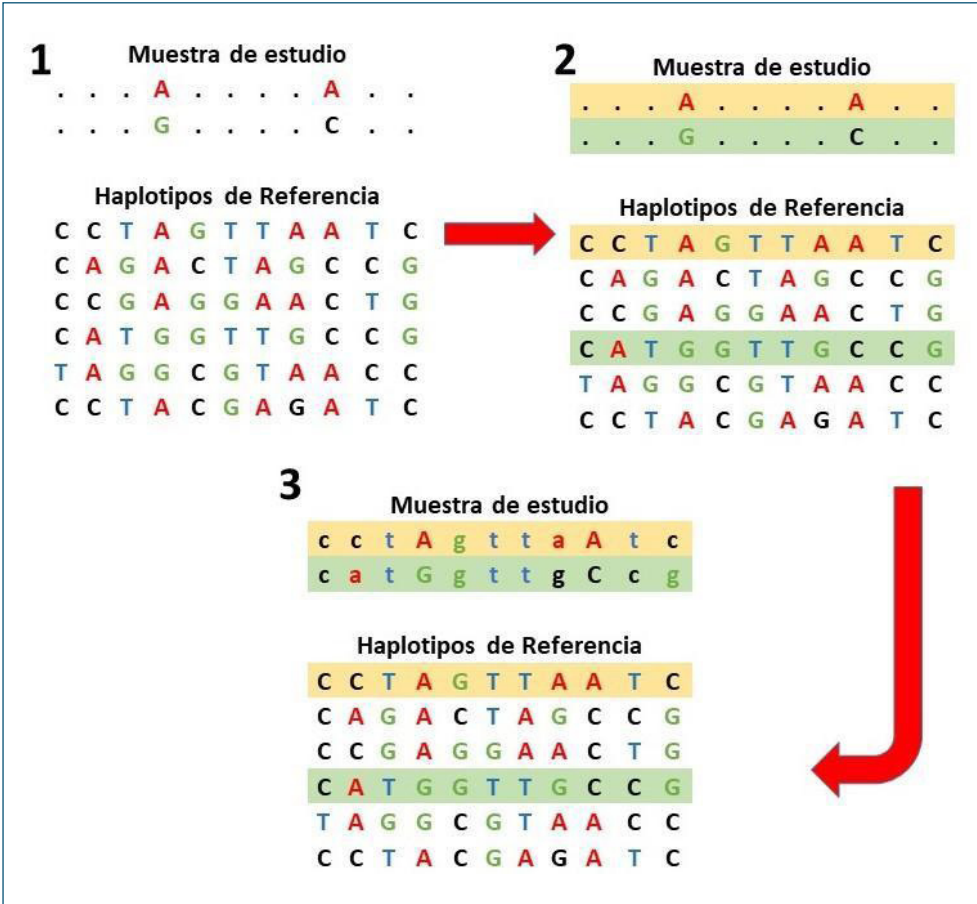
(<https://imputationserver.sph.umich.edu/index.html#!>) que permite escoger diferentes paneles de referencia (actualmente incluye HapMap, 1000G, GAsP, CAAPA, HRC) y adicionalmente uno específico para la región de los antígenos leucocitarios humanos (*HLA* por las siglas en inglés en el cromosoma 6). El segundo es el Servidor de Imputación de TOP-Med (<https://imputation.biodatacatalyst.nih.gov/#!>), que además de ofrecer el panel de referencia de TOPMed, también incluye HRC, 1000G, CAAPA y HapMap. Ambos servidores utilizan Minimac4, que es uno de los programas informáticos con un bajo requerimiento computacional y una implementación eficiente.

El rendimiento de la imputación depende de muchos factores<sup>16</sup>. Además del programa y el panel de referencia utilizados, también depende de la densidad de las variantes genotipadas, el tamaño de la muestra, o la cobertura de la secuenciación entre otros. Tanto los programas informáticos como los servicios a través de la web proveen medidas de calidad (por ejemplo el Info Score, dado por IMPUTE2, o el más común  $R^2$ ) para cada variante imputada, que puede y debe ser utilizado para excluir aquellas variantes donde la confianza de la variante inferida esté por debajo de nuestro pre-determinado umbral de calidad. Normalmente se utiliza un umbral de  $\text{Info Score}/R^2 < 0.8$  (menos del 80% de concordancia entre los genotipos imputados y los genotipados). Sin embargo, si utilizamos un método de análisis que nos permita tener en cuenta esta medida de calidad, podríamos incluir aquellas variantes que estuvieran por debajo de 0,8, hasta un valor de 0,3. En estos casos se recomienda que si alguna de nuestras variantes identificadas con el rasgo o enfermedad que estamos estudiando tiene una medida de calidad baja, seamos cautelosos e intentemos replicar este resultado en una cohorte donde la variante candidata haya sido genotipada.

En conclusión, la imputación es una herramienta muy valiosa para hacer estudios genéticos. No solo nos permite aumentar el número de variantes a estudiar, sino que también nos permite poder hacer comparaciones entre estudios o fusionar, dentro de un estudio, cohortes que han usado distintos arrays de genotipado. Sin embargo, es importante entender que hay muchos factores que pueden influir en el éxito de esta imputación, y por lo tanto, hemos de tenerlos en cuenta a la hora de decidir cómo lo vamos a realizar. Esto es incluso más importante para estudios de genética en poblaciones poco representadas, y para los cuales tenemos poca información de referencia.



**Figura 3.** Proceso de imputación de una muestra simulada de estudio (adaptada de Li et al., 2009).



(1) En la muestra de estudio solo tenemos una pequeña representación del genoma de cada participante con las variantes genotipadas a través del array. Utilizando un panel de referencia que incluye un número mucho mayor de variantes, podemos identificar grupos de variantes (haplotipos) que se heredan conjuntamente (2). Esto nos permite inferir/imputar aquellas variantes que faltaban en nuestra muestra inicial (3).

### 3.7 CONCLUSIONES Y FUTURAS DIRECTRICES

Las pruebas genéticas de genotipificación y secuenciación actuales contribuyen al diagnóstico, asesoría y manejo de los trastornos de movimiento y las enfermedades neurológicas. Las técnicas disponibles para el análisis genético son muy diversas y en muchos casos complementarias. El advenimiento de tecnologías de genotipado y secuenciación ha supuesto el descubrimiento de una multitud de factores genéticos causales o que pre-

disponen a enfermedades. El conocimiento que hemos adquirido a través de la investigación genética ha permitido también el desarrollo de nuevas dianas terapéuticas.

Como se ha abordado en este capítulo, existen técnicas específicas para detectar determinados tipos de variantes genéticas, y aunque la tendencia actual es migrar hacia la utilización de técnicas de secuenciación masiva, tipo exoma o genoma, o de genotipado a gran escala, su uso en el ámbito clínico es aún limitado. Las estrategias metodológicas más apropiadas para el diagnóstico deben basarse en tecnologías de identificación genética dirigida, realizadas con equipos certificados para diagnóstico y con técnicas estandarizadas que sigan recomendaciones específicas dependiendo del tipo de variante a identificar. Cabe destacar que la mayoría de los factores genéticos identificados y validados de forma consensuada para el diagnóstico clínico se basan en investigaciones realizadas en población de origen caucásico. El conocimiento de la arquitectura genética de los trastornos de movimiento en poblaciones no caucásicas es aún limitado. Además, en muchas regiones del mundo no se cuenta con equipamiento o tecnología adecuada que permita la aplicación del diagnóstico genético.

El campo de la genética de los trastornos de movimiento se encuentra en un periodo de rápida expansión. Se prevee que en un futuro el perfeccionamiento de estas tecnologías y nuestra habilidad para desentrañar la complejidad de nuestro material genético, puedan traducirse en una mejor aplicabilidad clínica a un coste cada vez más accesible.

## REFERENCIAS

1. Lander, E. S. *et al.* Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature* 409, 860–921 (2001).
2. Manolio, T. A. *et al.* Finding the missing heritability of complex diseases. *Nature* 461, 747–753 (2009).
3. Horton, R. H. & Lucassen, A. M. Recent developments in genetic/genomic medicine. *Clin. Sci.* 133, 697–708 (2019).
4. Singleton, A. B., Hardy, J., Traynor, B. J. & Houlden, H. Towards a complete resolution of the genetic architecture of disease. *Trends Genet.* 26, 438–442 (2010).
5. Richards, S. *et al.* Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet. Med.* 17, 405–424 (2015).
6. Genetics of human memory functions in healthy cohorts. *Current Opinion in Behavioral Sciences* 4, 73–80 (2015).
7. Nalls, M. A. *et al.* NeuroX, a fast and efficient genotyping platform for investigation of neurodegenerative diseases. *Neurobiol. Aging* 36, 1605.e7–12 (2015).
8. Blauwendraat, C. *et al.* NeuroChip, an updated version of the NeuroX genotyping platform to rapidly screen for variants associated with neurological diseases. *Neurobiol. Aging* 57, 247.e9–247.e13 (2017).
9. Nalls, M. A. *et al.* Identification of novel risk loci, causal insights, and heritable risk for Parkinson's disease: a meta-analysis of genome-wide association studies. *Lancet Neurol.* 18, 1091–1102 (2019).
10. Blauwendraat, C. *et al.* Genetic modifiers of risk and age at onset in GBA associated Parkinson's disease and Lewy body dementia. *Brain* 143, 234–248 (2020).





11. Bandres-Ciga, S. *et al.* Large-scale pathway specific polygenic risk and transcriptomic community network analysis identifies novel functional pathways in Parkinson disease. *Acta Neuropathol.* 140, 341–358 (2020).
12. Young, J. *et al.* Genome-wide association findings from the brains for dementia research cohort. *Neurobiol. Aging* (2021) doi:10.1016/j.neurobiolaging.2021.05.014.
13. Li, Y., Willer, C., Sanna, S. & Abecasis, G. Genotype imputation. *Annu. Rev. Genomics Hum. Genet.* 10, 387–406 (2009).
14. Zhang, P., Zhan, X., Rosenberg, N. A. & Zöllner, S. Genotype imputation reference panel selection using maximal phylogenetic diversity. *Genetics* 195, 319–330 (2013).
15. Das, S. *et al.* Next-generation genotype imputation service and methods. *Nat. Genet.* 48, 1284–1287 (2016).
16. Shi, S. *et al.* Comprehensive Assessment of Genotype Imputation Performance. *Hum. Hered.* 83, 107–116 (2018).
17. Sanger, F., Nicklen, S. & Coulson, A. R. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 74, 5463–5467 (1977).
18. Sanger, F. & Coulson, A. R. A rapid method for determining sequences in DNA by primed synthesis with DNA polymerase. *J. Mol. Biol.* 94, 441–448 (1975).
19. Sanger, F. *et al.* The nucleotide sequence of bacteriophage phiX174. *J. Mol. Biol.* 125, 225–246 (1978).
20. Collins, F. S., Morgan, M. & Patrino, A. The Human Genome Project: lessons from large-scale biology. *Science* 300, 286–290 (2003).
21. Valencia, C. A., Pervaiz, M. A., Husami, A., Qian, Y. & Zhang, K. Sanger sequencing principles, history, and landmarks. in *SpringerBriefs in Genetics* 3–11 (Springer New York, 2013).
22. Gomes, A. & Korf, B. Genetic Testing Techniques. in *Pediatric Cancer Genetics* 47–64 (Elsevier, 2018).
23. Totomoch-Serra, A., Marquez, M. F. & Cervantes-Barragán, D. E. Sanger sequencing as a first-line approach for molecular diagnosis of Andersen-Tawil syndrome. *F1000Res.* 6, 1016 (2017).
24. Olgiasi, S., Quadri, M. & Bonifati, V. Genetics of movement disorders in the next-generation sequencing era. *Mov. Disord.* 31, 458–470 (2016).
25. Appel-Cresswell, S., Guella, I., Lehman, A., Foti, D. & Farrer, M. J. p.Met233Val in a Complex Neurodegenerative Movement and Neuropsychiatric Disorder. *J Mov Disord* 11, 45–48 (2018).
26. Bohlega, S. A. *et al.* Autosomal recessive ADCY5-Related dystonia and myoclonus: Expanding the genetic spectrum of ADCY5-Related movement disorders. *Parkinsonism Relat. Disord.* 64, 145–149 (2019).
27. Schottmann, G. *et al.* A movement disorder with dystonia and ataxia caused by a mutation in the HIBCH gene. *Mov. Disord.* 31, 1733–1739 (2016).
28. Bourinaris, T. *et al.* Allelic and phenotypic heterogeneity in Junctophilin-3 related neurodevelopmental and movement disorders. *Eur. J. Hum. Genet.* 29, 1027–1031 (2021).
29. Rehm, H. L. Disease-targeted sequencing: a cornerstone in the clinic. *Nat. Rev. Genet.* 14, 295–300 (2013).
30. Yu, A. C.-S. *et al.* A Targeted Gene Panel That Covers Coding, Non-coding and Short Tandem Repeat Regions Improves the Diagnosis of Patients With Neurodegenerative Diseases. *Front. Neurosci.* 13, 1324 (2019).
31. Sikkema-Raddatz, B. *et al.* Targeted next-generation sequencing can replace Sanger sequencing in clinical diagnostics. *Hum. Mutat.* 34, 1035–1042 (2013).
32. Reale, C., Panteghini, C., Carecchio, M. & Garavaglia, B. The relevance of gene panels in movement disorders diagnosis: A lab perspective. *Eur. J. Paediatr. Neurol.* 22, 285–291 (2018).
33. Dillio, A. A. *et al.* Targeted Next-generation Sequencing and Bioinformatics Pipeline to Evaluate Genetic Determinants of Constitutional Disease. *J. Vis. Exp.* (2018) doi:10.3791/57266.
34. Di Resta, C., Galbiati, S., Carrera, P. & Ferrari, M. Next-generation sequencing approach for the diagnosis of human diseases: open challenges and new opportunities. *EJIFCC* 29, 4–14 (2018).
35. Zhang, F. & Lupski, J. R. Non-coding genetic variants in human disease. *Hum. Mol. Genet.* 24, R102–10 (2015).

36. Wilfert, A. B., Sulovari, A., Turner, T. N., Coe, B. P. & Eichler, E. E. Recurrent de novo mutations in neurodevelopmental disorders: properties and clinical implications. *Genome Med.* 9, 101 (2017).
37. Travers, K. J., Chin, C.-S., Rank, D. R., Eid, J. S. & Turner, S. W. A flexible and efficient template format for circular consensus sequencing and SNP detection. *Nucleic Acids Res.* 38, e159 (2010).
38. Ezpeleta, J., Krsticevic, F. J., Bulacio, P. & Tapia, E. Designing robust watermark barcodes for multiplex long-read sequencing. *Bioinformatics* 33, 807–813 (2017).
39. Choudhury, O., Chakrabarty, A. & Emrich, S. J. HECIL: A Hybrid Error Correction Algorithm for Long Reads with Iterative Learning. *Sci. Rep.* 8, 9936 (2018).
40. Wyman, D. & Mortazavi, A. TranscriptClean: variant-aware correction of indels, mismatches and splice junctions in long-read transcripts. *Bioinformatics* 35, 340–342 (2019).
41. Thibodeau, S. N. Use of restriction fragment length polymorphism analysis for detecting carriers of 'fragile X' syndrome. *Clin. Chem.* 33, 1726–1730 (1987).
42. Ozelius, L. J. *et al.* Fine localization of the torsion dystonia gene (DYT1) on human chromosome 9q34: YAC map and linkage disequilibrium. *Genome Res.* 7, 483–494 (1997).
43. Warner, J. P., Barron, L. H. & Brock, D. J. A new polymerase chain reaction (PCR) assay for the trinucleotide repeat that is unstable and expanded on Huntington's disease chromosomes. *Mol. Cell. Probes* 7, 235–239 (1993).
44. Warner, J. P. *et al.* A general method for the detection of large CAG repeat expansions by fluorescent PCR. *J. Med. Genet.* 33, 1022–1026 (1996).
45. Cagnoli, C. *et al.* Spinocerebellar Ataxia Tethering PCR: A Rapid Genetic Test for the Diagnosis of Spinocerebellar Ataxia Types 1, 2, 3, 6, and 7 by PCR and Capillary Electrophoresis. *J. Mol. Diagn.* 20, 289–297 (2018).
46. Paulson, H. Repeat expansion diseases. *Handb. Clin. Neurol.* 147, 105–123 (2018).
47. Mirkin, S. M. Expandable DNA repeats and human disease. *Nature* 447, 932–940 (2007).
48. Thornton, C. A. Myotonic dystrophy. *Neurol. Clin.* 32, 705–19, viii (2014).
49. Lin, X. & Ashizawa, T. SCA10 and ATTCT repeat expansion: clinical features and molecular aspects. *Cytogenet. Genome Res.* 100, 184–188 (2003).
50. Abramzon, Y. A., Fratta, P., Traynor, B. J. & Chia, R. The Overlapping Genetics of Amyotrophic Lateral Sclerosis and Frontotemporal Dementia. *Front. Neurosci.* 14, 42 (2020).
51. Mantere, T., Kersten, S. & Hoischen, A. Long-Read Sequencing Emerging in Medical Genetics. *Front. Genet.* 10, 426 (2019).
52. Wallace, S. E. & Bird, T. D. Molecular genetic testing for hereditary ataxia: What every neurologist should know. *Neurol. Clin. Pract.* 8, 27–32 (2018).
53. Brown, T. Southern blotting. *Curr. Protoc. Immunol.* Chapter 10, Unit 10.6A (2001).
54. Chintalaphani, S. R., Pineda, S. S., Deveson, I. W. & Kumar, K. R. An update on the neurological short tandem repeat expansion disorders and the emergence of long-read sequencing diagnostics. *Acta Neuropathol Commun* 9, 98 (2021).
55. Stuppia, L., Antonucci, I., Palka, G. & Gatta, V. Use of the MLPA assay in the molecular diagnosis of gene copy number alterations in human genetic diseases. *Int. J. Mol. Sci.* 13, 3245–3276 (2012).
56. La Cognata, V., Morello, G., D'Agata, V. & Cavallaro, S. Copy number variability in Parkinson's disease: assembling the puzzle through a systems biology approach. *Hum. Genet.* 136, 13–37 (2017).
57. Falzarano, M. S., Scotton, C., Passarelli, C. & Ferlini, A. Duchenne Muscular Dystrophy: From Diagnosis to Therapy. *Molecules* 20, 18168–18184 (2015).



## AGRADECIMIENTOS

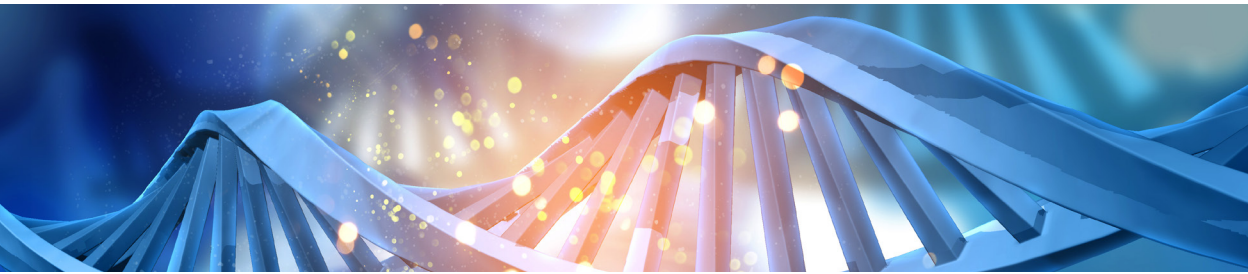
Este trabajo de ha llevado a cabo con el apoyo del "Global Parkinson's Genetics Program (GP2)". GP2 está fundado por la iniciativa "Aligning Science Against Parkinson's (ASAP) initiative" e implementada por "The Michael J. Fox Foundation for Parkinson's Research" (<https://gp2.org>). Para visualizar la lista completa de los miembros del GP2 ver <https://gp2.org>.





# CAPÍTULO 4

## Estudios genéticos en enfermedad de Parkinson y parkinsonismos



### Autores

Javier Ruiz-Martínez

Ana Vinagre Aragón

### Centro

Unidad de Trastornos del Movimiento, Servicio de Neurología,  
Hospital Universitario Donostia.

Área de enfermedades Neurodegenerativas, Instituto de Investigación Biodonostia,  
Donostia-San Sebastián (Guipúzcoa).



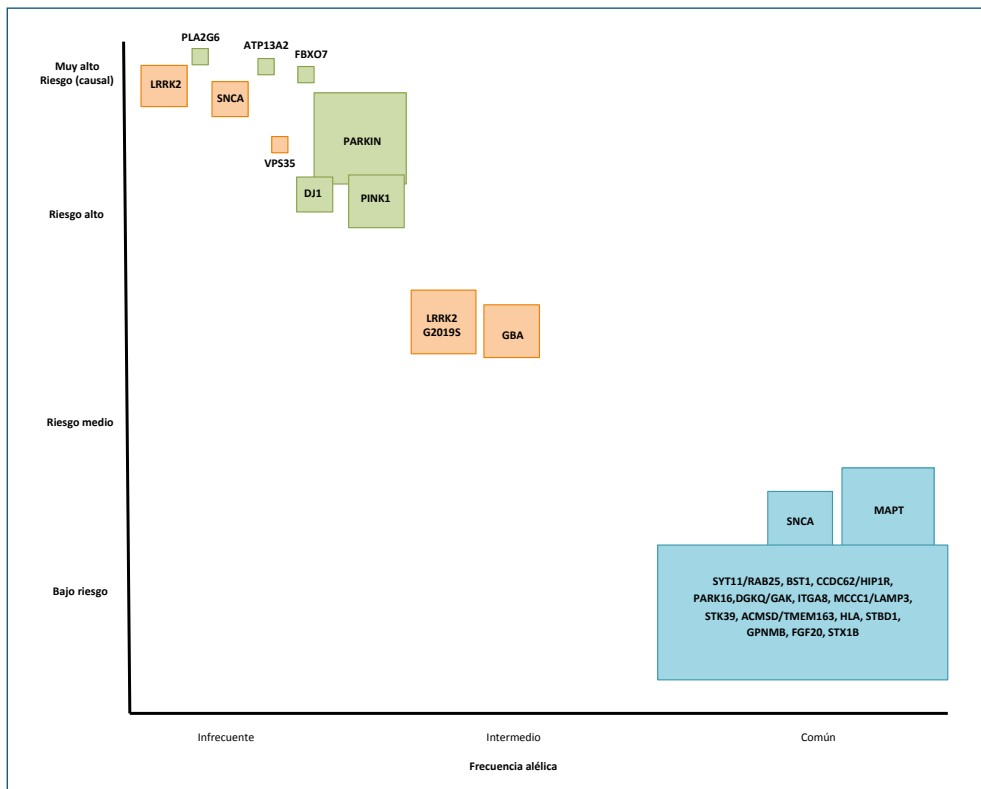


## 4.1 INTRODUCCIÓN

La genética nos ha ampliado el conocimiento sobre los mecanismos fisiopatológicos involucrados en la enfermedad de Parkinson (EP) tanto en las formas familiares como esporádicas, pero a pesar de su contribución, seguimos sin conocer la etiopatogenia última de la enfermedad. Históricamente, se había considerado una enfermedad esporádica en la que los factores ambientales y la edad eran los principales factores de riesgo. En la actualidad se considera que no existe una causa única, sino que existen múltiples factores que influyen en su desarrollo, especialmente factores genéticos, ambientales, y también epigenéticos.

Puede decirse que la contribución de la genética a la EP existe a lo largo de un continuo. Existen por un lado variantes de ADN infrecuentes altamente penetrantes (es decir, causales) con gran tamaño de efecto, típicamente asociadas a formas monogénicas o familiares de EP. Por otro lado, existen variantes de ADN más comunes que ejercen individualmente un leve aumento de riesgo de enfermedad a lo largo de la vida, y que se identifican con frecuencia en la EP aparentemente esporádica. Las variantes de ADN infrecuentes causantes de enfermedad se identificaron a través de estudios de ligamiento genético en grandes familias con EP, y más recientemente se han identificado a través de técnicas de secuenciación de nueva generación (“*Next Generation Sequencing*” (NGS)). Las variantes de ADN más comunes y con menor tamaño de efecto en cambio, se han identificado en su mayoría utilizando estudios de asociación de genoma completo (GWAS), y hasta la fecha se han descrito hasta 90 señales de riesgo independientes<sup>1</sup> (Figura 1).

**Figura 1. Factores de riesgo genéticos para la enfermedad de Parkinson (EP).**



El tamaño de los cuadriláteros corresponde aproximadamente a las frecuencias de alelos de la población. Los colores simbolizan modos de herencia: dominante (naranja), recesivo (verde), loci de riesgo (azul).

## 4.2 LA ENFERMEDAD DE PARKINSON MONOGENICA

Existen varias variantes de ADN infrecuentes altamente penetrantes relacionadas con la EP, resultando en la así denominada EP monogénica o familiar; forma de EP en la que una sola mutación en un gen es suficiente para justificar el fenotipo, ya sea con un patrón de herencia dominante o recesivo. Sin embargo, los loci monogénicos conocidos permiten explicar sólo una parte de la agregación familiar observada en la EP. El fenotipo clínico, la edad de inicio y la progresión puede diferir incluso entre aquellos sujetos con la misma variante e incluso dentro de una misma familia. Así mismo, la enfermedad puede no manifestarse en algunos portadores de variantes altamente penetrantes debido al fenómeno de penetrancia incompleta. Por lo tanto, además de la variante de interés en cuestión, exis-





ten otros factores genéticos y/o ambientales adicionales que juegan su papel en el proceso de enfermedad. Desde el descubrimiento hace 25 años de las primeras mutaciones en el gen *SNCA*<sup>2</sup> se han descrito variantes infrecuentes en más de 20 genes (Tablas 1 y 2). Sin embargo, la relevancia de muchos de estos genes y variantes no se ha podido replicar ni tienen una clara repercusión funcional. Actualmente se considera que sólo *SNCA*, *LRRK2*, *VPS35*, *PRKN*, *PINK1*, *GBA* y *DJ-1* se pueden asociar con seguridad con la enfermedad, y considerarse formas monogénicas o familiares de EP. A continuación se describen las características clínicas principales de las formas monogénicas más frecuentes:

- Las mutaciones en los genes, *SNCA*, *LRRK2* y *VPS35* causan formas dominantes de EP.
  - Los pacientes con mutaciones de *SNCA* generalmente desarrollan una EP de inicio temprano con una respuesta inicialmente buena al tratamiento dopaminérgico. Sin embargo, suelen progresar de forma acelerada y a menudo desarrollan demencia y deterioro cognitivo.
  - Las mutaciones en el gen *LRRK2* son la causa conocida más frecuente de EP autosómica dominante y esporádica de inicio tardío. Clínicamente, la EP ligada a *LRRK2* se caracteriza por un inicio tardío y progresa lentamente. Los pacientes responden favorablemente al tratamiento dopaminérgico, y la demencia no es común.
  - En cuanto a la EP asociada a mutaciones en *VPS35*, excepto por una edad de inicio más temprana, es clínicamente indistinguible de la EP esporádica.
- Las mutaciones en *PRKN*, *PINK1* y *DJ-1* son responsables de formas recesivas de la enfermedad.
  - La EP asociada a *PRKN* suele comenzar en la tercera o cuarta década de la vida, y generalmente progresa lentamente con una excelente respuesta al tratamiento dopaminérgico. Sin embargo, en algunos de los portadores de mutaciones de *PRKN* la enfermedad puede debutar incluso en la infancia, siendo las mutaciones homocigotas en *PRKN* la causa más frecuente de EP juvenil (edad de inicio  $\leq 21$  años).
  - El fenotipo clínico de *PRKN*, *PINK1* y *DJ1* es indistinguible.
- La EP asociada a mutaciones en el gen de la glucocerebrosidasa (*GBA*) se caracteriza por un fenotipo motor muy similar al de la EP idiopática. Los síntomas no motores, en cambio, son más prominentes: hay una mayor afectación cognitiva, manifestaciones neuropsiquiátricas de mayor gravedad y mayor disfunción autonómica.

**Tabla 1.** Clasificación clásica de formas monogénicas de enfermedad de Parkinson.

PARK	AÑO DE DESCUBRIMIENTO	LOCUS	PROTEÍNA
PARK1/PARK4	1996/ 1999	4q21-q23	SNCA
PARK2	1998	6q25.2-q27	PARKIN
PARK5	1998	4p14	UCHL1
PARK6	2001	1p35-p36	PINK1
PARK7	2001	1p36	DJ-1
PARK8	2002	12q12	LRRK2/dardarina
PARK9	1999	1p36	ATP13A2
PARK10	2002	1p32	20 cM
PARK11	2003	2q36-q37	GiGYF2
PARK12	2003	Xq21-Xq25	20 cM
PARK13	2005	2p12	Omi/HtrA2
PARK14	2009	18q11	PLA2G6
PARK15	2008	22q12-q13	FBX07
PARK16	2009	1q32	rs11240572
PARK17	2011	4p16	VPS35
PARK18	2012	6p21.3	EIF4GI
PARK19	2013	3q21.3-q22.2	DNAJC12
PARK20	2014	21q22.11	SYNJ1
PARK21	2016	3q22.1	DNAJC13
PARK22	2017	7p11.2	CHCHD2
PARK23	2018	15q22.2	VPS13C

**Tabla 2. Mutaciones causales de EP, frecuencia y nivel de asociación.**

GEN	HERENCIA	FRECUENCIA	NIVEL DE ASOCIACIÓN
SNCA	Dominante	Muy infrecuente	Muy alto
PRKN	Recesiva	Infrecuente	Muy alto
UCHL1	Dominante	No claro	Bajo
PARK7	Recesiva	Muy infrecuente	Muy alto
LRRK2	Dominante	Frecuente	Muy alto
PINK1	Recesiva	Infrecuente	Muy alto
POLG	Dominante	Infrecuente	Alto
HTRA2	Dominante	No claro	Bajo
ATP13A2	Recesiva	Muy infrecuente	Muy alto
FBX07	Recesiva	Muy infrecuente	Muy alto
GIGYF2	Dominante	No claro	Bajo
GBA	Dominante	Frecuente	Muy alto
PLA2G6	Recesiva	Infrecuente	Muy alto
EIF4G1	Dominante	No claro	Bajo
VPS35	Dominante	<i>Muy infrecuente</i>	Muy alto
DNAJC6	Recesiva	Muy infrecuente	Alto
SYNJ1	Recesiva	Muy infrecuente	Alto
DNAJC13	Dominante	No claro	Bajo
TMEM230	Dominante	No claro	Bajo
VPS13C	Recesiva	Infrecuente	Alto
LRP10	Dominante	No claro	Bajo

### 4.3 EL COMPONENTE GENÉTICO EN LA ENFERMEDAD DE PARKINSON ESPORÁDICA

Las mutaciones de las formas monogénicas, y los alelos de susceptibilidad como las variantes en el gen *GBA* además de justificar el componente familiar de un número importante de casos, podrían tener un papel relevante en la EP en principio considerada esporádica<sup>3</sup>. Es difícil precisar la prevalencia real de estas variantes patogénicas pero se considera que podrían explicar alrededor del 30% de las formas familiares de EP, y el 5% de las formas esporádicas<sup>4</sup>. Los resultados de los metaanálisis en estudios de GWAS han identificado una serie de *loci* en asociación clínicamente significativa con el riesgo de desarrollar EP<sup>5</sup>, y como se ha mencionado previamente se podría hablar de un espectro de enfermedad que va desde mutaciones altamente patógenas, a variantes de riesgo moderado, y múltiples *loci* que confieren bajo riesgo de enfermedad. Se han identificado por ejemplo, asociaciones de riesgo con *SNCA* y *MAPT*<sup>6</sup>, o con *PARK16*, *LRRK2* y *BST1*<sup>7</sup>. Un metanálisis de GWAS llevado a cabo en 2019 que incluye alrededor de 37.700 casos de EP, y 1.4 millones de controles de ascendencia europea, ha llegado a identificar hasta 90 posibles factores de riesgo genético asociados con la EP esporádica<sup>8</sup>. Los resultados de los estudios de GWAS han sido de gran importancia para conocer la implicación de la genética en enfermedades complejas como la EP. Además, es importante destacar que muchos de los genes implicados están involucrados en rutas biológicas que contribuyen al riesgo de enfermedad, como es la disfunción mitocondrial que fue uno de los primeros procesos que se asociaron con la patogénesis de la EP mediante el análisis de los genes recesivos (*DJ1*, *PINK1*, *PRKN*). Así, sólo las variantes en los genes asociados a la función mitocondrial puede contribuir al 7% de la heredabilidad general en la EP y contribuyen a una edad de inicio de la enfermedad más tardía<sup>9</sup>.

Recientemente se ha descrito un conjunto de 16 genes podría jugar un papel en el inicio y progresión de la EP de inicio tardío<sup>10</sup>. Sin embargo aun es preciso llevar a cabo estudios adicionales que confirmen el papel de los mismos en la etiopatogenia de la EP.

Los resultados de todos estos estudios sin embargo, siguen siendo insuficientes para explicar toda la variabilidad genética que subyace a la enfermedad<sup>11</sup>, y los hallazgos genéticos podrían justificar sólo el 22% de los casos<sup>9</sup>. Es evidente que el aumento del tamaño muestral de los GWAS permite identificar nuevos *loci* de susceptibilidad pero no todas las variantes son detectadas por estas técnicas, y estas cohortes en ocasiones no tienen una cantidad suficiente de datos clínicos lo cual dificulta su interpretación. No debemos olvidar también la contribución de las interacciones entre genes, de estos con el ambiente, y de la heredabilidad de los factores epigenéticos en la susceptibilidad a esta enfermedad<sup>12,13</sup>.



## 4.4 CONTRIBUCIÓN DE LA GENÉTICA EN OTROS PARKINSONISMOS

### 4.4.1 Parálisis supranuclear progresiva

A pesar de que la parálisis supranuclear progresiva (PSP) generalmente se reconoce como un síndrome esporádico, muchos datos sugieren que la genética juega un papel en la susceptibilidad a la enfermedad y que las mutaciones de ciertos genes podrían conducir a su desarrollo. Se han descrito formas familiares<sup>14-16</sup> y se ha propuesto un patrón de herencia autosómico dominante<sup>15,16</sup>. Durante los últimos años los GWAS en grandes cohortes han identificado varios *loci* significativamente asociados con la PSP<sup>17-19</sup>. *MAPT* parece ser el locus de riesgo con mayor tamaño de efecto. La frecuencia de casos de PSP portadores de mutaciones en *MAPT* es variable con un rango que oscila entre 0,6% a 14,3%<sup>20,21</sup>. En total se han descrito 15 mutaciones del gen *MAPT* en casos que se presentan como una PSP. La edad media de inicio en PSP asociada a mutaciones en *MAPT* es aproximadamente 44,8 años. Por otro lado, la mayoría de casos de PSP asociados a mutaciones en *MAPT* tienen historia familiar de parkinsonismo o demencia u otra enfermedad neurodegenerativa, lo que apoya la agregación familiar en la PSP<sup>20</sup>. Este fenómeno indica la importancia de excluir mutaciones *MAPT* cuando existe tal historia familiar.

Las mutaciones en el gen *LRRK2* parecen ser una causa monogénica poco habitual asociada a la PSP. Aunque varios estudios han detectado resultados negativos al cribar el gen *LRRK2* en cohortes de PSP, otros estudios han llegado a identificar 5 mutaciones en pacientes que se presentan con fenotipo de PSP. Además, un estudio reciente identificó que variantes en el locus *LRRK2* es un determinante genético de la supervivencia de PSP, lo que agrega una probable evidencia de asociación entre el gen *LRRK2* y la PSP<sup>22</sup>.

Otras variantes también podrían actuar como modificadores genéticos del fenotipo de PSP<sup>23</sup> y se han identificado muchos otros genes que podrían estar asociados con la PSP (*DCTN1*, *BSN*, *PRKN*, *GRN*, *C9ORF72*, *TARDBP*, *NPC1*, *PGRN*, y *TBK1*) pero la relación de estos con la enfermedad no está del todo clara dada la heterogeneidad clínica y neuropatológica de los pacientes con PSP.

### 4.4.2 Degeneración corticobasal

La degeneración corticobasal (DCB) es una enfermedad neurodegenerativa considerada esporádica, diagnosticada en la mayoría de casos después del estudio neuropatológico, y de muy baja prevalencia, lo que dificulta el estudio de los factores de riesgo genéticos debido al pequeño tamaño muestral.

Un GWAS llevado a cabo en 2015 que incluía 152 muestras de pacientes con DCB confirmada por autopsia, y 3311 muestras de controles, identificó asociaciones significativas con *MAPT*, *Inc-KIF13B-1*, un RNA largo no codificante, y *SOS1*<sup>24</sup>. El tamaño de la muestra de este GWAS que incluía exclusivamente pacientes de ascendencia europea, hace que sus resultados no sean tan significativos, y que requieran más investigación. Por otro lado, un metaanálisis llevado a cabo en 2017 demostró la existencia de una conexión genética entre la PSP, la demencia frontotemporal (DFT) y la DCB. Este estudio pudo identificar varias variantes en *MOBP*, replicando resultados de estudios previos. Además, este estudio también identificó una serie de asociaciones novedosas que incluían variantes en los genes *CXCR4*, *EGFR* y *GLDC*<sup>25</sup>. Estas asociaciones genéticas se encontraron solo entre DCB y PSP, mientras que la única superposición encontrada entre DCB y DFT fue en las variantes del haplotipo *MAPT*. Por último los resultados de un estudio más reciente han asociado expansiones de repetición intermedias en *C9orf7* con la DCB<sup>26</sup>.

#### 4.4.3 Atrofia multisistémica

La atrofia multisistémica (AMS) se considera a día de hoy una enfermedad esporádica; sin embargo, muchos estudios han asociado la enfermedad con varios factores genéticos. Se han descrito formas familiares<sup>27-29</sup> con un patrón de herencia variable en los diferentes estudios. Dado que la AMS se considera una alfa-sinucleinopatía, se ha prestado especial atención al gen *SNCA*, sin embargo su causalidad en la AMS aún no está clara<sup>30</sup>. Se han identificado varias variantes en el gen *SNCA* que se asocian significativamente con un mayor riesgo genético de AMS en la población caucásica<sup>31,32</sup>. Sin embargo, estos resultados no se han llegado a replicar en un estudio llevado a cabo en población asiática lo cual sugiere que estas variantes podrían incrementar el riesgo de AMS solo en sujetos de ascendencia europea<sup>33</sup>.

Por otro lado, una variante común (V393A) en *COQ2* (coenzima Q2 poliprenil transferasa) se ha asociado con la AMS en la población de Asia oriental<sup>34</sup> sin replicarse estos resultados en un GWAS en una cohorte europea y norte americana, lo que sugiere que esta variante solo aumentaría el riesgo de desarrollar AMS en las poblaciones de Asia oriental<sup>35</sup>.

Ciertas variantes en *GBA* se han asociado previamente con la susceptibilidad a las sinucleinopatías. El riesgo está bien establecido en la enfermedad del cuerpo de Lewy<sup>36</sup>, pero no esta tan confirmado para la AMS. En una cohorte combinada de Japón, Europa y América del Norte se objetivo una frecuencia de portadores de variantes de *GBA* de alrededor del 1,75%. Curiosamente, en este estudio las variantes de *GBA* se asociaron de una manera más significativa con el subtipo cerebeloso de AMS<sup>37</sup>. Otro estudio que constaba de 118 casos de AMS de origen británico confirmados neuropatológicamente en cambio, no mostró asociación entre las mutaciones en *GBA* y la AMS<sup>38</sup>.



## 4.5 RECOMENDACIONES SOBRE EL ESTUDIO GENÉTICO EN LA ENFERMEDAD DE PARKINSON

Los resultados de los estudios de secuenciación masiva aportan cada vez más datos que dan aún mayor complejidad a las recomendaciones sobre el estudio genético en los trastornos del movimiento. Actualmente, el tamaño de los paneles multigénicos de laboratorios comerciales es muy variable, con paneles que incluyen desde 5 hasta más de 50 genes. Existe por lo tanto la necesidad urgente de consensuar qué genes deben incluirse en un panel multigénico de laboratorio comercial para el estudio genético de EP<sup>39</sup>.

Las principales sociedades científicas han ido mostrando unas directrices que se intentan adecuar a cada situación, pero con la rapidez con la que se expande el conocimiento en este ámbito pueden quedarse rápidamente obsoletas.

Entre las formas monogénicas con patrón de herencia recesiva, en la práctica clínica diaria sigue siendo recomendable estudiar las mutaciones en los genes *PRKN*, *DJ-1*, y *PINK1*. El estudio genético es especialmente útil en las formas de EP de inicio juvenil independientemente de la presencia de antecedentes familiares. En estos casos el estudio podría simplificar el proceso diagnóstico del paciente, ayudar en la elección del tratamiento, y en una futura planificación familiar. En la EP juvenil con características atípicas sin antecedentes familiares, y en la EP de inicio tardío con una fuerte historia familiar, también estaría justificado realizar un estudio genético<sup>40</sup>. La mayoría de los pacientes, en especial en la EP de inicio temprano están de acuerdo con el estudio genético como una forma de entender mejor su enfermedad, y tomar decisiones en base a estos resultados<sup>41</sup>.

### 4.5.1 Recomendaciones de la EFNS (“European Federation of Neurological Societies”)

En 2009, la EFNS recomendaba el estudio de mutaciones en el gen *LRRK2* en los pacientes europeos con una EP familiar con patrón de herencia dominante, y en especial la búsqueda de la mutación G2019S en casos familiares, pero también en casos esporádicos en poblaciones específicas (judíos Ashkenazi o población del norte de África) (**nivel de evidencia B**). También se recomendaba el análisis de mutaciones en los genes *PRKN*, *PINK1* y *DJ-1* en pacientes con EP de inicio muy precoz (antes de los 35 años) con un patrón de herencia recesivo<sup>42</sup> (**nivel de evidencia B**).

En 2013 la EFNS publicó la guía para el diagnóstico en la EP<sup>43</sup>, y en el estudio genético mantenía el nivel de recomendación descrito previamente en 2009 (**nivel de evidencia B**). En esta guía se aconsejaba realizar el estudio genético para mutaciones específicas de

forma individualizada, teniendo en cuenta dos aspectos fundamentales: los antecedentes familiares y la edad de inicio.

#### **4.5.2 Recomendaciones de la MDS (“*Movement Disorder Society*”)**

Considerando los avances de la genética en los últimos años, que justificaban el componente hereditario en esta enfermedad, el “*Task Force on Genetic Nomenclature in Movement Disorders de la Movement Disorder Society*” (MSD) publicó unas recomendaciones en las que se revisa la nomenclatura de la genética de los trastornos de movimiento<sup>44</sup>, y se analizan las condiciones necesarias para garantizar la evidencia imprescindible para asociar una alteración genética a una enfermedad determinada. En estas recomendaciones se puntualizaron varios cambios con respecto a la clasificación clásica de 21 genes y locus asignado al acrónimo PARK. En los casos previamente denominados como PARK 3, 5, 11, 13, 18 y 21 se consideró que la relación no estaba confirmada. Además, las tres entidades previamente conocidas como PARK 10, 12 y 16 pasaron a la categoría de factor de riesgo, y el PARK1 y el PARK4 que hacen referencia al gen *SNCA* se unificaron (Tabla 3).

