



Trabajo Fin de Grado:

ENFERMEDAD DE HUNTINGTON.

FENÓMENO DE ANTICIPACION GÉNICA: IMPORTANCIA DE LA CUANTIFICACIÓN DEL NÚMERO DE REPETCIONES CAG.

Alumno/a: Olga Ruiz Sannikova

Director: Eva M^a Barrio Ollero

Codirector: Silvia Izquierdo Álvarez

Dpto. de Anatomía e Histología Humanas

Año académico: 2014-2015

Índice:

• Resumen Trabajo Fin de Grado (Español e Inglés)	
• Palabras clave	
I. Presentación del caso.....	1
II. INTRODUCCION.	
• Enfermedad de Huntington: síntomas y signos.....	2
• Genética.....	5
1. Huntingtina	
2. Hipótesis de ganancia de función y dominancia negativa	
3. Histología	
4. Fenómeno de anticipación	
5. Relación genotipo-fenotipo	
• Indicaciones del estudio genético.....	9
III. MATERIAL Y METODOS	
• Métodos de análisis.....	10
1. Análisis directo	
2. Análisis indirecto	
IV. RESULTADOS	
• Interpretación de los resultados; elaboración de los informes.....	15
• Repercusión psicológica.....	17
• Resultado del caso clínico.....	18
V. CONCLUSIONES	20
VI. Bibliografía.....	24

Resumen

La Enfermedad de Huntington es la patología neurodegenerativa que afecta tanto a los varones como a las mujeres entre 30 - 50 años, con una prevalencia de 10 casos por cada 100.000 habitantes. Las formas juvenil y tardía representan un 10 y 16% respectivamente.

La enfermedad de Huntington cursa con manifestaciones psiquiátricas, motrices y cognitivas. Alrededor del 30% de los pacientes debutan con alteraciones conductuales, representado su manejo una de las mayores dificultades tanto para el paciente como para su familia o cuidadores. Las alteraciones motoras o corea aparecen posteriormente y definen el rasgo más característico de esta enfermedad.

En este trabajo realizamos una revisión de la enfermedad de Huntington: sus manifestaciones clínicas, herencia genética y métodos diagnósticos; exponemos un caso de inicio juvenil, cuyas características siguen el patrón habitual de la Corea de Huntington, pasando por todas las etapas típicas de regresión tanto mental como motora.

Abstract

Huntington's disease is a neurodegenerative disorder that affects both men and women between 30-50 years old, with a prevalence of 10 cases per 100,000 inhabitants. The juvenile and late-onset forms represent 10 and 16% respectively. Huntington's disease reveals as psychiatric, motor and cognitive alterations. About 30% of patients debut with behavioral disorders, which are a major challenge for management by patients, families, and caregivers. The motor alterations or chorea appear later and define the most characteristic feature of this disease.

In the present work, we make a review of the disease of Huntington: clinical manifestations, genetic heritage and diagnostic methods; also we present a case of juvenile onset, whose characteristics follow the usual pattern of Huntington's chorea, through all stages of mental and motor regression.

Palabras clave:

Enfermedad de Huntington, manifestaciones clínicas, genética, huntingtina, afectación cerebral, triplete CAG, diagnóstico molecular, alteraciones psicológicas.

Key words:

Huntington's disease, clinical manifestation, genetics, huntingtina, brain affection, CAG triple, molecular diagnosis, psychological disturbances.

ENFERMEDAD DE HUNTINGTON.

FENÓMENO DE ANTICIPACION GÉNICA: IMPORTANCIA DE LA CUANTIFICACIÓN DEL NÚMERO DE REPETICIONES CAG.

I. EXPOSICIÓN DEL CASO

Varón de 21 años remitido por cuadro clínico en la actualidad compatible con enfermedad de Huntington.

Embarazo normal, parto con cesárea.

Desarrollo psicomotor normal, completa estudios de grado medio de explotación ganadera.

A los 13 años comienza con **bajo rendimiento escolar, retraso del crecimiento** y dificultad progresiva en psicomotricidad fina. En los siguientes años presentó **conductas obsesivas**. En el último año, presenta **dificultad para la deambulaci3n con marcha inestable**, tendencia a la anteropulsi3n y lateralizaci3n del tronco que se hace m3s manifiesta durante la sedestaci3n, as3 como **movimientos anormales de predominio distal en las extremidades superiores**.