Las recomendaciones de la MDS sobre la probabilidad de identificar mutaciones tienen en cuenta principalmente cuatro factores: la edad de inicio, el componente familiar o esporádica, el patrón de herencia, y la pertenencia a etnias o poblaciones especiales. De esta manera, en los pacientes con EP de inicio precoz, considerándose así los que han empezado con síntomas antes de los 45 años, cuanto más temprano es el inicio de la enfermedad, más probable es la existencia de una causa genética, mayor aún si existen casos familiares. En estos casos las mutaciones más frecuentemente encontradas son las de los genes recesivos, en primer lugar *PRKN*, y como segunda opción *PINK1* y *DJ1*. En los pacientes con edad de inicio mayor de 45 años, si hay antecedentes familiares con un patrón de herencia dominante es aconsejable realizar el estudio de las mutaciones reconocidas como patógenas en el gen *LRRK2*, en especial la mutación G2019S en poblaciones árabes del norte de África y judíos Ashkenazíes, y la mutación R1441G en población vasca. Las mutaciones en *SNCA* son menos frecuentes, por lo que debe valorarse su estudio tras haber descartado mutaciones en el gen *LRRK2* en familias con individuos afectados en varias generaciones. En pacientes sin antecedentes familiares también estaría justificado estudiar las mutaciones G2019S y R1441G en estas poblaciones concretas por su alta prevalencia.



**Tabla 3.** Propuesta de la MDS sobre los parkinsonismos hereditarios más frecuentes.

NUEVA DESIGNACIÓN	HERENCIA	LOCUS SYMBOL
<b>Parkinsonismos clásicos</b>		
PARK- <i>SNCA</i>	Dominante	PARK1
PARK- <i>LRRK2</i>	Dominante	PARK8
PARK- <i>VPS35</i>	Dominante	PARK17
<b>Parkinsonismos de inicio precoz</b>		
PARK- <i>PARKN</i>	Recesiva	PARK2
PARK- <i>PINK1</i>	Recesiva	PARK6
PARK- <i>DJ1</i>	Recesiva	PARK7

#### 4.5.3 Recomendaciones de la Sociedad Española de Neurología

A continuación se presenta un algoritmo que engloba y sintetiza las recomendaciones de ambas sociedades científicas y dirige el qué hacer en cada supuesto según edad y antecedentes familiares (Figura 2). Se sintetizan a continuación:

- Se recomienda realizar estudio genético tanto en la EP de inicio juvenil (<21 años) como en la EP de inicio precoz (edad de inicio 21-45 años), independientemente de la presencia de antecedentes familiares.
  - **Primer nivel:** *PRKN* (Nivel de evidencia B).
  - **Segundo nivel:** *PINK1* y *DJ1* (Nivel de evidencia B).
  - **Tercer nivel:** Sólo en los casos de EP de inicio juvenil, si no se han detectado mutaciones en los genes *PRKN*, *PINK1* y *DJ1*, se debería considerar solicitar el genotipado de los genes *ATP13A2*, *PLA2G6* y *FBX07*.
  - **Cuarto nivel:** Panel multigénico /WES.
- En los pacientes con EP de inicio tardío (edad de inicio > 45 años):

Antecedentes familiares con un patrón de herencia dominante.

- **Primer nivel:** se recomienda realizar el estudio de las mutaciones reconocidas como patógenas en el gen *LRRK2*. En población general debe realizarse el estudio de la mu-

tación G2019S, mientras que en población de ascendencia vasca debe considerarse el estudio de la mutación R1441G (Nivel de evidencia B).

- **Segundo nivel:** Las mutaciones en *SNCA* son menos frecuentes, por lo que debe valorarse su estudio tras haber descartado mutaciones en el gen *LRRK2* en familias con individuos afectados en varias generaciones.
- **Tercer nivel:** Panel multigénico/WES.

En judíos Askhenazi y en población del norte de África sin antecedentes familiares también podría estar justificado estudiar las mutaciones G2019S y R1441G dada su alta prevalencia en esta población.

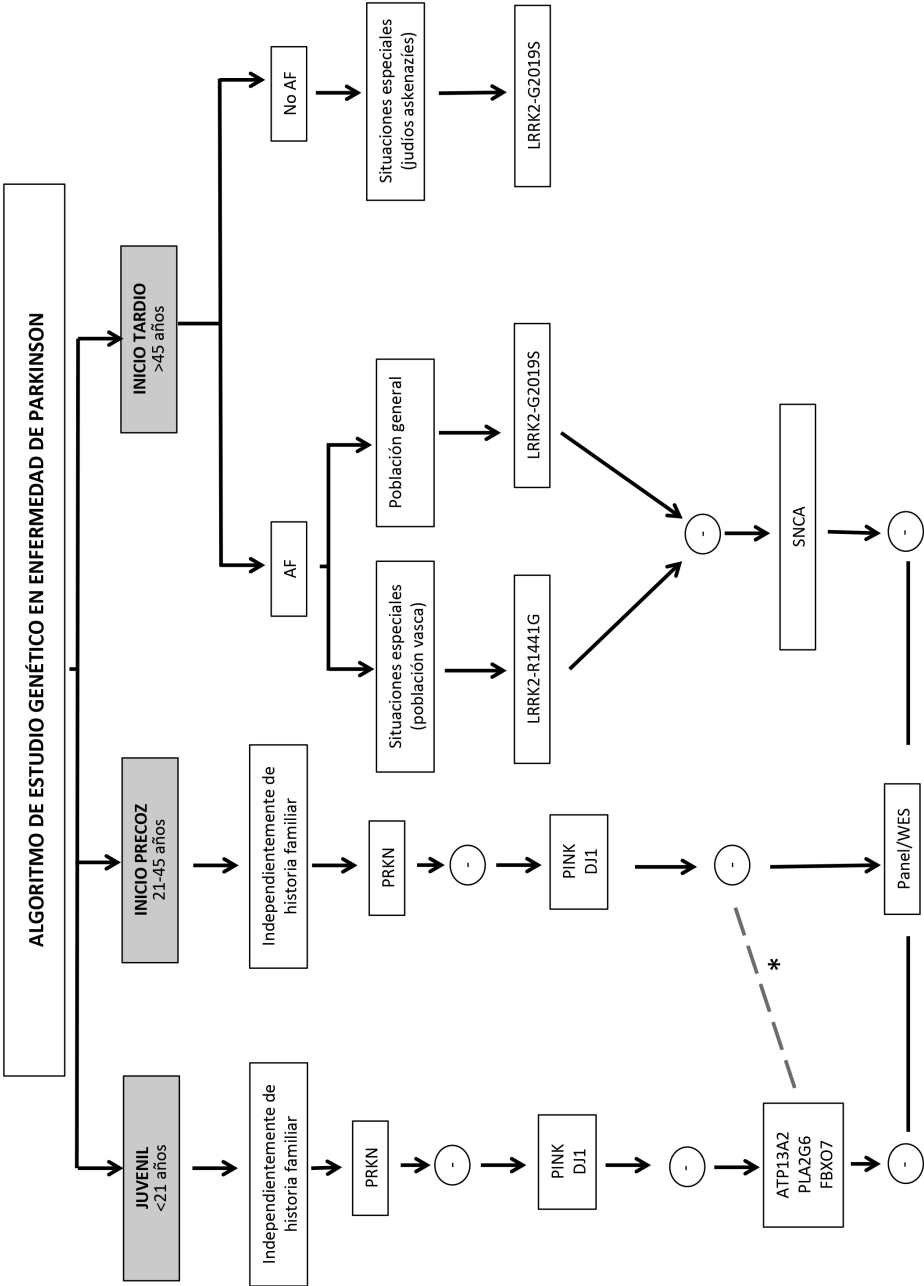
No existen directrices claras en cuanto al estudio genético en otros parkinsonismos por lo que no sería aconsejable a día de hoy ampliar el estudio salvo en fenotipos complejos o atípicos dentro de lo atípico y cuando existe historia familiar de parkinsonismo o demencia u otra enfermedad neurodegenerativa y en estos caso podría plantearse realizar un WES.

#### **Niveles de evidencia y grados de recomendación de los algoritmos diagnósticos propuestos:**

En la mayoría de los casos, salvo los indicados con el grado de recomendación B, las evidencias provienen de opiniones de expertos (nivel IV), en la misma línea que las recomendaciones (Rec SEN).



**Figura 2.** Algoritmo de estudio genético en la enfermedad de Parkinson.



(\*) En caso de EP de inicio precoz (21-45 años) valorar considerar genotipado de *ATP13A2*, *PLA2G6* y *FBX07* antes de panel o WES si edad tiende a límite inferior del intervalo.

## 4.6 CONCLUSIONES

Es importante cuestionarse el valor de un estudio genético en nuestra práctica diaria en los pacientes con trastornos del movimiento. En la EP los descubrimientos de las últimas décadas han permitido empezar a determinar el papel de la genética en la fisiopatología de la enfermedad, y establecer una serie de recomendaciones. En otros parkinsonismos en cambio, no se han podido establecer recomendaciones con un claro nivel de evidencia debido a que se trata de enfermedades mucho menos prevalentes y por lo tanto los estudios llevados a cabo incluyen un número significativamente menor de individuos.

En la EP la situación es distinta, pero tenemos que entender la importancia de un estudio genético principalmente diferenciando el ámbito asistencial de la investigación, y la repercusión del resultado en el manejo del paciente y el impacto en su entorno familiar. En este momento no disponemos de un tratamiento específico para las formas monogénicas de EP, pero en algunas de ellas, como las asociadas a mutaciones en *LRRK2*, se han iniciado los primeros ensayos clínicos con moléculas que potencialmente podrían influir en la fisiopatología que subyace al déficit molecular (NCT04557800, NCT04056689). En un futuro podría ser de gran relevancia saber el estatus genético del individuo ya sea paciente o familiar asintomático, para valorar si es susceptible de una terapia precoz que pueda modificar el curso de la enfermedad.

La identificación de una mutación asociada a la EP en las formas de inicio temprano, tiene impacto en la reducción de la incertidumbre diagnóstica, y en los pacientes con un curso evolutivo atípico donde se había podido sugerir un trastorno funcional, u otras formas de parkinsonismo, puede ayudar en el diagnóstico y tratamiento.

El estudio genético en la EP a día de hoy no se debe recomendar en todos los casos, y siempre debe ofrecerse en el marco de un adecuado consejo genético, con un consentimiento informado, con todas las garantías de privacidad, y realizado por un equipo profesional que incluya asesoramiento tanto antes como después del estudio. La accesibilidad actual para realizarse estos estudios de manera privada, y el avance de los estudios de secuenciación masiva nos sitúan en un escenario donde los neurólogos probablemente tengamos que estar preparados para saber interpretar los resultados, y darles la significación adecuada siempre en el contexto clínico de cada individuo. Es importante tener en cuenta la implicación que tiene el resultado para el paciente pero también para sus familiares, saber diferenciar el papel causal de cada variante genética, tener en cuenta el grado de penetrancia de las diferentes mutaciones, y su correlación real con el fenotipo, determinado también por otros factores ambientales o epigenéticos que suponen una dificultad añadida en el consejo genético. No cabe duda que afrontar un estudio genético



en una enfermedad neurodegenerativa puede tener una repercusión importante, y siempre es adecuado tener en cuenta las recomendaciones de las sociedades científicas, e individualizar cada caso.

## BIBLIOGRAFÍA

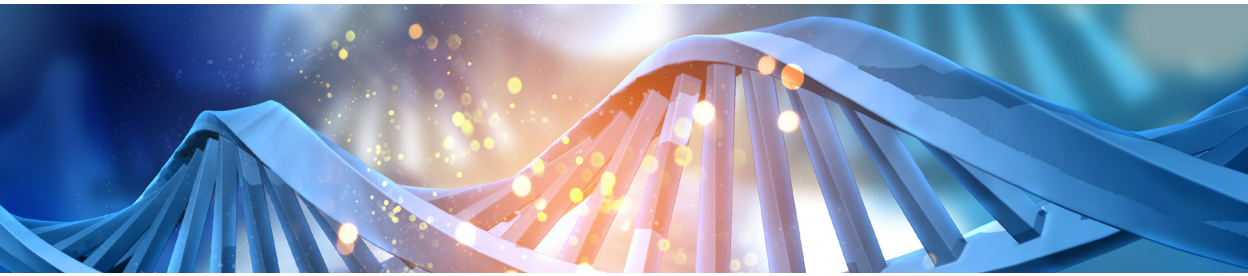
1. Nalls, M., Blauwendraat, C., Vallerga, C. & Al, E. Expanding Parkinson's disease genetics: novel risk loci, genomic context, causal insights and heritable risks. *bioRxiv* (2019).
2. Polymeropoulos, M. *et al.* Mutation in the alpha-synuclein gene identified in families with Parkinson's disease. *Science* (80-. ). 276, 2045–7 (2017).
3. Hamza, T. H. & Payami, H. The heritability of risk and age at onset of Parkinson's disease after accounting for known genetic risk factors. *J Hum Genet* 55, 241–243 (2010).
4. Kumar, K., Djarmati-Westenberger, A. & Grunewald, A. Genetics of Parkinson's disease. *Semin Neurol* 31, 433–40 (2011).
5. Nalls, M. A., Pankratz, N., Lill, C. M. & Al., E. Large-scale meta-analysis of genome-wide association data identifies six new risk loci for Parkinson's disease. *Nat Genet* 46, 989–93 (2014).
6. Simon-sanchez, J. *et al.* Genome-Wide Association Study reveals genetic risk underlying Parkinson's disease. *Nat Genet* 41, 1308–1312 (2010).
7. Satake, W. *et al.* Genome-wide association study identifies common variants at four loci as genetic risk factors for Parkinson's disease. *Nat. Genet.* 41, 1303–1307 (2009).
8. Nalls, M. *et al.* Identification of novel risk loci, causal insights, and heritable risk for Parkinson's disease: a meta-genome wide association study. *Lancet Neurol* 18, 1091–1102 (2019).
9. Billingsley Kimberley, J. *et al.* Mitochondria Function Associated Genes Contribute to Parkinson's Disease Risk and Later Age at Onset. *NPJ Park. Dis* 22, 8 (2019).
10. Gialluisi, A. *et al.* Identification of sixteen novel candidate genes for late onset Parkinson's disease. *Mol. Neurodegener.* 16, 35 (2021).
11. Manolio, T. A. *et al.* Finding the Missing Heritability of Complex Diseases. *Nature* 461, 747–53 (2009).
12. Kia, D. *et al.* Identification of Candidate Parkinson Disease Genes by Integrating Genome-Wide Association Study, Expression, and Epigenetic Data Set. *JAMA Neurol* 78, 1–10 (2021).
13. Marco, T., Valeria, R., Pasquale, S. & Saverio, A. Epigenetic Inheritance and the Missing Heritability. *Hum. Genomics* 9, 17 (2015).
14. Rojo, A. *et al.* Clinical genetics of familial progressive supranuclear palsy. *Brain Nerve* 122, 1233–1245 (1999).
15. Ros, R. *et al.* Genetic linkage of autosomal dominant progressive supranuclear palsy to 1q31.1. *Ann Neurol* 57, 634–641 (2005).
16. Fujioka, S. *et al.* Three sib-pairs of autopsy-confirmed progressive supranuclear palsy. *Park. Relat. Disord.* 21, 101–105 (2015).
17. Höglinger, G. U. *et al.* Clinical Diagnosis of Progressive Supranuclear Palsy: The Movement Disorder Society Criteria. *Mov Disord* 32, 853–864 (2017).
18. Chen, J. A. *et al.* Joint Genome-Wide Association Study of Progressive Supranuclear Palsy Identifies Novel Susceptibility Loci and Genetic Correlation to Neurodegenerative Diseases. *Mol. Neurodegener.* 13, 41 (2018).
19. Sanchez-Contreras, M. *et al.* Replication of progressive supranuclear palsy genomewide association study identifies SLC01A2 and DUSP10 as new susceptibility loci. *Mol Neurodegen* 13, 37 (2018).
20. Donker Kaat, L. *et al.* Familial aggregation of parkinsonism in progressive supranuclear palsy. *Neurology* 73, 98–105 (2009).

21. Yabe, I. *et al.* Mutations in bassoon in individuals with familial and sporadic progressive supranuclear palsy-like syndrome. *Sci Rep* 8, 819 (2018).
22. Jabbari, E. *et al.* Genetic determinants of survival in progressive supranuclear palsy: a genome-wide association study. *Lancet Neurol* 20, 107–116 (2021).
23. Jabbari, E. *et al.* Variation at the TRIM11 Locus Modifies Progressive Supranuclear Palsy Phenotype. *Ann Neurol* 84, 485–496 (2018).
24. Kouri, N. *et al.* Genome-Wide Association Study of Corticobasal Degeneration Identifies Risk Variants Shared with Progressive Supranuclear Palsy. *Nat Commun* 6, 7247 (2015).
25. Yokoyama, J. S. *et al.* Shared Genetic Risk between Corticobasal Degeneration, Progressive Supranuclear Palsy, and Frontotemporal Dementia. *Acta Neuropathol* 133, 825–837 (2017).
26. Cali, C. P. *et al.* C9orf72 Intermediate Repeats Are Associated with Corticobasal Degeneration, Increased C9orf72 Expression and Disruption of Autophagy. *Acta Neuropathol.* 138, 795–811 (2019).
27. Hohler, E. & Singh, V. Probable hereditary multiple system atrophy-autonomic (MSA-A) in a family in the United States. *J Clin Neurosci* 19, 479–480 (2012).
28. Wüllner, U., Schmitt, I., Kammal, M., Kretzschmar, H. & Neumann, M. Definite multiple system atrophy in a German family. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 80, 449–450 (2009).
29. Hara, K. *et al.* Hara K, Momose Y, Tokiguchi S, Shimohata M, Terajima K, Onodera O, Kakita A, Yamada M, Takahashi H, Hirasawa M, Mizuno Y, Ogata K, Goto J, Kanazawa I, Nishizawa M, Tsuji S. Multiplex families with multiple system atrophy. *Arch Neurol* 64, 545–551 (2007).
30. Katzeff, J. S., Phan, K., Purushothuman, S., Halliday, G. M. & Kim, W. S. Cross-Examining Candidate Genes Implicated in Multiple System Atrophy. *Acta Neuropathol. Commun.* 2019, 7, 117. *Acta Neuropathol Commun* 7, 117 (2019).
31. Scholz, S. W. *et al.* SNCA Variants Are Associated with Increased Risk for Multiple System Atrophy. *Ann Neurol* 65, 610–614 (2009).
32. Al-Chalabi, A. *et al.* Genetic Variants of the Alpha-Synuclein Gene SNCA Are Associated with Multiple System Atrophy. *PLoS One* 4, e7114 (2009).
33. Chen, Y. *et al.* Genetic Variants of SNCA Are Associated with Susceptibility to Parkinson's Disease but Not Amyotrophic Lateral Sclerosis or Multiple System Atrophy in a Chinese Population. *PLoS One* 10, e0133776 (2015).
34. Zhao, Q. *et al.* Association of the COQ2 V393A Variant with Risk of Multiple System Atrophy in East Asians: A Case-Control Study and Meta-Analysis of the Literature. *Neurol Sci* 37, 423–430 (2016).
35. Sailer, A. *et al.* A Genome-Wide Association Study in Multiple System Atrophy. *Neurology* 87, 1591–1598 (2016).
36. Nalls, M., Duran, R., Lopez, G. & *et al.* A multicenter study of glucocerebrosidase mutations in dementia with Lewy bodies. *JAMA Psychiatry* 70, 727–735 (2013).
37. Mitsui, J. *et al.* Variants Associated with Gaucher Disease in Multiple System Atrophy. *Ann. Clin. Transl. Neurol.* 2, 417–426 (2015).
38. Segarane, B. *et al.* Glucocerebrosidase Mutations in 108 Neuropathologically Confirmed Cases of Multiple System Atrophy. *Neurology* 72, 1185–1186 (2009).
39. Cook, L. *et al.* The commercial genetic testing landscape for Parkinson's disease. *Park. Relat Disord* 92, 107–111 (2021).
40. Klein, C., Schlossmacher, M. & Al., E. The genetics of Parkinson disease: Implications for neurological care. *Nat Clin Pr. Neurol* 2, 136.146 (2006).
41. Jacobs, H., Latza, U., Vieregge, A. & Vieregge, P. Attitudes of young patients with Parkinson's disease towards possible presymptomatic and prenatal genetic testing. *Genet. Couns* 12, 55–67 (2001).
42. Harbo, H., Finsterer, J., Baets, J. & Al., E. EFNS guidelines on the molecular diagnosis of neurogenetic disorders: general issues, Huntington's disease, Parkinson's disease and dystonias. *Eur J Neurol* 16, 777–785 (2009).
43. Berardelli, A., Wenning, G., Antonini, A. & Al., E. EFNS/MDS-ES recommendations for the diagnosis of Parkinson's disease. *Eur. J. Neurol* 20, 16–24 (2013).
44. Marras, C. *et al.* Nomenclature of genetic movement disorders: Recommendations of the international Parkinson and movement disorder society task force. *Mov. Disord.* 31, 436–457 (2016).



# CAPÍTULO 5

## Estudios genéticos en distonía



### Autores

Lola Díaz Feliz<sup>1</sup>

Pedro J. García Ruiz-Espiga<sup>1</sup>

María José Trujillo Tiebas<sup>2</sup>

### Centro

1. Unidad de Movimientos Anormales, Servicio de Neurología, Fundación Jiménez Díaz, Madrid.

2. Servicio de Genética, Fundación Jiménez Díaz, Madrid.







## 5.1 INTRODUCCIÓN

La definición de distonía ha sido objeto de debate durante más de un siglo. Varios autores han ofrecido nuevas propuestas para definir el trastorno, integrando información fisiopatológica y de neuroimagen<sup>1</sup>. Se caracteriza por contracciones musculares sostenidas o intermitentes que provocan movimientos o posturas anormales, a menudo repetitivos, o ambos<sup>2</sup>. Los síntomas distónicos pueden presentarse desde la primera infancia hasta la edad adulta tardía y afectar una (focal), varias (multifocales y segmentarias) o muchas (generalizadas) partes del cuerpo<sup>3</sup>.

La nueva actualización del consenso de la “*Movement Disorders Society*” del 2013 sobre la fenomenología y clasificación de la distonía se centra en las características clínicas<sup>4</sup>. Así, parece razonable usar dos términos que se ajustan más a los nuevos avances en la genética y la clasificación más reciente.

- **Distonía aislada:** la única manifestación es la distonía, aunque se puede acompañar de temblor distónico<sup>4</sup>.
- **Distonía combinada:** La distonía asocia otras manifestaciones incluyendo distintas discinesias, parkinsonismo, ataxia y/o espasticidad. Este término reemplaza al antiguo distonía-plus<sup>4</sup>.

Este trastorno del movimiento es poco común con una prevalencia estimada de 16:100.000 habitantes<sup>5</sup>. Tiene características únicas, pero es enormemente variable en intensidad, gravedad, etiología y tratamiento. Puede ser casi imperceptible, algunos pacientes con blefaroespasma o distonía del escribiente nunca acudirán al médico mientras que otros pueden fallecer por complicaciones de la tormenta distónica. En este amplio espectro hay infinidad de variantes clínicas.

La distonía es un trastorno del movimiento clínica y genéticamente muy heterogéneo. En las últimas dos décadas, gracias a la introducción de técnicas de NGS (“*Next Generation Sequencing*”), se han añadido nuevas mutaciones implicadas en distonía en rápida sucesión<sup>6</sup>.

## 5.2 GENÉTICA DE LAS DISTONÍAS

La distonía de causa genética, objetivo de este capítulo, tiene una gran variedad de presentaciones clínicas y de genes asociados (ver [tabla 1](#)).

Aquellos pacientes con distonía de inicio precoz y/o antecedentes familiares con frecuencia obedecen a una causa genética. Aunque siempre hay que considerar la presencia de mutaciones *de novo* y que la penetrancia de muchas mutaciones es escasa, eso explica la ausencia de enfermedad familiar en un cierto porcentaje de portadores DYT-*TOR1A* (DYT1), DYT-SGCE (DYT11), etc<sup>7</sup>.

Se ha propuesto un nuevo esquema de clasificación y nomenclatura genética. De acuerdo con las recomendaciones de la Movement Disorders Society, el prefijo de fenotipo “DYT” para la distonía va seguido del nombre del gen<sup>8,9</sup>. En el caso de DYT1, esto sería, por ejemplo, reemplazado por DYT-*TOR1A*.

Por otro lado, las técnicas de secuenciación de nueva generación NGS han llevado a la descripción de muchos genes nuevos de distonía<sup>10</sup>. Sin embargo, varios de estos hallazgos deben interpretarse con cautela.

## 5.2.1 Distonías aisladas de origen genético frecuentes

### 5.2.1.1 DYT-*TOR1A* (DYT1)

Descrita por Oppenheim en 1911, es la distonía aislada más frecuente de origen hereditario. La mutación causal es una delección de 3 pares de bases (c.907\_909 del GAG, también conocida como delección de GAG) en *TOR1A*. *TOR1A* se localiza en el cromosoma 9q34 y codifica para una ATPasa compuesta por 5 exones, llamada torsina A, relacionada con la regulación sináptica y la respuesta al estrés celular<sup>11</sup>.

DYT-*TOR1A* se hereda de forma autosómica dominante, con penetrancia del 30 al 40%, lo que sugiere que existen factores ambientales y/o otros elementos genéticos que se relacionan con la expresión fenotípica. Hasta la fecha se han descrito 4 casos *de novo* documentados<sup>12</sup>.

La presentación clínica es variable, pero en términos generales el comienzo suele ser en la primera o segunda década; solo el 5% de los pacientes comienzan su clínica después de los 30 años<sup>13</sup>. Otra característica generalmente admitida es que esta distonía suele comenzar en miembros inferiores y se extiende en dirección craneal con el paso del tiempo. Actualmente se recomienda estudiar la presencia de la delección GAG en *TOR1A* en pacientes menores de 30 años, con distonía que inicie por una de las extremidades<sup>14</sup>. A diferencia de otras distonías, no es frecuente la afectación laríngea y es habitual la presencia de temblor asociado. El tratamiento con anticolinérgicos es útil, especialmente en niños y la estimulación palidal es realmente efectiva sobre todo en niños<sup>14</sup>.



### 5.2.1.2 DYT-THAP1 (DYT6)

Es una distonía autosómica dominante, con una penetrancia de 48,4% y edad media de inicio de 15 años. El gen *THAP1* ("*Thanatos-associated protein domain containing apoptosis associated protein 1*") está localizado en el cromosoma 8p11, formado por 3 exones y codifica una proteína nuclear pro-apoptótica, cuya función es potenciar la apoptosis inducida por el factor de necrosis tumoral (TNF) alfa<sup>15</sup>. Estas proteínas también están relacionadas con la regulación de la proliferación celular y se cree que generan la distonía a través de un mecanismo de pérdida de función del gen. Hasta la fecha se han informado más de 100 variantes patogénicas<sup>15</sup>.

Esta distonía suele comenzar en región superior del cuerpo (en claro contraste con *DYT-TOR1A*). Aunque no hay datos específicos, probablemente esta distonía es más frecuente de lo supuesto inicialmente<sup>16</sup>.

### 5.2.1.3 DYT-KMT2B (DYT 28)

Esta distonía tiene especial importancia clínica, ya que su fenotipo es fácilmente reconocible y su respuesta a la estimulación palidal es muy satisfactoria.

El gen implicado, localizado en cr.19q13, codifica una lisina metiltransferasa específica que cataliza la transferencia de un grupo metilo a la cuarta lisina (K4) de la histona H3 (H3K4), un importante mecanismo postraduccional que promueve la transcripción y expresión génica con un papel clave en el desarrollo humano normal<sup>17</sup>.

El inicio suele ser precoz, en miembros inferiores, durante la primera década y suele extenderse cranealmente incluyendo región laríngea. Además, presenta discapacidad intelectual, retraso del desarrollo y disfagia. Es muy característica la forma facial con nariz bulbosa, orejas bajas y cara alargada, facies típica fácilmente reconocible. La marcha es típica, definida como taloneo tipo "Charlot"<sup>18</sup>.

Se hereda de forma autosómica dominante y el 84% de las personas tienen el trastorno como resultado de una variante patogénica *de novo* mientras que el 16% de los sujetos han heredado la variante patogénica de sus progenitores (10% de un padre afectado; 6% de un padre clínicamente asintomático)<sup>19</sup>.

#### **5.2.1.4 DTY-ANO3 (DYT 24)**

DYT-ANO3 sigue un patrón de herencia autosómica dominante y sólo mutaciones en heterocigosis han sido reportadas hasta la fecha. El gen ANO3, codifica para un canal de cloro activado por calcio y que tiene una alta expresión en el estriado. La descripción de múltiples familias con mutación en ANO3 es rara, y solo se han reportado 5 mutaciones *de novo* en seis pacientes. Se han descrito más de 40 variantes patogénicas<sup>20,21</sup>.

La mayoría de las familias descritas son de origen europeo con edad media de presentación a los 23 años. Gran parte de los pacientes presentan una distonía multifocal/segmentaria, la distribución focal o generalizada es menos frecuente. La distonía cervical es la presentación más prevalente, posteriormente hay distonía laríngea y compromiso de miembros superiores; y puede afectar miembros inferiores en pacientes *de novo*<sup>20,21</sup>. La característica más común consistente es la presencia de temblor distónico y en algunos pacientes puede observarse mioclonías<sup>21</sup>. Se han descrito dos pacientes con deterioro cognitivo, uno de ellos en el contexto de trastorno del neurodesarrollo<sup>22</sup>.

#### **5.2.2 Otras formas de distonía aislada de origen genético menos frecuentes**

- DYT-HPCA (DYT2) se hereda con una herencia autosómica recesiva, con inicio de los síntomas en la infancia o adolescencia. Se caracteriza por una afectación inicial en extremidades distales y luego involucra las regiones orofacial y craneocervical, con una evolución lentamente progresiva<sup>23</sup>. Se han descrito algunas familias consanguíneas con distonía segmentaria o generalizada y se han identificado mutaciones para el gen HPCA. Este gen, localizado en el cr.1p35, codifica para una proteína sensora de calcio neuronal que se encuentra casi exclusivamente en el cerebro y en niveles particularmente altos en el cuerpo estriado como una de las causas subyacentes<sup>24,25</sup>.
- En una familia italiana se describió un tipo de distonía focal o segmentaria, de localización craneal, cervical o en las extremidades superiores, que se ha acuñado como DYT13, el gen causante no ha sido identificado, pero se ha localizado en el locus 1p36.13-1p36.14. La herencia es autosómica dominante, con una penetrancia estimada del 58%. Su edad de inicio varía ampliamente entre los 5 y 40 años. En la mayoría de los casos hay compromiso craneocervical y de miembros superiores, con lenta progresión y solo se generaliza en el 18,2 % de los casos. Su fenotipo es similar a la DYT-TOR1A, pero con menor compromiso laríngeo y de miembros inferiores<sup>26</sup>.
- Otro tipo de distonía descrita solo en una familia libanesa con tres hermanas afectadas y patrón de herencia autosómico recesivo es la DYT17. Clínicamente se presenta



como una distonía cervical de inicio entre los 14 y 19 años. En uno de los casos evolucionó a segmentaria tras 2-3 años desde el inicio y en el otro a generalizada tras 9 años de evolución. Su gen se ha mapeado en el cromosoma 20 (20p11.22-q13.12)<sup>27</sup>.

- DYT-COL6A3 (DYT27) se describió en familias alemanas con patrón de herencia autosómico recesivo, asociado a una mutación del gen *COL6A3*, que codifica la cadena  $\alpha$ -3 del colágeno tipo VI. La clínica se inicia en las 2 primeras décadas de la vida, como una distonía focal o segmentaria de la región craneocervical o de miembros superiores. Se puede observar temblor distónico de acción o postural, calambre del escribiente, distonía oromandibular o distonía laríngea<sup>28</sup>.
- La distonía DYT7, originalmente descrita en una extensa familia alemana, tiene una herencia autosómica dominante con penetrancia incompleta y se ha mapeado en el locus 18p. La distonía comienza en la edad adulta siendo focal (distonía cervical, que puede tener compromiso leve facial, de miembros inferiores y disfonía espasmódica) y no se generaliza. Puede asociarse a temblor postural. Estudios recientes de familias con fenotipo similar y de la misma familia inicial no han encontrado alteraciones del cromosoma 18, por lo que bien puede haber heterogeneidad genética o aún no se encontrado el locus definitivo<sup>29,30</sup>.
- DYT 21, es una forma de distonía con herencia autosómica dominante y penetrancia del 75 al 90 %. Se describió en una familia sueca. Clínicamente se presenta con blefaroespasma, distonía cervical, distonía de miembros superiores y algunos casos pueden tener disfonía espasmódica. En los 16 pacientes descritos, 6 son generalizados, 7 multifocales, 2 segmentarios y 1 focal. Su locus se ha mapeado en el cromosoma 2 (2q14.3-21.3)<sup>31</sup>.
- DYT-CIZ1 (DYT 23) es la primera forma de distonía cervical hereditaria descrita, con un patrón de herencia autosómico dominante. En el seguimiento a largo plazo ningún caso descrito ha evolucionado a distonía generalizada. Se ha encontrado una mutación que afecta al ensamblaje del potenciador en el exón 7 del gen *CIZ1*, localizado en el cromosoma 9q34, que codifica una proteína ("*Cip1-interacting zinc finger protein 1*") que participa en la replicación del ADN y regulación del ciclo celular, y que tiene patrones de expresión similares al de la DYT-TOR1A y DYT-THAP1<sup>32</sup>.
- DYT-GNAL (DYT 25), sigue un patrón de herencia autosómico dominante, y hasta la fecha se han encontrado 44 familias con mutaciones en *GNAL* (proteína subunidad alfa L localizado en el cr.18p11) y se han publicado un total de 41 variantes patogénicas<sup>33</sup>. La edad media de presentación es a los 38 años<sup>34</sup>. Clínicamente se presenta

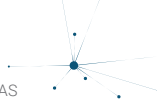
inicialmente como una distonía focal, seguida de distonía multifocal/segmentaria, y solo una pequeña proporción presentan distonía generalizada. Se inicia en la región cervical y, a veces, craneofacial/laríngeo, axial o en una extremidad. La afectación cervical es característica. La distonía laríngea y axial es más rara. Se ha reportado asociación con temblor distónico cefálico y mioclonías. Los signos y síntomas no motores son raros.

### 5.2.3 Distonías combinadas

#### 5.2.3.1 Distonía con respuesta a levodopa (DRD):DYT/PARK-GCH1 (DYT 5a), DYT/PARK-TH (DYT-5b).

Esta distonía, rara, pero de excepcional importancia clínica posee un patrón de herencia dominante en la mayoría de los casos, y es secundaria a mutaciones en heterocigosis en el gen *GCH1* (GTP ciclohidrolasa 1). Éste se localiza en el cr.14q22 y codifica la enzima limitante de la velocidad en la biosíntesis de la dopamina a través de la vía de la biopterina. Son una causa de distonía sensible a la levodopa de inicio en la infancia con fluctuación diurna<sup>35</sup>. Hay una forma clínicamente similar, pero con herencia autosómica recesiva, con mutaciones en el gen de la tirosina hidroxilasa (*TH*) en el cr.11p15. Por este motivo se propone dividir esta distonía en 2 grupos: DRD 1 (DRD-a o DTY5-a) y DRD 2 (DRD-b o DTY5-b) de acuerdo con el gen causante.

El fenotipo clínico se caracteriza por la presencia de distonía que se asocia a parkinsonismo, que suele coexistir o puede ser el único hallazgo<sup>36</sup>. En niños, la clínica puede ser superponible e indistinguible de parálisis cerebral. El cuadro parkinsoniano suele ser propio del inicio más tardío. En cualquier caso, lo más característico es la presencia de fluctuaciones; es típico el empeoramiento vespertino, sobre todo en niños<sup>36</sup>. Las mutaciones recesivas (bialélicas) en *GCH1* dan como resultado un fenotipo clínico mucho más grave que incluye retraso en el desarrollo e inicio de la infancia. La señalización de la dopamina es importante para el desarrollo cerebral intrauterino, y se demostró que el tratamiento prenatal con levodopa en un portador homocigoto de mutaciones en *GCH1* previene el desarrollo del fenotipo grave relacionado con las mutaciones bialélicas de *GCH1*. Hay que destacar que la biopterina no solo es un sustrato intermedio importante para la biosíntesis de la dopamina, sino también de otros neurotransmisores, incluida la serotonina. Esto puede explicar por qué las características no motoras como los trastornos del sueño, los trastornos del estado de ánimo o la migraña son frecuentes en estos pacientes. Los portadores de mutaciones en *GCH1* muestran una penetrancia de alrededor del 50%, que es considerablemente más alta en las mujeres que en los hombres. En los casos secundarios a mutación del gen de la *TH*, los casos



de homocigotos son más severos, tienen menor respuesta a levodopa y mayor riesgo de desarrollar discinesias.

Recientemente se ha incluido dentro de la DRD (DYT5) una mutación el gen de la sepiaptenina reductasa (*SPR*) localizado en cr.2p14, como causa de esta distonía, con patrón de herencia autosómico recesivo. Todas las enzimas afectadas participan en la cadena de producción de la dopamina, por lo que sus características clínicas son similares. La distonía DYT14, que en clasificaciones previas está como una entidad diferente, es causada por una mutación en el gen *GCH1*, por lo que forma parte de la DYT/PARK-*GCH1* (DYT 5)<sup>35,36</sup>.

### **5.2.3.2 Distonía-parkinsonismo de inicio rápido: DYT/PARK-*ATP1A3* (DYT 12)**

Cuadro raro, pero fácilmente reconocible por el inicio agudo o subagudo. La herencia es autosómico dominante, con penetrancia reducida. El gen comprometido es el *ATP1A3*, localizado en el cr.9q13, que codifica para una enzima implicada en sodio-potasio ATPasa- $\alpha$ -3, unidad catalítica de la bomba de sodio<sup>37</sup>. Clínicamente, se presenta con un inicio súbito, que evoluciona de forma aguda de horas a días, en la adolescencia o adultos jóvenes con una distonía-parkinsonismo y se asocia a factores desencadenantes como fiebre, esfuerzo físico o estrés emocional.

Los síntomas distónicos muestran con frecuencia un gradiente rostrocaudal con una importante afectación bulbar y, a menudo, se acompañan de una clínica parkinsoniana<sup>38</sup>. En pocas semanas deja de progresar y su cuadro se mantiene estático durante años. Los síntomas generalmente responden de manera parcial a la levodopa.

Además, las mutaciones en *ATP1A3* también se han relacionado con una variedad de síndromes clínicos (pleiotropía) que incluyen crisis epilépticas, hemiplejía alternante, ataxia, deterioro cognitivo y otros trastornos neurológicos, a menudo con un curso más severo y una edad de inicio más temprana<sup>38</sup>.

### **5.2.3.3 Distonía-parkinsonismo ligado al X, síndrome de Lubag: DYT/PARK-*TAF1* (DYT 3)**

Esta distonía se observa en hombres filipinos de la isla Panay, con mutaciones en el gen *TAF1*, localizado en el cr.Xq13.1, que funciona como un regulador del ciclo celular. Inicia como una distonía focal en extremidades, en particular en miembros inferiores, o como una distonía craneal con blefaroespasma y/o distonía oromandibular<sup>39</sup>. Con el tiempo hay extensión a otras áreas corporales pasando a ser segmentaria, multifocal o generalizada. Después de 2 años de enfermedad el 84,7% de los pacientes han desarrollado distonía generalizada. Tras unos 5 a 7 años de evolución, la distonía tiende a revertir

y después de 10 años solo el 8% de los pacientes tienen distonía, la cual es reemplazada por bradicinesia progresiva y rigidez. En estudios patológicos se ha encontrado pérdida de neuronas gabaérgicas del estriado, primero con compromiso de los estriosomas y posteriormente de la matriz, lo que puede explicar el inicio con distonía y el posterior paso a parkinsonismo<sup>40</sup>.

#### **5.2.3.4 Distonía mioclónica: DYT/MYC-SGCE (DYT 11)**

Trastorno del movimiento caracterizado por una combinación de mioclonías y distonía. Las sacudidas mioclónicas típicas afectan el cuello, el tronco y las extremidades superiores con una afectación menos común de las piernas<sup>41</sup>. Aproximadamente el 50% de las personas afectadas tienen distonía focal o segmentaria adicional, que se presenta como distonía cervical y/o calambre del escribiente. Además, muchos portadores desarrollan alteraciones psiquiátricas incluyendo depresión, trastorno obsesivo compulsivo, trastornos de personalidad, déficit de atención con hiperactividad y abuso de drogas<sup>42</sup>. El inicio de los síntomas suele ocurrir en la primera década de la vida y la mayoría de los adultos afectados informan una reducción drástica de las mioclonías en respuesta a la ingestión de alcohol. Se hereda con patrón de herencia autosómico dominante con penetrancia variable e "imprinting" materno, secundario a mutaciones en el gen *SGCE*, localizado en el cr.7q21. Éste codifica para la épsilon-sarcoglicano, una proteína transmembrana que forma parte del complejo glicoproteico de la distrofina presente en el músculo esquelético y cardíaco, en el sistema nervioso, en las neuronas monoaminérgicas, las células de Purkinje, la corteza cerebral y el hipocampo<sup>43</sup>.

#### **Otras entidades asociadas al síndrome de distonía-mioclonía:**

- La presentación clínica de DYT 15 es prácticamente idéntica a la DYT/MYC-SGCE, pero no se ha asociado a mutaciones en el gen *SGCE*. Aún no se conoce el gen causativo, pero se ha mapeado en el brazo corto del cromosoma 18<sup>43</sup>.
- Existe otro tipo de distonía asociada a mioclonías menos frecuente, la DYT/MYC-*KCTD17* (DYT26) con herencia autosómica dominante, generada por mutaciones en el gen *KCTD17* en el cromosoma 22. Su clínica es similar a la DYT/MYC-SGCE, tiende a ser progresiva con mayor compromiso de la mitad superior del cuerpo, pero en la DYT/MYC-KCTD17 no se observa respuesta al alcohol<sup>43</sup>.





## 5.2.4 Otras distonías combinadas con otros signos neurológicos

### 5.2.4.1 DYT-PRKRA (DYT16)

Se trata de un tipo de distonía descrita inicialmente en familias brasileñas con un patrón de herencia autosómico recesivo, causadas por mutaciones en el gen *PRKRA* que codifica la proteína activadora de quinasa inducida por interferón EIF2AK2<sup>44</sup>. La edad media de presentación es a los 8 años, con compromiso focal de extremidades (superior>inferior) que ocasionan alteraciones de la marcha y escritura, con posterior generalización<sup>45</sup>. También se observa risa sardónica distónica, disartria, disfagia y cambios psiquiátricos. En la mayoría de los afectados se encuentran signos piramidales. Una característica de esta distonía es la extensión a cara, cuello o laringe, lo cual es raro en otras distonías. Al menos la mitad de los pacientes presenta parkinsonismo, con bradicinesia, temblor postural y bloqueos de la marcha, hay mala respuesta a levodopa o anticolinérgicos<sup>45</sup>.

Un estudio realizado en una familia polaca proporcionó la primera replicación independiente del locus DYT16 en 2q31.2 y confirmó la contribución causal del gen *PRKRA* a DYT16, datos que sugieren la distribución mundial de *PRKRA* en la distonía<sup>45</sup>.

### 5.2.4.2 DYT-TUBB4A (DYT4)

En 2013 se describió en una familia australiana la DYT-TUBB4A (DYT4) con patrón de herencia autosómico dominante y penetrancia completa, secundaria a una mutación en el gen de la tubulina B (*TUBB4A*), localizado en el cr.19p13<sup>46</sup>. La beta-tubulina es un componente esencial de los microtúbulos que forman el citoesqueleto y cumplen diversas funciones celulares. El fenotipo es bastante único e incluye distonía generalizada grave con disfonía espasmódica y distonía craneocervical, así como distonía de apertura de la lengua y una marcha "*hobby horse gait*" en algunos pacientes<sup>47</sup>. Su edad de inicio está entre los 13 y 37 años, pero suele aparecer antes de los 20. Hay una importante variación en su expresión que puede ir de una disfonía en susurro, hasta fenotipos similares a una enfermedad de Huntington. Es una enfermedad progresiva, que se asocia a cambios neuropsiquiátricos y a otros trastornos del movimiento como corea y ataxia.

Otra mutación del gen de la tubulina B produce leucoencefalopatía, hipomielinización con atrofia de los ganglios basales y el cerebelo (H-ABS), en la que hay distonía, retardo del desarrollo psicomotor, espasticidad, ataxia, disartria, estatura corta y microcefalia. Se ha encontrado superposición fenotípica en ambas entidades, siendo más severa y de inicio más temprano la H-ABS<sup>48</sup>.

### 5.2.4.3 DYT-MECR (DYT 29)

Es un trastorno del movimiento progresivo de inicio en la niñez acompañado de atrofia óptica. Se presenta típicamente entre las edades de 1 y 6,5 años, con distonía como síntoma principal, en algunos casos puede haber retardo leve del desarrollo psicomotor. Como características variables se observan: distonía facial, espasticidad de miembros inferiores, hiperreflexia, corea, mioclonías, discinesias, disartria y disfagia. La gran mayoría progresa con importante dificultad para la marcha y a pesar de ser una enfermedad progresiva, parece no tener deterioro cognitivo asociado. La atrofia óptica generalmente se desarrolla entre las edades de cuatro y 12 años y se manifiesta como una agudeza visual reducida, que puede incluir ceguera funcional en la edad adulta, pueden observarse alteraciones oculomotoras y nistagmus<sup>49</sup>. Debido a que se conocen pocos individuos afectados, y que casi la mitad de ellos fueron diagnosticados retrospectivamente como adultos, la historia natural de la progresión de la enfermedad y otros aspectos del fenotipo aún no se han definido completamente. En imágenes de resonancia muestran hiperintensidad en T2 de los ganglios basales y se puede observar un pico de lactato en la espectroscopia. Esta enfermedad se considera un error innato del metabolismo, ya que la enzima codificada por este gen participa en la síntesis del ácido lipoico y es requerida para la competencia energética de la mitocondria, por esto compromete órganos con altas demandas energéticas y alta susceptibilidad al estrés oxidativo, como los ganglios basales y el nervio óptico<sup>49</sup>.

### **5.2.5 Distonías paroxísticas**

Las distonías paroxísticas se caracterizan por períodos de normalidad neurológica que alternan con episodios de distonía u otras discinesias.

En la práctica clínica se puede presentar con otros síntomas neurológicos asociados además del trastorno del movimiento y, particularmente en el caso de la enfermedad relacionada con *SLC2A1* (DYT-*SLC2A1* (DYT9)), tanto el trastorno del movimiento como los demás síntomas pueden volverse fijos con el tiempo<sup>50</sup>.

Según los factores precipitantes de los episodios se agrupan en 3 grandes subgrupos: a) discinesias paroxísticas cinesigénicas, b) discinesias paroxísticas no cinesigénicas, y c) discinesias paroxísticas inducidas por el ejercicio (Tabla1).

- **Discinesia paroxística cinesigénica (PKD)**, es causada por una mutación en el gen *PRRT2*, cr.16p11 (PxMD-*PRRT2* (DYT10-DYT19)). Tiene una prevalencia estimada de 1:150 000 personas, con mayor predominio en hombres, alcanzando una relación



de 1:4<sup>51</sup>. Se presenta con ataques de corta duración (segundos a minutos) y con una frecuencia variable desde 1 al mes hasta 100 veces por día, de movimientos distónicos (60 %) o coreicos, uni o bilaterales precipitados por movimientos voluntarios bruscos. Algunos pacientes a menudo describen un aura sensitiva previa a los ataques. Los episodios suelen comenzar en la infancia y responden muy bien a la terapia anticonvulsiva, como la carbamazepina<sup>51</sup>.

- **Discinesia paroxística no cinesigénica (PNKD)**, se hereda con herencia autosómico dominante, secundario a mutaciones en *MR1* (PxMD-*MR1* (*DYT8*)). Los síntomas inician en la niñez o la adolescencia e incluyen discinesias distónicas, coreicas o movimientos balísticos, que duran de minutos a horas y a menudo son precedidos de un aura sensitiva y por lo general, son precipitados por el alcohol, la cafeína o el estrés, pero con menos frecuencia por el ejercicio, la fatiga o el frío. Responden al tratamiento con carbamazepina o benzodiazepinas (clonazepam)<sup>51</sup>.
- **Discinesia paroxística inducida por el ejercicio (PED)**. Está causada por mutaciones en el gen *SLC2A1* (PxMD-*SLC2A1* (*DYT 18-19*)) y son responsables de un amplio espectro fenotípico como resultado de una deficiencia del transportador de glucosa tipo 1 (GLUT1); principal transportador de glucosa en el cerebro. Se ha asumido que la disfunción neuronal surge de la falta de energía<sup>51</sup>.

### 5.3.6 Misceláneas

Existen otras enfermedades hereditarias que, aunque no son puramente distónicas, pueden manifestarse como distónicas durante años y hasta décadas. Entre ellas, a destacar:

- El signo inicial más común de **PARK-PRKN** es la bradicinesia, pero es bien sabido que el 42% de los pacientes puede debutar con distonía de inicio en las extremidades inferiores con fluctuación diurna. Ésta puede durar años y retrasar el diagnóstico o clasificar la distonía como DRD y, a veces, como distonía paroxística inducida por el ejercicio<sup>52</sup>.
- La distonía puede ser el síntoma de presentación de la enfermedad de Parkinson, incluidos los portadores de alguna mutación en el gen *LRRK2* (*PARK-LRRK2*). Las características patológicas y clínicas de los portadores sintomáticos de **LRRK2** son bastante variables<sup>53</sup>. Según algunos autores, los pacientes portadores de la mutación p.G2019S presentan más trastornos de la marcha y distonía en comparación con los no portadores<sup>53</sup>. Los autores de este tema cuentan con un paciente portador de mutación en *LRRK2* que se comporta una distonía pura<sup>54</sup>.

- **El déficit de pantotenato quinasa (PKAN)**, en su forma clásica (causada por una pérdida completa de la función de la proteína pantotenato quinasa 2), se presenta con distonía de inicio temprano como signo dominante. La distonía casi siempre se asocia a otros elementos neurológicos, suele ser generalizada, pero es frecuente que afecte fundamentalmente a la región bucofacial<sup>55</sup>.
- **La enfermedad de Huntington (EH)** se caracteriza por la presencia de múltiples movimientos anormales, el más típico, pero en absoluto único, es la corea<sup>56</sup>. La distonía es muy frecuente en la EH. Louis<sup>57</sup> ha estudiado detalladamente la prevalencia de la distonía en la EH. Sorprendentemente para muchos, encontró que un 95% de los pacientes de una larga serie de EH presentaba en algún momento de su evolución distonía. De estos, al menos un 57% presentaba distonía moderada y un 12% grave. Según los datos de Louis, la distonía es, por lo tanto, la discinesia más frecuente en la EH. Ocasionalmente la distonía es el síntoma de comienzo de la EH<sup>58</sup>. En la cohorte de pacientes valorados por los autores, varios casos han presentado un inicio claramente distónico, por ello es necesario incluir la EH dentro del diagnóstico diferencial de la distonía, especialmente si hay algún caso en la familia con otros movimientos anormales o con deterioro cognitivo. En cualquier caso, es bien conocido desde hace muchos años, que la distonía progresa en la EH con el paso del tiempo y que tiende a sustituir al corea. En la EH evolucionada, el paciente cada vez estará menos coreico y más distónico<sup>58</sup>.
- La **Enfermedad de Wilson** es un trastorno genético autosómico recesivo que afecta al metabolismo del cobre, secundario a mutaciones en el gen transportador del cobre *ATP7B*, localizado en el cr.13q14. Los pacientes pueden presentar síntomas neurológicos y en diversas series estudiadas la manifestación neurológica más frecuente es la distonía, seguida de temblor y parkinsonismo<sup>59</sup>.
- Las **ataxias espinocerebelosas (SCAS)** son un grupo de trastornos fenotípica y genéticamente heterogéneos. Se presentan con ataxia de la marcha frecuentemente en combinación con disartria y problemas oculomotores. Los signos y síntomas adicionales son comunes y pueden incluir distonía<sup>60</sup> (Véase capítulo 8).

## 5.5 UTILIDAD DE LOS ESTUDIOS GENÉTICOS EN LA PRACTICA CLINICA

Es evidente la utilidad diagnóstica y terapéutica del estudio genético en pacientes distónicos. A la hora de abordar el estudio genético de los pacientes con distonía, se han de tener en cuenta los siguientes factores:



- a) Se debe de contemplar la edad de inicio, si presenta una presentación clínica característica a alguna forma genética y la existencia de antecedentes familiares.
- b) Hay que considerar que dada la penetrancia reducida en algunas entidades y la presencia de mutaciones *de novo*, lo más indicado sería guiarse por la clínica más que por el patrón de herencia mendeliana.
- c) Incluso tras una evaluación rigurosa, sólo un porcentaje de pacientes distónicos poseerá una mutación conocida<sup>61</sup>. Hay que considerar que la lista de nuevas mutaciones crece de forma exponencial, y que un caso sin diagnóstico hoy, puede tener respuesta genética mañana.

Así pues, podemos establecer varios niveles en el diagnóstico genético<sup>62,63</sup> (Figura 1).

- **Primer nivel: análisis de un solo gen**

Consiste en el análisis de un solo gen (sobre todo si el tamaño no es muy grande) o de una mutación frecuente de un gen concreto. Teniendo en cuenta la edad de inicio, etnia, clínica y antecedentes familiares, así como el coste-beneficio de estos estudios, podríamos decir que si el fenotipo es muy claro éste sería un abordaje deseable<sup>6,7,10,12,62,63</sup>.

- » **Distonías aisladas:**

- Estudio genético *TOR1A* (NM\_000113.3: c.907\_909delGAG) en pacientes con distonía aislada de inicio en miembros, de comienzo antes de los 30 años (Grado de recomendación B).
- Estudio genético *TOR1A* (NM\_000113.3: c.907\_909delGAG) a los pacientes en los que comenzó la enfermedad después de los 30 años si tienen un familiar afectado con distonía de comienzo temprano (Grado de recomendación B).
- En judíos Ashkenazi, dado el efecto fundador de esta mutación en esta población, estaría justificado el estudio de la delección c.907\_909delGAG en *TOR1A* aún en ausencia de antecedentes familiares y edad de inicio mayor de 30 años.
- En pacientes con distonía de inicio temprano, *TOR1A* negativo, o en familias con distonía de predominio craneofacial y/o laríngea, se podría indicar el genotipado de *THAP1* (Grado de recomendación B).

**» Distonías combinadas:**

- Pacientes con distonía con mioclonías, sobre todo si la herencia es vía paterna: estudio *SGCE*.
- Pacientes con distonía de inicio temprano, con parkinsonismo y fluctuaciones diurnas: estudio *CGH1*.
- Casos con distonía-parkinsonismo de inicio agudo o subagudo: *ATP1A3*.
- En pacientes varones de origen filipino y con distonía de inicio en edad adulta asociada a parkinsonismo, se recomienda la valoración de la mutación fundadora que consiste en una inserción SINE-VNTR-Alu (SVA)-tipo retro-transposon en un intrón del gen *TAF1*.

**» Distonías paroxísticas (PxMD): en fenotipos clásicos.**

- Discinesia paroxística cinesigénica: *PRRT2*.
  - Discinesia paroxística no cinesigénica: *PNKD*.
  - Discinesia inducida por el ejercicio: *GLUT1*.
- » En los casos familiares con la mutación familiar identificada, el análisis de un gen o mutación conocida es el abordaje indicado, siempre teniendo en cuenta que es necesario disponer de una muestra del "probandus" familiar afecto como control de la técnica.
- » En personas sin hallazgos clínicos o antecedentes étnicos que sugieran un gen específico, la prueba de un solo gen rara vez es útil y, por lo general, **NO se recomienda** dada la heterogeneidad genética de la distonía, así pues, por lo general, se utiliza un panel multigénico o una prueba genómica en lugar de una prueba de un solo gen.

**• Nivel 2: paneles multigénicos**

Basado en la NGS, consiste en el abordaje de los genes de interés mediante un panel multigénico centrado en la distonía. Los genes incluidos en el panel y la sensibilidad diagnóstica de las pruebas utilizadas para cada gen varían según el laboratorio y es probable que cambien con el tiempo.



Los diseños de paneles pueden realizarse como **paneles físicos personalizados** y diseñados por el laboratorio o **paneles virtuales**, que consiste en seleccionar los genes candidatos tras la realización de un exoma clínico (que incluye los genes asociados a fenotipos del catálogo MIM-“*Mendelian Inheritance in Man*”). La ventaja de esta aproximación con el exoma clínico es que se pueden realizar diversos reanálisis posteriores ampliando el número de genes candidatos en estos paneles multigénicos o incluir en el nuevo análisis otros genes relacionados pero no específicos de la distonía.

Existen muchas formas de diseñar paneles de análisis, un buen ejemplo para seleccionar genes es el que ofrece el sistema de salud de Inglaterra en donde ofrecen listados de genes relacionados con fenotipos concretos o grupos de trastornos.<sup>64,65</sup> Estos paneles se revisan y actualizan a través de un proceso de evaluación anual y trimestral respaldado por grupos de expertos y supervisados por el grupo de referencia clínica de genómica de NHS England.

Los paneles de este recurso contienen un listado de genes “verdes” (nivel de evidencia de diagnóstico) pero también enumera otros genes candidatos que aún no están calificadas como verdes, es decir, tienen niveles más bajos de evidencia de asociación de enfermedades (genes “naranjas” y “rojos”). Así pues, disponen de un panel de 148 genes “verdes” para **distonía o corea de inicio en la infancia o trastornos del movimiento relacionados**, otro panel de 69 genes “verdes” para el **trastorno del movimiento de inicio en la edad adulta**, etc. (Ver Anexo, otros recursos de interés, para más información).

Otra forma de crear paneles sería acudir directamente a las publicaciones científicas en relación con la materia y solicitar paneles de genes en relación con la clínica asociada:

- » Panel de genes asociados a distonía aislada.
- » Panel de genes asociados a distonía combinada.
- » Panel de genes asociados a discinesias paroxísticas.

### • Nivel 3: secuenciación de exoma y genoma completos

Basado en la NGS, consiste en la realización de pruebas genómicas que incluyen los siguientes:

- » **Secuenciación del exoma completo.** Además de en los casos no diagnosticados con los pasos previos, se recomienda como abordaje inicial en los casos con distonías complejas.

- » **Secuenciación completa del genoma** en los casos en los que no se haya obtenido diagnóstico tras la secuenciación de exoma completo.

Por último, ante la sospecha de la existencia de variantes en el número de copias, se deben incluir el análisis de CNVs (“*copy number variations*”) para valorar la presencia de deleciones o duplicaciones de los genes estudiados.

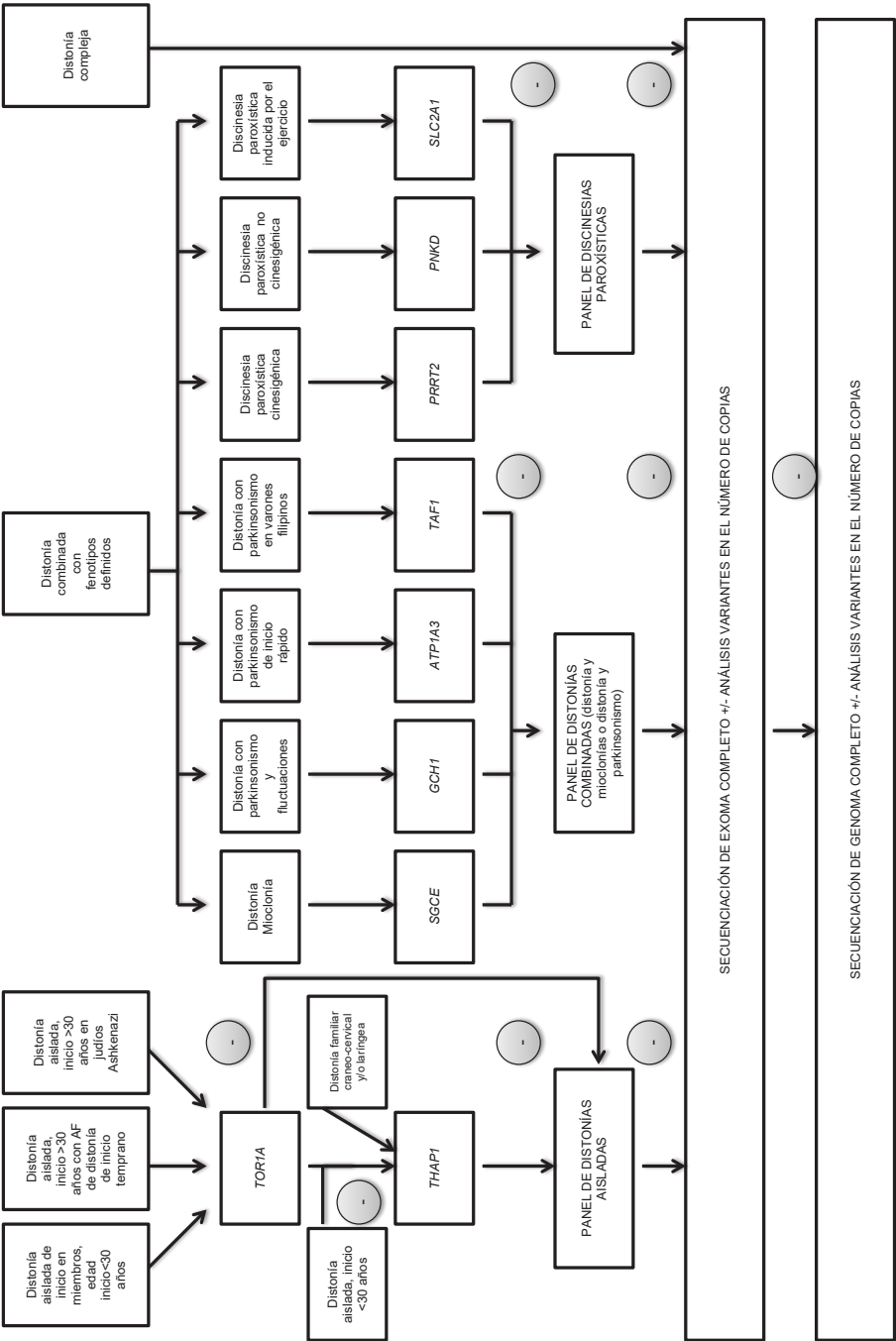
**Niveles de evidencia y grados de recomendación de los algoritmos diagnósticos propuestos:**

En la mayoría de los casos, salvo los indicados con el grado de recomendación B, las evidencias provienen de opiniones de expertos (nivel IV), en la misma línea que las recomendaciones (Rec SEN).





**Figura 1.** Algoritmo de abordaje del diagnóstico genético en distonías.



## 5.6 CONCLUSIONES

1. En la última década la neurogenética ha avanzado en el conocimiento de las distonías hereditarias de forma imparable.
2. La genética de las distonías es sorprendente; en este grupo de enfermedades predomina la herencia dominante y la penetrancia es muy variable, a veces reducida o muy reducida.
3. La clínica de las distonías hereditarias es también sorprendente. Frente al concepto monolítico de hace unas décadas, hoy sabemos que la distonía clásica *DYT-TOR1A* es muy variable en manifestaciones y abarca desde la distonía generalizada (ocasionalmente con el grave status distónico) hasta distonías focales de escasa entidad. Lo mismo puede decirse de otras distonías cuya variabilidad es llamativa, muy especialmente la distonía que responde a levodopa, la distonía-parkinsonismo de comienzo agudo o el déficit de transportador cerebral de glucosa.
4. A pesar de la variabilidad clínica, existen “*red flags*”, datos clínicos muy típicos que permiten sospechar la presencia de algunas distonías hereditarias con elevado nivel de acierto (*DYT-TOR1A*, *DYT-KMT2B*, *DYT-THAP1* o *DYT/PARK-TAF1* o enfermedad de Lubag).
5. Finalmente, el diagnóstico no tiene sólo un valor académico. El diagnóstico genético permite predecir el resultado de tratamientos tales como la estimulación cerebral profunda y probablemente en un futuro ofrecer un tratamiento médico personalizado<sup>66</sup>.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Albanese A, Lalli S. Is this dystonia? *Mov Disord Off J Mov Disord Soc.* 15 de septiembre de 2009;24(12):1725-31.
2. Albanese A, Bhatia K, Bressman SB, Delong MR, Fahn S, Fung VSC, et al. Phenomenology and classification of dystonia: a consensus update. *Mov Disord Off J Mov Disord Soc.* 15 de junio de 2013;28(7):863-73.
3. Balint B, Mencacci NE, Valente EM, Pisani A, Rothwell J, Jankovic J, et al. Dystonia. *Nat Rev Dis Primer.* 20 de septiembre de 2018;4(1):25.
4. Fahn S, Bressman SB, Marsden CD. Classification of dystonia. *Adv Neurol.* 1998;78:1-10.
5. Steeves TD, Day L, Dykeman J, Jette N, Pringsheim T. The prevalence of primary dystonia: a systematic review and meta-analysis. *Mov Disord Off J Mov Disord Soc.* diciembre de 2012;27(14):1789-96.
6. Charlesworth G, Bhatia KP, Wood NW. The genetics of dystonia: new twists in an old tale. *Brain J Neurol.* julio de 2013;136(Pt 7):2017-37.
7. Di Fonzo A, Monfrini E, Erro R. Genetics of Movement Disorders and the Practicing Clinician; Who and What to Test for? *Curr Neurol Neurosci Rep.* 23 de mayo de 2018;18(7):37.
8. Marras C, Lang A, van de Warrenburg BP, Sue CM, Tabrizi SJ, Bertram L, et al. Nomenclature of genetic



- movement disorders: Recommendations of the international Parkinson and movement disorder society task force. *Mov Disord Off J Mov Disord Soc.* abril de 2016;31(4):436-57.
9. Domingo A, Erro R, Lohmann K. Novel Dystonia Genes: Clues on Disease Mechanisms and the Complexities of High-Throughput Sequencing. *Mov Disord Off J Mov Disord Soc.* abril de 2016;31(4):471-7.
  10. Lohmann K, Klein C. Update on the Genetics of Dystonia. *Curr Neurol Neurosci Rep.* marzo de 2017;17(3):26.
  11. Klein C, Brin MF, de Leon D, Limborska SA, Ivanova-Smolenskaya IA, Bressman SB, et al. De novo mutations (GAG deletion) in the DYT1 gene in two non-Jewish patients with early-onset dystonia. *Hum Mol Genet.* julio de 1998;7(7):1133-6.
  12. Lange LM, Junker J, Loens S, Baumann H, Olschewski L, Schaake S, et al. Genotype-Phenotype Relations for Isolated Dystonia Genes: MDSGene Systematic Review. *Mov Disord Off J Mov Disord Soc.* mayo de 2021;36(5):1086-103.
  13. Edwards M, Wood N, Bhatia K. Unusual phenotypes in DYT1 dystonia: a report of five cases and a review of the literature. *Mov Disord Off J Mov Disord Soc.* junio de 2003;18(6):706-11.
  14. Fuchs T, Gavarini S, Saunders-Pullman R, Raymond D, Ehrlich ME, Bressman SB, et al. Mutations in the THAP1 gene are responsible for DYT6 primary torsion dystonia. *Nat Genet.* marzo de 2009;41(3):286-8.
  15. Bressman SB, Raymond D, Fuchs T, Heiman GA, Ozelius LJ, Saunders-Pullman R. Mutations in THAP1 (DYT6) in early-onset dystonia: a genetic screening study. *Lancet Neurol.* mayo de 2009;8(5):441-6.
  16. Abela L, Kurian MA. KMT2B-Related Dystonia. En: Adam MP, Everman DB, Mirzaa GM, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJ, et al., editores. *GeneReviews*® [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993 [citado 12 de septiembre de 2022]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK493766/>
  17. Carecchio M, Invernizzi F, González-Latapi P, Panteghini C, Zorzi G, Romito L, et al. Frequency and phenotypic spectrum of KMT2B dystonia in childhood: A single-center cohort study. *Mov Disord Off J Mov Disord Soc.* octubre de 2019;34(10):1516-27.
  18. Zech M, Boesch S, Maier EM, Borggraefe I, Vill K, Laccone F, et al. Haploinsufficiency of KMT2B, Encoding the Lysine-Specific Histone Methyltransferase 2B, Results in Early-Onset Generalized Dystonia. *Am J Hum Genet.* 1 de diciembre de 2016;99(6):1377-87.
  19. Olschewski L, Jesús S, Kim HJ, Tunc S, Löns S, Junker J, et al. Role of ANO3 mutations in dystonia: A large-scale mutational screening study. *Parkinsonism Relat Disord.* mayo de 2019;62:196-200.
  20. Yoo D, Kim HJ, Lee JS, Lee S, Kim SY, Choi M, et al. Early-onset generalized dystonia starting in the lower extremities in a patient with a novel ANO3 variant. *Parkinsonism Relat Disord.* mayo de 2018;50:124-5.
  21. Jiang LT, Li LX, Liu Y, Zhang XL, Pan YG, Wang L, et al. The expanding clinical and genetic spectrum of ANO3 dystonia. *Neurosci Lett.* 16 de febrero de 2021;746:135590.
  22. Khan NL, Wood NW, Bhatia KP. Autosomal recessive, DYT2-like primary torsion dystonia: a new family. *Neurology.* 23 de diciembre de 2003;61(12):1801-3.
  23. Atasu B, Hanagasi H, Bilgic B, Pak M, Erginel-Unaltuna N, Hauser AK, et al. HPCA confirmed as a genetic cause of DYT2-like dystonia phenotype. *Mov Disord Off J Mov Disord Soc.* agosto de 2018;33(8):1354-8.
  24. Charlesworth G, Angelova PR, Bartolomé-Robledo F, Ryten M, Trabzuni D, Stamelou M, et al. Mutations in HPCA cause autosomal-recessive primary isolated dystonia. *Am J Hum Genet.* 2 de abril de 2015;96(4):657-65.
  25. Valente EM, Bentivoglio AR, Cassetta E, Dixon PH, Davis MB, Ferraris A, et al. DYT13, a novel primary torsion dystonia locus, maps to chromosome 1p36.13–36.32 in an Italian family with cranial-cervical or upper limb onset. *Ann Neurol.* marzo de 2001;49(3):362-6.
  26. Petrucci S, Valente EM. Genetic issues in the diagnosis of dystonias. *Front Neurol.* 2013;4:34.
  27. Zech M, Lam DD, Francescato L, Schormair B, Salminen AV, Jochim A, et al. Recessive mutations in the  $\alpha 3$  (VI) collagen gene COL6A3 cause early-onset isolated dystonia. *Am J Hum Genet.* 4 de junio de 2015;96(6):883-93.
  28. Leube B, Hendgen T, Kessler KR, Knapp M, Benecke R, Auburger G. Evidence for DYT7 being a common

- cause of cervical dystonia (torticollis) in Central Europe. *Am J Med Genet.* 19 de septiembre de 1997;74(5):529-32.
29. Winter P, Kamm C, Biskup S, Köhler A, Leube B, Auburger G, et al. DYT7 gene locus for cervical dystonia on chromosome 18p is questionable. *Mov Disord Off J Mov Disord Soc.* diciembre de 2012;27(14):1819-21.
  30. Norgren N, Mattson E, Forsgren L, Holmberg M. A high-penetrance form of late-onset torsion dystonia maps to a novel locus (DYT21) on chromosome 2q14.3-q21.3. *Neurogenetics.* mayo de 2011;12(2):137-43.
  31. Klein C. Genetics in dystonia. *Parkinsonism Relat Disord.* enero de 2014;20 Suppl 1:S137-142.
  32. Geoghegan AR, Al Hussona M, Beauchamp NJ, Hutchinson M, Sean O'Riordan MB, Lynch T, et al. A novel GNAL mutation in familial dystonia presenting with childhood tremor and myoclonus. *Mov Disord Off J Mov Disord Soc.* junio de 2019;34(6):923-4.
  33. Carecchio M, Panteghini C, Reale C, Barzaghi C, Monti V, Romito L, et al. Novel GNAL mutation with intra-familial clinical heterogeneity: Expanding the phenotype. *Parkinsonism Relat Disord.* febrero de 2016;23:66-71.
  34. Opladen T, Hoffmann G, Hörster F, Hinz AB, Neidhardt K, Klein C, et al. Clinical and biochemical characterization of patients with early infantile onset of autosomal recessive GTP cyclohydrolase I deficiency without hyperphenylalaninemia. *Mov Disord Off J Mov Disord Soc.* enero de 2011;26(1):157-61.
  35. Douglas G, Hale AB, Crabtree MJ, Ryan BJ, Hansler A, Watschinger K, et al. A requirement for Gch1 and tetrahydrobiopterin in embryonic development. *Dev Biol.* 1 de marzo de 2015;399(1):129-38.
  36. Brashear A, Dobyns WB, de Carvalho Aguiar P, Borg M, Frijns CJM, Gollamudi S, et al. The phenotypic spectrum of rapid-onset dystonia-parkinsonism (RDP) and mutations in the ATP1A3 gene. *Brain J Neurol.* marzo de 2007;130(Pt 3):828-35.
  37. Sweney MT, Newcomb TM, Swoboda KJ. The expanding spectrum of neurological phenotypes in children with ATP1A3 mutations, Alternating Hemiplegia of Childhood, Rapid-onset Dystonia-Parkinsonism, CAPOS and beyond. *Pediatr Neurol.* enero de 2015;52(1):56-64.
  38. Lee LV, Rivera C, Teleg RA, Dantes MB, Pasco PMD, Jamora RDG, et al. The unique phenomenology of sex-linked dystonia parkinsonism (XDP, DYT3, «Lubag»). *Int J Neurosci.* 2011;121 Suppl 1:3-11.
  39. Kawarai T, Morigaki R, Kaji R, Goto S. Clinicopathological Phenotype and Genetics of X-Linked Dystonia-Parkinsonism (XDP; DYT3; Lubag). *Brain Sci.* 26 de junio de 2017;7(7):E72.
  40. Peall KJ, Kurian MA, Wardle M, Waite AJ, Hedderly T, Lin JP, et al. SGCE and myoclonus dystonia: motor characteristics, diagnostic criteria and clinical predictors of genotype. *J Neurol.* diciembre de 2014;261(12):2296-304.
  41. Raymond D, Saunders-Pullman R, Ozelius L. SGCE Myoclonus-Dystonia. En: Adam MP, Everman DB, Mirzaa GM, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJ, et al., editores. *GeneReviews® [Internet].* Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993 [citado 12 de septiembre de 2022]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1414/>
  42. Mencacci NE, Rubio-Agusti I, Zdebek A, Asmus F, Ludtmann MHR, Ryten M, et al. A missense mutation in KCTD17 causes autosomal dominant myoclonus-dystonia. *Am J Hum Genet.* 4 de junio de 2015;96(6):938-47.
  43. Camargos S, Lees AJ, Singleton A, Cardoso F. DYT16: the original cases. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* octubre de 2012;83(10):1012-4.
  44. Klein C. DYT16: a new twist to familial dystonia. *Lancet Neurol.* marzo de 2008;7(3):192-3.
  45. Zech M, Castrop F, Schormair B, Jochim A, Wieland T, Gross N, et al. DYT16 revisited: exome sequencing identifies PRKRA mutations in a European dystonia family. *Mov Disord Off J Mov Disord Soc.* octubre de 2014;29(12):1504-10.
  46. Lohmann K, Wilcox RA, Winkler S, Ramirez A, Rakovic A, Park JS, et al. Whispering dysphonia (DYT4 dystonia) is caused by a mutation in the TUBB4 gene. *Ann Neurol.* abril de 2013;73(4):537-45.
  47. Wilcox RA, Winkler S, Lohmann K, Klein C. Whispering dysphonia in an Australian family (DYT4): a clinical and genetic reappraisal. *Mov Disord Off J Mov Disord Soc.* noviembre de 2011;26(13):2404-8.



48. Zech M, Boesch S, Jochim A, Graf S, Lichtner P, Peters A, et al. Large-scale TUBB4A mutational screening in isolated dystonia and controls. *Parkinsonism Relat Disord.* octubre de 2015;21(10):1278-81.
49. Heimer G, Kerätär JM, Riley LG, Balasubramaniam S, Eyal E, Pietikäinen LP, et al. MECP Mutations Cause Childhood-Onset Dystonia and Optic Atrophy, a Mitochondrial Fatty Acid Synthesis Disorder. *Am J Hum Genet.* 1 de diciembre de 2016;99(6):1229-44.
50. Latorre A, Bhatia KP. Treatment of Paroxysmal Dyskinesia. *Neurol Clin.* mayo de 2020;38(2):433-47.
51. Bruno MK, Hallett M, Gwinn-Hardy K, Sorensen B, Considine E, Tucker S, et al. Clinical evaluation of idiopathic paroxysmal kinesigenic dyskinesia: new diagnostic criteria. *Neurology.* 28 de diciembre de 2004;63(12):2280-7.
52. Zimmermann M, Wilke C, Schulte C, Hoffmann J, Klopfer J, Reimold M, et al. Biallelic Parkin (PARK2) mutations can cause a bvFTD phenotype without clinically relevant parkinsonism. *Parkinsonism Relat Disord.* octubre de 2018;55:145-7.
53. Niemann N, Jankovic J. Juvenile parkinsonism: Differential diagnosis, genetics, and treatment. *Parkinsonism Relat Disord.* octubre de 2019;67:74-89.
54. Díaz-Feliz L, Feliz-Feliz C, Del Val J, Ávila-Fernández A, Lorda-Sanchez I, García-Ruiz PJ. Generalized dystonia without Parkinsonism in an LRRK2 carrier. *Clin Park Relat Disord.* 2022;7:100157.
55. Hayflick SJ, Kurian MA, Hogarth P. Neurodegeneration with brain iron accumulation. *Handb Clin Neurol.* 2018;147:293-305.
56. McColgan P, Tabrizi SJ. Huntington's disease: a clinical review. *Eur J Neurol.* enero de 2018;25(1):24-34.
57. Louis ED, Anderson KE, Moskowitz C, Thorne DZ, Marder K. Dystonia-predominant adult-onset Huntington disease: association between motor phenotype and age of onset in adults. *Arch Neurol.* septiembre de 2000;57(9):1326-30.
58. Lang AE. Cervical dystonia: the initial presentation of Huntington's disease? *Mov Disord Off J Mov Disord Soc.* mayo de 1997;12(3):472-4.
59. Samanci B, Sahin E, Bilgic B, Tufekcioglu Z, Gurvit H, Emre M, et al. Neurological features and outcomes of Wilson's disease: a single-center experience. *Neurol Sci Off J Ital Neurol Soc Ital Soc Clin Neurophysiol.* septiembre de 2021;42(9):3829-34.
60. Müller U. Spinocerebellar ataxias (SCAs) caused by common mutations. *Neurogenetics.* octubre de 2021;22(4):235-50.
61. van Egmond ME, Lugtenberg CHA, Brouwer OF, Contarino MF, Fung VSC, Heiner-Fokkema MR, et al. A post hoc study on gene panel analysis for the diagnosis of dystonia. *Mov Disord Off J Mov Disord Soc.* abril de 2017;32(4):569-75.
62. Klein C, Lohmann K, Marras C, Münchau A. Hereditary Dystonia Overview. En: Adam MP, Everman DB, Mirzaa GM, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJ, et al., editores. *GeneReviews® [Internet].* Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993 [citado 12 de septiembre de 2022]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1155/>
63. Pozojevic J, Beetz C, Westenberger A. The importance of genetic testing for dystonia patients and translational research. *J Neural Transm Vienna Austria 1996.* abril de 2021;128(4):473-81.
64. Richards S, Aziz N, Bale S, Bick D, Das S, Gastier-Foster J, et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med Off J Am Coll Med Genet.* mayo de 2015;17(5):405-24.
65. Matthijs G, Souche E, Alders M, Corveleyn A, Eck S, Feenstra I, et al. Guidelines for diagnostic next-generation sequencing. *Eur J Hum Genet EJHG.* enero de 2016;24(1):2-5.
66. Sarva H, Rodriguez-Porcel F, Barkan S, et al. Deep brain stimulation in confirmed genetic dystonias: A comprehensive review. *MDS Congress Abstract* 130.

**Tabla 1.** Tipos de Distonías hereditarias<sup>11-55</sup>.

	DYT	GEN	PROTEÍNA ALTERADA	FENOTIPO	LOCUS	HERENCIA
<b>Distonías aisladas</b>						
	DYT 1	<i>TOR1A</i>	Torsina A.	Distonía generalizada aislada de inicio temprano.	9q	AD
	DYT 2	<i>HPCA</i>	Hipocalcina reguladora de canales de calcio neuronal.	Distonía lentamente progresiva de inicio temprano.	-	AR
	DYT 6	<i>THAP1</i>	Proteína pro-apoptosis.	Distonía segmentaria/multifocal de inicio en miembros superiores.	8p	AD
	DYT 13	-	-	Distonía primaria segmentaria craneocervical de inicio temprano.	1p	AD
	DYT 17	-	-	Distonía idiopática primaria.	20pq	AR
	DYT 27	<i>COL6A3</i>	Cadena $\alpha$ -3 del colágeno tipo VI.	Distonía aislada de tipo temprano.	2q	AR
	DYT 28	<i>KMT2B</i>	lisina metiltransferasa postraduccional.	Distonía caudocraneal progresiva-características dismórficas faciales.	19p13	AD
	DYT 7	-	-	Distonía focal de inicio en el adulto.	18p	AD
	DYT 21	-	-	Distonía focal de inicio tardío.	2q	AD
	DYT 23	<i>CIZ1</i>	<i>Cip1 interacting zinc finger protein 1</i> , replicación del ADN, regulación del ciclo celular.	Distonía cervical primaria de inicio en el adulto.	9q	AD
	DYT 24	<i>ANO3</i>	codifica para un canal de cloro activado por calcio y que tiene una alta expresión en el estriado.	Distonía craneocervical.	11p	AD
	DYT 25	<i>GNAL</i>	proteína subunidad alfa L.	Distonía focal primaria de inicio tardío.	18p	AD

(Continúa en la página siguiente)



(Continuación Tabla 1)

	DYT	GEN	PROTEÍNA ALTERADA	FENOTIPO	LOCUS	HERENCIA
<b>Distonías combinadas</b>						
	DYT 5	<i>GCH1, TH y SPR</i>	Enzima limitante de velocidad en la biosíntesis de tetrahidrobiopterina.	Distonía con respuesta a levodopa o distonía de Segawa.	14q/1p/2p	AD y AR
	DYT 12	<i>ATP1A3</i>	Subunidad catalítica de una bomba iónica.	Distonía con parkinsonismo de inicio rápido.	19q	AD
	DYT 16	<i>PRKRA</i> o <i>DYT 16</i>	quinasa con función en la respuesta al estrés.	Distonía con parkinsonismo de inicio en la adolescencia.	2p	AR
	DYT 3	<i>TAF1</i>	-	Distonía parkinsonismo en hombres filipinos.	Xq	Ligada al X
	DYT 11	<i>SGCE</i>	Épsilon / sarcoglicano. Proteína transmembrana.	Distonía mioclónica.	7q	AD
	DYT 15	-		Distonía mioclónica.	18p	AD
	DYT 26	<i>KCTD17</i>	-	Distonía mioclónica sin respuesta al alcohol.	22q	AD
	DYT 4	<i>TUBB4A</i>	-	Distonía con disfonía en susurro.	19p	AD
	DYT 29	<i>MECR</i>	-	Distonía de inicio en la infancia con atrofia óptica y anomalía en ganglios basales.	1p35.3	AR
<b>Distonías Paroxísticas.</b>						
	DYT 8	<i>MR-1</i> <i>PNKD</i>	regulador de la miofibrillogénesis.	Inicio en la infancia o adolescencia, discinesias distónicas y coreicas o movimientos balísticos, que duran de minutos a horas. Síntomas premonitores, factores precipitantes:	-	AD

(Continúa en la página siguiente)

(Continuación Tabla 1)

	<b>DYT</b>	<b>GEN</b>	<b>PROTEÍNA ALTERADA</b>	<b>FENOTIPO</b>	<b>LOCUS</b>	<b>HERENCIA</b>
	DYT 10	<i>PRRT2</i>	PRRT2 interactúa con la proteína sinaptosómica 25 (SNAP25), papel en la fusión de las vesículas sinápticas con la membrana plasmática.	Inicio en la infancia, fenotipo heterogéneo, discinesia cinesigénica paroxística, ataques de corta duración, aura sensitiva previa.	-	AD
	DYT 18- DYT 9	<i>SLC2A1</i>	Disfunción GLUT 1.	Inicio en la infancia, ataques combinados de corea, atetosis y distonía precipitados por el ejercicio.	-	AD

AD: autosómico dominante, AR: autosómico recesivo.





# CAPÍTULO 6

## Estudios genéticos en coreas



### Autores

José Esteban Muñoz García

Cèlia Painous Martí

### Centro

Unidad de Parkinson y Trastornos del Movimiento, Servicio de Neurología,  
Institut Clínic de Neurociències, Hospital Clínic de Barcelona, Barcelona.





## 6.1 INTRODUCCIÓN

Las coreas hereditarias constituyen un grupo variado de enfermedades raras. La causa más frecuente de corea hereditaria es la enfermedad de Huntington (EH). Sin embargo, una vez descartada genéticamente ésta nos enfrentamos a un verdadero reto diagnóstico. Éste es aún mayor cuando la enfermedad se manifiesta de una manera aparentemente esporádica, lo que no es del todo inusual. Factores como el tipo de herencia, los síntomas acompañantes, la edad de inicio, el origen étnico, los datos de neuroimagen o de laboratorio pueden ayudar a orientar el diagnóstico genético de estos casos.

## 6.2 COREA FAMILIAR

### 6.2.1 Coreas con patrón de herencia autosómico dominante

#### 6.2.1.1 Enfermedad de Huntington

La EH es una enfermedad de herencia autosómica dominante que ha sido descrita en prácticamente todas las áreas geográficas, lo que sugiere que no existe un efecto fundador único. La prevalencia de la EH es variable dependiendo del área estudiada, pero en Europa y América está alrededor de 5-10 casos por 100.000 habitantes<sup>1</sup>.

La edad media del inicio de la enfermedad se sitúa entre los 40-45 años, aunque se ha descrito en niños de 1 año y en personas mayores de 80 años<sup>2</sup>. El curso es progresivo, conduciendo a la muerte en 15-20 años tras el inicio de los síntomas<sup>1,2</sup>, generalmente por complicaciones infecciosas o traumatismos.

#### • Manifestaciones clínicas

Los trastornos motores descritos en la EH son diversos y contribuyen de forma prominente a la discapacidad física que presentan los pacientes<sup>1-3</sup>. La corea es el trastorno de movimiento principal, ya que acontece en mayor o menor grado en el 90% de los pacientes. Sin embargo, es muy habitual que los pacientes asocien posturas distónicas conforme progresa la enfermedad, que son las que acaban dominando el cuadro motor en las fases más avanzadas. No es inusual que los pacientes presenten tics vocales simples (ruidos guturales) o tics motores, que se localizan sobre todo en la esfera facio-cervical. La presencia de mioclonías también está descrita y acontece especialmente en los casos de inicio precoz. Además, los pacientes presentan enlentecimien-

to de los movimientos voluntarios (bradicinesia), trastorno progresivo de la marcha con pérdida de la estabilidad postural, y disartria y disfagia progresivas. La foto final de la enfermedad, desde el punto de vista motor, consiste en una mezcla de parkinsonismo, distonía generalizada y severa afectación del habla (anartria) y la deglución.

Las alteraciones neuropsiquiátricas son muy prevalentes, oscilando entre el 50-98% de los casos según los autores<sup>3-4</sup>. Los trastornos afectivos y de conducta pueden aparecer ya en fases iniciales, no siendo extraño que los pacientes manifiesten irritabilidad, suspicacia, impulsividad, agresividad, promiscuidad sexual, apatía, desinhibición social y sexual o abuso de tóxicos, entre otros, antes que se inicien los síntomas motores. La depresión es un problema común, conduciendo a una alta tasa de suicidio, especialmente si se compara con la población general<sup>3-4</sup>. Los trastornos psicóticos de tipo esquizofreniforme suelen ser menos prevalentes (3-5%) que la depresión y las alteraciones conductuales.