Presentamos un caso de manifestaci3n de enfermedad de Huntington a edad precoz (13 a3os) debido al fen3meno de anticipaci3n g3nica en var3n con antecedentes familiares de primer grado de dicha enfermedad.

- Test neuropsicol3gicos (escala de Inteligencia para Adultos de Wechsler) son compatibles con **retraso mental** (CI total **56**)
- Facies hipom3mica, bradicinesia
- Rigidez extrapiramidal leve en las 4 extremidades
- **Movimientos coreicos** en regi3n distal de las 4 extremidades
- **Marcha inestable** con tendencia lateralizaci3n de tronco a la derecha
- **Disfagia orofar3ngea moderada-severa**

Pruebas complementarias: **ácido láctico 25,6 mg/dL** (N: 4,5-19,8)

- ✓ RNM cerebral: atrofia de ambos núcleos caudados y lenticulares, atrofia cortical inespecífica, quiste de septum pellucidum.

II. INTRODUCCION

• Enfermedad de Huntington

La enfermedad de Huntington (EH), también conocida como Corea de Huntington, es una grave y rara patología neurológica caracterizada por degeneración progresiva y transmisión hereditaria.

Se llama así en honor de George Huntington, un médico americano que la describió 1872. Hasta que fue definida como tal, entraba dentro del grupo de patologías que se denominaban "Baile de San Vito".

La EH afecta a todas las razas, existiendo una alta prevalencia en la población europea y de América del Norte. El promedio es de 1:100.000 con una tasa de mutación de 4%.¹ Afecta por igual a hombres y mujeres. La edad habitual de inicio es entre 30-50 años. Aproximadamente un 5-10% de las personas con EH tienen manifestaciones clínicas evidentes antes de los 20 años (forma juvenil), en tanto que un 16% comienzan después de los 60 (forma tardía).¹

La EH presenta múltiples síntomas, muchos de ellos sutiles en su inicio, que son de naturaleza motora, cognitiva y emocional.

La afectación clásica y que da el nombre a la enfermedad es de la vía motora y se manifiesta en forma de movimientos coreicos, que son no controlados y caóticos.

Inicialmente se desarrolla como alteración de coordinación con movimientos espontáneos no voluntarios. Estos pueden ser tanto de carácter brusco como enlentecido.

Con el curso de la enfermedad todos los pacientes desarrollan hipocinesia y rigidez, que al final dan lugar a bradicinesia y acinesia graves. Además de presentar dificultad de movimiento coordinado de extremidades y tronco, se añaden problemas como disartria y disfagia que pueden conducir a la muerte por ahogo. En la mayoría de los pacientes suelen presentarse alteraciones oculares, con dificultades para la fijación.

Otros movimientos involuntarios incluyen tics, similares a los observados en el síndrome de Gilles de Latourette, pero estos son poco frecuentes.² Esporádicamente, pueden aparecer signos cerebelosos, como hipo- e hipermetría.²

La coordinación de los movimientos voluntarios se vuelve progresivamente más difícil hasta ser imposible. La clínica motora interfiere con las actividades diarias básicas y paulatinamente el paciente se vuelve más dependiente a medida que la enfermedad avanza.

La alteración cognitiva empieza de manera sutil. Los estadios iniciales se caracterizan por disfunciones cognitivas y psicológicas casi imperceptibles. Primero se modifica la función del pensamiento abstracto, que se acompaña de la imposibilidad de planificación, cumplimiento y valoración adecuada de la situación. Luego aparecen alteraciones de memoria y cambio de personalidad: el paciente se vuelve agresivo, egocéntrico, con libido y las adicciones (alcohol, tabaco) exaltados. Pueden aparecer ideas persistentes y fobias.

Los síntomas psiquiátricos son muy comunes en la etapa temprana de la enfermedad, a menudo anteriores a la aparición de síntomas motores. El porcentaje de pacientes con signos psiquiátricos, tales

como baja autoestima, sentimientos de culpabilidad, ansiedad y apatía, varía entre el 33% y el 76%.² El suicidio es más frecuente en pacientes con sintomatología temprana, y también en portadores del gen en los que no se ha manifestado aún la enfermedad. El periodo de mayor riesgo de suicidio es alrededor del momento de la realización del test genético, y cuando la independencia empieza a verse afectada.²

La enfermedad va progresando durante 15 ó 20 años, en los que hay aumento de las pérdidas de las capacidades, requiriendo una ayuda total para cualquier actividad diaria.

Finalmente sobreviene la muerte no por la enfermedad en sí, sino por complicaciones como neumonía, fallo cardiaco o infección por el débil estado del organismo.