Los pacientes con EH pueden presentar ya en fases iniciales disfunciones ejecutivas caracterizadas por la presencia de dificultades en la organización, secuenciación, planificación, abstracción, juicio, flexibilidad mental y razonamiento que condiciona dificultades para la toma de decisiones, resolución de problemas e incapacidad para adaptarse a los cambios, perfilando así un patrón de deterioro fronto-subcortical<sup>5</sup>. Conforme la enfermedad progresa el cuadro evoluciona hacia un estado de demencia<sup>1-3,5</sup>, en el que se añaden elementos de disfunción cortical global con afectación de la memoria, el lenguaje, las funciones visuoespaciales y visuoperceptivas y las praxias.

Se han descrito variantes clínicas en función de la edad de inicio de la enfermedad. Se consideran formas juveniles a aquellas que se inician por debajo de los 20 años<sup>3,6</sup>. En la gran mayoría de estos casos la enfermedad se hereda por vía paterna. Suelen ser formas con mayor prevalencia de síntomas parkinsonianos y distónicos y con una evolución más rápidamente progresiva que los casos de inicio en la edad adulta. En los casos de inicio en la infancia se ha descrito un estado parkinsoniano con severo entecimiento de la motilidad ocular (variante de Westphal), pudiendo asociarse también a piramidalismo, mioclonias, epilepsia y deterioro cognitivo precoz<sup>3</sup>. No existe un consenso claro sobre la edad de inicio de las formas tardías. Mientras unos autores consideran así los casos que se inician por encima de los 50 años<sup>3,7</sup>, otros proponen una edad de inicio igual o superior a los 60 años<sup>8</sup>. Estas formas constituyen alrededor del 20% de los casos y con relativa frecuencia se presentan como formas aparentemente esporádicas, pudiendo inducir así a errores o retrasos diagnósticos si no se sospecha la enfermedad.



- **Diagnóstico**

El diagnóstico puede hacerse con una seguridad alta, pero no absoluta, en base a las características clínicas descritas y la presencia de una historia familiar positiva para la enfermedad. La neuroimagen (TC, RM craneal) puede mostrar atrofia de los núcleos caudados, que en fases más avanzadas se asocia a atrofia putaminal y del córtex cerebral, sobre todo a nivel frontal.

El diagnóstico definitivo consiste en la demostración de la existencia de una expansión de tripletes de citosina-adenina-guanina (CAG) en el primer exón de un gen de la huntingtina (*HTT*) situado en el brazo corto del cromosoma 4p16.3<sup>1,2</sup>. Las personas sin EH tienen menos de 27 repeticiones CAG. Las personas entre 27-35 (estado premutado) raramente van a desarrollar la enfermedad pero pueden transmitirla a la descendencia, ya que el defecto genético es inestable y puede amplificarse en futuras generaciones, dando así lugar a apariciones *de novo*. Entre 36 y 39 repeticiones los alelos se consideran de baja penetrancia, pudiendo aparecer o no la enfermedad en edades tardías de la vida. Las personas con 40 o más repeticiones tarde o temprano desarrollarán síntomas de la enfermedad. Como norma general, cuanto mayor es el número de repeticiones del triplete CAG mayor es el riesgo de que la enfermedad aparezca en fases más precoces de la vida y se asocie a una más rápida progresión<sup>9</sup>. Así, las formas juveniles se caracterizan por la presencia de expansiones de gran tamaño, situándose la media alrededor de las 65 repeticiones<sup>6</sup>, mientras que en las formas tardías el defecto genético suele estar en el rango de baja penetrancia o en los límites inferiores del rango patológico (40-42 repeticiones)<sup>8</sup>.

### 6.2.1.2 Coreas no Huntington de herencia autosómica dominante

Las coreas autosómicas dominantes no Huntington constituyen un grupo de enfermedades genéticamente diversas (Tabla 1) pero que en algunos casos se manifiestan con características clínicas superponibles a las de la EH (fenocopias)<sup>10</sup>.

- **C9orf72**

El gen *C9orf72* ("chromosome 9 open reading frame 72") está situado en el cromosoma 9p21.2. La mutación de dicho gen puede dar lugar a diversas enfermedades neurodegenerativas que se manifiestan de una manera esporádica o familiar con un patrón de herencia autosómico dominante con penetrancia incompleta<sup>11</sup>. Esta mutación consiste en una expansión de hexanucleótidos en heterocigosis en una región no codificante del gen<sup>12,13</sup>. La mutación tiene una distribución mundial amplia, pero está especialmente presente en poblaciones europeas.

La presentación clínica más común consiste en una variante conductual de demencia frontotemporal (bvFTD) que asocia apatía, hiperoralidad, desinhibición, falta de "insight", alucinaciones, ilusiones, ansiedad, pérdida de empatía y síntomas obsesivos-compulsivos, pudiéndose además añadir signos de afectación de motoneurona (fenotipo FTD-ELA).

Por otro lado, la mutación representa hasta el 50-60% de los casos de ELA familiar y hasta el 10% de los casos de ELA esporádicos<sup>11</sup>. El parkinsonismo también forma parte del espectro fenotípico de las expansiones en *C9orf72*. En este sentido se han descrito formas similares a la parálisis supranuclear progresiva (PSP-like) y a la atrofia multisistémica (MSA-like), incluso en algunos casos asociados a ataxia cerebelosa (MSAc-like)<sup>14</sup>.

Finalmente, otro fenotipo, cada vez más frecuentemente descrito, es el de pseudo-Huntington<sup>15</sup>. Esta presentación se considera una fenocopia de la EH. La edad media de inicio en estos casos está alrededor de los 42 años, similar a la de la EH, y las manifestaciones motoras más comúnmente descritas son corea, distonía, mioclonías, rigidez, bradicinesia y temblor. De hecho es la primera causa que se debería descartar en un paciente con manifestaciones clínicas sugestivas en el que el estudio genético de EH ha resultado negativo, en especial si existen datos sobreañadidos de afectación de motoneurona superior.

La RM cerebral en los casos de pseudo-Huntington asociados a la mutación en *C9orf72* suele ser inespecífica, mostrando la presencia de una atrofia cerebral global, por lo que la única prueba diagnóstica útil es la demostración de la existencia de un aumento de repeticiones del hexanucleótido GGGGCC (G4C2)<sub>n</sub> que se localiza a nivel intrónico en la zona del promotor del gen<sup>12</sup>. En sujetos normales el número de repeticiones varía entre 2 y 19, mientras que en sujetos sintomáticos el número de repeticiones es superior a 30, generalmente entre 400 y varios miles<sup>13</sup>. El número de repeticiones no parece relacionarse con la presencia de un fenotipo específico, por lo que se cree que podrían existir modificadores genéticos o ambientales determinantes para la expresión fenotípica de la expansión<sup>16</sup>.

- **Huntington-like 1 (HDL1)**

HDL1 es una enfermedad priónica hereditaria. Las prionopatías hereditarias constituyen el 15% de todas las enfermedades priónicas e incluyen la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob familiar, el insomnio familiar letal y la enfermedad de Gertsman-Sträussler-Scheinker. La mayoría de estas enfermedades son debidas a mutaciones puntuales y mutaciones sin sentido que introducen un codón de stop prematuro en el gen de la proteína priónica (*PRNP*), situado en el cromosoma 20p12. Sólo una minoría de ellas son debidas a inserciones de entre 4 a 12 octapéptidos que dan lugar a fenotipos variados<sup>17</sup>. Estos fenotipos



incluyen demencia de inicio precoz, alteraciones del movimiento (parkinsonismo, corea, ataxia), síntomas piramidales, alteraciones del lenguaje, crisis epilépticas y síntomas psiquiátricos/conductuales.

HDL1 se inicia entre los 20-45 años y se caracteriza clínicamente por demencia rápidamente progresiva, la combinación variable de diversas alteraciones del movimiento (ataxia, mioclonías, parkinsonismo, corea), así como trastornos de la personalidad y síntomas psiquiátricos<sup>17,18</sup>. Esta fenocopia de la EH ha sido descrita en unas pocas familias y es debida a una inserción de 192 nucleótidos que codifica para 8 octapéptidos a nivel de la proteína priónica.

- **Huntington-like 2 (HDL2)**

HDL2 es otro proceso neurodegenerativo similar a la EH tanto desde el punto de vista clínico como en las características radiológicas, genéticas y neuropatológicas. La enfermedad ha sido descrita básicamente en pacientes con ancestros africanos. La presencia de corea se ha reportado en el 84% de los casos, parkinsonismo en el 37%, demencia en el 74% y alteraciones psiquiátricas en 44 de 47 casos descritos. Otras manifestaciones descritas con cierta frecuencia son la presencia de posturas distónicas, mioclonías, disartria o pérdida de peso<sup>10</sup>.

La enfermedad es debida a una expansión de tripletes CTG/CAG (>41) a nivel del exón 2 de la *junctophilina-3 (JPH3)* en el cromosoma 16q24.3<sup>19</sup>. La edad media de inicio está alrededor de los 40 años, pero al igual que ocurre en la EH se ha descrito una fuerte correlación negativa entre el número de repeticiones y la edad de inicio de la enfermedad. En algunos casos se ha descrito la presencia de alteraciones de la morfología eritrocitaria en sangre periférica (acantocitos), por lo que algunos autores han sugerido incluir la enfermedad dentro de las neuroacantocitosis.

- **Ataxia espinocerebelosa 17 (SCA17)**

SCA17 se corresponde con HDL4. Se trata de una ataxia autosómica dominante asociada a variabilidad fenotípica inter e intrafamiliar que combina ataxia, demencia, alteraciones psiquiátricas, corea, parkinsonismo, distonía, signos piramidales y epilepsia en diversos grados, de tal forma que en algunos casos puede manifestarse con una fenocopia de la EH<sup>10,20</sup>. SCA17 se ha descrito con mayor frecuencia en población de origen asiático. El inicio de la enfermedad es variable desde la infancia hasta edades avanzadas de la vida, estando la edad de inicio más común entre los 19 y los 48 años.

La RM cerebral muestra la presencia de atrofia cerebelosa tanto a nivel del vermis como de los hemisferios, atrofia cortical cerebral, aumento del tamaño de los ventrículos laterales y raramente atrofia leve-moderada del tronco del encéfalo.

El diagnóstico de SCA17 se establece mediante la identificación de una expansión de repeticiones CAA/CAG anormal en el gen *TATA-binding protein (TBP)* en el cromosoma 6q27<sup>21</sup>. Los alelos normales contienen entre 25-40 repeticiones CAA/CAG. Los alelos entre 41-48 repeticiones se han considerado de baja penetrancia. Las características clínicas parecen correlacionarse con la longitud de la expansión de poliglutaminas. Precisamente los portadores de alelos de baja penetrancia son los casos que suelen presentarse con corea, parkinsonismo, alteraciones psiquiátricas y deterioro cognitivo.

- **Atrofia dentato-rubro-palido-luysiana (DRPLA)**

Se trata de una enfermedad descrita principalmente en Japón, con una prevalencia entre 0,2-0,7/100.000 habitantes, pero con familias afectas también en Europa y en Estados Unidos ("*Haw River Syndrome*"), por lo que no se debería considerar una enfermedad geográfica o étnicamente restringida.

Los casos descritos presentan características clínicas heterogéneas que incluyen ataxia, demencia, corea, alteraciones psiquiátricas, epilepsia, mioclonías en diversos grados<sup>22</sup>. En base a los síntomas y signos predominantes se han descrito tres fenotipos clínicos. El más habitual, de inicio en la edad adulta, está dominado por el cuadro atáxico. Otro fenotipo, también de inicio en la edad adulta, se caracteriza por un cuadro *Huntington-like* con corea, distonía, parkinsonismo, alteraciones psiquiátricas y deterioro cognitivo. Finalmente, y de inicio infanto-juvenil, existe un fenotipo que asocia epilepsia, mioclonías y deterioro cognitivo<sup>22</sup>.

La RM cerebral muestra principalmente atrofia de cerebelo y con la progresión de la enfermedad atrofia cortical y lesiones de la sustancia blanca cerebral<sup>23</sup>.

La DRPLA es causada por una expansión de tripletes CAG (>49) en el gen de la *atrofina-1 (ATN-1)* en el cromosoma 12p13. Las formas infanto-juveniles son las que presentan un mayor número de repeticiones CAG, mientras que no existen diferencias significativas ni en el número de repeticiones ni en la edad de inicio entre las formas atáxicas y las coreicas<sup>22</sup>.

- **Corea hereditaria benigna (CHB)**

La CHB es una enfermedad hereditaria de inicio en la infancia, generalmente antes de los 5 años, y que se caracteriza principalmente por la presencia de un cuadro coreico, no pro-





gresivo, o ligeramente progresivo hasta llegar a la edad adulta, asociado a alteración de la marcha. Los movimientos coreicos pueden afectar a cualquier área corporal y pueden empeorar en situaciones de estrés. Otras manifestaciones asociadas pueden ser la presencia de movimientos mioclónicos o distonía. Sin embargo, no se asocia a alteraciones psiquiátricas o cognitivas prominentes, lo que la diferencia claramente de la EH. No es inusual que los niños con CHB tengan una historia de distrés respiratorio, infecciones pulmonares recurrentes o hipotiroidismo neonatal<sup>24</sup>.

El gen responsable es el *NKX2-1/TITF1*, situado en el cromosoma 14q13, y que codifica para el factor 1 de transcripción tiroidea. Se han descrito múltiples mutaciones puntuales así como deleciones extensas, algunas de ellas situadas en regiones no codificantes del gen<sup>24</sup>. Este hecho ha de ser tenido en cuenta dado que si la sospecha diagnóstica es alta se deben de estudiar con las técnicas adecuadas la presencia de variantes en el número de copias en este gen.

Otro gen asociado a la CHB es el gen de la *adenilato ciclasa 5 (ADCY5)*, situado en el cromosoma 3q21.1, en el que se han descrito la presencia de mutaciones puntuales en heterocigosis en diversas familias y en casos *de novo*. El fenotipo consiste en la presencia de movimientos hipercinéticos (corea y distonía) que empeoran de forma notable con la acción, la excitación o el estrés. Una característica distintiva es la presencia de mioquimias faciales prominentes. Otras manifestaciones clínicas pueden ser retraso de la adquisición de habilidades motoras, hipotonía axial, dificultades progresivas de la marcha y signos piramidales. La enfermedad tiene un inicio variable que va desde fases iniciales de la infancia hasta la adolescencia tardía<sup>25</sup>.

### 6.2.1.3 Otras enfermedades de herencia dominante que pueden asociar corea

- **Ataxias espinocerebelosas (SCA)**

A parte de SCA17 y DRPLA, otras ataxias dominantes como SCA1, SCA2 y SCA3 pueden cursar con corea, aunque ésta no suele ser la manifestación principal en la mayoría de casos. Tanto en SCA2 como en SCA3 se ha descrito también distonía o parkinsonismo asociado. Estas ataxias son debidas a expansiones de tripletes CAG<sup>10</sup>. La neuroimagen suele mostrar atrofia cerebelosa y del tronco cerebral y en algunos casos, como ocurre en SCA3, también atrofia estriatal.

- **Neuroferritinopatía**

La neuroferritinopatía (NFT) o neurodegeneración cerebral con acúmulos de hierro tipo 3 (NBIA-3) es otra enfermedad que se presenta con trastornos del movimiento como corea,

distonía, discinesias oromandibulares prominentes y parkinsonismo<sup>10,26,27</sup>. También se ha descrito afectación piramidal, cerebelosa y deterioro cognitivo de tipo frontal<sup>10</sup>.

La RM cerebral muestra la presencia de depósitos de hierro en los ganglios basales asociados a cambios quísticos y áreas de necrosis<sup>10</sup>. Con la progresión de la enfermedad los depósitos de hierro se pueden extender a la sustancia negra, al dentado e incluso al córtex cerebral. Otros hallazgos de la neuroimagen son la presencia de atrofia cerebelosa y cerebral<sup>27</sup>.

La enfermedad suele debutar entre la tercera y sexta década de la vida<sup>27</sup> y se debe a mutaciones en el gen *FTL1*, situado en el cromosoma 19q13, que codifica para un polipéptido ligero de la ferritina<sup>26</sup>. Los pacientes con neuroferritinopatía tienen niveles bajos de ferritina en suero<sup>10</sup>.

- **Calcificación idiopática familiar de los ganglios basales (síndrome de Fahr)**

Se trata de una enfermedad de inicio entre los 30-50 años asociada a la presencia de calcificaciones extensas en los ganglios basales y en otras áreas cerebrales, y que puede manifestarse con un amplio espectro de síntomas como parkinsonismo, distonía, temblor, ataxia, demencia, psicosis y crisis epilépticas y en algunos casos con movimientos coreicos asociados<sup>28</sup>. Se han descrito varios genes implicados en diversas familias, como *SLC20A*, *PDGFB*, *PDGFRB* o *XPR1*, lo que refleja la heterogeneidad genética de la enfermedad<sup>28</sup>.

#### 6.2.1.4 Estudios genéticos en casos de corea con herencia autosómica dominante.

- **Primer nivel:** expansión triplete CAG en *HTT*.
- **Segundo nivel:** Panel de genes que incluyan *C9orf72*, HDL-1, HDL-2, HDL-4, DRPLA, NFT, Fahr, CHB, SCA 1, 2, 3. (Ver algoritmo y tablas, según las características clínicas y de neuroimagen se pueden solicitar la evaluación de determinados genes).
- **Tercer nivel:** WES (“*Whole Exome Sequencing*”).


**Tabla 1. Coreas de herencia autosómica dominante.**

	LOCUS	GEN	MUTACIÓN	SOSPECHA DIAGNÓSTICA
EH	4p16.3	<i>HTT</i>	Expansión CAG $\geq$ 36	Corea, alteraciones psiquiátricas, deterioro cognitivo.
C9orf72	9p21.2	<i>C9orf72</i>	Expansión GGGGCC>30	EH fenocopia. Signos de primera motoneurona
HDL1	20p12	<i>PRNP</i>	Inserción octapéptidos	EH fenocopia. Demencia rápidamente progresiva.
HDL2	16q24.3	<i>JPH3</i>	Expansión CTG/CAG >41	EH fenocopia. Ancestros africanos
SCA17 (HDL4)	6q27	<i>TBP</i>	Expansión CAA/CAG $\geq$ 41	EH fenocopia. Ataxia familiar.
DRPLA	12p13	<i>ATN-1</i>	Expansión CAG $\geq$ 49	EH fenocopia. Ataxia familiar.
CHB	14q13	<i>NKX2-1 ó TITF1</i>	Varias	Corea infantil sin progresión en edad adulta.
	3q21.1	<i>ADCY5</i>	Varias	Corea infanto-juvenil. Mioquimias faciales.
SCA1	6p22.3	<i>ATXN1</i>	Expansión CAG $\geq$ 39	Ataxia familiar. RM: atrofia cerebelosa y tronco
SCA2	12q24.12	<i>ATXN2</i>	Expansión CAG $\geq$ 36	Ataxia familiar. RM: atrofia cerebelosa y tronco
SCA3	14q32.12	<i>ATXN3</i>	Expansión CAG $\geq$ 61	Ataxia familiar. RM: atrofia cerebelosa y de tronco
NFT	19q13	<i>FTL1</i>	Varias	RM: depósitos de hierro. Ferritina baja en suero
Fahr	8p11.21 Otros	<i>SLC20A2</i> Otros	Varias	Calcificaciones múltiples cerebrales

EH, enfermedad de Huntington; HDL, Huntington's disease-like; SCA, ataxia espinocerebelosa; DRPLA, atrofia dentato-rubro-palido-luysiana; CHB, corea hereditaria benigna; NFT, neuroferritinopatía.

## 6.2.2 Coreas de herencia autosómica recesiva

### 6.2.2.1 Coreoacantocitosis

La coreoacantocitosis (ChAc) y el síndrome de McLeod se agrupan dentro de las neuroacantocitosis, un grupo de enfermedades hereditarias en las que se observa una morfología anormal de los hematíes (acantocitos) y un trastorno neurológico progresivo. La ChAc puede presentarse con un amplio espectro de síntomas variables en el tiempo. Se suele iniciar en la segunda-tercera década de la vida y progresa lentamente<sup>29</sup>. Es muy característica la

presencia de discinesias orolingüomandibulares asociadas a automutilación por mordedura de lengua, labios y cara interna de las mejillas, así como la presencia de distonía lingual que aparece al comer y hace que el paciente expulse el bolo alimentario. La corea-distonía de cabeza y tronco, con violentos movimientos bruscos de flexión del tronco (*"rubber man"*), junto a una marcha bizarra con pandeo del tronco, disminución de la longitud del paso y titubeo también son característicos. Los pacientes pueden presentar parkinsonismo, tics motores y vocales, disartria y disfagia de curso progresivo. También la enfermedad se asocia a cambios miopáticos y afectación neuropática (con hipo-arreflexia en el examen neurológico), crisis epilépticas, deterioro cognitivo y alteraciones psiquiátricas del tipo psicosis o trastorno obsesivo-compulsivo. Se ha descrito disfunción del sistema nervioso autónomo con hipotensión ortostática y bradicardia que se atribuye a denervación simpática postganglionar, que se cree puede ser causa de muerte súbita en estos pacientes<sup>30</sup>.

La enfermedad está causada por mutaciones en el gen *VPS13A*, localizado en el cromosoma 9q21, que codifica para la proteína coreina. Los pacientes presentan un aumento de la creatinfosfoquinasa (CK) en sangre, acantocitos en sangre periférica, ausencia de coreina eritrocitaria por Western Blot y atrofia estriatal de predominio en núcleos caudales en la RM cerebral<sup>29</sup>.

### 6.2.2.2 Enfermedad de Wilson

La enfermedad de Wilson es una causa infrecuente de corea, pero es importante conocerla ya que es de las pocas enfermedades en la que disponemos de un tratamiento efectivo. Se caracteriza por una alteración en el metabolismo del cobre con el consecuente acúmulo de éste en diferentes tejidos, principalmente en hígado, cerebro y córnea<sup>31</sup>.

Las manifestaciones clínicas hepáticas suelen ser las primeras en aparecer (40-60% de los casos). Estas varían desde una elevación asintomática de las enzimas hepáticas, un fallo hepático crónico y de curso lento que puede terminar en cirrosis, a una hepatitis de curso agudo, y a veces fulminante, que puede requerir de trasplante hepático urgente. Los síntomas neurológicos pueden ser la forma de presentación en hasta un 18-68% de los pacientes y suelen presentarse a lo largo de la segunda década. Debido a la característica afectación de los ganglios basales, los pacientes pueden presentar frecuentemente movimientos involuntarios como temblor y la distonía. El temblor puede presentarse de diferentes formas aunque la presentación característica es un temblor "aleteante" debido a la afectación proximal de las extremidades superiores (*"wing-beating tremor"*). La distonía suele afectar la región craneal y bulbar, siendo muy característica la presencia de una expresión risueña burlona (*"risa sardónica"*), o puede manifestarse de forma generalizada e incluso dar lugar a estatus distónicos que pueden comprometer la vida del paciente. La dis-



fagia y disartria son frecuentes en estos pacientes, que además pueden presentar parkinsonismo, y en menor medida corea, mioclonías, atetosis o clínica cerebelosa. Los pacientes presentan además manifestaciones psiquiátricas que comprenden desde cambios de la personalidad a episodios psicóticos o estados de depresión. A nivel oftalmológico hay dos hallazgos típicos que se pueden detectar mediante el examen con lámpara de hendidura, el anillo de Kayser-Fleischer (K-F), de coloración marronácea y situado en la parte periférica de la córnea, y que está presente en el 100% de los pacientes con clínica neurológica, y las cataratas en girasol<sup>31</sup>.

El diagnóstico se basa en la presencia de niveles bajos de cobre y ceruloplasmina (CP) en sangre y la excreción aumentada de cobre en orina de 24 horas junto con la clínica compatible<sup>31</sup>. En algunos casos dudosos es necesario realizar una biopsia hepática que demuestre el aumento de la concentración de cobre en el tejido hepático. La RM puede mostrar alteraciones de la señal a nivel de ganglios basales (predominantemente en putamen y núcleo caudado), tálamo, mesencéfalo y protuberancia debido al depósito de cobre, así como signos de atrofia cerebral difusa. El estudio genético es cada vez más fiable para el diagnóstico y descartar otras causas de acúmulo de cobre<sup>32</sup>, además de formar parte de los criterios diagnósticos del Wilson (escala de Leipzig<sup>32</sup>). Se han descrito más de 800 mutaciones homocigotas o heterocigotas compuestas en el gen *ATP7B*, localizado en el cromosoma 13. Este gen codifica la ATPasa 2, una proteína transportadora de cobre. El estudio molecular ofrece la posibilidad de identificación de las mutaciones en el paciente y sus familiares, permitiendo así el consejo genético y la posibilidad de tratamiento precoz, incluso antes de que aparezcan los síntomas de la enfermedad.

### **6.2.2.3 Neurodegeneración asociada al déficit de pantotenato quinasa (PKAN)**

La PKAN pertenece a un grupo heterogéneo de enfermedades caracterizadas por la presencia de acúmulos de hierro que afecta a los ganglios basales y otras áreas cerebrales (NBIA).<sup>27</sup> El gen *PANK2* se localiza en el cromosoma 20 y codifica para la enzima pantotenato quinasa 2, que juega un papel importante en la síntesis de la coenzima A, implicada en múltiples procesos metabólicos.<sup>34</sup>

En base a la edad de inicio y la progresión de la enfermedad se han descrito dos formas diferentes. La forma clásica se inicia en la primera década de la vida, generalmente por debajo de los 5 años, y progresa de forma rápida, con pérdida de la deambulación entre 10-15 años del inicio. Las manifestaciones distónicas siempre están presentes precozmente, siendo muy característica la distonía mandibular en apertura. Los pacientes presentan además espasticidad, coreo-atetosis, ataxia, déficits intelectuales, degenera-

ción pigmentaria de la retina y alteración de los movimientos oculares. La esperanza de vida de estos pacientes se encuentra disminuida, aunque algunos pacientes alcanzan la edad adulta. La forma atípica se inicia entre la segunda-tercera década de la vida y progresa más lentamente que la forma clásica. Afecta al habla dando lugar a disartria, palilalia y taquilalia. Existe también afectación piramidal con espasticidad asociada y parkinsonismo que limitan de forma progresiva la deambulaci3n. Tambi3n son frecuentes los fen3menos de “congelaci3n” durante la marcha que junto a las alteraciones del habla pueden configurar un s3ndrome de acinesia pura. La presencia de s3ntomas psiqui3tricos con impulsividad, depresi3n, comportamiento obsesivo-compulsivo y labilidad emocional es frecuente<sup>34</sup>.

La RM cerebral muestra de forma caracter3stica el signo del “ojo del tigre” a nivel del n3cleo p3ldido, que consiste en un 3rea central de hiperintensidad (necrosis central) rodeada por un 3rea de hipointensidad (ac3mulo de hierro) en las im3genes ponderadas en T2.

#### **6.2.2.4 Neurodegeneraci3n asociada al d3ficit de fosfolipasa A (PLAN)**

La PLAN o NBIA tipo 2 es causada por mutaciones del gen *PLA2G6*, que codifica para una prote3na fosfolipasa 2 involucrada en la generaci3n de 3cidos grasos libres y lisofosfol3pidos, lo que da lugar a una composici3n lip3dica anormal de la membrana plasm3tica, de las ves3culas o de los endosomas<sup>27,35</sup>.

El fenotipo es dependiente de la edad, similar a lo que ocurre en la PKAN. Los casos de inicio temprano desarrollan una distrofia neuroaxonal infantil caracterizada por una alteraci3n motora progresiva y retraso mental, hipoton3a axial marcada, diston3a, ataxia cerebelosa, signos piramidales, estrabismo, atrofia 3ptica y crisis epil3pticas. Algunos casos infantiles tienen un curso at3pico con una progresi3n m3s lenta y alteraciones neuropsiqui3tricas como autismo, d3ficits de atenci3n e hiperactividad y depresi3n. Se han descrito casos de inicio tard3o en la segunda y tercera d3cada de la vida, que tiene un curso m3s benigno y se asocian a diston3a-parkinsonismo o parkinsonismo aislado que puede responder a levodopa en algunos casos. La presencia de corea tanto en los casos infantiles como tard3os es muy inusual.

Los hallazgos radiol3gicos por RM pueden ser muy variables. Los casos de inicio temprano muestran una importante afectaci3n cerebelosa. La mitad de los casos infantiles carecen de signos de acumulaci3n de hierro en n3cleos p3ldidos en las primeras etapas de la enfermedad pero suelen desarrollarlos posteriormente<sup>35</sup>, sin observarse la hiperintensidad central t3pica de PKAN. En los casos de aparici3n tard3a, el dep3sito de hierro puede estar ausente y la RM puede incluso ser normal.



### 6.2.2.5 Aceruloplasminemia

La aceruloplasminemia (ACP) está causada por mutaciones en el gen de la *CP*. Las mutaciones dan lugar a una ausencia o niveles muy bajos de la enzima, que es una ferroxidasa ligada a cobre esencial para el metabolismo normal del hierro. Cuando la actividad enzimática está severamente disminuida, se produce una sobrecarga de hierro con depósito tisular en diversos órganos (páncreas, cerebro, retina e hígado) con la consiguiente degeneración de dichos órganos<sup>27,36</sup>.

Suele iniciarse en la cuarta-quinta década de la vida, pero los pacientes pueden presentar anemia microcítica y diabetes desde muchos años antes. Los síntomas neurológicos se desarrollan más tardíamente, alrededor de la sexta década. Los trastornos del movimiento son los síntomas neurológicos más frecuentes e incluyen ataxia, discinesias craneo-faciales (tortícolis, blefaroespasma y distonía lingual), parkinsonismo y en algunos casos presencia de movimientos coreicos. Los pacientes además suelen presentar alteraciones cognitivas y psiquiátricas<sup>36</sup>.

El diagnóstico generalmente se basa en la evidencia de niveles muy bajos o indetectables de la *CP* en suero, con ferritina muy elevada. La RM muestra depósitos de hierro con un patrón extenso que lo diferencia de otras NBIA, e incluye ganglios basales, tálamo, sustancia negra, núcleos rojos, dentados y córtex<sup>36</sup>.

### 6.2.2.6. Estudios genéticos en casos de corea con herencia autosómica recesiva

- **Primer nivel:** Según resultados de pruebas analíticas y de neuroimagen ([ver también algoritmo y tablas](#)) se puede solicitar un análisis individual o un panel que incluya los siguientes genes: *VPS13A*, *ATP7B*, *PANK2*, *PLA2G6* y *CP*.
- **Segundo nivel:** WES.

## **6.2.3 Corea de herencia ligada al X**

### 6.2.3.1 Síndrome de McLeod

El síndrome de McLeod es extremadamente raro y se encuadra dentro de las neuroacantocitosis. La prevalencia estimada es de aproximadamente unos 250 casos en todo el mundo. Los síntomas pueden iniciarse entre los 18 y los 61 años y la duración de la enfermedad puede ser mayor de 30 años. La presentación clínica, aunque variable, puede ser muy similar a la de la ChAc, incluyendo movimientos coreiformes progresivos, miopatía, neuropatía, deterioro cognitivo y alteraciones psiquiátricas parecidas a las descritas en la

EH<sup>29</sup>. Las discinesias orolingüomandibulares no suelen ser tan prominentes ni inducir autotutilación como ocurre en la coreoacantocitosis.

La enfermedad cardíaca, con miocardiopatía dilatada y arritmias graves, es uno de los aspectos más importantes en el síndrome de McLeod y se presenta en el 60% de los pacientes<sup>37,38</sup>.

Se debe a mutaciones en el gen *XK*<sup>38</sup>, que codifica una proteína de transporte transmembrana que es expresada en músculo esquelético, cerebro y tejidos eritropoyéticos. Estas mutaciones producen una reducción de la expresión del antígeno Kell eritrocitario. Los estudios hematológicos muestran elevación de la CK y en la RM craneal además de atrofia estriatal se puede observar atrofia cortical generalizada.

### **6.2.3.2 Otras enfermedades asociadas al cromosoma X**

Incluimos en este grupo al síndrome de Rett (*MeCP2*), que puede asociar la presencia de corea junto con movimientos estereotipados de las manos en niñas con retraso psicomotor importante;<sup>39</sup> la enfermedad de Lubag o *DYT/PARK-TAF1*, que se manifiesta principalmente con distonía y parkinsonismo pero en la que se ha descrito también la presencia de movimientos coreicos en algunos pacientes;<sup>40</sup> y la enfermedad de Pelizaeus-Merzbacher (*PLP1*) que asocia ataxia, paraparesia espástica, distonía, retraso mental y movimientos coreoatetósicos<sup>41</sup>.

### **6.2.4 Otras enfermedades de herencia dominante, recesiva o mitocondrial**

Existe un grupo muy amplio de enfermedades, raras o muy raras, que suelen iniciarse en la infancia y que pueden asociar corea, aunque éste no sea el síntoma más característico en muchos casos.

#### **6.2.4.1 Trastornos congénitos del metabolismo**

Entre ellos destacamos la enfermedad de Niemann Pick tipo C (*NPC1*), en el que se han descrito algunos casos de pseudo-Huntington; la aciduria glutárica tipo 1 (*GCDH*); la acidemia propiónica (*PCCA* y *PCCB*); la acidemia metilmalónica (*MUT*); la deficiencia del transportador de la glucosa o déficit de Glut-1 (*SLC2A1*), donde se ha descrito tanto la presencia de un patrón de herencia autosómico dominante como recesivo; y la enfermedad de Lesch-Nyhan (*HPRT1*)<sup>41</sup>.





#### 6.2.4.2 Determinadas ataxias recesivas

Las más frecuentes serían la ataxia de Friedreich (*FXN*), la ataxia-telangiectasia (*ATM*) o la ataxia con apraxia oculomotora tipo 1 (*APT1*) y 2 (*SETX*)<sup>41</sup>. También se ha descrito la presencia de movimientos coreicos en la ataxia espástica tipo 2 o paraparesias espásticas 28 (*SPG28*) por mutaciones en el gen *KIF1C*.

#### 6.2.4.3 Enfermedades mitocondriales

Las enfermedades mitocondriales que se asocian con relativa frecuencia a la presencia de movimientos coreicos serían la deficiencia de la piruvato carboxilasa (*PC*), la deficiencia del complejo de la piruvato deshidrogenasa (*PDHA1*) y el síndrome de Leigh o necrosis estriatal bilateral infantil (*MTATP6*)<sup>41</sup> que también presenta una notable heterogeneidad génica ya que puede estar causado por mutaciones en genes situados en cualquier complejo de la cadena respiratoria mitocondrial. Se ha reportado también la presencia de movimientos coreicos en pacientes con mutaciones en *POLG*, *MTTG*, *MTND4*, *HSD10*, *MICU1* y *COX20*<sup>41</sup>.

**Tabla 2.** Coreas de herencia autosómica recesiva, ligada al X o mitocondrial.

	HERENCIA	LOCUS	GEN	SOSPECHA DIAGNÓSTICA
ChAc	AR	9q21	<i>VPS13A</i>	Discinesias orolinguales prominentes con automutilación. Miopatía y neuropatía. ↓ CK. Acanthocitos.
McLeod	Ligada al X	Xp21.1	<i>XK</i>	Miocardiopatía. ↓ CK. Acanthocitos. Antígeno de Kell ausente o disminuido.
Wilson	AR	13q14.3	<i>ATP7B</i>	Alteraciones hepáticas. K-F. ↓ cobre y CP en sangre. ↓ cobre en 24h-orina.
PKAN	AR	20p13	<i>PANK2</i>	Distonía apertura mandibular, disartria, parkinsonismo. RM: "ojo de tigre".
PLAN	AR	22q13.1	<i>PLA2G6</i>	RM: Acúmulo de hierro
ACP	AR	3q23-q25	<i>CP</i>	Diabetes mellitus. Anemia. RM: Acúmulo de hierro extenso. CP ausente/muy disminuida.
Niemann Pick C	AR	18q11.2	<i>NPC1</i>	Oftalmoparesia mirada vertical. Fenocopia EH en algunos casos.
Aciduria glutárica 1	AR	19p13.2	<i>GCDH</i>	Distonía. Crisis encefalopáticas.
Deficiencia de Glut-1	AR ó AD	1p35-p31.3	<i>SLC2A1</i>	Epilepsia. Crisis paroxísticas de ataxia, corea, distonía. Hipoglucorraquia.

(Continúa en la página siguiente)

(Continuación Tabla 2)

Lesch-Nyhan	Ligada al X	Xq26.1	<i>HPRT1</i>	Distonia. Automutilaciones. Hiperuricemia.
Friedreich	AR	9q13-q21.1	<i>FXN</i>	Ataxia, neuronopatía sensitiva, cifoescoliosis, miocardiopatía.
AOA1	AR	9p13.3	<i>APTX</i>	Ataxia, apraxia ocular, neuropatía, hipoalbuminemia.
AOA2	AR	9q34.13	<i>SETX</i>	Ataxia, apraxia ocular, neuropatía, ↑ $\alpha$ -fetoproteína.
A-T	AR	11q22-q23	<i>ATM</i>	Ataxia, telangiectasias, ↑ $\alpha$ -fetoproteína.
Lubag	Ligada al X	X13.1	<i>TAF1</i>	Distonia-parkinsonismo.
Rett	Ligada al X	Xq28	<i>MeCP2</i>	Retraso psicomotor. Estereotipias manos. Sexo femenino.
Leigh	Mitocondrial	mtDNA	<i>MTATP6</i> <i>Otras</i>	Distonia, espasticidad. RM: atrofia con necrosis de ganglios basales.

ChAc, coreoacantocitosis; K-F, Kayser-Fleischer; CP, ceruloplasmina; PKAN, neurodegeneración asociada al déficit de pantotenato kinasa; PLAN, neurodegeneración asociada al déficit de fosfolipasa A; ACP, aceruloplasminemia; AOA, ataxia con apraxia oculomotora; A-T, ataxia-telangiectasia; mtDNA, DNA mitocondrial.

## 6.3 COREA ESPORÁDICA

Una vez descartadas de forma razonable causas secundarias de corea, en la investigación genética de los casos esporádicos se debe tener en cuenta la presencia de alelos de baja penetrancia en los progenitores, la presencia de una herencia no dominante, mutaciones *de novo* o incluso la posibilidad de falsas paternidades.

### 6.3.1 Estudios genéticos en casos de corea esporádica

- **Primer nivel:** Expansión triplete CAG en *HTT*.
- **Segundo nivel:** Panel de genes que incluyan las fenocopias de la EH (C9orf72, HDL-1, HDL-2, HDL4, DRPLA) y el resto de enfermedades debidas a expansiones que pueden cursar con corea en función de las características clínicas y de neuroimagen descritas en las tablas y el algoritmo diagnóstico. Se ha de tener en cuenta que actualmente las expansiones no pueden detectarse mediante las técnicas de secuenciación exómic, para ello valorar técnicas en las que se valore dosis génica (véase capítulo 3). En casos de inicio precoz (<30 años) se debería considerar el panel de genes descrito para las formas recesivas.
- **Tercer nivel:** WES.



## 6.4 CONCLUSIONES. ALGORITMO DIAGNÓSTICO DE LA GENÉTICA DE LAS COREAS

Una vez descartada la EH, enfermedad que cursa con corea más frecuente, es importante considerar una serie de datos epidemiológicos, clínicos y paraclínicos como pueden ser la edad de inicio, el patrón de herencia, el origen étnico, algunas manifestaciones clínicas asociadas, la neuroimagen o determinados análisis de laboratorio, que pueden ayudar en algunos casos a realizar una aproximación al estudio genético que queremos solicitar para alcanzar así un diagnóstico de certeza (Tablas 1 y 2, Figura 1). A pesar de ello, muchas veces no es posible llegar a este diagnóstico con las técnicas utilizadas, existiendo actualmente la posibilidad de recurrir a técnicas de secuenciación del exoma o el genoma completo (“*next generation sequencing*”).

### **Niveles de evidencia y grados de recomendación de los algoritmos diagnósticos propuestos:**

En los supuestos descritos, las evidencias provienen de opiniones de expertos (nivel IV), en la misma línea que las recomendaciones (Rec SEN).

## BIBLIOGRAFÍA

1. Roos RA. Huntington's disease: a clinical review. *Orphanet J Rare Dis.* 2010;5:40.
2. Walker FO. Huntington's disease. *Lancet.* 2007;369:218–228.
3. Weiner WJ, Lang AE. Huntington's disease. In *Movement Disorders. A Comprehensive Survey.* Weiner WJ and Lang AE edits. Futura Publishing Company. New York, 1989;pp:293-344.
4. Naarding P, Kremer HP, Zitman FG. Huntington's disease: a review of the literature on prevalence and treatment of neuropsychiatric phenomena. *Eur Psychiatry.* 2001;16:439-445.
5. Morris M. Dementia and cognitive changes in Huntington's disease. *Adv Neurol.* 1995;65:187-200.
6. Cronin T, Rosser A, Massey T. Clinical presentation and features of juvenile-onset Huntington's disease: A systematic review. *J Huntington's Dis.* 2019;8:171-179.
7. Myers RH, Sax DS, Schoenfeld M, et al. Late onset of Huntington's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 1985;48:530-534.
8. James CM, Houlihan GD, Snell RG, et al. Late-onset Huntington's disease: a clinical and molecular study. *Age Ageing.* 1994;23:445–448.
9. Duayo M, Ambrose C, Myers R, et al. Trinucleotide repeat length instability and age of onset in Huntington's disease. *Nature Genet.* 1993;4:387-392.
10. Schneider SA, Walker RH and Bhatia KP. The Huntington's disease-like syndromes: what to consider in patients with a negative Huntington's disease gene test. *Nat Clin Pract Neurol.* 2007;3:517-525.

11. Souza PV, Pinto WB, Oliveira AS. C9orf72-related disorders: expanding the clinical and genetic spectrum of neurodegenerative diseases. *Arq Neuropsiquiatr*. 2015;73:246-256.
12. Renton AE, Majounie E, Waite A, et al. A hexanucleotide repeat expansion in C9ORF72 is the cause of chromosome 9p21-linked ALS-FTD. *Neuron* 2011;72:257-268.
13. Woollacott IOC, Mead S. The C9orf72 expansion mutation: gene structure, phenotypic and diagnostic issues. *Acta Neuropathol*. 2014;127:319-332.
14. Schottlaender LV, Polke JM, Ling H, et al. The analysis of C9orf72 repeat expansions in a large series of clinically and pathologically diagnosed cases with atypical parkinsonism. *Neurobiol Aging*. 2015;36:1221.e1-6.
15. Hensman Moss DJ, Poulter M, Beck J, et al. C9orf72 expansions are the most common genetic cause of Huntington disease phenocopies. *Neurology*. 2014;82:292-299.
16. Cooper-Knock J, Shaw PJ, Kirby J. The widening spectrum of C9ORF72-related disease; genotype/phenotype correlations and potential modifiers of clinical phenotype. *Acta Neuropathol*. 2014;127:333-345.
17. Paucar M, Xiang F, Moore R, et al. Genotype-phenotype analysis in inherited prion disease with eight octapeptide repeat insertional mutation. *Prion*. 2013;7:501-510.
18. Moore RC, Xiang F, Monaghan J, et al. Huntington disease phenocopy is a familial prion disease. *Am J Hum Genet*. 2001;69:1385-1388.
19. Margolis RL, O'Hearn E, Rosenblatt A, et al. A disorder similar to Huntington's disease is associated with a novel CAG repeat expansion. *Ann Neurol*. 2001;50:373-380.
20. Schneider SA, van de Warrenburg BPC, Hughes TD, et al. Phenotypic homogeneity of the Huntington disease-like presentation in a SCA17 family. *Neurology*. 2006;67:1701-1703.
21. Bauer P, Laccone F, Rolfs A, et al. Trinucleotide repeat expansion in SCA17/TBP in white patients with Huntington's disease-like phenotype. *J Med Genet*. 2004;41:230-232.
22. Muñoz E, Milà M, Sánchez A, et al. Dentatorubropallidolysian atrophy in a Spanish family: a clinical, radiological, pathological, and genetic study. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1999;67:811-814.
23. Muñoz E, Capdelacru J, Ferrer I, et al. Severe cerebral white matter involvement in a case of dentatorubropallidolysian atrophy studied at autopsy. *Arch Neurol*. 2004;61:946-949.
24. Kleiner-Fisman G, Rogaeva E, Halliday W, et al. Benign hereditary chorea: clinical, genetic, and pathological findings. *Ann Neurol*. 2003;54:244-247.
25. Mencacci NE, Erro R, Wiethoff S, et al. ADCY5 mutations are another cause of benign hereditary chorea. *Neurology*. 2015;85:80-88.
26. Curtis AR, Fey C, Morris CM, et al. Mutation in the gene encoding ferritin light polypeptide causes dominant adult-onset basal ganglia disease. *Nat Genet*. 2001;28:350-354.
27. Dusek P, Jankovic J, Le W. Iron dysregulation in movement disorders. *Neurobiol Dis*. 2012;46:1-18
28. Ramos EM, Oliveira J, Sobrido MJ, et al. Primary Familial Brain Calcification. In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, et al., editors. *GeneReviews*<sup>®</sup> [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2021. 2004 Apr 18 [updated 2017 Aug 24].
29. Walker RH, Jung HH, Dobson-Stone C, et al. Neurologic phenotypes associated with acanthocytosis. *Neurology*. 2007;68:92-8.
30. Jung HH, Danek A, Walker RH. Neuroacanthocytosis syndromes. *Orphanet J Rare Dis*. 2011;6:68.
31. Czlönkowska A, Litwin T, Dusek P, et al. Wilson disease. *Nat Rev Dis Primers*. 2018;4:21.
32. Sánchez-Monteaugado A, Álvarez-Sauco M, Sastre I, Martínez-Torres I, Lupo V, Berenguer M, Espinós C. Genetics of Wilson disease and Wilson-like phenotype in a clinical series from eastern Spain. *Clin Genet*. 2020 May;97(5):758-763. doi: 10.1111/cge.13719. Epub 2020 Feb 17. PMID: 32043565.
33. Ferenci P, Caca K, Loudianos G, Mieli-Vergani G, Tanner S, Sternlieb I, et al. Diagnosis and phenotypic classification of Wilson disease. *Liver Int* 2003;23:139-142.
34. Pellecchia MT, Valente EM, Cif L, et al. The diverse phenotype and genotype of pantothenate kinase-associated neurodegeneration. *Neurology*. 2005;64(10):1810-2.



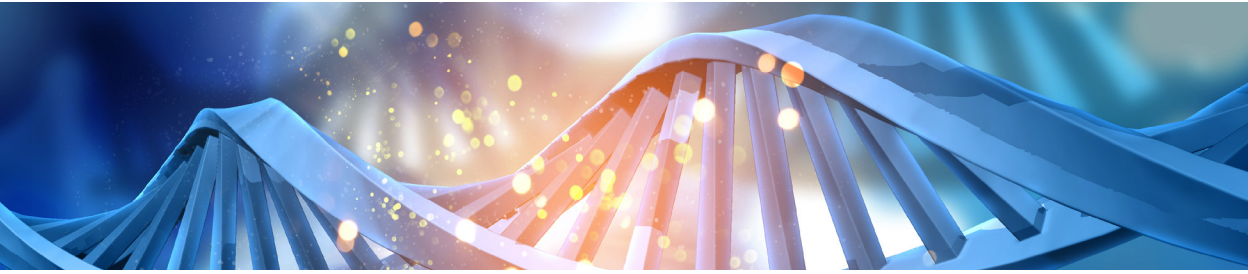
35. Kurian MA, Morgan NV, MacPherson L et al. Phenotypic spectrum of neurodegeneration associated with mutations in the PLA2G6 gene (PLAN). *Neurology*. 2008; 70:1623–1629.
36. Marchi G, Busti F, Lira Zidanes A, et al. Aceruloplasminemia: A severe neurodegenerative disorder deserving an early diagnosis. *Front Neurosci*. 2019;13:325.
37. Danek A, Rubio JP, Rampoldi L, et al. McLeod neuroacanthocytosis: genotype and phenotype. *Ann Neurol*. 2001;50:755-764.
38. Roulis E, Hyland C, Flower R, et al. Molecular basis and clinical overview of McLeod syndrome compared with other neuroacanthocytosis syndromes: a review. *JAMA Neurol*. 2018;75:1554–1562.
39. Temudo T, Ramos E, Dias K et al. Movement disorders in Rett syndrome: an analysis of 60 patients with detected MECP2 mutation and correlation with mutation type. *Mov Disord*. 2008;23:1384-1390.
40. Evidente VG, Nolte D, Niemann S, et al. Phenotypic and molecular analyses of X-linked dystonia-parkinsonism (“Lubag”) in women. *Arch Neurol*. 2004;61:1956-1959.
41. Martínez-Ramírez D, Walker RH, Rodríguez-Violante M, et al. Review of hereditary and acquired rare choreas. *Tremor Other Hyperkinet Mov (N Y)*. 2020;10:24.





# CAPÍTULO 7

## Estudios genéticos en el síndrome de Tourette



### Autores

Javier Pagonabarraga Mora  
Íñigo Ruiz-Barrios

### Centro

Unidad de Trastornos del movimiento, Servicio de Neurología,  
Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona.







## 7.1 INTRODUCCIÓN

El Síndrome de Tourette (ST) es un trastorno del neurodesarrollo que se presenta desde fases iniciales de la infancia y que se caracteriza por la aparición de tics motores y fónicos, múltiples y cambiantes durante su curso evolutivo. La prevalencia del ST se sitúa en torno al 0,4-1% de niños en edad escolar, mientras que la presencia de tics durante la infancia y adolescencia se eleva hasta el 3-4%<sup>1</sup>. Más allá del desarrollo de tics, de mayor o menor gravedad, el ST presenta una alta comorbilidad con otras alteraciones cognitivas, afectivas y conductuales con un alto impacto en la calidad de vida, como son el trastorno por déficit de atención con hiperactividad (TDAH), trastorno obsesivo-compulsivo (TOC), síndrome ansioso-depresivo y conductas impulsivas<sup>2</sup>. Además, el desarrollo de tics motores y fónicos se presenta de manera concurrente en niños con trastornos del espectro autista (TEA), por lo que la diferenciación clínica entre ST y TEA puede ser complicada desde una perspectiva exclusivamente clínica. Poder disponer de un diagnóstico genético más específico ayudaría a avanzar en el manejo clínico, tratamiento y pronóstico de cada paciente<sup>3</sup>.

En este capítulo revisaremos la evidencia acumulada en favor de un sustrato genético del ST, y cómo diferentes alteraciones genéticas se asocian con cuadros más o menos complejos o heterogéneos entre familias con un mismo diagnóstico de ST.

## 7.2 HEREDABILIDAD DEL SÍNDROME DE TOURETTE

Diferentes estudios familiares han mostrado que la tasa de ST en familiares de primer grado de pacientes con ST es 10 a 100 veces mayor que la población general<sup>4</sup>. En un reciente estudio familiar que incluyó a 4826 personas con ST o tics crónicos simples indicó que la tasa de ST en familiares de primer grado es mayor (Odds Ratio (OR) = 18,7) que en familiares de segundo (OR = 4,58) y tercer grado (OR = 3,07), que es a su vez mayor que la OR en controles no relacionados<sup>4</sup>. En estos estudios familiares también se ha constatado que existe una correlación familiar significativa entre la presencia de ST con TOC y con TDAH. Aunque los estudios genéticos iniciales sugirieron un patrón de herencia autosómico dominante<sup>5,6</sup>, los análisis de segregación y de componentes principales más complejos, incluyendo muestras más enriquecidas con familias con mayor variabilidad fenotípica en términos de gravedad y comorbilidad, han ido mostrando que el patrón de heredabilidad del ST y otros trastornos con tics crónicos no es consistente con una herencia mendeliana simple<sup>7</sup>.

Los estudios de gemelos aportan un enfoque muy valioso para delinear mejor la contribución genética en el ST. Price et al. estudiaron 43 pares de gemelos del mismo sexo,

incluyendo 30 pares de monocigotos y 13 pares de dicigotos, encontrando tasas de concordancia para desarrollar ST del 53% en los gemelos monocigotos en comparación del 8% para los dicigotos. Estudios posteriores en gemelos monocigotos han reforzado estos resultados iniciales, con tasas de concordancia de alrededor del 75% para los gemelos monocigotos y del 25% para los dicigotos<sup>8</sup>. En otro estudio de una gran cohorte de niños suecos de entre 9 y 12 años (n=17220) con diferentes enfermedades del neurodesarrollo que incluían tics, TEA, TDAH y TOC se observó una heredabilidad para ST del 0,56 (IC 95 %: 0,37–0,68), con una tasa de concordancia significativamente mayor para gemelos monocigotos (0,38) en comparación con dicigotos (0,11)<sup>9</sup>.

Toda esta evidencia acumulada muestra claramente que el ST tiene, al menos en parte, un origen claramente genético. Aún así, si comparamos las tasas de heredabilidad del ST con las estimadas para el TEA (0,80), esquizofrenia (0,81) o trastorno bipolar (0,75), se puede concluir que el tipo de herencia en el ST es más compleja y no sigue un patrón mendeliano simple, por lo que diferentes factores dependientes del desarrollo y el entorno juegan un papel adicional en la patogenia del ST y sus comorbilidades<sup>10</sup>.

### 7.3 ESTUDIOS DE LIGAMIENTO DE TODO EL GENOMA ("GENOME-WIDE LINKAGE STUDIES")

Debido al patrón de herencia autosómico dominante que se observó en las primeras familias extensas estudiadas con ST, la investigación genética del ST se centró en estudios de ligamiento de todo el genoma (GWLS), que evalúan la probabilidad de hallar, en una o varias familias con diferentes miembros afectados de una misma enfermedad, mutaciones genéticas en regiones cromosómicas específicas. Varias regiones cromosómicas se han relacionado como posibles *loci* candidatos para ST (3p21–p14, 4q34–q35, 5q35.2–q35.3, 6p21, 7q31, 11q23–24, 13q31.1, 15q21.1–15q21. y 17q25)<sup>11</sup>. Sin embargo, esos estudios no han llevado al descubrimiento de ninguna mutación causal de efecto importante, excepto para las variantes de secuencia halladas en el locus *SLITRK1* del cromosoma 13<sup>12</sup>, que parece estar relacionado con el desarrollo dendrítico en cultivos neuronales, y una mutación funcional poco frecuente hallada en el gen de la L-histidin decarboxilasa (HDC) en el cromosoma 15<sup>13</sup>, que modula la neurotransmisión histaminérgica.

La ausencia de resultados más relevantes parece ser la consecuencia de la complejidad fenotípica de la enfermedad y sus comorbilidades, tamaños de muestra limitados, así como la baja cobertura y resolución de los paneles de marcadores de microsatélites utilizados.



En todo caso, el no haber encontrado mutaciones importantes mediante este método sugiere que la arquitectura genética subyacente del ST y sus comorbilidades es compleja y no sigue un patrón simple de herencia mendeliana.

## 7.4 ESTUDIOS DE ASOCIACIÓN DE GENES CANDIDATOS

Después de los intentos fallidos de GWLS en el descubrimiento del gen o genes del ST, la investigación se ha centrado posteriormente en estudios de vinculación y asociación de genes candidatos a provocar ST en base al estudio de genes involucrados en el desarrollo, estructura y funcionalidad de regiones cerebrales implicadas en el ST en estudios clínico-patológicos, de neuroimagen, modelos animales o estudios farmacológicos.

Los pacientes con ST han mostrado una disfunción de las vías cortico-estriato-tálamo-corticales en relación a disfunción en los sistemas de neurotransmisión dopaminérgica<sup>14</sup>, serotoninérgica, glutamatérgica, GABAérgica e histaminérgica<sup>15</sup>.

En comparación con el análisis de ligamiento genético, la asociación genética se establece cuando uno o más genotipos dentro de una población de casos y controles no relacionados co-ocurren con un rasgo fenotípico determinado con una mayor frecuencia a la esperable por el azar. En la [tabla 1](#) se resumen los estudios de vinculación y asociación de genes que han hallado relaciones significativas de genotipo-fenotipo en genes que regulan la síntesis y funcionalidad de los receptores dopaminérgicos, transportador de dopamina, enzima MAO-A, receptores y transportador de la serotonina y receptores o enzimas del sistema glutamatérgico e histaminérgico<sup>16</sup>.

En general, ninguna de las alteraciones genéticas detectadas en estudios de caso-control ha podido ser replicada de manera consistente en estudios posteriores, y ninguno de los genes candidatos identificados se ha replicado en estudios de ligamiento posterior. La mayoría de los estudios de la [tabla 1](#) están limitados por el tamaño de la muestra. De hecho, a partir del 2005, cuando los estudios de asociación genética se han conseguido realizar en muestras de tamaño mayor y utilizando métodos técnicos más avanzados, la mayoría de los estudios han logrado resultados positivos.

**Tabla 1.** Hallazgos principales de ligamiento y asociación de genes asociados a sistemas de neurotransmisión en el Síndrome de Tourette.

GEN	CROMOSOMA	HALLAZGO
<b>Sistema Dopaminérgico</b>		
<i>DRD1</i> ("Dopamine receptor D1")	5q34-35	No asociación.
<i>DRD2</i> ("Dopamine receptor D2")	11q22-23	<i>DRD2</i> asociado con gravedad de los tics (Variante H313H) ( $p = 0,001 - 0,03$ ) en 4 estudios. No replicado en 4 estudios posteriores.
<i>DRD3</i> ("Dopamine receptor D3")	3q13.3	No asociación.
<i>DRD4</i> ("Dopamine receptor D4")	11p15.5	Incremento de 48 bp en <i>DRD4</i> se asoció con diagnóstico de ST y TOC en 3 estudios ( $p = 0,004-0,03$ ). No replicado en 4 estudios posteriores.
<i>DRD5</i> ("Dopamine receptor D5")	4p16	No asociación.
<i>DAT1</i> ("Dopamine transporter")	5p15.32	Cambio de 40 bp en <i>DAT1</i> se asoció con presencia y gravedad de los tics. No replicado en 4 estudios posteriores.
<i>MAO-A</i> ("Monoamino-oxidasa A")	Xp11.3	"Variable number tandem repeat" (VNTR) en gen <i>MAO-A</i> se asoció con el diagnóstico de ST en 2 estudios ( $p < 0,05$ ). No replicado en 1 estudio.
<b>Sistema serotoninérgico</b>		
<i>HTR1A</i> ("Serotonin receptor 1A")	5q11.2-13	2 "missense mutations" halladas en 2 estudios, no replicadas en otros 2 estudios.
<i>HTR2A</i> ("Serotonin receptor 2A")	13q14-21	Mutación puntual (102T/C) en un solo estudio ( $p = 0,02$ )
<i>HTR2C</i> ("Serotonin receptor 2C")	Xq22-23	Variantes (rs3813929 y rs518147) ( $p = 0,01$ ) en 1 estudio, no replicados en 1 estudio posterior.
<i>HTR3A, 3B</i> ("Serotonin receptor 3A, 3B")	11q23.2	No asociación.
<i>SLC6A4</i> ("5-HT transporter -Solute carrier family 6 members 4")	17q11.2	Variantes raras y comunes se asociaron con diagnóstico de ST ( $p < 0,01$ ) en 1 estudio, que no se replicó en estudio posterior.
<i>TPH2</i> ("Tryptophan hydroxylase 2")	12q21	Variantes raras y comunes se asociaron con diagnóstico de ST ( $p = 0,002$ ) en 1 estudio, que no se replicó en estudio posterior.

(Continúa en la página siguiente)



(Continuación Tabla 1)

<b>Sistema Glutamatérgico</b>		
<i>EAAT1 (SLC1A3) ("Glial high affinity glutamate transporter 3")</i>	5p13.2	1 "missense mutation" (E219D) en <i>EAAT1</i> se asoció con diagnóstico de ST en 1 solo estudio ( $p = 0,009$ ).
<b>Sistema Histaminérgico</b>		
<i>HDC ("Histidine decarboxylase")</i>	15q21-22	"Rare coding mutations" asociadas con ST en 2 estudios, no replicadas en 1 estudio posterior.
<i>HRH3 (2Histamine receptor H3*)</i>	20	No asociación.

## 7.5 ESTUDIOS DE ASOCIACIÓN DE GENOMA COMPLETO ("GENOME-WIDE ASSOCIATION STUDIES")

Gracias a los avances bioinformáticos y la creación de grandes bases de datos provenientes de biobancos multicéntricos se han podido realizar estudios de asociación del genoma completo (GWAS) que han incluido linajes con patologías neuropsiquiátricas complejas, incluyendo pacientes con ST, TOC, TDAH, TEA.

En general, el tamaño del efecto de las variantes de riesgo encontradas en estos GWAS es pequeño y se encuentran en regiones no codificantes del genoma humano.

Hasta el momento, sólo se han publicado dos GWAS incluyendo pacientes y familias con ST<sup>17,18</sup> y un estudio de replicación<sup>19</sup>.

En el primer GWAS realizado por el "Tourette Syndrome Association International Consortium for Genetics" (TSA-ICG) se incluyeron 1285 pacientes con ST y 4964 familiares de ascendencia caucásica<sup>17</sup>. Si bien ninguna variante alcanzó el umbral de significación requerido ( $p=5 \times 10^{-8}$ ), rs7868992 en Cr.9q32 dentro de la región intrónica del gen *COL27A1* ( $p=1,85 \times 10^{-6}$ ) distinguió a los pacientes con ST, y esa variante se pudo replicar en una nueva muestra de 1496 casos y 5249 controles proveniente de Latinoamérica ( $p=3,6 \times 10^{-7}$ ). El gen *COL27A1* se expresa en el cerebelo y córtex frontal, especialmente durante las etapas de desarrollo embrionario, pero a día de hoy la función de este gen a nivel del sistema nervioso es desconocida. En el segundo GWAS, publicado 2 años más tarde<sup>18</sup>, se analizó una muestra de 2723 casos y 5667 controles, incluyendo 1310 pacientes con TOC, 834 ST y 579 pacientes con ST y TOC asociado. Aunque ninguna variante alcanzó el nivel mínimo de significación, se detectaron variantes con señales enriquecidas en genes con alta expresión cerebral.

El análisis de la concurrencia de ciertas variantes mediante “*Polygenic score analyses*” identificó un conjunto de ellas que predecían el 3,2% de la variabilidad fenotípica de los pacientes con TOC ( $p=0,0002$ ) pero sólo el 0,6% de la variabilidad fenotípica en los pacientes con ST ( $p=0,06$ ), sugiriendo que la arquitectura genética del TOC y el ST, si bien estos pacientes presentan síntomas obsesivo-compulsivos, debe ser diferente. Otra de las conclusiones de este y otros estudios que han incluido enfermedades psiquiátricas heterogéneas como la esquizofrenia y el trastorno depresivo mayor, es que la base genética de estas enfermedades es poligénica.

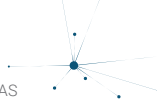
En el estudio de replicación del GWAS del TSA-ICG publicado en 2013<sup>19</sup> se incluyeron 609 pacientes con ST y 610 controles de origen caucásico, se detectó una variante, rs2060546, sobrerrepresentado en el grupo con ST ( $p=3,3 \times 10^{-4}$ , OR=52,41) y se replicó la asociación de la variante rs7868992 en los pacientes con ST ( $p=1,9 \times 10^{-6}$ , OR=51,29). La variante rs2060546 se localiza en una región intrónica cercana a genes que sintetizan proteínas extracelulares que regulan y guían el crecimiento axonal durante el periodo embrionario, pero la implicación de estas proteínas en el ST no se ha estudiado con posterioridad.

## 7.6 ALTERACIONES CROMOSÓMICAS Y VARIACIONES EN EL NÚMERO DE COPIAS (“*COPY NUMBER VARIANTS*”)

Los estudios de alteraciones cromosómicas son un aspecto importante de la genética del ST. Mediante técnicas de ‘hibridación in situ’, “*chromosomal microarrays*” y citogenética se han identificado alteraciones cromosómicas estructurales asociadas al ST que se relacionan con la funcionalidad de proteínas implicaciones en el desarrollo y diferenciación neuronal.

Entre los genes candidatos más interesantes, el gen “*Slit and Trk-like, family member 1*” (*SLITRK1*)<sup>20</sup>, situado en la región 13q31.1, codifica para la proteína SLITRK1 que regula el crecimiento de neuritas por fosforilación, y que se expresa en el embrión y el cerebro postnatal, tanto a nivel de la corteza, como en tálamo y ganglios basales, en regiones involucradas de los circuitos cortico-estriato-tálamo-corticales implicados en el ST.

El gen “*Inner mitochondrial membrane protein 2L*” (*IMMP2L*), en 7q22–q31, se ha visto implicado no sólo en pacientes con ST sino también en TEA y dislexia<sup>21,22</sup>. La proteína IMM-P2L codifica para una peptidasa de la membrana mitocondrial interna involucrada en la distribución espacial de las proteínas de la membrana mitocondrial, que a su vez se había asociado previamente con TDAH y otros trastornos del neurodesarrollo<sup>23</sup>.



Finalmente, alteraciones en el gen “*Contactin associated protein-like 2 gene*” (*CNTNAP2*) en 7q35–q36 y *Neurologin 4* (*NLG4*) en Xp22.3 se han asociado también tanto con el ST como con otras enfermedades del neurodesarrollo<sup>24,25</sup>.

Las variaciones en el número de copias o “*Copy Number Variants*” (CNVs) es un tipo de variante genética estructural que afecta a un número considerable de pares de bases en la misma ubicación cromosómica. Las CNV han sido identificadas como variantes genéticas causales en varios trastornos psiquiátricos como los TEA y la esquizofrenia. En estas enfermedades la presencia de CNV es entre 5-10 veces mayor que la población general, y se ha estimado que el aumento de la CNV puede contribuir al 5-10% del riesgo de TEA<sup>26</sup>. En el ST se han hallado CNV en aproximadamente el 1% de los casos. En concreto, CNV raras o poco frecuentes en genes involucrados en las vías histaminérgicas (como sucede en las mutaciones más arriba descritas en el gen de la L-histidin decarboxilasa)<sup>27</sup>, y CNV implicadas en el “*Large Genomic Rearrangement*” de los genes *COL8A1* y *NRXN1*, involucrados en la sinaptogénesis, interacción neurona-neurona y diferenciación de las células de Schwann durante el neurodesarrollo<sup>28</sup>.

## 7.7 ESTUDIOS DE SECUENCIACIÓN DE GENOMA/EXOMA COMPLETO (“*WHOLE EXOME/GENOME SEQUENCING STUDIES*”)

La secuenciación completa del exoma (WES) es un método rápido y rentable que secuencia las regiones codificantes de todo el genoma humano. La secuenciación completa del genoma (WGS) secuencia el genoma completo, incluyendo tanto los intrones como los exones. A diferencia de los GWAS, que identifican variantes comunes (5% frecuencia),

WES/WGS se utilizan para identificar variantes raras (1% frecuencia), así como nuevas mutaciones en todo el genoma. Las técnicas de WGS permiten además identificar pequeñas inserciones o deleciones y alteraciones estructurales más complejas.

En los pocos estudios de secuenciación masiva del genoma que se han realizado en pacientes con ST se han ido identificando nuevas variantes genéticas aparentemente patógenas en diferentes genes (*MRPL3*, *DNAJC13* y *OFCC1*)<sup>29</sup>. Willsey et al. realizaron WES en dos cohortes de ST provenientes de la “*Tourette International Collaborative Genetics cohort*” y el “*Tourette Syndrome Association International Consortium on Genetics*” y hallaron variantes *de novo* potencialmente patógenas en hasta 400 genes, lo que podría contribuir a explicar el riesgo genético en el 12% de los casos de ST. De todas esas nuevas variantes *de novo* se informaron 4 genes de riesgo patógeno más probable en los genes *WWC1*, *CELSR3*, *NIPBL* y *Fibronectina 1*<sup>30</sup>. En dos estudios recientes que han realizado WES se han identificado 5 mu-

taciones “*missense*” nuevas que segregan en pacientes con ST y tics crónicos en genes cuyo nivel de expresión se encuentra enriquecido en diferentes etapas del desarrollo en regiones de las vías cortico-estriato-tálamo-corticales (*RICTOR*, *STRIP2*, *NEK10*, *TNRC6A* y *PNKD*)<sup>31,32</sup>.

## 7.8 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES PARA LA PRÁCTICA CLÍNICA

El ST es un trastorno complejo con manifestaciones fenotípicas muy variables y una alta frecuencia de comorbilidades. Los estudios familiares y en gemelos han mostrado que los factores genéticos juegan un papel importante en la patogenia del ST. Los estudios de genes candidatos han demostrado que múltiples genes (*DRD2*, *DRD4*, *5-HT2C*, *SERT*) en múltiples sistemas neuronales, incluyendo los sistemas dopaminérgico, serotoninérgico e histaminérgico podrían estar involucrados con la patogénesis de TS, pero los resultados son aún demasiado parciales y se necesitan estudios de replicación en muestras más amplias de pacientes y familiares para dilucidar la importancia relativa y real de cada uno de estos hallazgos.

En los últimos años, varios nuevos genes candidatos, como *SLITRK1*, *IMMP2L*, *CNTNAP2* y *NLGN4* se han identificado a través de estudios de ligamiento y alteraciones genómicas estructurales capaces de detectar variantes genéticas muy poco frecuentes. En comparación con los estudios genéticos en otros trastornos psiquiátricos (esquizofrenia, bipolar, TEA), los estudios genéticos en el ST están todavía limitados en gran medida por los tamaños de muestra relativamente pequeños, así como por la gran complejidad y heterogeneidad que se esconde debajo de este síndrome. Para superar ese problema serán muy importantes los estudios colaborativos de grandes grupos y consorcios que puedan incluir grandes cohortes de pacientes bien caracterizadas (“*deep phenotyping*”) que permitan realizar estudios de asociación de todo el genoma.

Por último, siendo el ST mucho más frecuente en varones que en mujeres, comprender el mecanismo detrás de cómo las diferencias sexuales influyen en el desarrollo del ST también puede ayudarnos a comprender mejor la regulación de la expresión génica en el cerebro y su implicación en la patogenia del ST.

Finalmente, **¿qué recomendaciones para la práctica clínica podemos establecer en función de todos los hallazgos publicados?** Es ésta una cuestión de especial relevancia dado que en muchas ocasiones acuden a nuestra consulta familias en las que varios miembros de la misma presentan tics y cumplen criterios de ST. Con frecuencia, algún progenitor y alguno de sus hijos cumplen criterios de ST, o el ST está presente en varios hermanos, lo que genera en la familia la pregunta acerca de si podemos detectar alguna





alteración genética que explique esa concurrencia, así como si existe un mayor riesgo de que algún nuevo hijo pueda tener también ST.

A día de hoy, desgraciadamente, aún no podemos establecer una recomendación aceptada por las sociedades internacionales. Todos sabemos que cuando en una familia se acumulan varias personas con ST existe una explicación genética al fenómeno, y por las altas tasas de heredabilidad publicadas en esos casos, el riesgo de tener un nuevo hijo o nieto con ST es mayor al de la población general. Sin embargo, no existen mutaciones determinadas que nos permitan emitir un consejo genético lo suficientemente fiable (riesgo individual, gravedad del ST, presencia de tics y/o trastornos cognitivos o psiquiátricos asociados) como para recomendar algún tipo de estudio genético.

Los estudios genéticos en el ST están aún relegados al ámbito de la investigación. Aún así, a título personal, y sólo cuando el clínico que pide el estudio genético tiene un conocimiento detallado y actualizado de las alteraciones genéticas descritas en la literatura, se podría considerar realizar estudios de secuenciación masiva del exoma en familias con varios miembros afectados de ST, con la intención de detectar alteraciones con implicaciones pronósticas o clínicas comórbidas (mayor riesgo de ciertos problemas cognitivos y conductuales), lo que nos podrían ayudar, a nivel asistencial, en la decisión de ciertos tratamientos farmacológicos, no farmacológicos (psicoterapia) y neuromoduladores.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Robertson, M.M.; Eapen, V.; Cavanna, A.E. The international prevalence, epidemiology, and clinical phenomenology of Tourette syndrome: A cross-cultural perspective. *J. Psychosom. Res.* 2009, 67, 475–483.
2. Robertson MM. A personal 35-year perspective on Gilles de la Tourette syndrome: Prevalence, phenomenology, comorbidities, and coexistent psychopathologies. *Lancet Psychiatry* 2015; 2; 68–87.
3. Hassan, N.; Cavanna, A.E. The prognosis of Tourette syndrome: Implications for clinical practice. *Funct. Neurol.* 2012; 27: 23–27.
4. Mataix-Cols, D.; Isomura, K.; Perez-Vigil, A.; Chang, Z.; Rück, C.; Larsson, K.J.; Leckman, J.F.; Serlachius, E.; Larsson, H.; Lichtenstein, P. Familial Risks of Tourette Syndrome and Chronic Tic Disorders: A Population-Based Cohort Study. *JAMA Psychiatry* 2015, 72, 787–793.
5. Kurlan, R.; Behr, J.; Medved, L.; Shoulson, I.; Pauls, D.; Kidd, J.R.; Kidd, K.K. Familial Tourette's syndrome: Report of a large pedigree and potential for linkage analysis. *Neurology* 1986, 36, 772–776.
6. Fabbrini, G.; Pasquini, M.; Aurilia, C.; Berardelli, I.; Breedveld, G.; Oostra, B.A.; Bonifati, V.; Berardelli, A. A large Italian family with Gilles de la Tourette syndrome: Clinical study and analysis of the SLITRK1 gene. *Mov. Disord.* 2007, 22, 2229–2234.
7. Huisman-van Dijk, H.M.; van de Schoot, R.; Rijkeboer, M.M.; Mathews, C.A.; Cath, D.C. The relationship between tics, OC, ADHD and autism symptoms: A cross-disorder symptom analysis in Gilles de la Tourette syndrome patients and their family members. *Psychiatry Res.* 2016, 237, 138–146.

8. Price, R.A.; Kidd, K.K.; Cohen, D.J.; Pauls, D.L.; Leckman, J.F. A Twin Study of Tourette Syndrome. *Arch. Gen. Psychiatry* 1985, 42, 815–820.
9. Anckars ter, H.; Lundstr m, S.; Kollberg, L.; Kerekes, N.; Palm, C.; Carlstr m, E.; L ngstr m, N.; Magnusson, P.K.E.; Halldner, L.; B lte, S.; et al. The Child and Adolescent Twin Study in Sweden (CATSS). *Twin Res. Hum. Genet.* 2011, 14, 495–508.
10. Sullivan, P.F.; Daly, M.J.; O'Donovan, M. Genetic Architectures of Psychiatric Disorders: The Emerging Picture and Its Implications. *Nat. Rev. Genet.* 2012, 13, 537–551.
11. The Tourette Syndrome Association International Consortium for Genetics. A Complete Genome Screen in Sib Pairs Affected by Gilles de la Tourette Syndrome. *Am. J. Hum. Genet.* 1999, 65, 1428–1436.
12. Abelson, J.F.; Kwan, K.Y.; O'Roak, B.J.; Baek, D.Y.; Stillman, A.A.; Morgan, T.M.; Mathews, C.A.; Pauls, D.L.; Rasin, M.-R.; Gunel, M.; et al. Sequence variants in SLITRK1 are associated with Tourette's syndrome. *Science* 2005, 310, 317–320.
13. Ercan-Sencicek, A.G.; Stillman, A.A.; Ghosh, A.K.; Bilguvar, K.; O'Roak, B.J.; Mason, C.E.; Abbott, T.; Gupta, A.; King, R.A.; Pauls, D.L.; et al. L-Histidine Decarboxylase and Tourette's Syndrome. *N. Engl. J. Med.* 2010, 362, 1901–1908.
14. Sun, N.; Tischfield, J.A.; King, R.A.; Heiman, G.A. Functional Evaluations of Genes Disrupted in Patients with Tourette's Disorder. *Front. Psychiatry* 2016.
15. Meunier, C.N.J.; Chameau, P.; Fossier, P.M. Modulation of Synaptic Plasticity in the Cortex Needs to Understand All the Players. *Front. Synaptic Neurosci.* 2017.
16. Yanjie Qi 1,2, Yi Zheng 2,3, Zhanjiang Li 2,3 and Lan Xiong 1,4,5. Progress in Genetic Studies of Tourette's Syndrome. *Brain Sci.* 2017; 7: 134-167.
17. Scharf, J.M.; Yu, D.; Mathews, C.A.; Neale, B.M.; Stewart, S.E.; Fagerness, J.A.; Evans, P.; Gamazon, E.; Edlund, C.K.; Service, S.K.; et al. Genome-wide association study of Tourette's syndrome. *Mol. Psychiatry.* 2013, 18, 721–728.
18. Yu, D.; Mathews, C.A.; Scharf, J.M.; Neale, B.M.; Davis, L.K.; Gamazon, E.R.; Derks, E.M.; Evans, P.; Edlund, C.K.; Crane, J.; et al. Cross-Disorder Genome-Wide Analyses Suggest a Complex Genetic Relationship Between Tourette's Syndrome and OCD. *AJP* 2014, 172, 82–93.
19. Paschou, P.; Yu, D.; Gerber, G.; Evans, P.; Tsetsos, F.; Davis, L.K.; Karagiannidis, I.; Chaponis, J.; Gamazon, E.; Mueller-Vahl, K.; et al. Genetic association signal near NTN4 in Tourette syndrome. *Ann. Neurol.* 2014, 76, 310–315.
20. Karagiannidis, I.; Rizzo, R.; Tarnok, Z.; Wolanczyk, T.; Hebebrand, J.; N then, M.M.; Lehmkuhl, G.; Farkas, L.; Nagy, P.; Barta, C.; et al. Replication of association between a SLITRK1 haplotype and Tourette Syndrome in a large sample of families. *Mol. Psychiatry* 2012, 17, 665–668.
21. Patel, C.; Cooper-Charles, L.; McMullan, D.J.; Walker, J.M.; Davison, V.; Morton, J. Translocation breakpoint at 7q31 associated with tics: Further evidence for IMMP2L as a candidate gene for Tourette syndrome. *Eur. J. Hum. Genet.* 2011, 19, 634–639.
22. Zhang Y, Liu Y, Zarrei M, Tong W, Dong R, Wang Y, Zhang H, Yang X, MacDonald JR, Uddin M, Scherer SW, Gai Z. Association of IMMP2L deletions with autism spectrum disorder: A trio family study and meta-analysis. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.* 2018 Jan;177(1):93-100.
23. Gimelli S, Capra V, Di Rocco M, Leoni M, Mirabelli-Badenier M, Schiaffino MC, Fiorio P, Cuoco C, Gimelli G, Tassano E. Interstitial 7q31.1 copy number variations disrupting IMMP2L gene are associated with a wide spectrum of neurodevelopmental disorders. *Mol Cytogenet.* 2014 Aug 13;7:54.
24. Belloso, J.M.; Bache, I.; Guitart, M.; Caballin, M.R.; Halgren, C.; Kirchoff, M.; Ropers, H.-H.; Tommerup, N.; Tümer, Z. Disruption of the CNTNAP2 gene in a t(7;15) translocation family without symptoms of Gilles de la Tourette syndrome. *Eur. J. Hum. Genet.* 2007, 15, 711–713.
25. Lawson-Yuen, A.; Saldivar, J.-S.; Sommer, S.; Picker, J. Familial deletion within NLGN4 associated with autism and Tourette syndrome. *Eur. J. Hum. Genet.* 2008, 16, 614–618.



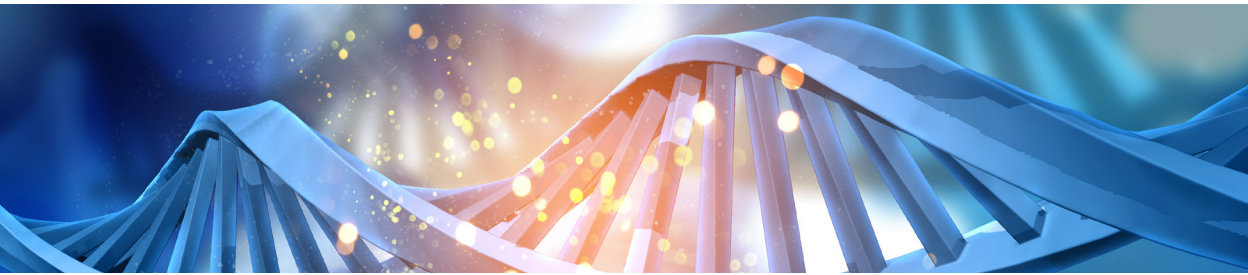
26. Sanders, S.J.; Ercan-Sencicek, A.G.; Hus, V.; Luo, R.; Murtha, M.T.; Moreno-De-Luca, D.; Chu, S.H.; Moreau, M.P.; Gupta, A.R.; Thomson, S.A.; et al. Multiple recurrent de novo copy number variations (CNVs), including duplications of the 7q11.23Williams-Beuren syndrome region, are strongly associated with autism. *Neuron* 2011, 70, 863–885.
27. Fernandez, T.V.; Sanders, S.J.; Yurkiewicz, I.R.; Ercan-Sencicek, A.G.; Kim, Y.-S.; Fishman, D.O.; Raubeson, M.J.; Song, Y.; Yasuno, K.; Ho, W.S.C.; et al. Rare Copy Number Variants in Tourette Syndrome Disrupt Genes in Histaminergic Pathways and Overlap with Autism. *Biol. Psychiatry* 2012, 71, 392–402.
28. Nag, A.; Bochukova, E.G.; Kremeyer, B.; Campbell, D.D.; Muller, H.; Valencia-Duarte, A.V.; Cardona, J.; Rivas, I.C.; Mesa, S.C.; Cuartas, M.; et al. CNV Analysis in Tourette Syndrome Implicates Large Genomic Rearrangements in COL8A1 and NRXN1. *PLoS ONE* 2013, 8, e59061.
29. Sundaram, S.K.; Huq, A.M.; Sun, Z.; Yu, W.; Bennett, L.; Wilson, B.J.; Behen, M.E.; Chugani, H.T. Exome sequencing of a pedigree with tourette syndrome or chronic tic disorder. *Ann. Neurol.* 2011, 69, 901–904.
30. Willsey, A.J.; Fernandez, T.V.; Yu, D.; King, R.A.; Dietrich, A.; Xing, J.; Sanders, S.J.; Mandell, J.D.; Huang, A.Y.; Richer, P.; et al. De Novo Coding Variants Are Strongly Associated with Tourette Disorder. *Neuron* 2017, 94, 486–499.
31. Eriguchi, Y.; Kuwabara, H.; Inai, A.; Kawakubo, Y.; Nishimura, F.; Kakiuchi, C.; Tochigi, M.; Ohashi, J.; Aoki, N.; Kato, K.; et al. Identification of candidate genes involved in the etiology of sporadic Tourette syndrome by exome sequencing. *Am. J. Med. Genet.* 2017, 174, 712–723.
32. Sun, N.; Nasello, C.; Deng, L.; Wang, N.; Zhang, Y.; Xu, Z.; Song, Z.; Kwan, K.; King, R.A.; Pang, Z.P.; et al. The PNKD gene is associated with Tourette Disorder or Tic disorder in a multiplex family. *Mol. Psychiatry* 2017.





# CAPÍTULO 8

## Estudios genéticos en ataxias



### Autores

Jon Infante Ceberio<sup>1,4</sup>

Astrid Daniela Adarmes Gómez<sup>2,4</sup>

Idoia Rouco Axpe<sup>3</sup>

### Centro

1. Servicio de Neurología, CSUR ataxias y paraplejias espásticas hereditarias, Hospital Universitario Marqués de Valdecilla-IDIVAL, Santander. Universidad de Cantabria.
2. Unidad de Trastornos del Movimiento, Servicio de Neurología y Neurofisiología Clínica, Instituto de Biomedicina de Sevilla, Hospital Universitario Virgen del Rocío, CSIC/Universidad de Sevilla, Sevilla.
3. Consulta de ataxias y paraparesias espásticas hereditarias, Servicio de Neurología, Hospital Universitario de Cruces, Barakaldo, Bizkaia.
4. Centro de Investigación Biomédica en Red sobre Enfermedades Neurodegenerativas (CIBERNED), España.





## 8.1 INTRODUCCIÓN

Son más de 200 las enfermedades que pueden cursar con ataxia cerebelosa como principal manifestación. Entre ellas una gran parte corresponden a ataxias degenerativas, y de éstas una proporción creciente (más de 100 subtipos) tienen una causa genética. Las restantes son ataxias secundarias o adquiridas<sup>1</sup>. Las ataxias de causa genética, o hereditarias, comprenden formas autosómico dominantes, autosómico recesivas, ligadas al cromosoma X y de herencia mitocondrial<sup>2</sup>. El tipo de variantes genéticas identificadas es muy heterogéneo, pero son particularmente frecuentes las expansiones de secuencias repetitivas, más frecuentemente de trinucleótidos<sup>3</sup>. Este tipo de variantes están detrás de algunas de las formas más frecuentes de ataxia hereditaria como la ataxia de Friedreich (FRDA), el CANVAS<sup>4</sup> y algunas ataxias dominantes (ataxias espino-cerebelosas o SCAs)<sup>5</sup>. Es muy importante tener en cuenta que estas expansiones no son detectables por las técnicas actuales de secuenciación de nueva generación o "NGS" (aunque es probable que lo sean en un futuro próximo) por lo que para su detección se requieren estudios genéticos dirigidos. Tampoco detectan reordenamientos génicos (deleciones/duplicaciones) ni variantes en el ADN mitocondrial (mtDNA). Así, actualmente, incluso aplicando técnicas NGS, más de un tercio de todos los casos de ataxia genética quedan sin diagnóstico etiológico.

A la hora de plantear el diagnóstico de un paciente con ataxia el primer paso debe ser descartar causas secundarias o adquiridas: vascular, desmielinizante, autoinmune paraneoplásica y no paraneoplásica, carencial, tóxica (alcohol, fármacos, metales), infecciosa, siderosis superficial, etc. Este proceso se lleva a cabo mediante una adecuada historia clínica y herramientas de diagnóstico básicas como análisis de sangre, resonancia magnética cerebro-medular y, en algunos casos, examen del LCR. Una vez descartadas éstas nos encontraremos frente a una ataxia que podemos calificar como degenerativa. De aquí en adelante, para orientar el diagnóstico, cobran gran importancia una serie de parámetros clínicos como la **edad de inicio**, precoz ( $\leq 25$  años) o tardía ( $> 25$  años), la **historia familiar**, los **sistemas afectados** además del cerebeloso, la presencia o no de **atrofia cerebelosa** y otros **signos en la RM craneal**<sup>6</sup> y determinados **marcadores bioquímicos** en sangre (Tabla 1). Otras pruebas como las neurofisiológicas (especialmente para valorar si existe afectación del nervio periférico con electroneuromiografía, y/o cordonal posterior con potenciales evocados somatosensoriales) y el estudio neurooftalmológico (valoración de afectación de la retina, cataratas,...) son herramientas útiles para mostrar si existe afectación extracerebelosa que ayudarán a definir el fenotipo clínico. Es importante tener en cuenta que la ausencia de historia familiar o el inicio en la edad adulta no descarta una causa genética.