En la forma juvenil las alteraciones motoras, cognitivas y psiquiátricas, aunque igualmente presentes, difieren en su gravedad y modo de presentación. Se caracteriza por un deterioro mental grave, el retraso en el lenguaje y la rápida progresión de los síntomas. Las crisis epilépticas son, igualmente, un signo diferenciador de esta forma de presentación, observándose en un 30-50% de los casos que cursan con inicio muy temprano (< 10 años).

La Corea se desarrolla en una fase tardía de la enfermedad, en tanto que la distonía, la rigidez y bradicinesia son más tempranas y frecuentes.¹

Hoy en día, esta patología es incurable. Se utiliza el tratamiento sintomático para mejorar la calidad de vida del paciente. Así, la tetrabenazina fue desarrollada por los científicos americanos para disminuir los trastornos del movimiento asociados a corea de Huntington.

Los preparados antiparinsonianos (levodopa, bromocriptina, pergolida) y ácido valproico se aplican con el fin de disminuir la

rigidez muscular y paliar la hipercinesia. Y el tratamiento de depresión en EH se realiza con la preinscripción de Inhibidores Selectivos de Recaptación de Serotonina.

En los casos de desarrollo de psicosis y alteración de la conducta se puede utilizar los antipsicóticos atípicos (clozapina, risperidona, amisulprida). Pero, desafortunadamente, no existe medicamento que cure la enfermedad en sí.

• **Genética**

La Enfermedad de Huntington es una patología con patrón de herencia mendeliana autosómica dominante, con un 50% de riesgo de transmisión a la descendencia.

Tras múltiples estudios en 1993 se encontró una mutación llamada "interesting transcript 15" (IT 15) que parece ser la responsable del EH.

Contiene 67 exones y alcanza 180 kb. Se localiza en el exon 1, brazo corto del cromosoma 4 y codifica una nueva proteína denominada Huntingtina.

La función de la huntingtina es desconocida actualmente. Como resultado de los estudios inmunohistoquímicos, se sabe que existe colocalización nuclear y citoplasmática. El relativamente alto nivel de IT15 mRNA dentro de las neuronas sugiere que este gen juega un importante papel en la función neuronal. Pero un análisis posterior demostró que la expresión de genes IT15 no solo se limita al tejido neuronal sino que se detectan niveles altos de estos transcritos en tejidos no neurológicos como pulmón, ovarios y testes. Sin embargo, no se ha encontrado inestabilidad somática relacionada con la expresión de genes IT15 en dichos tejidos.

La hipótesis de "ganancia de función" sugiere que las mutaciones que afectan al alelo IT15 hacen que este adquiera nuevas

características funcionales, con efecto tóxico para el organismo, desactivando al otro alelo. La mejor alternativa teórica es la "dominancia negativa" en la cual la mutación de un alelo causa la disfunción o inactivación de los 2 alelos. Sin embargo, la hipótesis de la "ganancia de la función" se ve apoyada por el hecho de que la inactivación de uno de los alelos no llega a causar la EH.³

La huntingtina mutada da lugar a unos agregados proteicos, no solubles, que pueden identificarse en el cerebro de los pacientes, aunque se desconoce hoy en día su papel específico en el proceso de muerte neuronal.

La firma patognomónica de EH consiste en inclusiones intranucleares que son grandes agregados de huntingtina anormal en el núcleo neuronal. Dichos agregados se encuentran, en realidad, por toda la célula incluyendo citoplasma, dendritas y axón terminal.

La densidad de los agregados visibles no se correlaciona del todo bien con la distribución de la muerte celular, apoyando la idea de que en cierta manera pueden ser la respuesta celular protectora a la proteína mutada.⁵

Como ya se ha mencionado, el principal rasgo del EH y el causante de la discapacidad final es la pérdida neuronal en las áreas concretas del cerebro: la más llamativa de todas es la pérdida de neuronas y el desarrollo de astrogliosis en el estriado.

Los cambios progresivos desembocan en una atrofia muy marcada y una reducción de aprox. 60% del área transversal del estriado en los estadios avanzados de la enfermedad.

Combinado con atrofia del neocortex, esa reducción del volumen del estriado produce una pérdida de alrededor del 30% de la masa cerebral.⁴ Además de los cambios en el estriado y la corteza, el núcleo tuberal lateral del hipotálamo exhibe cierta atrofia, y las dos

amígdalas junto con algunos núcleos talámicos exponen atrofia moderada.