En la práctica clínica son tres los escenarios que podemos encontrarnos: i) paciente con ataxia esporádica de inicio tardío, ii) paciente con ataxia esporádica de inicio precoz y iii)

paciente con ataxia familiar. En cada uno de estos tres escenarios revisaremos cuáles son los tipos de ataxia degenerativa más frecuentes y las recomendaciones a la hora de llevar a cabo los estudios genéticos.

- **Consideraciones generales en la petición de estudios genéticos en ataxias**

A la hora de plantear la solicitud de estudios genéticos en ataxia debemos tener en cuenta diversos aspectos como el fenotipo del paciente, el conocimiento de las formas genéticas de ataxia más frecuentes en nuestro entorno y el hecho de que a día de hoy ni los paneles multigénicos ni la secuenciación del exoma pueden detectar expansiones (causa de algunos de los tipos de ataxia más frecuentes). Debemos también tener en cuenta que variantes en un mismo gen pueden dar lugar a fenotipos diferentes y que un mismo fenotipo puede estar causado por mutaciones en genes distintos. Como norma general, si estamos ante un fenotipo que encaja perfectamente o es muy sugestivo de variantes en un determinado gen podemos solicitar un estudio genético dirigido. Si no es así lo habitual es llevar a cabo un rastreo genético en dos etapas: en una primera etapa se buscaría descartar enfermedades causadas por expansiones (FRDA, el síndrome de Temblor-Ataxia asociado a premutación en el cromosoma X Frágil (FXTAS), SCAs, CANVAS) y en una segunda etapa se llevarían a cabo técnicas de NGS (paneles multigénicos o secuenciación de exoma (WES)). La contribución de las herramientas de NGS al diagnóstico de las ataxias de causa no aclarada se sitúa en torno al 15%-20 % en el caso de los paneles multigénicos y entre el 20% y el 50% en el caso de los exomas<sup>7</sup>, siendo mayor en ataxias de inicio precoz y cuando existe consanguinidad. Como se ha comentado en el capítulo 3, cada técnica tiene sus pros y sus contras y en el caso de las ataxias existen estudios que comparan la rentabilidad de estas 2 aproximaciones, la secuenciación dirigida (TS) y WES. Galatolo et al<sup>8</sup> compararon las tasas de diagnóstico de 12 estudios de cohortes de pacientes, usando técnicas de NGS, excepto secuenciación del genoma (WGS), observando que con su uso se llegaba al diagnóstico en un 17% de los casos, que se podría elevar hasta el 26-34% si se incluían variantes de significado incierto clasificadas como posiblemente patogénicas, mientras que la tasa de diagnóstico se elevaba a 36% en los estudios que aplicaron WES, que se podía elevar hasta 53% si se incluían variantes de significado incierto que pudieran tener relevancia en relación con la clínica. Es verdad que, en estos estudios, las cohortes con mayor número de individuos incluidos fueron aquellas en las que se aplicaron TS, y las de menor número de pacientes en las que se uso exoma, por lo que puede que exista una sobreestimación de la rentabilidad del exoma. En esta misma línea, un estudio más reciente, de un solo centro especializado, aplicando un protocolo de diagnóstico, compara la rentabilidad diagnóstica de estudiar genes de forma individual, comparándolo con el estudio mediante paneles dirigidos; en su experiencia han observado que en la era preNGS ya obtenían altas tasas de diagnóstico de confirmación (46,3%),





que se elevaba discretamente con el uso de paneles, por lo que destacan la importancia de la valoración de estos pacientes en unidades especializadas, siendo crucial la experiencia de los profesionales, tanto para la selección del paciente, como para el análisis crítico de los resultados de estudios de secuenciación masiva<sup>9</sup>.

Debemos tener presente que la tecnología avanza rápidamente y es probable que en corto espacio de tiempo las técnicas NGS sean capaces de detectar expansiones y debamos entonces cambiar nuestra manera de aproximarnos al diagnóstico. Por otro lado, la secuenciación del exoma está sustituyendo ya a los paneles multigénicos y del mismo modo el abaratamiento progresivo de los costes de secuenciación y la creciente disponibilidad de capacidad de análisis bioinformáticos irán acercando a la clínica procedimientos como la secuenciación completa del genoma. Por último, a día de hoy solo contados subtipos de ataxia genética cuentan con tratamientos que puedan modificar su curso. Debemos tener presentes estas raras entidades tratables que pueden cursar con ataxia y dirigir los estudios ante fenotipos compatibles: Ataxia con déficit de vitamina E (AVED-*TTPA*), Xantomatosis cerebrotendinosa (XCT-*CYP27A1*), Enfermedad de Wilson (*ATP7AB*), Déficit de Glut-1 (*SLC2A1*), Niemann-Pick C (*NPC1-2*), Déficit de CoQ10 (*PDSS1*, *PDSS2*, *COQ2*, *COQ4*, *COQ6*, *ADCK3*, *ADCK4*, *COQ9*), Abetalipoproteinemia (*ABL-MTP*).

## 8.2 ATAXIA ESPORÁDICA DE INICIO TARDÍO

Son pacientes con ataxia de inicio por encima de los 25 años, sin que existan otros sujetos afectados en la familia. Es la forma de presentación más común<sup>10</sup>. Si se trata de sujetos de edad avanzada hay que considerar como entidades más probables la atrofia multisistémica cerebelosa (AMS-C) y la ataxia esporádica del adulto (SAOA; del inglés "*Sporadic Adult-Onset Ataxia*")<sup>11</sup>. Ambas son entidades neurodegenerativas sin una base genética conocida y tienen su inicio normalmente por encima de los 50 años de edad. Con el desarrollo de las técnicas de diagnóstico genético, NGS, una proporción de los pacientes con SAOA ha resultado ser portador de mutaciones en genes dominantes, recesivos o mitocondriales. El CANVAS es también una causa frecuente de ataxia del adulto<sup>12</sup> (hasta un 20% de las ataxias esporádicas del adulto según algunos estudios). Está causado por una doble expansión intrónica de un pentanucleótido AAGGG en el gen *RFC-1*<sup>13</sup>. La presencia de tos crónica, neuropatía o neuronopatía sensitiva y disfunción vestibular apoyan fuertemente este diagnóstico<sup>14</sup>. Otras formas de ataxia recesiva que pueden presentarse con una edad de inicio tardío son la paraparesia espástica hereditaria tipo 7 (*SPG7*)<sup>15</sup>, la ataxia de Friedreich (uno de cada 4 pacientes tiene un inicio por encima de los 25 años), el NPC (mutación genes *NPC1* y *NPC2*; característicamente presenta alteración de las sacadas verticales) y ARCA1 (mutación en el gen *SYNE1*). Las SCAs, más frecuentes están causa-

das por expansiones de trinucleótidos CAG<sup>16</sup>, también pueden presentarse en raras ocasiones sin historia familiar acompañante. Esto puede suceder en casos de fallecimiento temprano de los progenitores, en casos de no paternidad, de penetrancia incompleta o debido a la aparición de mutaciones *de novo*. En este escenario, la SCA6 es uno de los principales subtipos a considerar. Otra entidad a valorar en este contexto de ataxia de inicio tardío sería el FXTAS. Su causa es una expansión en el rango de la premutación (50-200 CGG) en el gen *FMR1* y va a afectar habitualmente a varones por encima de los 50 años de edad. La RM craneal puede ser útil para sospechar el diagnóstico ya que más de la mitad de los pacientes muestran una característica hiperseñal del pedúnculo cerebeloso medio<sup>6</sup>. Este hallazgo radiológico no es exclusivo de FXTAS y puede observarse en otros casos de ataxia hereditaria o AMS-C.

### 8.2.1 Estudios genéticos en ataxia esporádica del adulto (Figura 1)

Si el paciente cumple los criterios clínicos diagnósticos de AMS-C probable<sup>17</sup> no será necesario efectuar pruebas genéticas (salvo quizás el despistaje de FXTAS en varones > de 50 años con el que puede compartir manifestaciones clínicas al inicio y radiológicas). En el resto de situaciones puede plantearse el estudio en dos etapas o niveles. En una primera etapa se llevarían a cabo los test genéticos dirigidos a la búsqueda de expansiones en las entidades descritas<sup>18</sup> y en un segundo nivel se aplicarían las técnicas de NGS (paneles multigénicos o exoma). La rentabilidad diagnóstica de los test genéticos en este escenario no es demasiado alta (excepto *RFC1*)<sup>19</sup> por lo que la extensión de los mismos deberá adecuarse al grado de sospecha clínica, al contexto sanitario (asistencial/investigación) y al beneficio esperable en cuanto al consejo genético.

#### • Primer nivel:

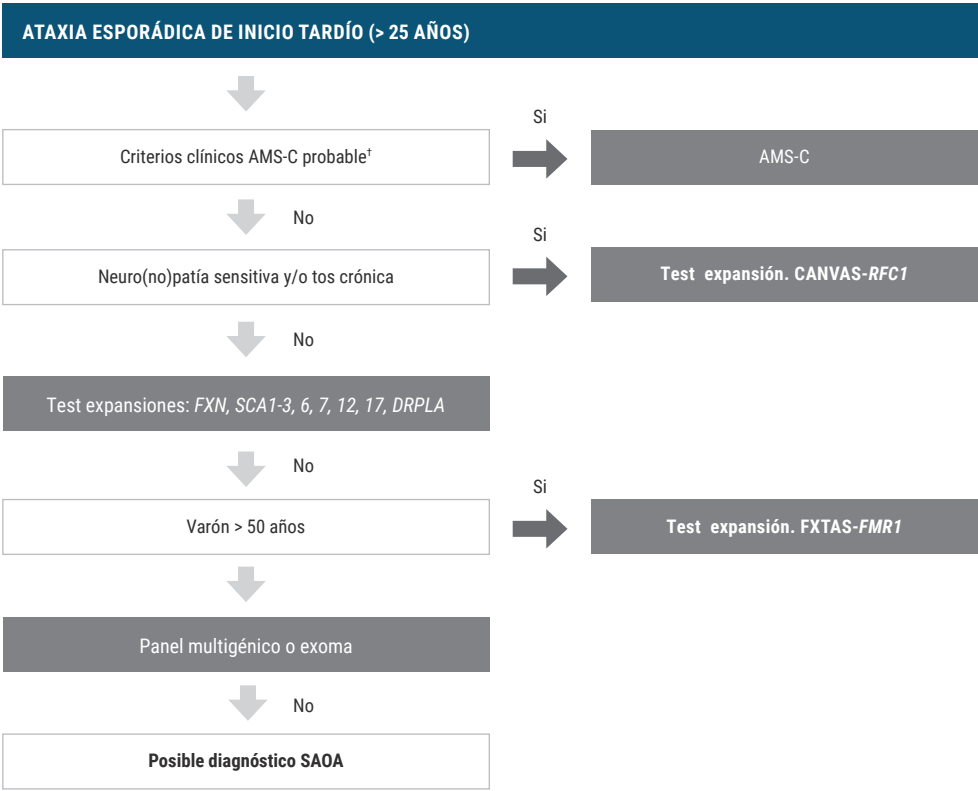
- **Ataxia de Friedreich** (expansión GAA intrón gen *FXN*).  
**SCAs 1, 2, 3, 6, 7, 12, 17, DRPLA:** Expansiones CAG.
- **CANVAS** (expansión gen *RFC1*) (Sobre todo si neuro(no)patía sensitiva y/o tos crónica).
- Si varón mayor de 50 años: **FXTAS** (expansión CGG en gen *FMR1*).

#### • Segundo nivel:

- **NGS:** Panel multigénico (no deben faltar *SPG7, SYNE1, POLR3A, NPC1, POLG, SACS, HEXA, FXN, KCNA1, CACNA1A, KCNC3, PRKCG, ITPR1, FGF14, AFG3L2, ELOVL4, TGM6, ELOVL5, CCDC88, MME, FAT2, PLD3, STUB1*). A continuación, o como alternativa según disponibilidad, WES.



**Figura 1. Algoritmo test genéticos en ataxias esporádicas de inicio tardío.**



† Gilman et al, 2008

AMS-C: Atrofia multisistémica cerebelosa; CANVAS: Síndrome de ataxia cerebelosa, neuropatía y arreflexia vesti-bular; FXTAS: Síndrome de temblor y ataxia asociado a premutación en X frágil; SAOA: Ataxia esporádica del adul-to; FXN: Gen de Frataxina; SCA: Ataxia espinocerebelosa (seguido de número que indica subtipo genético); DRPLA: Atrofia dentato-rubro-pálido-luisiana.

**8.3 ATAXIA ESPORÁDICA DE INICIO PRECOZ**

Este escenario incluye pacientes con ataxia de inicio por debajo de los 25 años, sin historia familiar. Aquí, la mayoría van a ser ataxias genéticas de herencia autosómico recesiva. Entre ellas la más frecuente sin duda es la ataxia de Friedreich, que explica aproximadamente un tercio de todos los casos. Además de la ataxia de Friedreich, existen más de 20 subtipos diferentes de ataxias recesivas genéticas. En el proceso diagnóstico<sup>20</sup> de estas ataxias recesivas puede orientarnos la edad de inicio, ya que algunos subtipos como la ataxia telan-

giectasia (AT, gen *ATM*) y la ataxia con apraxia ocular tipo 1 (AOA1, gen *APTX*) y el ARSACS (Ataxia espástica autosómica recesiva de Charlevoix-Saguenay, gen *SACS*) suelen iniciarse en la primera década de la vida, mientras que otras formas de ataxia recesiva suelen iniciarse a partir de la segunda. Las manifestaciones clínicas predominantes también serán de utilidad: **apraxia ocular** en las AOAs; **piramidalismo** en ARSACS, variantes genéticas en *POLR3A*, *SPG7* y Xantomatosis Cerebrotendinosa; **neuropatía** en AOAs, ARSACS, AT; **retinitis pigmentosa** en ataxia con déficit de vitamina E (AVED), Abetalipoproteinemia (ABL), Refsum; **Oftalmoplejia** en mutaciones en *POLG-1*<sup>21</sup>. También son de utilidad la determinación de ciertos biomarcadores: **elevación sérica de  $\alpha$ -fetoproteína** en AOA2 (*SETX*) y AT; **hipoalbuminemia** en AOA1 (*APTX*) y **aumento de beta-colesterol** en XCT, el **aumento de oxiesteroles** en NPC1, el **déficit de ceruloplasmina** en el Wilson, y el **déficit de vitamina E** en AVED y otras **vitaminas liposolubles** en la ABL. Tras la ataxia de Friedreich, probablemente AOA2, *SPG7* y la ataxia espástica asociada a mutaciones en *POLR3A* son las entidades más frecuentes. Los hallazgos en la RM craneal también puede ser de utilidad a la hora de orientar el diagnóstico, ya que en algunas ataxias recesivas se encuentra característicamente una atrofia cerebelosa (AOA1-4, AT, ARSACS, XCT, *POLG*) y otras no (*FRDA*, *POLR3A*, AVED, ABL). En otros casos podemos encontrar signos característicos como la presencia de hiperintensidad en T2 y FLAIR del pedúnculo cerebeloso superior en *POLR3A* e hipointensidades lineales en la protuberancia en ARSACS (Tabla 1).


**Tabla 1. Rasgos fenotípicos y biomarcadores de utilidad en ataxias recesivas.**

MARCADOR SÉRICO	TIPO DE ATAXIA
α-fetoproteína ↑	AOA2, AT
Albúmina ↓	AOA1
Colesterol ↑	AOA1
Colesterol ↓	ABL
β-Colestanol ↑	XCT
Oxisteroles ↓	NPC
Vitamina E ↓	AVED, ABL
Ac. Fitánico ↑	Refsum
AGCML ↑	X-ALD
Ceruloplasmina ↓	Wilson
FENOTIPO	TIPO DE ATAXIA
Sd. Cerebeloso + piramidalismo (ataxia espástica)	SPG7, POLR3A, FRDA tardío, ARSACS, XCT, X-ALD
Sd. Cerebeloso + neuro(no)patía sensitiva	FRDA, AVED, POLG, ABL, CANVAS
Sd. Cerebeloso + neuropatía motora y sensitiva	AOA1, AOA2, AT, ARSACS
Sd. Cerebeloso	SYNE1, ADCK3
HALLAZGOS RMN	TIPO DE ATAXIA
Atrofia cerebelosa marcada	AOAs, AT, ARSACS, SYNE1
Atrofia cerebelosa ausente o discreta	FRDA, SPG7, AVED, POLG
↑ señal T2/FLAIR del PCM	FXTAS (Tb puede verse en AMS-C)
↑ señal T2/FLAIR del PCS	POLR3A
↓ señal lineal T2/FLAIR protuberancia	ARSACS
↑ señal T2/FLAIR tálamos, sb cerebelo, olivas	POLG
↑ señal T2/FLAIR dentados y sb adyacente ↓ señal T2/FLAIR sb cerebelosa (calcificaciones)	XCT
Ausencia de hiposeñal dentados FLAIR/SWI	AOA2

ABL: Abetalipoproteinemia; AGCML: ácidos grasos de cadena muy larga; AOA: Ataxia con apraxia ocular; AT: Ataxia telangiectasia; AVED: Ataxia con déficit de vitamina E; PCM: Pedúnculo cerebeloso medio; PCS: Pedúnculo cerebeloso superior; XCT: Xantomatosis cerebrotendinosa; Sb: sustancia blanca; Sd: síndrome; X-ALD: Adrenoleucodistrofia.

### 8.3.1 Estudios genéticos en ataxias esporádicas de inicio precoz (Figura 2)

Si el fenotipo del paciente se corresponde claramente con un subtipo genético definido (Ej: ataxia de inicio a los 15-25 años, con apraxia ocular, neuropatía y aumento de  $\alpha$ -feto-proteína sugeriría AOA2) podría llevarse a cabo un estudio dirigido al gen en cuestión o un panel multigénico que incluya el gen de interés. Si no es así, debemos investigar primero por su frecuencia la expansión GAA en el gen de la ataxia de Friedreich. Aunque las mutaciones dominantes (genes SCAs) son poco frecuentes en este escenario en ausencia de historia familiar, también podría plantearse aquí el estudio de las SCAs más frecuentes causadas por expansiones. A continuación, habría que ir directamente a tecnología NGS mediante panel multigénico o exoma. En este escenario la rentabilidad diagnóstica de la NGS es mayor que en el caso de ataxias esporádicas de inicio tardío, por lo que dependiendo del caso y las circunstancias podría plantearse también la secuenciación del genoma completo.

- **Primer nivel:**

- **Ataxia de Friedreich** (expansión GAA gen **FXN**)  
**SCAs 1, 2, 3, 6, 7, 12, 17, DRPLA:** Expansiones CAG

- **Segundo nivel:**

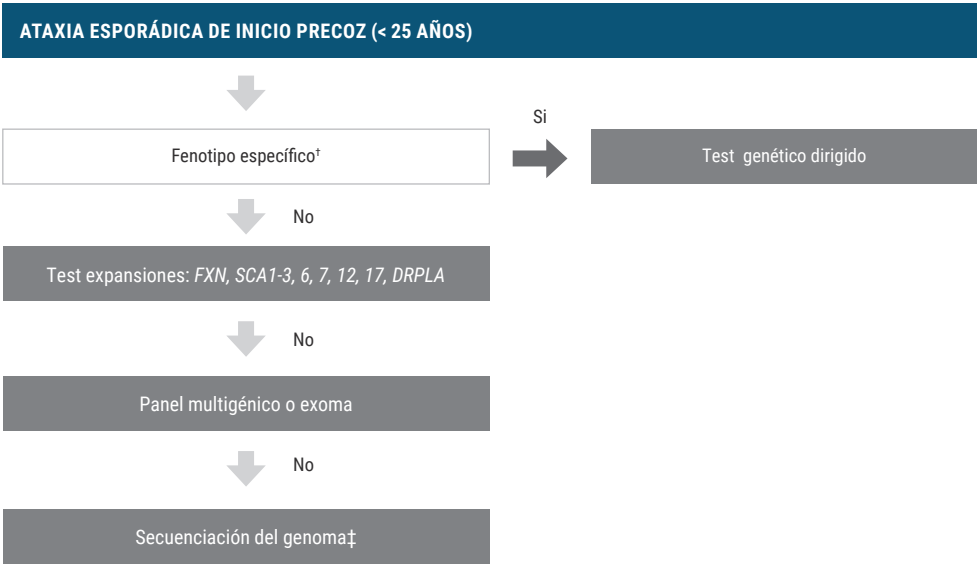
- **NGS:** Panel multigénico (no deben faltar: *ATM, APTX, SETX, POLR3A, SACS, POLG, CoQ8A, HEXA, ATP7B, FXN, CYP27A1, MTPP, ATTP, TDP-1, MRE11, ADCK3, C10orf2, KIF1C, GBA2, TWNK*). A continuación, o como alternativa según disponibilidad, WES.

- **Tercer nivel:**

- **NGS:** WGS.



**Figura 2.** Algoritmo test genéticos en ataxias esporádica de inicio precoz.



†Considerar fenotipo clínico, edad de inicio, marcadores moleculares séricos y hallazgos RMN (consultar texto y tabla 1).

‡ Valorar en función de accesibilidad del recurso.

FXN: Gen de Frataxina; SCA: Ataxia espinocerebelosa (seguido de número que indica subtipo genético); DRPLA: Atrofia dentato-rubro-pálido-luisiana.

## 8.4 ATAXIA FAMILIAR

En ocasiones el paciente con ataxia tiene antecedentes familiares en una o varias generaciones que nos permiten establecer o sospechar un tipo de herencia determinada.

### 8.4.1 Ataxia autosómico dominante

Este es un grupo enormemente heterogéneo al que designamos como SCAs<sup>22</sup>. Actualmente hay 48 *loci* descritos con 35 genes identificados. Los subtipos más frecuentes se han comentado anteriormente y están causados por expansiones en regiones codificantes (SCA 1, 2, 3, 6, 7, 17, DRPLA) o no codificantes (SCA 8, 10, 12). El resto están causados por variantes puntuales en diversos genes<sup>16,23</sup>. Globalmente, las SCA 3 y SCA 2 son los subtipos más frecuentes en nuestro medio<sup>24</sup>. Existen algunos signos clínicos que pueden

orientar hacia alguno de estos subtipos más frecuentes: **sacadas lentas** (SCA 2, 1, 7), **piramidalismo** (SCA 3, 7, 1), **distonía** (SCA 3, 14, 17), **parkinsonismo** (SCA 2, 3, 17), **corea** (SCA 17, DRPLA), **neuropatía** (SCA 1, 2, 3), **degeneración retiniana** (SCA 7) (Tabla 2). En nuestro país debemos prestar especial atención a formas de ataxia con predilección geográfica como SCA 36 (expansión de hexanucleótido en el gen *NOP56*), particularmente frecuente en Galicia (*Costa da Morte*), con un fenotipo caracterizado por un inicio tardío y signos de motoneurona inferior<sup>25</sup> y SCA 37 (expansión ATTTC en gen *DAB1*), de la que se han descrito varias familias en Andalucía<sup>26</sup>. Así como la SCA 48, también de inicio tardío, con un cuadro cognitivo-afectivo asociado, que puede ser la clínica inicial hasta que años más tarde se desarrollan los síntomas cerebelosos, y que ha sido descrita en Cataluña<sup>27</sup>.

También heredadas de forma autosómica dominante, encontramos a las **ataxias episódicas**, en las que se han descrito 9 tipos, aunque los más frecuentes son: la ataxia episódica tipo 1 (EA1), causada por mutación puntual en el gen del canal de potasio (*KCNA1*), y cuyo cuadro clínico se caracteriza por breves “ataques” de ataxia, disartria, vértigo y nistagmo, con duración entre segundos a minutos desencadenados por el movimiento, y la ataxia episódica tipo 2 (EA2), causada tanto por mutaciones puntuales como por expansión de tripletes en el gen *CACNA1A* (también asociado a SCA6, migraña hemipléjica familiar y encefalopatía epiléptica), que tradicionalmente se caracteriza por episodios prolongados de ataxia (horas o días), desencadenados por café, alcohol o fatiga. Recientemente, mutaciones en los 2 alelos de ambos genes, heredados de forma autosómica recesiva, se han asociado a fenotipos neurológicos complejos de encefalopatía epiléptica, evidenciando aún más la gran complejidad fenotípica y genotípica de las enfermedades neurohereditarias<sup>28,29</sup>.

#### 8.4.1.1 Estudios genéticos en ataxias autosómico dominante (Figura 3)

El estudio genético de un paciente con sospecha de ataxia dominante debe plantearse en dos niveles. En un primer nivel se estudiarían las formas más frecuentes de SCAs causadas por expansiones y en una segunda etapa, cuando la primera no haya ofrecido resultados, se llevarían a cabo técnicas de NGS. En este escenario la rentabilidad diagnóstica de las técnicas NGS es alta (la existencia de varios individuos afectados en dos generaciones diferentes prácticamente asegura una causa genética de la ataxia) y será mayor cuanto más profundo y extenso sea el estudio, de modo que la mayor rentabilidad vendrá de la secuenciación del genoma completo y en su defecto del exoma, o de los paneles multigénicos<sup>30</sup>. La accesibilidad a estas pruebas en los diferentes entornos clínico-sanitarios, así como la evolución de los precios y las herramientas de análisis bioinformático a lo largo de estos próximos años determinará la tecnología a emplear.





- **Primer nivel:**

- **SCAs 1, 2, 3, 6, 7, 12, 17, DRPLA:** Expansiones CAG.

- **Segundo nivel:**

- **NGS:** Panel multigénico (No deben faltar *KCNA1*, *CACNA1A*, *KCNC3*, *PRKCG*, *ITPR1*, *FGF14*, *AFG3L2*, *ELOVL4*, *TGM6*, *ELOVL5*, *CCDC88*, *MME*, *FAT2*, *PLD3*, *STUB1*). Considerar en este nivel también expansiones en genes *NOP56* (SCA36) y *DAB1* (SCA37). A continuación, o como alternativa según disponibilidad WES.

- **Tercer nivel:**

- **NGS:** WGS.

Hay que tener presente que en familias con elevado índice de consanguinidad podría darse el caso de que la causa genética fuera de origen recesivo con una forma de presentación aparentemente dominante (herencia “*pseudodominante*”, ver glosario de términos).

**Tabla 2.** Características clínicas y de imagen que pueden orientar el diagnóstico de las ataxias dominantes (SCAs).

CARACTERÍSTICA CLÍNICA	TIPO DE ATAXIA
Sacadas lentas	SCA 2, 3, 7
Parkinsonismo	SCA 2, 3, 12, 17, 20
Corea	SCA 17, DRPLA
Piramidalismo	SCA 1, 3, 7
Neuropatía periférica	SCA 1, 2, 3, 4, 18, 23, 25, 28, 38, 42, 46
Degeneración retiniana	SCA, 7
Síndrome cerebeloso puro	SCA 6, 11, 23, 26, 30, 37, 41, 45
Epilepsia	SCA 10, 13, 17, 47, DRPLA
Temblores cefálicos	SCA 2, 8, 12, 16
Deterioro cognitivo	SCA 2, 8, 12, 13, 16, 17, 19, 21, 22, 29, 47, 48, DRPLA
Mioclonus	SCA 5, 6, 10, 11, 14
Atrofia de tronco en RM	SCA 1, 2, 3, 7, 13

SCA: Ataxia espino-cerebelosa (Seguido de número que indica subtipo genético); DRPLA: Atrofia dentato-rubro-palido-luisiana.

### 8.4.2 Ataxia autosómico recesiva

En este escenario tendremos varios individuos afectados en una misma generación, posiblemente una historia de consanguinidad parental y muy probablemente una edad de inicio precoz, por debajo de los 25 años. Hay que tener en cuenta, no obstante, y tal y como se ha comentado anteriormente en el apartado de ataxias esporádicas de inicio tardío, que hay ataxias recesivas que pueden tener un inicio tardío como la ataxia de Friedreich, el CANVAS, SPG7, ARCA1, NPC y algunos casos de mutaciones en *POLR3A*.

Clásicamente se denominan ARCA<sup>s</sup><sup>31</sup> al grupo de ataxias con un patrón de herencia recesiva, si bien es cierto, que siendo un grupo tan complejo y variable, parecía insuficiente esta clasificación. Esta no incluía por ejemplo síndromes que inicialmente fueron descritos como paraparesias espásticas, pero que con la expansión de los fenotipos gracias al estudio mediante secuenciación masiva se han relacionado también con ataxia, como el SPG7<sup>15</sup>. Por este motivo, se ha propuesto una nomenclatura para este grupo, en la que se separan los cuadros cerebelosos puros (ATX) de los que se acompañan de afectación piramidal (ATX/HSP o HSP/ATX según el signo predominante).

#### 8.4.2.1 Estudios genéticos en ataxias autosómico recesivas (Figura 3)

La manera de abordar los estudios genéticos en este entorno será similar al escenario comentado anteriormente de una ataxia esporádica de inicio precoz, con la única diferencia que en este caso la certeza de una etiología genética sería mayor y por tanto también la rentabilidad diagnóstica de las técnicas NGS. Es por tanto en este escenario en el que tras un primer nivel de cribado dirigido a descartar la ataxia de Friedreich y el CANVAS (si inicio tardío y neuropatía sensitiva) deben ampliarse los estudios genéticos tanto como sea posible, desde el panel multigénico a la secuenciación del exoma o del genoma completo.

- **Primer nivel:**

- Todos: **Ataxia de Friedreich** (expansión GAA gen **FXN**)
- Si inicio tardío: **CANVAS** (expansión gen **RFC1**)

- **Segundo nivel:**

- **NGS:** Panel multigénico (No deben faltar *ATM, APTX, SETX, SACS, POLR3A, FXN, SPG7, HEXA, SYNE1, POLG, FAH2, GBA2, KIF1C, C100rf2, ADCK3, MRE11, TDP-1, ATTP, MTPP, CYP27A1, ATP7B, CAPN1, ANO10, NPC1, TWNK, MSS, TTPA*). A continuación, o alternativamente según disponibilidad, WES.



- **Tercer nivel:**
  - **NGS:** WGS.

### 8.4.3 Ataxias ligadas al cromosoma X

El FXTAS es la forma más frecuente de ataxia ligada al cromosoma X. Su origen se debe a una expansión CAG en el rango de la premutación (50-200 repeticiones) en el gen *FMR1*<sup>32</sup>. Afecta habitualmente a varones por encima de los 50 años y excepcionalmente a mujeres (cromosoma X inactivo), aunque el fenotipo en estas suele ser más leve. Las hijas de estos pacientes, cuando son portadoras de la premutación pueden tener un fenotipo de menopausia o fallo ovárico precoz. Los nietos pueden presentar un síndrome de retraso mental asociado al CrX frágil. Existen otras formas muy infrecuentes de ataxia ligadas al CrX, a menudo asociadas a reordenamientos genómicos, y que suelen manifestarse en forma de ataxias congénitas, con disgenesia cerebelosa y alteraciones del desarrollo<sup>33</sup>.

#### 8.4.3.1 Estudios genéticos en ataxias ligadas al cromosoma X (Figura 3)

Ante una historia familiar como la descrita anteriormente, compatible con FXTAS, debe dirigirse el estudio a estudiar la secuencia repetitiva del gen *FMR1*:

- **FXTAS** (expansión CAG gen *FMR1*).

Si ataxia congénita con disgenesia cerebelosa:

- **Primer nivel:** Cariotipo/CGH-Array.
- **Segundo nivel:** **NGS:** Panel multigénico (No deben faltar *ATP2B3*, *ABCB7*, *GJB1*, *OPHN1*, *CASK*, *SLC9A6*, *RPL10*, *SLC16A2*, *ATP6AP2*, *ABCD1*, *DKC1*, *OFD1*, *MID1*, *ZIC3*). A continuación o como alternativa según disponibilidad WES y eventualmente WGS (según disponibilidad).

Si niveles séricos elevados de ácidos grasos de cadena muy larga (AGCML)

- Estudio genético de adrenoleucodistrofia (**ALD**-gen *ABCD1*).

### 8.4.4 Ataxias mitocondriales

No es sencillo establecer la sospecha de una etiología mitocondrial en un paciente con ataxia en base a la herencia ya que estas pueden producirse tanto por mutaciones en el ADN nuclear, y tendrán por tanto una herencia dominante o recesiva, como por mutaciones en el

ADN mitocondrial (estas últimas tendrán una herencia materna). Existen datos clínicos que pueden ser muy orientadores hacia esta etiología, como la presencia de oftalmoplejia, neuropatía sensitiva, cardiopatía, epilepsia, hipoacusia, migraña, miopatía o retraso intelectual<sup>34,35</sup>. La combinación de una ataxia cerebelosa con una o varias de estas manifestaciones clínicas deben hacernos pensar en esta etiología. Los síndromes neurológicos causados por mutaciones en el ADN mitocondrial (MELAS, MERFF, síndrome de Kearns Sayre), pueden presentar ataxia entre otras manifestaciones clínicas, pero esta no suele dominar el cuadro clínico<sup>36</sup>. Por el contrario, las mutaciones en genes del ADN nuclear como *POLG1*<sup>37</sup> causan múltiples deleciones del ADN mitocondrial y dan lugar a diversos cuadros de ataxia cerebelosa que puede acompañarse característicamente de oftalmoplejia, neuropatía o incluso parkinsonismo, dando lugar a fenotipos como el SANDO (“Sensory Ataxia, Neuropathy, Dysarthria and Ophthalmoplejia”)<sup>38</sup> o el MIRAS (“*Mitochondrial Recessive Ataxia Syndrome*”). Las mutaciones en *SPG7* constituyen otra forma frecuente de ataxia mitocondrial causada por mutaciones del ADN nuclear, que secundariamente puede producir cambios en ADN mitocondrial<sup>39</sup>. Con una frecuencia mucho menor pueden encontrarse mutaciones en el gen *C10orf2* (“*Twinkle-mtDNA Helicasa*”) como causa de una forma de ataxia espinocerebelosa infantil. La realización de una biopsia muscular puede ser de utilidad ante la sospecha de una ataxia mitocondrial<sup>40</sup>. En ella pueden detectarse hallazgos como la presencia de fibras rojo rasgadas y estudiarse también la cadena respiratoria mitocondrial. De este modo podría detectarse un déficit de coenzima Q10, una de las pocas formas de ataxia que pueden beneficiarse de tratamiento. El déficit de coenzima Q10 es un trastorno genéticamente heterogéneo que puede estar causado por mutaciones en diversos genes (*PDSS1*, *PDSS2*, *COQ2*, *COQ4*, *COQ6*, *COQ7*, *COQ8A*, *COQ8B*, *COQ9*). Puede ser útil también detectar un pico de lactato en el estudio de espectroscopía en la RM, así como los niveles de lactato sérico.

#### 8.4.4.1 Estudios genéticos en ataxias mitocondriales (Figura 3)

(se incluyen aquellos dirigidos a la identificación de mutaciones tanto en el ADN nuclear como en el mtADN)

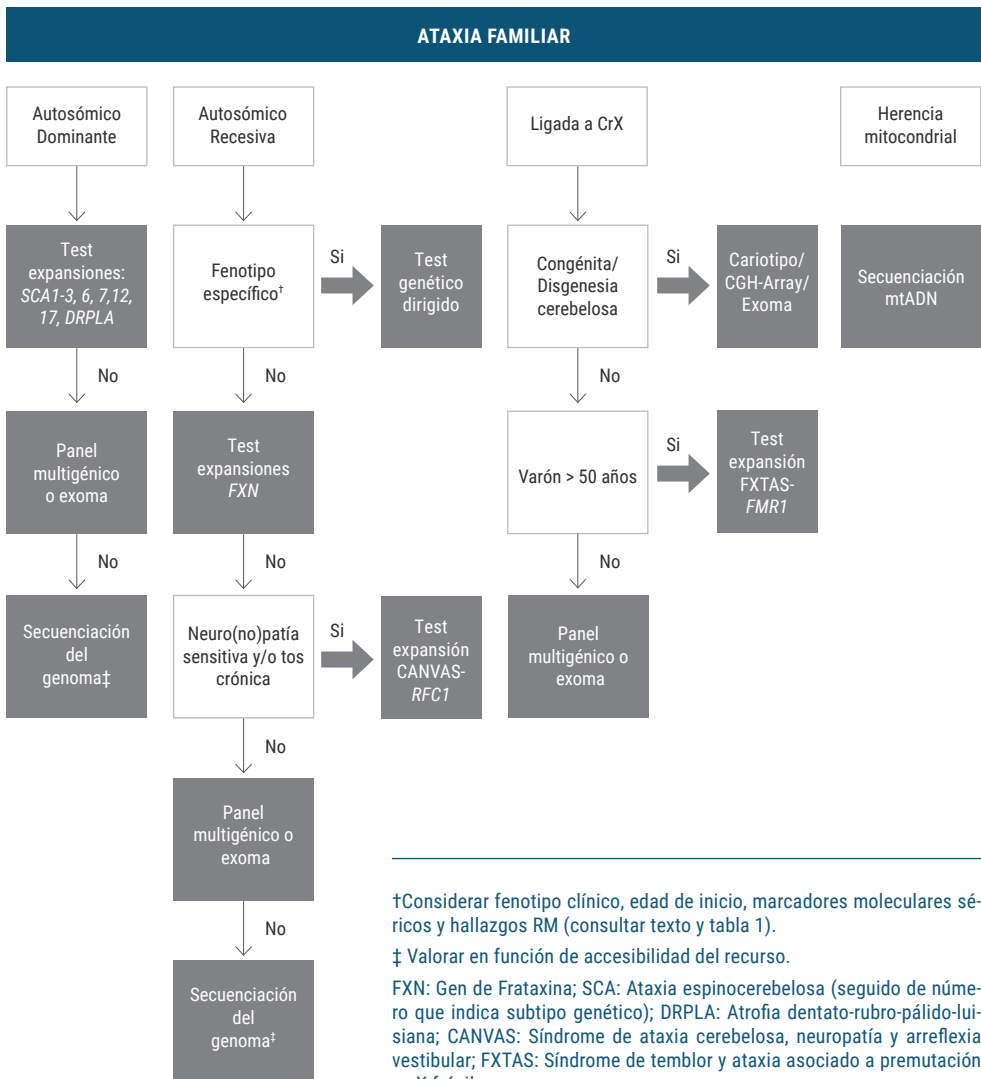
- **Primer nivel:**
  - Si fenotipo compatible: **Ataxia de Friedreich** (expansión GAA gen *FXN*).
  - Si fenotipo no compatible o *FXN* negativo: Panel multigénico (No deben faltar *POLG*, *SPG7*, *PDSS1*, *PDSS2*, *COQ2*, *COQ4*, *COQ6*, *COQ7*, *COQ8A*, *COQ8B*, *COQ9*, *C10orf2*).
- **Segundo nivel:** (o primero si fenotipo sugestivo)
  - Secuenciación **ADN mitocondrial** (MELAS, MERFF, Kearns-Sayre).
- **Tercer nivel:**
  - **NGS:** WES.



**Niveles de evidencia y grados de recomendación de los algoritmos diagnósticos propuestos:**

En todos los casos las evidencias provienen de opiniones de expertos (nivel IV)<sup>41,42</sup>, en la misma línea que las recomendaciones (Rec SEN)<sup>20</sup>.

**Figura 3.** Algoritmo test genéticos en ataxia familiar.



## 8.5 CONCLUSIONES:

Existe una enorme heterogeneidad genética así como variabilidad fenotípica en las ataxias hereditarias. En este contexto, la orientación de los test genéticos dependerá de la edad de presentación clínica, la historia familiar y el fenotipo, teniendo en cuenta además los subtipos genéticos más frecuentes en cada escenario clínico. Las expansiones de secuencias repetitivas del ADN están detrás de una proporción importante y creciente de las ataxias hereditarias y su detección a día de hoy necesita estudios dirigidos. En el resto de mutaciones las técnicas NGS tienen una rentabilidad creciente pero incluso con WES una proporción importante de ataxias genéticas quedan sin tipificar. Antes de emprender cualquier test genético debemos descartar las ataxias secundarias o adquiridas y las raras formas de ataxia genética que cuentan con un tratamiento modificador.

## BIBLIOGRAFÍA

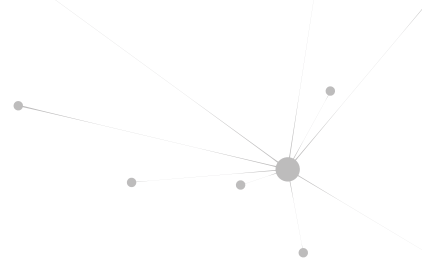
1. Manto M, Gandini J, Feil K, Strupp M. Cerebellar ataxias: an update. *Curr Opin Neurol.* 2020;33(1):150-60.
2. Valente EM, Nuovo S, Doherty D. Genetics of cerebellar disorders. *Handbook of clinical neurology.* 2018;154:267-86.
3. Parodi L, Coarelli G, Stevanin G, Brice A, Durr A. Hereditary ataxias and paraparesias: clinical and genetic update. *Curr Opin Neurol.* 2018;31(4):462-71.
4. Traschutz A, Cortese A, Reich S, Dominik N, Faber J, Jacobi H, et al. Natural History, Phenotypic Spectrum, and Discriminative Features of Multisystemic RFC1 Disease. *Neurology.* 2021;96(9):e1369-e82.
5. Bird TD. Hereditary Ataxia Overview. In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJH, Gripp KW, et al., editors. *GeneReviews((R)).* Seattle (WA)1993.
6. Coccozza S, Pontillo G, De Michele G, Di Stasi M, Guerriero E, Perillo T, et al. Conventional MRI findings in hereditary degenerative ataxias: a pictorial review. *Neuroradiology.* 2021;63(7):983-99.
7. Sun M, Johnson AK, Nelakuditi V, Guidugli L, Fischer D, Arndt K, et al. Targeted exome analysis identifies the genetic basis of disease in over 50% of patients with a wide range of ataxia-related phenotypes. *Genetics in medicine : official journal of the American College of Medical Genetics.* 2019;21(1):195-206.
8. Galatolo D, Tessa A, Filla A, Santorelli FM. Clinical application of next generation sequencing in hereditary spinocerebellar ataxia: increasing the diagnostic yield and broadening the ataxia-spasticity spectrum. A retrospective analysis. *Neurogenetics.* 2018;19(1):1-8.
9. Riso V, Rossi S, Nicoletti TF, Tessa A, Travaglini L, Zanni G, et al. Application of a Clinical Workflow May Lead to Increased Diagnostic Precision in Hereditary Spastic Paraplegias and Cerebellar Ataxias: A Single Center Experience. *Brain sciences.* 2021;11(2).
10. de Silva RN, Vallortigara J, Greenfield J, Hunt B, Giunti P, Hadjivassiliou M. Diagnosis and management of progressive ataxia in adults. *Practical neurology.* 2019;19(3):196-207.
11. Hadjivassiliou M, Martindale J, Shanmugarajah P, Grunewald RA, Sarrigiannis PG, Beauchamp N, et al. Causes of progressive cerebellar ataxia: prospective evaluation of 1500 patients. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry.* 2017;88(4):301-9.
12. Dupre M, Hermann R, Froment Tilikete C. Update on Cerebellar Ataxia with Neuropathy and Bilateral Vestibular Areflexia Syndrome (CANVAS). *Cerebellum (London, England).* 2021;20(5):687-700.
13. Cortese A, Simone R, Sullivan R, Vandrovcova J, Tariq H, Yau WY, et al. Biallelic expansion of an intronic



- repeat in RFC1 is a common cause of late-onset ataxia. *Nat Genet.* 2019;51(4):649-58.
14. Cortese A, Reilly MM, Houlden H. RFC1 CANVAS / Spectrum Disorder. In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJH, Mirzaa G, et al., editors. *GeneReviews*(R). Seattle (WA)1993.
  15. Coarelli G, Schule R, van de Warrenburg BPC, De Jonghe P, Ewenczyk C, Martinuzzi A, et al. Loss of paraplegin drives spasticity rather than ataxia in a cohort of 241 patients with SPG7. *Neurology.* 2019;92(23):e2679-e90.
  16. Ashizawa T, Oz G, Paulson HL. Spinocerebellar ataxias: prospects and challenges for therapy development. *Nature reviews Neurology.* 2018;14(10):590-605.
  17. Gilman S, Wenning GK, Low PA, Brooks DJ, Mathias CJ, Trojanowski JQ, et al. Second consensus statement on the diagnosis of multiple system atrophy. *Neurology.* 2008;71(9):670-6.
  18. Schols L, Szymanski S, Peters S, Przuntek H, Epplen JT, Hardt C, et al. Genetic background of apparently idiopathic sporadic cerebellar ataxia. *Hum Genet.* 2000;107(2):132-7.
  19. Sullivan R, Kaiyrzhanov R, Houlden H. Cerebellar ataxia, neuropathy, vestibular areflexia syndrome: genetic and clinical insights. *Curr Opin Neurol.* 2021;34(4):556-64.
  20. Brandsma R, Verschuuren-Bemelmans CC, Amrom D, Barisic N, Baxter P, Bertini E, et al. A clinical diagnostic algorithm for early onset cerebellar ataxia. *European journal of paediatric neurology : EJPN : official journal of the European Paediatric Neurology Society.* 2019;23(5):692-706.
  21. Rahman S, Copeland WC. POLG-related disorders and their neurological manifestations. *Nature reviews Neurology.* 2019;15(1):40-52.
  22. Soong BW, Morrison PJ. Spinocerebellar ataxias. *Handbook of clinical neurology.* 2018;155:143-74.
  23. Mundwiler A, Shakkottai VG. Autosomal-dominant cerebellar ataxias. *Handbook of clinical neurology.* 2018;147:173-85.
  24. Ortega Suero G, Abenza Abildua MJ, Serrano Munuera C, Rouco Axpe I, Arpa Gutierrez FJ, Adarmes Gomez AD, et al. Epidemiology of ataxia and hereditary spastic paraplegia in Spain: a cross-sectional study. *Neurologia (Engl Ed).* 2021.
  25. Garcia-Murias M, Quintans B, Arias M, Seixas AI, Cacheiro P, Tarrio R, et al. 'Costa da Morte' ataxia is spinocerebellar ataxia 36: clinical and genetic characterization. *Brain.* 2012;135(Pt 5):1423-35.
  26. Corral-Juan M, Serrano-Munuera C, Rabano A, Cota-Gonzalez D, Segarra-Roca A, Ispierto L, et al. Clinical, genetic and neuropathological characterization of spinocerebellar ataxia type 37. *Brain.* 2018;141(7):1981-97.
  27. Genis D, Ortega-Cubero S, San Nicolas H, Corral J, Gardenyes J, de Jorge L, et al. Heterozygous STUB1 mutation causes familial ataxia with cognitive affective syndrome (SCA48). *Neurology.* 2018;91(21):e1988-e98.
  28. Lv Y, Wang Z, Liu C, Cui L. Identification of a novel CACNA1A mutation in a Chinese family with autosomal recessive progressive myoclonic epilepsy. *Neuropsychiatric disease and treatment.* 2017;13:2631-6.
  29. Verdura E, Fons C, Schluter A, Ruiz M, Fourcade S, Casasnovas C, et al. Complete loss of KCNA1 activity causes neonatal epileptic encephalopathy and dyskinesia. *J Med Genet.* 2020;57(2):132-7.
  30. Novis LE, Spitz M, Jardim M, Raskin S, Teive HAG. Evidence and practices of the use of next generation sequencing in patients with undiagnosed autosomal dominant cerebellar ataxias: a review. *Arquivos de neuro-psiquiatria.* 2020;78(9):576-85.
  31. Synofzik M, Nemeth AH. Recessive ataxias. *Handbook of clinical neurology.* 2018;155:73-89.
  32. Hall DA, Berry-Kravis E. Fragile X syndrome and fragile X-associated tremor ataxia syndrome. *Handbook of clinical neurology.* 2018;147:377-91.
  33. Zanni G, Bertini E. X-linked ataxias. *Handbook of clinical neurology.* 2018;155:175-89.
  34. Finsterer J, Zarrouk-Mahjoub S. Mitochondrial multiorgan disorder syndrome score generated from definite mitochondrial disorders. *Neuropsychiatric disease and treatment.* 2017;13:2569-79.
  35. Vernon HJ, Bindoff LA. Mitochondrial ataxias. *Handbook of clinical neurology.* 2018;155:129-41.

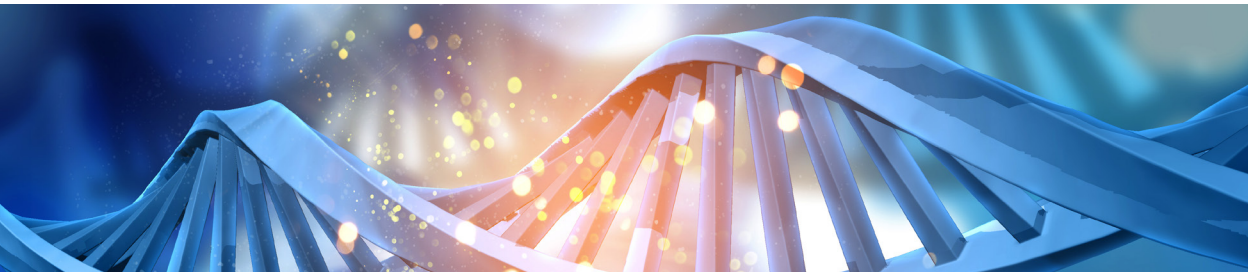
36. Set KK, Sen K, Huq AHM, Agarwal R. Mitochondrial Disorders of the Nervous System: A Review. *Clinical pediatrics*. 2019;58(4):381-94.
37. Milone M, Massie R. Polymerase gamma 1 mutations: clinical correlations. *The neurologist*. 2010;16(2):84-91.
38. Fadic R, Russell JA, Vedanarayanan VV, Lehar M, Kuncel RW, Johns DR. Sensory ataxic neuropathy as the presenting feature of a novel mitochondrial disease. *Neurology*. 1997;49(1):239-45.
39. Wedding IM, Koht J, Tran GT, Misceo D, Selmer KK, Holmgren A, et al. Spastic paraplegia type 7 is associated with multiple mitochondrial DNA deletions. *PLoS One*. 2014;9(1):e86340.
40. Bargiela D, Shanmugarajah P, Lo C, Blakely EL, Taylor RW, Horvath R, et al. Mitochondrial pathology in progressive cerebellar ataxia. *Cerebellum & ataxias*. 2015;2:16.
41. Gasser T, Finsterer J, Baets J, Van Broeckhoven C, Di Donato S, Fontaine B, et al. EFNS guidelines on the molecular diagnosis of ataxias and spastic paraplegias. *European journal of neurology*. 2010;17(2):179-88.
42. van de Warrenburg BP, van Gaalen J, Boesch S, Burgunder JM, Durr A, Giunti P, et al. EFNS/ENS Consensus on the diagnosis and management of chronic ataxias in adulthood. *European journal of neurology*. 2014;21(4):552-62.





# CAPÍTULO 9

## Estudios genéticos en Paraparesias Espásticas Hereditarias



### Autores

Astrid Daniela Adarmes Gómez<sup>1,2</sup>

Valentina Vélez-Santamaria<sup>3,4</sup>

Carlos Casasnovas<sup>2,3,4,5</sup>

### Centro

1. Unidad de Trastornos del Movimiento, Servicio de Neurología y Neurofisiología Clínica, Instituto de Biomedicina de Sevilla, Hospital Universitario Virgen del Rocío/CSIC/Universidad de Sevilla.
2. Centro de Investigación Biomédica en Red sobre Enfermedades Neurodegenerativas (CIBERNED).
3. Unidad Neuromuscular, Departamento de Neurología, Hospital Universitario de Bellvitge.
4. Grupo de Enfermedades Neurometabólicas, Instituto de Investigaciones Biomédicas de Bellvitge (IDIBELL).
5. Departamento de Ciencias Clínicas, Campus de Ciencias de la Salud de Bellvitge, Universidad de Barcelona.





## 9.1 INTRODUCCIÓN

Las paraparesias espásticas hereditarias-PEH (designadas con la abreviatura anglosajona HSP –“*hereditary spastic paraplegias*”– o SPG –“*spastic paraplegias*”–) constituyen un heterogéneo grupo de patologías heredodegenerativas. Clínicamente se caracterizan por espasticidad de predominio en miembros inferiores, y en menor medida, debilidad, alteración de la función vesical y pérdida de sensibilidad vibratoria<sup>1-4</sup>.

Clásicamente se clasifican de acuerdo a la clínica en “**puras**” o “**no complicadas**” si no asocian otros signos distintos a la clínica característica<sup>5</sup>, que consiste en debilidad, espasticidad, hipopalestesia en miembros inferiores y vejiga hipertónica y, por el contrario, se denominan “**complicadas**” aquellas que asocian un abanico de síntomas o signos diferentes a los mencionados previamente, como pueden ser: ataxia, epilepsia, déficit intelectual, parkinsonismo y neuropatía periférica, entre otros<sup>6,7</sup>. También pueden clasificarse de acuerdo al patrón de herencia, o de acuerdo a los mecanismos fisiopatológicos subyacentes (Tabla 1).

Hoy en día se considera que tanto las PEH como las ataxias cerebelosas hereditarias (AH) son la representación clínica de los extremos de un mismo espectro de enfermedades neurodegenerativas. Ambas entidades comparten mecanismos fisiopatológicos, y en estas patologías el sello característico es una degeneración predominante o bien de las neuronas de Purkinje en el caso de las ataxias, o bien de las neuronas de la vía piramidal en el caso de las paraparesias espásticas, con un amplio abanico de fenotipos intermedios<sup>8-10</sup>.

La prevalencia mundial de ambas enfermedades se estima de 1 caso/10000 habitantes<sup>11</sup>, por lo se consideran enfermedades raras. En España recientemente se ha realizado un estudio epidemiológico con datos procedentes de unidades especializadas, obteniendo una prevalencia estimada PEH de 2,24 casos/100.000 habitantes<sup>12</sup>.

En cuanto al patrón de herencia, las mutaciones causantes suelen ser de herencia autosómica, bien dominante (PEH-AD) o recesiva (PEH-AR); aunque se han descrito todos los tipos de herencia (Mendeliana y no Mendeliana) en relación con este grupo de enfermedades.

Cada día se realizan más esfuerzos en la descripción de nuevas mutaciones causativas, especialmente con el uso expandido de los estudios de nueva generación (“*Next Generation Sequencing*” (NGS)), concretamente de la secuenciación de exoma completo (“*Whole Exome Sequencing*” (WES)), y del genoma completo (“*Whole Genome Sequencing*” (WGS)). Utilizando la clasificación clásica, al momento de la publicación de esta guía, se habían identificado al menos 83 genes relacionados con las PEH, asociados a todos los

tipos de herencia<sup>6,13</sup>. Aunque las características clínicas pueden ayudar a guiar a los médicos hacia el diagnóstico correcto, el diagnóstico de las PEH depende en última instancia de las pruebas genéticas. Los estudios genéticos han mejorado con las tecnologías de NGS, aunque persisten desafíos, especialmente en los casos de expansiones de repeticiones o mutaciones puntuales en regiones intrónicas o no codificantes. Así, al tratarse de enfermedades heterogéneas tanto desde el punto de vista clínico como molecular, y con un solapamiento fenotípico entre sí, e incluso con otros cuadros neurológicos hereditarios o secundarios, el proceso diagnóstico de estos pacientes constituye un reto, persistiendo cerca del 40-50% de casos sin diagnóstico definitivo en la mayoría de las series a pesar de un estudio exhaustivo.

En la presente guía haremos uso de la clasificación tradicional con el fin de facilitar el abordaje de este tema tan extenso y esquematizar conceptos claves, sin embargo, hay que tener en cuenta que en la práctica clínica esta clasificación puede resultar arbitraria ya que constantemente surgen trabajos identificando nuevas asociaciones genotipo-fenotipo, nuevos modos de herencia y nuevos mecanismos genéticos de patogenicidad.


**Tabla 1. Clasificación de las Paraparesias Espásticas Hereditarias (PEH).**

<b>CLASIFICACIÓN DE HARDING DE ACUERDO A SIGNOS Y SÍNTOMAS (FENOTIPO)</b>	
Puro	Paraparesia espástica asociada a alteración de esfínteres y pérdida de sensibilidad profunda leve a moderada
Complicado	Paraparesia espástica asociada a otros signos neurológicos y no neurológicos
Clasificación de Harding de acuerdo a edad de inicio de la espasticidad	
PEH tipo I	Inicio temprano: < 35 años
PEH tipo II	Clásica: >35 años
<b>BASADO EN EL PATRÓN DE HERENCIA</b>	
PEH autosómica dominante	SPG3A, SPG4, SPG6, SPG8, SPG9, SPG10, SPG12, SPG13, SPG17, SPG19, SPG29, SPG31, SPG33, SPG36, SPG37, SPG38, SPG41, SPG42, SPG72, SPG73, SPG80
PEH autosómica recesiva	SPG5, SPG7, SPG11, SPG14, SPG15, SPG18, SPG20, SPG21, SPG23, SPG24, SPG25, SPG26, SPG27, SPG28, SPG30, SPG32, SPG35, SPG39, SPG43, SPG44, SPG45/SPG65, SPG46, SPG47, SPG48, SPG49, SPG50, SPG51, SPG52, SPG53, SPG54, SPG55, SPG56, SPG57, SPG58, SPG59, SPG60, SPG61, SPG62, SPG63, SPG64, SPG66, SPG67, SPG68, SPG69, SPG70, SPG71, SPG72, SPG74, SPG75, SPG76, SPG77, SPG78, SPG79
Ligado a cromosoma X	SPG1, SPG2, SPG16, SPG22, SPG34
Herencia mitocondrial	MT-ATP6, MT-TI, MT-CO3, MT-ND4
<b>BASADA EN MECANISMOS FISIOPATOLÓGICOS INTRACELULARES</b>	
Relacionado con tráfico de membranas y la morfogénesis y/o distribución de organelas	SPG3A, SPG4, SPG6, SPG11, SPG15, SPG18, SPG20, SPG31, SPG59, SPG60, SPG61, SPG62, SPG69, SPG72
Transporte axonal	SPG4, SPG10, SPG30, SPG58
Disfunción mitocondrial	SPG7, SPG20, SPG31
Alteraciones del metabolismo lipídico	SPG5, SPG26, SPG28, SPG35, SPG39, SPG46, SPG54, SPG56
Alteraciones de la mielinización	SPG1, SPG2, SPG39, SPG42, SPG67

Fuente: Sgobbi De Souza et al.<sup>(6)</sup>, actualizada con datos provenientes de Online Mendelian Inheritance of Men (OMIM).

## 9.2 CONSIDERACIONES GENERALES DE LAS PEH

### 9.2.1 Evolución de la genética en PEH

Esquemáticamente, la evolución de los estudios genéticos en las PEH está muy ligada al avance en la genética de las AH y se puede dividir en 3 periodos: secuenciación por Sanger, periodo de transición, y era de NGS<sup>14</sup>.

En el primer período, a principios de la década de 1990 fueron identificados numerosos locus y genes causantes de enfermedad gracias a la Clonación Posicional, combinada con el Análisis de Ligamiento Genético y la Secuenciación de ADN Capilar (Secuenciación Sanger). Estos métodos representaron un hito en la genética de las AH, las PEH y otras enfermedades neurológicas, ya que permitieron la identificación de varias expansiones patológicas de trinucleótidos que explican la mayoría de las ataxias cerebelosas autosómicas dominantes, así como de la expansión patológica del trinucleótido GAA en el gen *FXN* asociado con ataxia de Friedreich, y de las mutaciones y principales reordenamientos localizados en el gen *SPAST* en asociación con PEH pura SPG4.

Los estudios de cribado molecular en grandes cohortes de pacientes con AH/PEH indicaron que tales etiologías genéticas (como SPG4 en el caso de PEH) podrían representar no más del 30-50% de los casos familiares, con una prevalencia distinta en las diversas poblaciones<sup>15-17</sup>. En los años siguientes, la identificación de nuevos genes asociados a AH/PEH confirmó su amplia heterogeneidad genética. Por lo tanto, el uso de la detección de genes individuales requirió actualizaciones constantes de los algoritmos de diagnóstico aplicados y, finalmente, se volvió lento, costoso y aplicable solo en unos pocos centros de investigación.

A partir del año 2000 se empezaron a usar los estudios de NGS permitiendo descubrir nuevos genes implicados. La pendiente de la curva en el descubrimiento de nuevos genes en estas enfermedades cambió drásticamente desde 2009, cuando esta técnica estuvo disponible en la mayoría de países: el 47,3% de los genes incluidos en el espectro de AH/PEH se han descubierto utilizando enfoques basados en NGS<sup>18</sup>. Durante la década de los 2000 se continuaban realizando estudios de análisis de ligamiento en familias concretas para la identificación de genes causales, por lo que en esta etapa “de transición” se solaparon ambas aproximaciones. A partir del 2013, el uso de la NGS comienza a generalizarse en el ámbito clínico gracias a una mayor disponibilidad y reducción del costo económico y humano de las técnicas, lo que ha permitido el estudio de familias y cohortes de forma más ágil.



Posiblemente en casos concretos siga siendo relevante el uso combinado de estrategias en la búsqueda de nuevos genes causales<sup>18</sup>, como se ha demostrado con el uso de la combinación del Análisis de Ligamiento Genético y la Secuenciación del Genoma Completo de lectura corta ("*short-read*"-WGS) para identificar expansiones en *DAB1*<sup>19</sup> y *RFC1*<sup>20</sup>, que causan la SCA37 y el espectro CANVAS respectivamente.

### **9.2.1.1 Técnicas de NGS en PEH**

Como se ha comentado en el capítulo 3 de este manual, las técnicas de NGS han revolucionado la genética médica, permitiendo realizar pruebas de genes utilizando tres enfoques principales: (a) paneles de secuenciación dirigidos ("*target sequencing*" (TS)), (b) WES, y (c) WGS, la técnica más integral, esta última capaz de detectar mutaciones en regiones codificantes y no codificantes y también variaciones en el número de copias (CNV)<sup>14,21</sup>.

El volumen de datos generados por NGS también representa un recurso importante para conocer las bases moleculares de la neurodegeneración. Algunas revisiones, con las AH y PEH utilizadas como paradigma, han demostrado que casi la mitad de los genes de ataxia conocidos aparentemente no relacionados entre sí, pertenecen a una gran red de interacción de proteínas<sup>22,23</sup>. Esta evidencia ha permitido definir procesos celulares comunes, y nuevos genes interactuantes que podrían actuar como modificadores de la enfermedad o estar involucrados en síndromes aún no caracterizados<sup>23</sup>. A pesar de estos avances en los estudios genéticos, actualmente persiste un porcentaje de pacientes sin diagnóstico molecular que se acerca al 50%, y el estudio de estos pacientes sigue siendo complejo, por lo que consideramos que protocolizar la aproximación diagnóstica desde el punto de vista molecular, rentabilizaría las pruebas y haría el proceso más eficiente.

### **9.2.2 Aspectos generales de diagnóstico en PEH**

En un paciente valorado por clínica de paraparesia espástica progresiva, la exploración clínica y otros datos de la anamnesis determinarán si el fenotipo es "puro" o "complicado". Por ello la historia clínica no debe ser restringida a paraparesia espástica sino también a otros problemas neurológicos y no neurológicos (por ejemplo, otros trastornos del movimiento, ataxia cerebelosa, neuropatía periférica, epilepsia, retraso mental, sordera, anomalías esqueléticas, discapacidad visual, deterioro cognitivo, etc.). Del mismo modo, la exploración debe utilizarse también para identificar estos signos, ya que podrían ayudar a estrechar el diagnóstico diferencial y enfocar el caso (por ejemplo, atrofia óptica, anomalías retinianas, lesiones cutáneas, motilidad ocular, amiotrofia, signos dismórficos, etc.) Por otro lado, indagaremos acerca de la historia familiar para conocer si el cuadro

tiene una segregación que oriente a una forma de herencia autosómica dominante, recesiva (indicada por la presencia de antecedentes de consanguinidad, con pocos miembros afectados, y la presencia de fenotipos complicados, entre otros) o ligada a X.

En el caso de las PEH, las pruebas complementarias nos ayudarán principalmente al diagnóstico diferencial, e incluirán en todos los casos una resonancia magnética de neuroeje completa (una afección medular podría simular un fenotipo “puro”), análisis de sangre, orina, líquido cefalorraquídeo, y/o estudios electrofisiológicos, entre otras<sup>24</sup>. El diagnóstico diferencial con causas adquiridas es principalmente relevante ante la ausencia de antecedentes familiares, es decir en las PEH esporádicas, y se explicará con mayor profundidad en el apartado correspondiente.

### 9.3 GENÉTICA DE LAS PEH

Actualmente se conocen 83 *loci* asociados<sup>13</sup>.

#### 9.3.1 Genética de las PEH Autosómicas Dominantes (PEH-AD)

Dentro del grupo de las PEH las formas más frecuentes son las formas puras asociadas a un modo de herencia autosómico dominante, que suelen tener inicio entre la segunda y tercera década, aunque también pueden presentarse en edades pediátricas (especialmente SPG3A), o en edades adultas tardías.

- El tipo más frecuente de paraparesia en este grupo es la **PEH Tipo 4 (SPG4)**, causada por mutaciones en el gen *SPAST*, que explica cerca de un tercio de los casos de PEH en general, un 50% de las PEH-AD, y 15% de los casos esporádicos<sup>25,26</sup>. El 50% de los casos es debido a mutaciones puntuales, mientras que el 50% restante se produce por grandes deleciones<sup>27</sup>, por lo que requerirán estudios de MLPA (“*Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification*”) o de PCR cuantitativa para ser diagnosticados.
- Como segundo tipo más frecuente de PEH-AD, a nivel global, encontramos a SPG3A, causada por mutaciones en el gen *ATL1*, correspondiendo al 2-3% de los casos de PEH, y el 8-10% de los casos de PHE-AD<sup>4,28</sup>. En este gen también se han descrito grandes reordenamientos, aunque en un porcentaje mucho menor que en *SPAST*, siendo las mutaciones puntuales de tipo “*missense*” el mecanismo más frecuente de mutagénesis. Ambos genes (*SPAST*, *ATL1*) pueden tener presentaciones de fenotipo complejo, aunque predomina la clínica de paraparesia espástica pura.





- Otros genes a destacar en este grupo que pueden considerarse relativamente frecuentes son *KIF5A* y *REEP1* relacionados con SPG10 y SPG31 respectivamente; pueden manifestarse como un cuadro de paraparesia espástica pura o bien tener una presentación clínica de paraparesia espástica complicada, asociada en el caso de SPG10 a neuropatía, parkinsonismo, ataxia cerebelosa y/o deterioro cognitivo, y en el caso de SPG31 a neuropatía periférica fundamentalmente. Podemos encontrar un resumen de las principales PEH-AD en la [tabla 2](#).

En el estudio transversal de prevalencia de AH y PEH en España<sup>12</sup>, se observó que las PEH dominantes más frecuentes en España fueron SPG4, seguida de SPG17 y SPG10 por encima de la SPG3, por lo que debemos también tener en cuenta estos subtipos, destacando que SPG17 suele tener inicio en la edad adulta, y aunque puede tener un fenotipo puro, en muchos casos asocia otros signos siendo predominante la amiotrofia distal, especialmente en manos en eminencia tenar y primer interóseo dorsal unilateral<sup>29</sup>.

A diferencia de otras enfermedades, en el caso de las PEH el estudio secuencial de genes concretos no se considera costo efectivo pues alarga la odisea diagnóstica dada su gran heterogeneidad genética. Con estos datos, proponemos 3 niveles de estudio en la genética de las PEH-AD ([Figura1](#)):

- **Primer nivel:** Panel genético (TS) de PEH de herencia AD, que incluya al menos los genes *SPAST*, *ATL1*, y *NIPA1*, *WASHC5*, *ALDH18A1*, *KIF5A*, *RTN2*, *HSP60*, *REEP1*, *ZFYVE27*, *ERLIN2*, *SLC33A1*, *REEP2*, *CPT1C*, *UBAP1*, en los casos de fenotipo puro, y *SPAST*, *ATL1*, *NIPA1*, *WASHC5*, *ALDH18A1*, *BSCL2*, *KIF5A*, *RTN2*, *HSP60*, *KIF1A*, *REEP1*, *ZFYVE27*, *ERLIN2*, *SLC33A1*, *REEP2*, *CPT1C*, *UBAP1* en los casos de fenotipo complicado.
- **Segundo nivel:** *Añadir* secuenciación por MLPA para buscar CVN en aquellos genes en los que este tipo de mutaciones han sido descritos con frecuencia como causa de enfermedad (*SPAST*, *ATL1* y *REEP1*).
- **Tercer nivel:** si tras los 2 estudios previos no se identifica genes causales, se plantea solicitar estudio de WES. En casos en los que el WES sea negativo, según disponibilidad, se podría realizar WGS.
- **Opcional:** Si existen signos de afectación cerebelosa, aunque predomine la clínica piramidal, valorar estudio de Ataxias Espinocerebelosas. En casos de distonía asociada estudiar distonía que responde a levodopa.

**Tabla 2. Principales Paraparesias Espásticas Hereditarias autosómicas dominantes.**

LOCUS	CROMOSOMA	GEN/PROTEÍNA	EDAD DE INICIO	FENOTIPO CLÍNICO
SPG3	14q	<i>ATL1/Atlastina</i>	Media de 6 años, aunque posible casos de inicio adulto.	Puro predominantemente, aunque se han descrito otros signos como escoliosis, atrofia óptica, déficit intelectual leve.
SPG4	2p	<i>SPAST/Espastina</i>	3ª-4ª década	Predominantemente puro, aunque se han descrito otros síntomas como deterioro cognitivo o temblor cefálico.
SPG6	15q	<i>NIPA1</i>	1ª a 4ª década	Predominantemente puro, aunque se han descrito casos con crisis generalizadas, o temblor cefálico.
SPG8	8q	<i>WASHC5/Strümpellina</i>	22-60 años	Predominantemente puro.
SPG9	10q	<i>ALDH18A1</i>	Infancia a 4ª década	Puro o asociado a disartria, y neuropatía motora (ELA like). Eventualmente estatura baja y cataratas.
SPG10	12q	<i>KIF5A</i>	1ª a 4ª década	Predominantemente puro, aunque se ha descrito asociado parkinsonismo, neuropatía axonal sensitivo-motora, deterioro cognitivo.
SPG12	19q	<i>RTN2</i>	1ª a 4ª década	Predominantemente puro.
SPG13	2q	<i>HSP60</i>	2ª a 7ª década	Predominantemente puro.
SPG17	11q	<i>BSCL2</i>	1ª a 4ª década	Predominantemente puro, con amiotrofia tenar de manos.
SPG31	2p	<i>REEP1</i>	1ª a 3ª década	Predominantemente puro.
SPG37	2p	<i>ERLIN2</i>	1ª a 6ª década	Predominantemente puro.
SPG42	3q	<i>SLC33A1</i>	1ª a 4ª década	Predominantemente puro.
SPG72	5q	<i>REEP2</i>	1ª década	Puro.
SPG73	19q	<i>CPT1C</i>	2ª a 4ª década	Predominantemente puro.

Los datos expuestos en esta tabla han sido extraídos de Online Mendelian Inheritance of Men (OMIM) y distintas revisiones<sup>6,24,30,41</sup>.



### 9.3.2 Genética de las PEH Autosómicas Recesivas (PEH-AR)

Las formas de PEH con herencia recesiva, aunque menos frecuentes, representan el grupo con mayor crecimiento tras la aparición de nuevos genes, son más frecuentes en familias con antecedentes de consanguinidad y en poblaciones no europeas (Tabla 3).

Las PEH-AR son muy heterogéneas y frecuentemente presentan gran variabilidad fenotípica, que puede expresarse como Charcot-Marie-Tooth (CMT) o variantes de enfermedad de neurona motora<sup>30</sup>, por lo que orientar el estudio basado en el fenotipo clínico es difícil, no obstante, algunos marcadores suelen asociarse tradicionalmente a algún gen particular, como la atrofia del cuerpo caloso a SPG11 (la más frecuente entre las PEH-AR).

SPG7 por su parte, puede explicar hasta el 8% de los casos de PEH-AR y hasta el 4% de los casos esporádicos, con un fenotipo complejo variable, aunque la asociación de signos cerebelosos es frecuente. De hecho, se recoge como la primera causa de PEH-AR en España en el Mapa Epidemiológico Transversal<sup>12</sup>, seguida de SPG11 y SPG5. Aunque inicialmente sólo se describió segregada mediante herencia autosómica recesiva, varios estudios, entre ellos uno en el que se valora una cohorte española, han demostrado la posibilidad de desarrollar manifestaciones clínicas con mutaciones en heterocigosis, segregada mediante herencia autosómica dominante. En estos casos se ha observado un inicio muy tardío con neuropatía axonal y discreta atrofia cerebelosa en RM de cráneo<sup>31,32</sup>. Se debe también tener en cuenta que se han descrito grandes deleciones en pacientes con heterocigosis compuesta, por lo que debe buscarse activamente una segunda mutación mediante técnicas de dosis génicas en casos donde se identifica una sola mutación.

De igual forma que para el apartado anterior, recomendamos 3 niveles de estudio en la genética de las PEH-AR (Figura1):

- **Primer nivel:** Panel genético (TS) de paraparesias espásticas hereditarias de herencia AR, si el fenotipo es puro debería estudiar al menos: *SPG11*, *SPG7*, *CYP7B1*, *KIF1A*, *FA2H*, *KIAA0415/AP5Z1*, *ERLIN1*, *REEP2* y si el fenotipo es complicado debería incluir al menos *SPG11*, *SPG7*, *Erlin2*, *KIAA0610*, *ACP33*, *KIF1A*, *FA2H*, *C19orf12*, *GJA2/GJC2*, *GBA2*, *AP4B1*, *AP4E1*, *AP4S1*, *DDHD2*, *TFG*, *ARL6IP1*, *KLC2*.
- **Segundo nivel:** Teniendo en cuenta que el gen *SPG11* puede tener un 10% de mutaciones por reordenamiento, se recomienda su estudio también mediante técnicas que valoren CNV.

- **Tercer nivel:** si tras los 2 estudios previos no se identifican genes causales, se plantea solicitar estudio de WES. En casos en los que el WES sea negativo, según disponibilidad, se podría realizar WGS.
- **Opcional:** De acuerdo al fenotipo, estudiar enfermedades neurohereditarias tratables que frecuentemente se superponen con las PEH (déficit de arginasa, xantomatosis cerebrotendinosa, fenilcetonuria, déficit de biotinidasa, entre otras).

**Tabla 3. Principales Paraparesias Espásticas Hereditarias autosómicas recesivas.**

LOCUS	CROMOSOMA	GEN/PROTEÍNA	EDAD DE INICIO	FENOTIPO CLÍNICO
SPG5	8q	<i>CYP7B1</i>	1-40 años	Puro, aunque con signos cerebelosos tras años de evolución.
SPG7	16q	<i>SPG7</i> (paraplegina)	11-42 años	Neuropatía, atrofia óptica, atrofia cerebelosa con o sin signos cerebelosos asociados.
SPG11	15q	<i>SPG11</i>	1-27 años	Déficit intelectual con atrofia de cuerpo calloso, frecuentemente asocia neuropatía, signos cerebelosos leves, atrofia cerebelosa, e hiperintensidades en sustancia blanca (orejas de lince).
SPG14	3q	Desconocido	Adulto	Neuropatía motora distal, déficit intelectual, agnosia visual.
SPG15	14q	<i>ZFYVE26</i> (espastizina)	13-23 años	Déficit cognitivo, +/- signos cerebelosos leves, atrofia de cuerpo calloso, hiperintensidades de sustancia blanca, maculopatía (síndrome de Kjellin).
SPG18	8p	<i>Erlin2</i>	1-7 años	Déficit intelectual, epilepsia, +/- atrofia de cuerpo calloso.
SPG20	13q	<i>KIAA0610</i> (espartina)	Infancia temprana	Déficit intelectual, signos cerebelosos, retraso psicomotor y baja estatura, atrofia muscular distal (síndrome de Troyer).
SPG21	15q	<i>ACP33</i> (maspardina)	20-40 años	Signos extrapiramidales, demencia presenil, signos cerebelosos, neuropatía, amiotrofia distal, atrofia de cuerpo calloso, hiperintensidad de sustancia blanca (Síndrome de Mast).
SPG23	1q	Desconocido	Infancia temprana	Anormalidades en la pigmentación de piel y cabello, dismorfia. (Síndrome de Lison).

(Continúa en la página siguiente)



(Continuación Tabla 3)

SPG24	13q	Desconocido	Infancia temprana	Pura.
SPG25	6q	Desconocido	30-46 años	Prolapso de discos intervertebrales, cataratas, glaucoma.
SPGS26	12cen	<i>B4GALNT1</i>	Infancia	Déficit intelectual, amiotrofia distal, signos cerebelosos, catarata, neuropatía, infertilidad masculina.
SPG27	10q	Desconocido	Variable	Ataxia cerebelosa, neuropatía, déficit intelectual, dismorfia facial y esquelética.
SPG28	14q	<i>DDHD1</i>	6-15 años	Puro.
LOCUS	CROMOSOMA	GEN/PROTEÍNA	EDAD DE INICIO	FENOTIPO CLÍNICO
SPG30	2q	<i>KIF1A</i>	12-21 años	Puro o con síntomas cerebelosos aislados.
SPG32	14q	Desconocido	Infancia	Déficit intelectual, adelgazamiento del cuerpo calloso, atrofia cerebral y cerebelosa.
SPG35	16q	<i>FA2H</i>	4-11 años	Déficit intelectual, crisis, distonía, signos cerebelosos, leucodistrofia, adelgazamiento del cuerpo calloso, acúmulo de hierro.
SPG39	19q	<i>PNPLA6/NTE</i>	Infancia	Axonopatía motora, amiotrofia distal, signos cerebelosos, hipogonadismo.
SPG43	19p	<i>C19orf12</i>	7-12 años	Marcada amiotrofia, variante alélica de neurodegeneración por acúmulo de hierro.
SPG44	1q	<i>GJA2/GJC2</i>	Infancia	Ataxia cerebelosa, déficit intelectual, leucoencefalopatía.
SPG46	2p	<i>GBA2</i>	Infancia	Signos cerebelosos, cataratas, déficit intelectual, adelgazamiento del cuerpo calloso.
SPG48	19p	<i>KIAA0415/AP5Z1</i>	Inicio tardío	Puro.
SPG52	14q	<i>AP4S1</i>	< 2 años	Déficit intelectual, epilepsia, distonía, adelgazamiento del cuerpo calloso, estatura baja.
SPG54	8p	<i>DDHD2</i>	0-6 años	Déficit intelectual, estatura baja, adelgazamiento del cuerpo calloso.

 Los datos expuestos en esta tabla han sido extraídos de Online Mendelian Inheritance of Men (OMIM) y distintas revisiones<sup>6,24,30,41</sup>.

### 9.3.3 Genética de las PEH Ligadas al Cromosoma X, PEH de Herencia Mitocondrial.

Las formas de herencia ligada al cromosoma X son raras y a día de hoy se han descrito cinco tipos de PEH asociados a este patrón<sup>2,4</sup>. El patrón de herencia mitocondrial es extremadamente raro y todos los casos se presentan bajo una forma “complicada” con múltiples signos y síntomas que siguieren la presencia de una patología del espectro de las enfermedades mitocondriales<sup>33</sup>.

En toda familia sin historia de transmisión hombre-hombre se debe considerar la adrenoleucodistrofia y solicitar del perfil de ácidos grasos de cadena muy larga.

Dada la extrema rareza de estos casos, recomendamos el estudio por los siguientes niveles (Figura1):

- **Primer nivel:** Panel genético (TS) de paraparesias espásticas hereditarias AD y AR.
- **Segundo nivel:** si tras los 2 estudios previos no se identifican genes causales, se plantea solicitar estudio de WES, incluyendo estudio de adrenoleucodistrofia ligada a X. En casos en los que el WES sea negativo, según disponibilidad, se podría realizar WGS.

## 9.4 CASOS ESPORÁDICOS DE PARAPARESIA ESPÁSTICA

Como se mencionó anteriormente, en las PEH esporádicas es especialmente útil el despistaje de causas adquiridas.

En un primer nivel, realizaremos RM de cráneo y columna completa y un estudio completo de sangre con autoinmunidad, marcadores tumorales, niveles de vitaminas, serología de T. pallidum y estudio neurofisiológico con estudios de conducción nerviosa y electromiografía, para buscar neuropatía periférica o enfermedad de motoneurona. En función de los hallazgos encontrados en la RM, la edad de inicio y la clínica asociada debemos determinar si son convenientes las siguientes pruebas:

- Potenciales evocados visuales (PEV) o somestésicos (PESS) de acuerdo a signos clínicos, o si existen dudas de compromiso de alguna de estas vías.
- Líquido cefalorraquídeo para descartar infecciones crónicas (como neurosífilis y neuroborreliosis) y afectación desmielinizante (por ejemplo, esclerosis múltiple primaria progresiva o una presentación atípica de neuromielitis óptica).



- Anticuerpos contra acuaporina-4 para excluir presentaciones atípicas de neuromielitis óptica.
- Ácidos grasos de cadena larga y muy larga C22-26 para excluir la adrenoleucodistrofia, en caso de lesiones compatibles en RM.
- Serología para HTLV-1 para excluir paraparesia espástica tropical, y VIH.
- Niveles de cobre.
- AngioRM de la médula espinal para buscar fístula arteriovenosa dural, en presentaciones agudas o subagudas.
- Valoración oftalmológica.

Si tras este estudio se excluyen causas secundarias, sospecharemos un origen genético. Los casos esporádicos deben estudiarse con especial cuidado ya que en un proporción significativa el diagnóstico puede estar relacionado con una causa genética aunque la historia familiar sea negativa, como resultado de penetrancia incompleta, o de personas afectas que aún no han manifestado síntomas, o la posibilidad de mutaciones *de novo*.

Algunos signos clínicos o radiológicos que pueden ser orientativos en el diagnóstico diferencial de las PEH se recogen en la [tabla 4](#), no obstante, insistimos en lo dinámico de la asociación fenotipo-genotipo con el conocimiento científico creciente.

En forma de resumen, planteamos 3 niveles de estudio en estos casos ([Figura1](#)):

- **Primer nivel:** Panel genético (TS) de paraparesias espásticas hereditarias que incluya tanto genes de herencia AD como AR. Tener en cuenta signos destacados del fenotipo que puedan orientar a un grupo de genes concretos, para asegurar su inclusión en dicho panel.
- **Segundo nivel:** Estudio de SPG4 y SPG3 (*SPAST* y *ATL1*), mediante técnicas para valorar CNV.
- **Tercer nivel:** si tras los 2 estudios previos no se identifica genes causales, se plantea solicitar estudio de WES.

**Tabla 4. Parámetros clínicos y de neuroimagen en el proceso de diagnóstico diferencial de la Paraparesia Espástica Hereditaria.**

PEH de inicio muy temprano (neonatal o infancia temprana).	SPG1, SPG2, SPG3A*, SPG4*, SPG16, SPG22, SPG24, SPG45/, SPG65, SPG47, SPG50, SPG51, SPG52, SPG60, SPG61, SPG63, SPG66, SPG69, SPG70, SPG71, SPG72, <i>IAHSP, BICD2, CCT5, RNASEH2B, FARS2</i>
PEH de inicio temprano (juvenil o infancia tardía).	SPG3A, SPG4, SPG5A, SPG6, SPG9A, SPG10, SPG12, SPG13, SPG14*, SPG17, SPG18, SPG20, SPG21*, SPG22, SPG23, SPG24, SPG26, SPG28, SPG29, SPG30, SPG31, SPG32, SPG34, SPG35, SPG37*, SPG39, SPG42, SPG43, SPG44, SPG45/, SPG65, SPG46, SPG47, SPG49, SPG53, SPG54, SPG55, SPG56, SPG57, SPG58, SPG59, SPG60, SPG61, SPG62, SPG63, SPG64, SPG65, SPG66, SPG67, SPG68, SPG69, SPG70, SPG71, SPG72, SPG74, <i>CPSQ-I, CCT5, FAM134B, EXOSC3, IFIH1, ADAR1, KLC4, PMCA4, TUBB4A, FARS2, DNM2, MT-CO3</i>
Leucodistrofia.	SPG4*, SPG5A*, SPG7, SPG9B*, SPG11, SPG15*, SPG20, SPG35, SPG45/SPG65, SPG47, SPG50, SPG51, SPG54, SPG56, SPG58, SPG63, SPG64*, <i>RNASEH2B, KLC4, ABCD1</i> (ligado a X)
Hipomielinización.	SPG2, SPG22, SPG44, SPG67, TUBB4A
Adelgazamiento del cuerpo caloso (incluyendo agenesis, hipoplasia o disgenesia).	SPG1, SPG3A*, SPG4*, SPG9B*, SPG11, SPG15, SPG21, SPG32, SPG35, SPG44, SPG45/SPG65, SPG47, SPG49, SPG50, SPG54, SPG55, SPG56, SPG63, SPG66, SPG67, SPG71, <i>KLC4</i>
Orejas de lince (hiperintensidades en secuencias de TR largo a nivel del fórceps menor anterior de cuerpo caloso).	SPG11
Alteraciones en ganglios basales.	SPG35, SPG43* (depósito de hierro); SPG56 (calcificación), <i>MT-CO3</i> (Leigh-like)
PEH y epilepsia.	SPG2, SPG3A, SPG4, SPG6, SPG11, SPG15, SPG18, SPG35*, SPG44*, SPG47*, SPG49*, SPG50, SPG51*, <i>CPSQ-I*</i>
PEH y neuropatía.	SPG2, SPG3A, SPG4*, SPG6, SPG7, SPG10, SPG11, SPG15, SPG17, SPG19*, SPG21, SPG23, SPG25, SPG26, SPG27, SPG30, SPG31, SPG36, SPG39*, SPG43, SPG55, SPG56, SPG57, SPG60, SPG61, SPG66, SPG68, SPG74, SPG75, <i>CCT5, FAM134B, LYST, MT-ATP6</i>
PEH y trastornos del movimiento.	SPG9B, SPG10, SPG11, SPG15*, SPG20*, SPG21, SPG22, SPG26, SPG35, SPG44, SPG47*, SPG53, SPG56, SPG58, SPG67
PEH y ataxia cerebelosa.	SPG2*, SPG4, SPG5A*, SPG6*, SPG7, SPG9A*, SPG10, SPG15, SPG20, SPG21, SPG22, SPG26, SPG30, SPG31, SPG35, SPG44, SPG46, SPG49, SPG50, SPG58, SPG62, <i>EXOSC3, LYST, GRID2, MAG, TUBB4A, MT-TI</i>

(Continúa en la página siguiente)





(Continuación Tabla 4)

PEH y déficit intelectual variable.	SPG1, SPG2, SPG3A, SPG4, SPG7, SPG9B, SPG10, SPG11, SPG14, SPG15, SPG16, SPG18, SPG20, SPG21, SPG22, SPG23, SPG26, SPG31, SPG32, SPG35, SPG44, SPG45/SPG65, SPG46, SPG47, SPG49, SPG50, SPG51, SPG52, SPG53, SPG54, SPG55, SPG56, SPG58, SPG59, SPG60*, SPG61, SPG62, SPG64, SPG66, SPG69, <i>CPSQ-I</i> , <i>EXOSC3</i> , <i>MAG</i> , <i>MT-CO3</i> , <i>MT-TI</i>
PEH y atrofia óptica (o cambios retinianos)	SPG2, SPG3A*, SPG5A*, SPG7, SPG11, SPG15, SPG16*, SPG35, SPG43, SPG45/SPG65, SPG54, SPG55, SPG57, SPG68, SPG74, <i>MT-ND4</i>
PEH y oftalmoparesia	SPG7, SPG35*, <i>MT-CO3</i> , <i>MT-TI</i>
PEH y cataratas	SPG9A, SPG26, SPG46, SPG69
PEH y lesiones dermatológicas	SPG23, SPG53*, <i>IFIH1</i>

\*El parámetro indicado se ha descrito raramente en este subtipo de PEH.