En los estudios se vio que las personas afectas por la EH tenían un número elevado de repeticiones del triplete GAC en gen IT15. Se demostró que el número de repeticiones normales es de 9-39 y repeticiones por debajo de 30 hacen muy improbable la EH, mientras que por encima de 40 es muy probable desarrollarla. La longitud de la repetición varía de generación en generación con tendencia de ir en aumento.

- **Fenómeno de anticipación.**

Hace referencia al incremento de la gravedad o a la disminución de la edad de presentación de los síntomas en generaciones sucesivas. Este fenómeno ocurre en la EH y otras enfermedades causadas por mutaciones dinámicas y depende del sexo del progenitor.

Cuando EH se hereda de la madre, hay tendencia de variabilidad de 4 secuencias arriba/abajo con tendencia general hacia el aumento. Cuando se hereda del padre, la longitud de la repetición puede llegar a ser 2 veces más larga que la paterna y es mucho más frecuente que se produzca el aumento del número de repeticiones que la reducción. Dicha expansión se produce a través de la meiosis, principalmente la espermatogénesis.¹

- **Relación genotipo-fenotipo**

Existe aproximadamente un 3% de los casos que son "de novo" sin antecedentes familiares. Pero habitualmente en los estudios de los genes paternos del afectado, se detecta que el padre presenta un rango intermedio de repeticiones (entre 30-40), con lo cual existe un aumento de las mismas con capacidad de producir clínica de EH.

También se observó una clara relación entre el número de repeticiones y la edad de comienzo. Lo habitual es entre 30-50 años. A mayor número de repeticiones, más precoces son las manifestaciones, aunque hay una discordancia en el establecimiento de la edad de inicio, dado que los síntomas iniciales son muy sutiles.

Como consecuencia, a base de los estudios y observaciones realizadas podemos clasificar el nivel de riesgo de desarrollar EH según el número de repeticiones. Con el dicho fin se elaboró una guía publicada por el Grupo de Buena Práctica del EMQN (*European Molecular Genetics Quality Network*):

- Alelos en el rango de la normalidad: oscilan entre 6 y 26 repeticiones CAG. Hasta la fecha no tienen implicación patológica y se segregan de forma estable.
- Alelos intermedios o inestables sin enfermedad: su tamaño oscila entre 27 y 35 repeticiones. No se ha descrito a ninguna persona que en este rango haya desarrollado la enfermedad pero sí que es un alelo inestable y, por tanto, con riesgo de expansión en la descendencia, incluso, y dependiente del número, hasta alcanzar el rango patológico.
- Alelos patológicos: a partir de 36 repeticiones y con riesgo en la descendencia. A su vez se dividen en:
 - **Penetrancia incompleta o reducida**: entre 36 y 39 repeticiones. La enfermedad puede manifestarse a una edad avanzada, con una probabilidad estimada de un 40% de ser asintomático a los 65 años. Algunos individuos nunca desarrollan la enfermedad.
 - **Penetrancia completa**: a partir de las 40 repeticiones. La enfermedad aparecerá a lo largo de la vida del individuo y probablemente con los síntomas clásicos de presentación. Valores superiores a 60 repeticiones se asocian a una forma juvenil.

- **Indicaciones de estudio genético** ⁶

En el caso de presentar los síntomas sugestivos de EH o al haber probabilidad de ser portador y/o afectado asintomático el diagnóstico definitivo es el estudio genético. Para solicitar dicho test, es aconsejable ser mayor de 18 años y solo puede ser solicitado por la persona afectada, no por los familiares o terceros. En el caso de ser menor de 18 años se ofrece el servicio de consejo genético, que se encarga del apoyo psicológico y de proveer información necesaria al menor incluyendo la discusión de las opciones de manejo de la situación.⁹

Podemos realizar el estudio genético en 3 momentos clave:

- Confirmación de un diagnóstico clínico: el paciente presenta síntomas clínicos sugerentes de la enfermedad.
- Diagnóstico presintomático o predictivo: el paciente no presenta ningún síntoma de la enfermedad pero desea conocer el riesgo que tiene de desarrollar la enfermedad o transmitirla a su descendencia. En este caso es conveniente identificar la mutación en un familiar previamente diagnosticado de EH. Deben tenerse en cuenta las recomendaciones para el test genético predictivo de EH elaboradas por la *European Huntington Disease Network* (EHDN) así como las consideraciones generales referentes a este tipo de test genético (conceptos de Bioética: Autonomía, Beneficiencia, No Maleficiencia y Justicia). El test presintomático puede ser ofrecido a priori a los individuos con un riesgo de 25-50%.
- Diagnóstico prenatal y preimplantacional: se solicita cuando uno de los miembros de la pareja es portador de una expansión y quieren conocer el estado de portador o no en su descendencia. Si el embarazo ya está en curso, es un estudio prenatal y se obtiene muestra fetal mediante técnicas invasivas.