Fuente: Sgobbi De Souza et al.<sup>6</sup>

## 9.5 INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS DE ESTUDIO DE NGS EN PEH

Tan importante como seleccionar adecuadamente a los candidatos para estudios genéticos con técnicas de NGS, es saber interpretar los datos obtenidos de los mismos. Tras un estudio de NGS se evaluarán las variantes detectadas clasificándolas en: Benignas, Probablemente Benignas, VUS, Probablemente Patogénicas y Patogénicas, de acuerdo a las recomendaciones del American College of Medical Genetics and Genomics<sup>34</sup> y la Association for Molecular Pathology<sup>35</sup>.

Tras este análisis, podemos encontrarnos con varios escenarios:

- Obtener un diagnóstico molecular definitivo ante el hallazgo de una variante o variantes previamente identificada(s) como Patogénica(s) o Probablemente Patogénica(s) asociada al fenotipo y modo de herencia encontrado en nuestro paciente.
- En el segundo escenario, que suele ser frecuente, obtendremos resultados no concluyentes, bien porque se identifica una sola variante Patogénica o Probablemente patogénica en un gen cuyo único modo de herencia descrito hasta ahora es autosómico recesivo, o bien porque se identifica una VUS. En estos casos, tras valorar la posible relación con el fenotipo y el patrón de herencia, podríamos plantearnos realizar estudios mediante otras técnicas en las que podamos descartar una segunda mutación,

de tipo gran delección o duplicación, o mutaciones intrónicas profundas, o, en el caso de las VUS, además del cribado *in silico* en grandes bases de datos de controles, plantear secuenciación adicional de padres y/o hermanos afectos y no afectos para valorar segregación con la enfermedad e interpretar los cambios encontrados. Para información adicional sobre el estudio de las VUS, véase el [capítulo 2](#).

Si tras los estudios previos seguimos sin poder llegar a un diagnóstico, habría que reevaluar los resultados del WES tras al menos 2 años, para interrogar nuevos genes asociados al fenotipo. Se ha descrito que el aumento acumulativo de 5 años en la tasa de éxito del diagnóstico en el reanálisis de datos del WES varía del 12 al 22%<sup>36-38</sup>.

#### **Niveles de evidencia y grados de recomendación de los algoritmos diagnósticos propuestos:**

Estas recomendaciones, en ausencia de estudios prospectivos en este campo, provienen de diversas opiniones de expertos (nivel de evidencia IV)<sup>24,39,40</sup> y han sido elaboradas teniendo en cuenta el estado del arte del diagnóstico genético en la mayor parte del territorio español, por lo que en algunos casos podrían requerir una adaptación al contexto clínico específico de cada hospital. Así, alcanzaría el grado de recomendación según el consenso de expertos (Rec SEN).

## **9.6 CONCLUSIONES**

Las PEH son un grupo de enfermedades degenerativas heterogéneas tanto clínica como genéticamente. El uso de las técnicas de NGS para la identificación de nuevos genes y su aplicación en el ámbito clínico es cada día más generalizado, por lo que actualmente el estudio de paneles de genes se considera la aproximación inicial más eficaz para este grupo de enfermedades. El análisis de variantes estructurales es recomendable (estudio de SPG4 y SPG3 en casos de herencia AD, así como SPG7 y SPG11 en casos AR). En todos los casos, de ser factible, se recomendará como segunda o tercera línea el realizar un WES, dado el abaratamiento de este tipo de estudios, brindando la posibilidad de encontrar variantes no descritas, o genes no asociados al fenotipo hasta la actualidad, y con la ventaja de la posibilidad de reanálisis en estancias posteriores en estudios negativos.



## BILBIOGRAFÍA

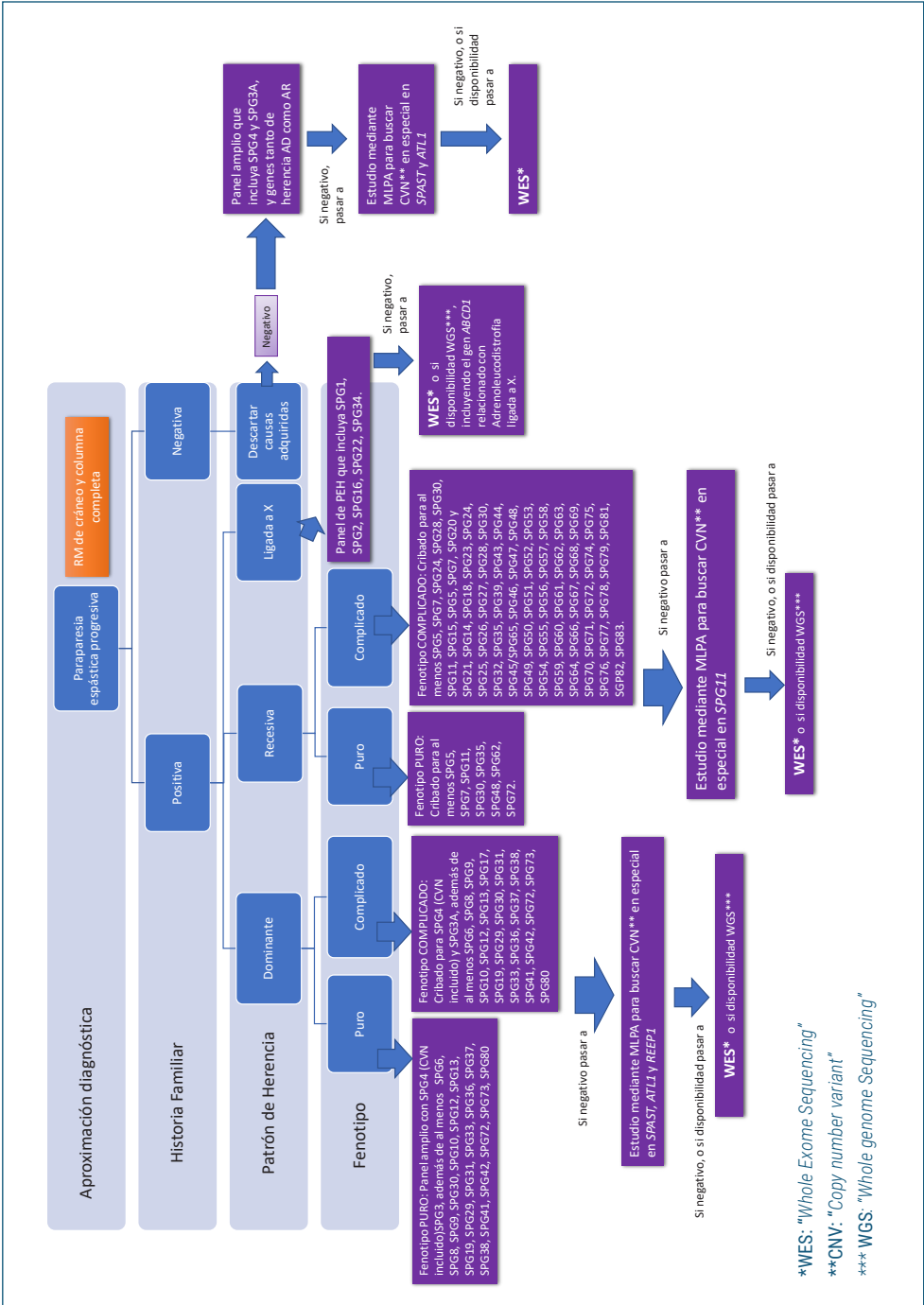
1. Fink JK. Hereditary spastic paraplegia: clinico-pathologic features and emerging molecular mechanisms. *Acta Neuropathol.* 2013;126(3):307-28.
2. Klebe S, Stevanin G, Depienne C. Clinical and genetic heterogeneity in hereditary spastic paraplegias: from SPG1 to SPG72 and still counting. *Revue neurologique.* 2015;171(6-7):505-30.
3. Tesson C, Koht J, Stevanin G. Delving into the complexity of hereditary spastic paraplegias: how unexpected phenotypes and inheritance modes are revolutionizing their nosology. *Hum Genet.* 2015;134(6):511-38.
4. Lo Giudice T, Lombardi F, Santorelli FM, Kawarai T, Orlacchio A. Hereditary spastic paraplegia: clinical-genetic characteristics and evolving molecular mechanisms. *Experimental neurology.* 2014;261:518-39.
5. Harding AE. Classification of the hereditary ataxias and paraplegias. *Lancet (London, England).* 1983;1(8334):1151-5.
6. de Souza PVS, de Rezende Pinto WBV, de Rezende Batistella GN, Bortholin T, Oliveira ASB. Hereditary Spastic Paraplegia: Clinical and Genetic Hallmarks. *Cerebellum (London, England).* 2017;16(2):525-51.
7. Faber I, Pereira ER, Martinez ARM, Franca M, Jr, Teive HAG. Hereditary spastic paraplegia from 1880 to 2017: an historical review. *Arquivos de neuro-psiquiatria.* 2017;75(11):813-8.
8. Pandolfo M, Manto M. Cerebellar and afferent ataxias. *Continuum (Minneapolis, Minn).* 2013;19(5 Movement Disorders):1312-43.
9. Synofzik M, Schule R. Overcoming the divide between ataxias and spastic paraplegias: Shared phenotypes, genes, and pathways. *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society.* 2017;32(3):332-45.
10. Parodi L, Coarelli G, Stevanin G, Brice A, Durr A. Hereditary ataxias and paraparesias: clinical and genetic update. *Curr Opin Neurol.* 2018;31(4):462-71.
11. Ruano L, Melo C, Silva MC, Coutinho P. The global epidemiology of hereditary ataxia and spastic paraplegia: a systematic review of prevalence studies. *Neuroepidemiology.* 2014;42(3):174-83.
12. Ortega Suero G, Abenza Abildua MJ, Serrano Munuera C, Rouco Axpe I, Arpa Gutierrez FJ, Adarmes Gomez AD, et al. Epidemiology of ataxia and hereditary spastic paraplegia in Spain: a cross-sectional study. *Neurologia (Engl Ed).* 2021.
13. OMli. M. Online Mendelian Inheritance in Man, OMIM. Baltimore, MD: McKusick-Nathans Institute of Genetic Medicine, Johns Hopkins University Available at: <http://omim.org/>. 2018.
14. Galatolo D, Tessa A, Filla A, Santorelli FM. Clinical application of next generation sequencing in hereditary spinocerebellar ataxia: increasing the diagnostic yield and broadening the ataxia-spasticity spectrum. A retrospective analysis. *Neurogenetics.* 2018;19(1):1-8.
15. Hazan J, Fonknechten N, Mavel D, Paternotte C, Samson D, Artiguenave F, et al. Spastin, a new AAA protein, is altered in the most frequent form of autosomal dominant spastic paraplegia. *Nat Genet.* 1999;23(3):296-303.
16. Fonknechten N, Mavel D, Byrne P, Davoine CS, Cruaud C, Bonsch D, et al. Spectrum of SPG4 mutations in autosomal dominant spastic paraplegia. *Hum Mol Genet.* 2000;9(4):637-44.
17. Shoukier M, Neesen J, Sauter SM, Argyriou L, Doerwald N, Pantakani DV, et al. Expansion of mutation spectrum, determination of mutation cluster regions and predictive structural classification of SPAST mutations in hereditary spastic paraplegia. *European Journal of Human Genetics.* 2009;17(2):187-94.
18. Yahia A, Stevanin G. The History of Gene Hunting in Hereditary Spinocerebellar Degeneration: Lessons From the Past and Future Perspectives. *Frontiers in genetics.* 2021;12:638730.
19. Corral-Juan M, Serrano-Munuera C, Rabano A, Cota-Gonzalez D, Segarra-Roca A, Ispuerto L, et al. Clinical, genetic and neuropathological characterization of spinocerebellar ataxia type 37. *Brain.* 2018;141(7):1981-97.

20. Cortese A, Simone R, Sullivan R, Vandrovцова J, Tariq H, Yau WY, et al. Biallelic expansion of an intronic repeat in RFC1 is a common cause of late-onset ataxia. *Nat Genet.* 2019;51(4):649-58.
21. Xue Y, Ankala A, Wilcox WR, Hegde MR. Solving the molecular diagnostic testing conundrum for Mendelian disorders in the era of next-generation sequencing: single-gene, gene panel, or exome/genome sequencing. *Genetics in medicine : official journal of the American College of Medical Genetics.* 2015;17(6):444-51.
22. Novarino G, Fenstermaker AG, Zaki MS, Hofree M, Silhavy JL, Heiberg AD, et al. Exome sequencing links corticospinal motor neuron disease to common neurodegenerative disorders. *Science.* 2014;343(6170):506-11.
23. Didonna A, Opal P. Advances in Sequencing Technologies for Understanding Hereditary Ataxias: A Review. *JAMA neurology.* 2016;73(12):1485-90.
24. Shribman S, Reid E, Crosby AH, Houlden H, Warner TT. Hereditary spastic paraplegia: from diagnosis to emerging therapeutic approaches. *Lancet Neurol.* 2019;18(12):1136-46.
25. Solowska JM, Baas PW. Hereditary spastic paraplegia SPG4: what is known and not known about the disease. *Brain.* 2015;138(Pt 9):2471-84.
26. Proukakis C, Auer-Grumbach M, Wagner K, Wilkinson PA, Reid E, Patton MA, et al. Screening of patients with hereditary spastic paraplegia reveals seven novel mutations in the SPG4 (Spastin) gene. *Hum Mutat.* 2003;21(2):170.
27. Parodi L, Fenu S, Barbier M, Banneau G, Duyckaerts C, Tezenas du Montcel S, et al. Spastic paraplegia due to SPAST mutations is modified by the underlying mutation and sex. *Brain.* 2018;141(12):3331-42.
28. Kadnikova VA, Rudenskaya GE, Stepanova AA, Sermyagina IG, Ryzhkova OP. Mutational Spectrum of Spast (Spg4) and At11 (Spg3a) Genes In Russian Patients With Hereditary Spastic Paraplegia. *Scientific reports.* 2019;9(1):14412.
29. Lafuente-Hidalgo M, Pena-Segura JL, Ranz-Angulo R, Garcia-Oguiza A, Perez-Delgado R, Izquierdo-Alvarez S, et al. [Progressive spastic paraparesis and static syringomyelia: Silver syndrome/SPG17]. *Revista de neurologia.* 2015;61(4):188-91.
30. Saputra L, Kumar KR. Challenges and Controversies in the Genetic Diagnosis of Hereditary Spastic Paraplegia. *Current neurology and neuroscience reports.* 2021;21(4):15.
31. Sanchez-Ferrero E, Coto E, Beetz C, Gamez J, Corao AI, Diaz M, et al. SPG7 mutational screening in spastic paraplegia patients supports a dominant effect for some mutations and a pathogenic role for p.A510V. *Clinical genetics.* 2013;83(3):257-62.
32. Klebe S, Depienne C, Gerber S, Challe G, Anheim M, Charles P, et al. Spastic paraplegia gene 7 in patients with spasticity and/or optic neuropathy. *Brain.* 2012;135(Pt 10):2980-93.
33. Finsterer J, Loscher W, Quasthoff S, Wanschitz J, Auer-Grumbach M, Stevanin G. Hereditary spastic paraplegias with autosomal dominant, recessive, X-linked, or maternal trait of inheritance. *J Neurol Sci.* 2012;318(1-2):1-18.
34. Richards S, Aziz N, Bale S, Bick D, Das S, Gastier-Foster J, et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genetics in medicine : official journal of the American College of Medical Genetics.* 2015;17(5):405-24.
35. Amendola LM, Dorschner MO, Robertson PD, Salama JS, Hart R, Shirts BH, et al. Actionable exomic incidental findings in 6503 participants: challenges of variant classification. *Genome research.* 2015;25(3):305-15.
36. Liu P, Meng L, Normand EA, Xia F, Song X, Ghazi A, et al. Reanalysis of Clinical Exome Sequencing Data. *N Engl J Med.* 2019;380(25):2478-80.
37. Schluter A, Rodriguez-Palmero A, Verdura E, Velez-Santamaria V, Ruiz M, Fourcade S, et al. Diagnosis of Genetic White Matter Disorders by Singleton Whole-Exome and Genome Sequencing Using Interactome-Driven Prioritization. *Neurology.* 2022;98(9):e912-e23.



38. Ngo KJ, Rexach JE, Lee H, Petty LE, Perlman S, Valera JM, et al. A diagnostic ceiling for exome sequencing in cerebellar ataxia and related neurological disorders. *Hum Mutat.* 2020;41(2):487-501.
39. van de Warrenburg BP, van Gaalen J, Boesch S, Burgunder JM, Durr A, Giunti P, et al. EFNS/ENS Consensus on the diagnosis and management of chronic ataxias in adulthood. *European journal of neurology.* 2014;21(4):552-62.
40. de Silva R, Greenfield J, Cook A, Bonney H, Vallortigara J, Hunt B, et al. Guidelines on the diagnosis and management of the progressive ataxias. *Orphanet journal of rare diseases.* 2019;14(1):51.
41. Elert-Dobkowska E, Stepniak I, Krysa W, Ziora-Jakutowicz K, Rakowicz M, Sobanska A, et al. Next-generation sequencing study reveals the broader variant spectrum of hereditary spastic paraplegia and related phenotypes. *Neurogenetics.* 2019;20(1):27-38.

**Figura 1.** Protocolo de estudio genético en Paraparesia Espástica Hereditaria.





# ANEXO



Abreviaturas

Glosario de términos

Tablas

Recursos de interés

Clasificación del nivel de evidencia  
para estudios diagnósticos







## ABREVIATURAS

**ACMG:** *"The American College of Medical Genetics and Genomics"*

**ADN:** ácido desoxirribonucleico

**ARN:** ácido ribonucleico

**ABL:** abetalipoproteinemia

**ACP:** aceruloplasminemia

**AE:** ataxia episódica

**AGCML:** ácidos grasos de cadena muy larga

**AH:** ataxia hereditaria

**ALD:** adrenoleucodistrofia

**AMP:** Asociación de Patología Molecular

**AMS:** atrofia multisistémica

**AMS-C:** atrofia multisistémica tipo C

**AMS-P:** atrofia multisistémica tipo P

**AOA1:** ataxia con apraxia ocular tipo 1

**AOA2:** ataxia con apraxia ocular tipo 2

**ARCA:** ataxia espino-cerebeloso autosómico recesivo

**AT:** ataxia telangiectasia

**AVED:** ataxia con déficit de vitamina E

**bvFTD:** variante conductual de demencia frontotemporal

**CANVAS:** síndrome de ataxia cerebelosa con neuropatía y arreflexia vestibular bilateral (*"Cerebellar Ataxia with Neuropathy and bilateral Vestibular Areflexia Syndrome"*)

**CCS:** secuenciación por consenso circular (*"Circular Consensus Sequencing"*)

**ChAc:** coreoacantocitosis

**CHD:** corea hereditaria benigna

**CK:** creatinfosfoquinasa

**CMT:** Charcot-Marie-Tooth

**CNV:** variación en el número de copias (*"Copy number variants"*)

**CP:** ceruloplasmina

**C9orf72:** *"Chromosome 9 open reading frame 72"*

**DCB:** degeneración córtico-basal

**DFT:** demencia frontotemporal

**DRD:** Disonía con respuesta a la levodopa

**DRPLA:** atrofia dentato-rubro-palido-luisiana

**DUP:** disomía uniparental

**EA1:** ataxia episódica tipo 1 ("*Episodic ataxia type 1*")

**EA2:** ataxia episódica tipo 2 ("*Episodic ataxia type 2*")

**EH:** enfermedad de Huntington

**ELA:** esclerosis lateral amiotrófica

**FRDA:** ataxia de Freidreich

**FXTAS:** síndrome de temblor y ataxia asociado a premutación en el cromosoma X frágil

**GWAS:** análisis de asociación genética a gran escala ("*Genomic Worldwide Association Studies*")

**GWLS:** estudios de ligamiento de todo el genoma ("*Genome-Wide Linkage Studies*")

**HGVS:** "*Human Genome Variant Society*"

**HLA:** antígenos leucocitarios humanos

**HDL-1:** *Huntington-like 1*

**HDL-2:** *Huntington-like 2*

**HDL-3:** *Huntington-like 3*

**HDL-4:** *Huntington-like 4*

**HTT:** Huntingtina

**K-F:** anillo de Kayser-Fleischer

**LCR:** líquido cefalorraquídeo

**mtDNA:** DNA mitocondrial

**MAF:** frecuencia del alelo menor ( "*Minor Allele Frequency*")

**MELAS:** encefalomiopatía mitocondrial, acidosis láctica y episodios ictus-like ("*Mitochondrial Encephalomyopathy, Lactic Acidosis and Stroke-like episodes*")

**MERRF:** epilepsia mioclónica con fibras rojo rasgadas ("*Myoclonus Epilepsy with Ragged Red Fibers*")

**MIRAS:** síndrome de ataxia recesiva mitocondrial ("*Mitochondrial Recessive Ataxia Syndrome*")

**MLPA:** amplificación de sondas dependiente de ligandos múltiples ("*Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification*")

**NBIA:** neurodegeneración asociada a acúmulo de hierro cerebral

**NFT:** neuroferritinopatía

**NPC:** Niemann Pick tipo C

**OR:** Odds ratio.

**PC:** piruvato carboxilasa

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

**PEH:** paraparesia espástica hereditaria



- PEH-AD:** paraparesia espástica hereditaria autosómica dominante
- PEH-AR:** paraparesia espástica hereditaria autosómica recesiva
- PEV:** potenciales evocados visuales
- PESS:** potenciales evocados somestésicos
- PKAN:** neurodegeneración asociada al déficit de pantotenato kinasa
- PLAN:** neurodegeneración asociada al déficit de fosfolipasa A
- PSP:** parálisis supranuclear progresiva
- RFLP:** fragmentos de restricción de longitud polimórfica (*"Restriction Fragment Length Polymorphism"*)
- SANDO:** Ataxia sensitiva, neuropatía, disartria y oftalmoplejia (*"Sensory Ataxia, Neuropathy, Dysarthria and Ophthalmoplejia"*)
- SAOA:** ataxia esporádica de inicio en el adulto (*"Sporadic Adult-Onset Ataxia"*)
- SNP:** polimorfismo de nucleótido simple (*"Single Nucleotide Polymorphism"*)
- SNV:** variante de nucleótido simple (*"Single Nucleotide Variant"*)
- STR:** *"short tandem repeats"* o microsatélites
- SCAs:** ataxia espino-cerebelosas
- SKK:** síndrome de Kearns Sayre
- ST:** síndrome de Tourette
- TDAH:** trastornos por déficit de atención e hiperactividad
- TEA:** trastornos del espectro autista
- TOC:** trastorno obsesivo compulsivo
- TS:** Secuenciación dirigida (*"Target sequencing"*)
- XCT:** xantomatosis cerebrotendinosa
- VNTR:** número variable de repeticiones en tándem (*"variant number of tandem repeats"*)
- VUS:** variante de significado incierto (*"Variant of Uncertain Significance"*)
- WES:** secuenciación de exoma completo (*"Whole exome sequencing"*)
- WGS:** secuenciación de genoma completo (*"Whole genome sequencing"*)

## GLOSARIO DE TÉRMINOS

**ADN templado:** cadenas de ADN que se separan y contienen la secuencia de interés, funcionando como molde para la transcripción.

**Alelo:** cada una de las variantes de un gen. Un individuo hereda dos alelos de cada gen, uno de cada uno de sus progenitores.

**Amplicón:** fragmentos de ADN idénticos que resultan de una reacción en cadena de la polimerasa o de cualquier otro proceso que dé lugar a la génesis de diferentes copias de ese fragmento.

**Anticipación:** fenómeno asociado a las mutaciones dinámicas por expansión de nucleótidos en las que la enfermedad debuta a edades más tempranas y con un fenotipo habitualmente más grave a medida que la mutación se transmite generación tras generación, debido a la expansión sucesiva de la repetición de nucleótidos.

**Bicatenario (ADN):** se dice del ácido nucleico formado por dos cadenas.

**cDNA:** molécula de DNA bicatenaria sintetizada a partir de una molécula de hebra simple de RNA mensajero (mRNA). Contiene regiones codificantes (exones) y no traducidas (UTR, "*untranslated regions*") de los extremos de los genes.

**CD:** secuencia que contiene únicamente regiones codificantes.

**Cebador** o primer es un fragmento corto de ácido nucleico monocatenario que sirve como punto de partida para la replicación del ADN en determinadas técnicas de análisis genético tales como la reacción en cadena de la polimerasa.

**Codón:** conjunto de tres nucleótidos que codifica para un aminoácido concreto.

**Cosegregación:** transmisión conjunta de dos o más genes ligados en un mismo cromosoma.

**de novo:** mutación genética que se presenta por primera vez en un individuo como consecuencia de una mutación en una célula germinal (óvulo o espermatozoide) o en el mismo cigoto durante la embriogénesis temprana. Consecuentemente, el paciente portador de una mutación de novo no ha heredado el cambio de ninguno de sus progenitores. Habitualmente estos cambios se asocian con una herencia dominante.

**Desequilibrio de ligamiento:** propiedad de algunos genes que debido a su proximidad en un cromosoma se presentan juntos de manera más frecuente de lo que se esperaría por azar, así no segregan de forma independiente.

**Efecto fundador:** mutación que se detecta con una frecuencia elevada en una determinada población que desciende de uno o más antepasados en los que surgió la mutación.

**Expresión génica:** proceso mediante el cual la información codificada por un gen se emplea para generar moléculas de ARN que se traducen a proteínas.

**Expresividad:** es el grado o forma en la que un gen se manifiesta en el fenotipo de una determinada enfermedad. Se habla de expresividad variable cuando existe variabilidad en cuanto a la severidad y tipo de manifestaciones clínicas en una misma entidad de origen genético entre individuos afectados, incluso en una misma familia.

**Fenocopias:** fenómeno por el cual un individuo presenta un fenotipo idéntico al ocasionado por un trastorno de etiología genética pero sin que porte la mutación causante.

**Gen:** es la unidad física básica de la herencia. Formado por una molécula de DNA con estructura de doble hélice. La secuencia de bases (adenina, timina, citosina y guanina) en la hebra de DNA determina el código genético.



**Haploinsuficiencia:** refiere a la situación en la que el paciente está afectado porque una sola copia del gen sano es incapaz de producir la proteína en cantidad o en calidad suficiente para realizar una actividad normal. Puede darse cuando el individuo es portador de una mutación en heterocigosis y la enfermedad cursa con una herencia dominante, o también, cuando el individuo es hemizigoto para un locus dado (debido habitualmente a una deleción) y por tanto se expresa exclusivamente el alelo mutado, aún cuando la enfermedad se transmita de forma recesiva.

**Heterocigoto:** en un locus dado, dos alelos distintos, uno en cada cromosoma.

**Haplotipo:** combinación específica de variaciones genéticas en el genoma que están en desequilibrio de ligamiento.

**Hardy-Weinberg (Ley o equilibrio de Hardy-Weinberg):** la composición genética (genotipo y frecuencia alélica) de una población permanece constante o en equilibrio de una generación a la siguiente en ausencia de factores perturbadores. Los condicionantes para que se cumpla el equilibrio son ausencia de mutación y migración, gran tamaño de la población, apareamiento aleatorio, y ausencia de selección natural.

**Herencia autosómica:** el gen alterado se encuentra en alguno de los veintidós pares de cromosomas no sexuales (autosomas).

**Herencia dominante:** solo es necesario heredar un alelo del gen mutado para manifestar la enfermedad (haploinsuficiencia).

**Herencia ligada al X:** el gen alterado se encuentra en el cromosoma X (sexual). Ya que los hombres solo presentan un cromosoma X, si portan una variante genética en este cromosoma, se dice que ésta se encuentra en hemizigosis.

**Herencia mitocondrial:** mutaciones presentes en el genoma mitocondrial y que, por tanto, es heredado exclusivamente de las madres, ya que el óvulo es el donante de mitocondrias durante el proceso de fecundación.

**Herencia multifactorial:** la interacción de factores genéticos, tóxicos y medioambientales ocasionan la génesis de una determinada enfermedad o rasgo.

**Herencia recesiva:** se han de heredar los dos alelos del gen mutado para manifestar la enfermedad. No necesariamente debe encontrarse la misma mutación en los dos alelos (homocigosis), sino que pueden ser variantes distintas en el mismo gen (heterocigosis compuesta).

**Heterocigoto:** en un locus dado, dos alelos diferentes, uno en cada cromosoma.

**Heterogeneidad alélica:** mutaciones diferentes en un mismo gen pueden dar lugar a la misma patología.

**Heterogeneidad genética:** situación en la que una enfermedad monogénica puede estar causada por mutaciones en diversos genes, si bien, mutaciones en un único gen son suficientes para padecer el trastorno.

**Homocigoto:** en un locus dado, dos alelos idénticos, uno en cada cromosoma.

**“Hotspot mutation region” (Puntos calientes de mutación):** región del ADN en el que se encuentran más mutaciones de lo habitual por ser zonas más inestables.

**Imputación:** se trata de un método de inferencia estadística en la que en una población genotipada con una determinada técnica se infieren los genotipos no observados en base a la información genética de una población de referencia.

**Imprinting:** mecanismo por el cual determinados genes son expresados de un modo específico dependiendo del sexo del progenitor del que procede.

**Inversión:** cambio en la orientación de regiones del genoma.

**Kilobase:** unidad de medida de los ácidos nucleicos que corresponde a 1000 nucleótidos.

**Lionización:** el proceso de lionización o inactivación del cromosoma X se refiere al fenómeno fisiológico en el que uno de los dos cromosomas X de cada célula de un individuo de sexo femenino es inactivado durante el desarrollo embrionario.

**Locus:** término que se emplea para indicar la ubicación física de un gen o una secuencia genética en un cromosoma. Su plural es loci.

**Megabase:** unidad de medida de los ácidos nucleicos que corresponde a un millón de nucleótidos.

**Monocatenario (ADN):** se dice del ácido nucleico formado por una única cadena.

**Mosaicismo:** fenómeno por el cual dos o más líneas celulares presentan diferente dotación genética en un mismo organismo. Esto puede dar lugar a que se tenga que estudiar la carga genética en diferentes tejidos para llegar al diagnóstico genético en estos casos.

**Novel:** variante que se identifica en un paciente y que no ha sido descrita previamente en las bases de datos relacionadas con anotaciones del genoma.

**Penetrancia:** porcentaje de individuos con un genotipo dado que manifiestan el fenotipo asociado a dicho genotipo (concepto poblacional). Puede ser completa o incompleta. Depende de otros genes (fondo genético) y agentes externos.

**Pleiotropía:** fenómeno por el cual un solo gen o alelo es responsable de diferentes fenotipos no relacionados entre sí.

**Promotor (región promotora):** secuencia de ADN, generalmente ubicada al inicio del gen, que tiene una zona de unión de la ADN polimerasa para el inicio de la transcripción a ARNm. Se considera la zona de activación del gen.

**Pseudodominancia:** es la situación en la que la herencia de un rasgo autosómico recesivo mimetiza la herencia de un patrón autosómico dominante, debido por ejemplo a la coincidencia en un mismo locus de una mutación en un alelo y una delección en el otro alelo.

**Pseudogen:** segmento de ADN, similar al gen funcional original, que no se expresan, no codifican a proteínas y, por tanto, no son funcionantes. Con frecuencia contienen múltiples mutaciones por lo que es importante, en estos casos, verificar que no las mutaciones obtenidas no han sido las contenidas en el pseudogen. Por ejemplo, *GBA* tiene un pseudogen con que comparte la mayoría de la información genética, así al secuenciar *GBA* nos tenemos que asegurar que las mutaciones obtenidas del análisis no han sido fruto de la secuenciación del pseudogen (que porta un gran número de mutaciones).

**"Splicing" (corte y empalme):** se trata de un proceso post-transcripcional de maduración del ARN del cual se eliminan los intrones y se unen los exones para originar una molécula de ARN mensajero (mRNA).

**Traslocación:** cambios en la localización de regiones genómicas. Éstas pueden ser balanceadas (no hay pérdida ni ganancia de material genético) o no balanceadas (pérdidas o ganancias de información genética a causa del intercambio cromosómico).

**UTR ("untranslated region"):** región que se transcribe, pero no se traduce y se localiza tanto en la región 5' como 3' de los genes (extremos de un gen).

**Variante de ganancia de función:** son, generalmente, mutaciones dominantes. La variante causa una nueva función o una actividad anómala (un gen se expresa en exceso y da lugar a proteínas que forman agregados y conllevan toxicidad celular, por ejemplo).



**Variante de pérdida de función:** son, generalmente, las mutaciones recesivas, que dan lugar a un producto de la expresión génica que no es funcional al tener ambos alelos mutados (una enzima que ha perdido su actividad, por ejemplo).

*Para la elaboración del glosario han participado las autoras de la introducción y del capítulo 1.*

**Silvia Jesús Maestre**

**Dolores Martínez Rubio**

**Isabel Hinarejos Martínez**

**Carmen Espinós Armero**

## TABLAS

**Tabla 1.** Bases de datos de variantes genéticas comúnmente empleadas en el filtrado e interpretación de datos de secuenciación masiva. Información extraída del capítulo 1.

BASES DE DATOS	SITIO WEB	CONTENIDO
The Genome Aggregation Database (gnomAD)	<a href="https://gnomad.broadinstitute.org/">https://gnomad.broadinstitute.org/</a>	Variabilidad genética internacional
The Single Nucleotide Polymorphism Database (dbSNP)	<a href="https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/">https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/</a>	Variabilidad genética internacional
Collaborative Spanish Variability Server (CSVS)	<a href="http://csvs.babelomics.org/">http://csvs.babelomics.org/</a>	Variabilidad genética española
Database of Genomic Variants (DGV)	<a href="http://dgv.tcag.ca/dgv/app/home">http://dgv.tcag.ca/dgv/app/home</a>	Variantes estructurales en población control
Database of genomic structural Variation (dbVar)	<a href="https://www.ncbi.nlm.nih.gov/dbvar/">https://www.ncbi.nlm.nih.gov/dbvar/</a>	Variantes estructurales
Database of genomic variation and phenotype in humans using Ensembl resources (DECIPHER)	<a href="https://www.deciphergenomics.org/">https://www.deciphergenomics.org/</a>	Variantes estructurales asociadas a enfermedad
The ClinVar database (ClinVar)	<a href="https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar">https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar</a>	Variantes asociadas a enfermedad
Human Gene Mutation Database (HGMD)	<a href="http://www.hgmd.cf.ac.uk/ac/index.php">http://www.hgmd.cf.ac.uk/ac/index.php</a>	Variantes asociadas a enfermedad
Leiden Open Variation Database (LOVD)	<a href="http://www.lovd.nl/3.0/home">http://www.lovd.nl/3.0/home</a>	Variantes asociadas a enfermedad
MITOMAP. A human mitochondrial genome database	<a href="https://www.mitomap.org/MITOMAP">https://www.mitomap.org/MITOMAP</a>	Variabilidad genética mitocondrial
Catalogue of Somatic Mutations in Cancer (COSMIC)	<a href="https://cancer.sanger.ac.uk/cosmic">https://cancer.sanger.ac.uk/cosmic</a>	Variantes somáticas en cáncer
Gene4PD	<a href="http://genemed.tech/gene4pd">http://genemed.tech/gene4pd</a>	Variantes asociadas a enfermedad de Parkinson




**Tabla 2.** Algoritmos *in silico* de predicción de patogenicidad. Información extraída del capítulo 1.

TIPO DE VARIANTE	ALGORITMO	SITIO WEB	FUNDAMENTO
Cambio de aminoácido	PolyPhen-2 (Polymorphism Phenotyping v2)	<a href="http://genetics.bwh.harvard.edu/pph2">http://genetics.bwh.harvard.edu/pph2</a>	Estructura y función de la proteína, conservación evolutiva
	MutationTaster	<a href="http://www.mutationtaster.org">http://www.mutationtaster.org</a>	
Alteración del procesamiento de transcritos	HSF (Human Splicing Finder)	<a href="https://www.genomnis.com/access-hsf">https://www.genomnis.com/access-hsf</a>	Combina múltiples algoritmos y matrices para identificar todo tipo de señales de <i>splicing</i>
	NetGene2	<a href="http://www.cbs.dtu.dk/services/NetGene2">http://www.cbs.dtu.dk/services/NetGene2</a>	Redes neuronales
	NNSplice	<a href="http://www.fruitfly.org/seq_tools/splice.html">http://www.fruitfly.org/seq_tools/splice.html</a>	
Cambio de aminoácido, inserciones y deleciones, alteración del procesamiento de transcritos	CADD (Combined Annotation Dependent Depletion)	<a href="https://cadd.gs.washington.edu/">https://cadd.gs.washington.edu/</a>	<i>Machine learning</i>
Evaluación de patogenicidad de cambio de aminoácido	Aggrescan	<a href="http://bioinf.uab.es/aggrescan/">http://bioinf.uab.es/aggrescan/</a>	
Conservación del residuo (nucleótido o aminoácido) entre especies	Cluster Omega	<a href="https://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalo/">https://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalo/</a>	Alineamiento de secuencias
Evaluación de la estructura secundaria de la proteína	Cupsat	<a href="http://cupsat.tu-bs.de/">http://cupsat.tu-bs.de/</a>	Predicción de la estabilidad proteica
Valoración de estructura terciaria y cuaternaria de las proteínas y su visualización tridimensional interactiva	PrePS	<a href="https://lilab.jysw.suda.edu.cn/research/PremPS/">https://lilab.jysw.suda.edu.cn/research/PremPS/</a>	Predicción de la estructura proteica y visualización
	PyMOL	<a href="https://pymol.org/2/">https://pymol.org/2/</a>	
Perfil de expresión del gen (RNA, proteína, tejidos y líneas celulares)	The Human Protein Atlas	<a href="https://www.proteinatlas.org/">https://www.proteinatlas.org/</a>	Atlas proteico

**Tabla 3.** Paneles de referencia usados comúnmente para la imputación.  
Información extraída del capítulo 3.

PANEL DE REFERENCIA	AÑO DE LANZAMIENTO	NÚMERO DE MUESTRAS	NUMERO DE MARCADORES (MILLONES)	POBLACIONES	REFERENCIA
HapMap Project Phase 3	2009	1,011	1.4	Europeos, Africanos, Nativos y Asiáticos en Estados Unidos, y Asiáticos de China y Japón	PMID: 17943122
[1] 1000 Genomes Phase 1	2012	1,092	29.0	25 poblaciones en Europa, África, Asia y América	PMID: 26432245
[2] 1000 Genomes Phase3	2014	2,504	84.2		
UK10K Project	2015	3,781	42.0	Europeos	PMID: 26368830
[3] HRC	2016	32,470	40.4	Europeos en USA	PMID: 27548312
[4] GASp	2019	1,654	21.5	Asiaticos	PMID: 31802016
[5] CAAPA	2016	883	31.2	Africano-Americaons	PMID: 27725671
[6] AGVP		4,956	97.0	Africanos	PMID: 25470054
[7] HGDP		929	67.3	54 poblaciones diferentes de todo el mundo	PMID: 15803201
[8] TOPMed	2020	97,256	308.1	Africanos, Americanos y Europeos	PMID: 33568819

HRC, Haplotype Reference Consortium; GASp, GenomeAsia Pilot; CAAPA, Consortium on Asthma among African-ancestry Populations in the Americas; AGVP, African Genome Variation Project, HGDP, Human Genome Diversity Panel; TOPMed, Trans-Omics for Precision Medicine.



**Tabla 4.** Programas informáticos más comúnmente usados para realizar imputación. Información extraída del capítulo 3.

PROGRAMA	PÁGINA WEB	ALTA DEMANDA COMPUTACIONAL
Beagle5.2	<a href="https://faculty.washington.edu/browning/beagle/beagle.html">https://faculty.washington.edu/browning/beagle/beagle.html</a>	No
IMPUTE2	<a href="http://mathgen.stats.ox.ac.uk/impute/impute_v2.html">http://mathgen.stats.ox.ac.uk/impute/impute_v2.html</a>	Si
MACH	<a href="http://csg.sph.umich.edu/abecasis/mach/tour/imputation.html">http://csg.sph.umich.edu/abecasis/mach/tour/imputation.html</a>	Si
Minimac4	<a href="https://github.com/statgen/Minimac4">https://github.com/statgen/Minimac4</a>	No
SHAPEIT2	<a href="https://mathgen.stats.ox.ac.uk/genetics_software/shapeit/shapeit.html">https://mathgen.stats.ox.ac.uk/genetics_software/shapeit/shapeit.html</a>	No

## RECURSOS DE INTERÉS

- **Servidor de Imputación de la Universidad de Michigan:**  
<https://imputationserver.sph.umich.edu/index.html#!>
- **Servidor de Imputación de TOPMed:**  
<https://imputation.biodatacatalyst.nhlbi.nih.gov/#!>
- **Servidor Movement Disorders Society:**  
"Movement Disorder Society Genetic mutation database (MDSGene)":  
[www.mdsgene.org](http://www.mdsgene.org)
- **Plataformas en la que los diferentes grupos de investigación pueden compartir los hallazgos de los estudios de investigación en genética:**
  - » **RD-Connect Project (Europa):** <https://platform.rd-connect.eu/>
  - » **MyGene2 (EE. UU.):** <https://mygene2.org>
  - » **DECIPHER**" (Reino Unido): <https://www.deciphergenomics.org/>
  - » <https://genematcher.org/>

## CLASIFICACIÓN DEL NIVEL DE EVIDENCIA PARA ESTUDIOS DIAGNÓSTICOS

EVIDENCIA	
<b>Nivel I</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Estudios prospectivos que incluyan un amplio número de personas con la enfermedad sospechada, diagnosticada a través de las pruebas esenciales de diagnóstico, en los que los tests son aplicados con evaluación ciega y con evaluación de resultados según tests apropiados de exactitud diagnóstica.</li> </ul>
<b>Nivel II</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Estudios prospectivos que incluyan un número reducido de personas con la enfermedad sospechada diagnosticada a través de las pruebas esenciales de diagnóstico, en los que los tests son aplicados con evaluación ciega y con evaluación de resultados según tests apropiados de exactitud diagnóstica.</li> <li>Estudios retrospectivos que incluyan un amplio número de personas con la enfermedad sospechada diagnosticada a través de las pruebas esenciales y comparados con un amplio grupo control, en los que los tests son aplicados con evaluación ciega y con evaluación de resultados según tests apropiados de exactitud diagnóstica.</li> </ul>
<b>Nivel III</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Estudios retrospectivos en los que los grupos de casos y controles son reducidos y los test aplicados de manera ciega.</li> </ul>
<b>Nivel IV</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Diseños donde los tests no son aplicados de manera ciega.</li> <li>Evidencias provenientes de opiniones de expertos o de series descriptivas de casos (sin controles).</li> </ul>

GRADUACIÓN DE LAS RECOMENDACIONES	
<b>Grado A</b>	<p><b>Test útil o No útil</b>            Requiere al menos 1 estudio concluyente de Nivel I o 2 estudios convincentes de Nivel II.</p>
<b>Grado B</b>	<p><b>Test probablemente útil o No útil</b>            Requiere al menos 1 estudio concluyente de Nivel II o varios estudios de Nivel III.</p>
<b>Grado C</b>	<p><b>Test posiblemente útil o No útil</b>            Requiere al menos 2 estudios concluyentes de Nivel III.</p>
<b>Rec SEN</b>	<p><b>Recomendación eventualmente efectiva, ineficaz, o peligrosa</b>            No reúne los requisitos mínimos para Grado C pero es una recomendación de consenso por parte de los miembros del grupo elaborador de la GPC.</p>