Mediante técnicas de reproducción asistida se pueden obtener embriones que después son analizados molecularmente para detectar la condición de portador de la expansión o no en los mismos, e implantar en la madre los que no presenten la expansión(diagnóstico preimplantacional). Existen aspectos legales y recomendaciones generales para el diagnóstico prenatal y el preimplantacional que deben tenerse en cuenta, como son los tiempos establecidos por la ley para las interrupciones legales del embarazo así como la Ley14/2006 sobre Técnicas de Reproducción Asistida.

III. MATERIAL Y METODOS

- **Métodos de análisis**

A principios de los años 90 se identificó un nuevo tipo de mutación conocida como "mutación inestable", producida por la expansión de unidades de repetición de tres nucleótidos. En la actualidad, se han identificado más de 50 genes eucariotas que presentan este tipo de repeticiones, entre los cuales se encuentran genes humanos responsables de un número importante de patologías neurológicas . Este nuevo tipo de mutación presenta diversas características:

1. la repetición es polimórfica y se presenta tanto en individuos sanos como en afectados, siendo el número de repeticiones como mínimo de entre 2 y 5 veces superior en los afectados que en los sanos.
2. el número de repeticiones puede variar, expandirse o, en algunos casos contraerse de generación en generación. En algunas de las patologías implicadas se observa una progresión partiendo de un número de rango normal, pasando por una

premutación de rango intermedio y finalmente una mutación completa.

3. en varias de las patologías se encuentra una fuerte correlación entre el número de repeticiones y distintos parámetros clínicos como la edad de manifestación (fenómeno conocido como anticipación) o el tipo de presentación clínica (gravedad, órganos o tejidos afectados, etc.).
4. todas las mutaciones inestables con carácter patológico identificadas hasta el momento, afectan de forma directa o indirecta al sistema nervioso o neuromuscular. La mayoría comparten el patrón de herencia dominante, salvo la ataxia de Friedreich que lo presenta recesivo. La repetición puede localizarse tanto en región codificante (exones) o no codificante (región 5', región 3' o intrones), por lo que sus efectos pueden ir desde alteraciones en la expresión del gen hasta la abolición del producto génico.

El diagnóstico molecular de este tipo de mutaciones tiene un alto interés dado que el tamaño de la repetición permite extrapolar una parte importante del comportamiento clínico del paciente. Durante los últimos años se han estandarizado diversos métodos de detección basados en las técnicas de Southern (hibridación y detección mediante una sonda) o PCR.

Análisis directo.

Consiste en la determinación del número de repeticiones del triplete CAG (Figura 1). La técnica mayoritariamente utilizada es la amplificación de la región por PCR seguida del análisis del tamaño de los fragmentos por electroforesis capilar (Figura 2)

La amplificación enzimática del ADN consiste en la obtención de copias de una secuencia específica de ADN mediante una reacción en

cadena de la ADN polimerasa (PCR). Dicha metodología ha supuesto una auténtica revolución en el campo de la biología y genética molecular y su aplicación en el diagnóstico genético es en la actualidad imprescindible.

Las ADN polimerasas son las enzimas que llevan a cabo la replicación del ADN. Para ello precisan de una molécula de ADN de cadena sencilla que actúe como molde, un cebador (pequeña molécula de ácido nucléico de unos 15 a 20 nucleótidos) de secuencia complementaria a la cadena a sintetizar y nucleótidos activados para ser incorporados en la cadena naciente.

Para amplificar cíclicamente una determinada secuencia de ADN deberemos disponer de cebadores (también denominados oligonucleótidos o primers) que flanqueen los extremos de la región que deseamos amplificar.

Incrementando la temperatura por encima de los 90 °C obtendremos cadenas sencillas de ADN que actuarán como molde en la reacción de amplificación. Para favorecer el apareamiento del cebador con su secuencia complementaria bajaremos la temperatura hasta un valor preestablecido y específico para cada oligonucleótido, a la cual el cebador se apareará con su secuencia complementaria. Utilizando como anclaje al cebador apareado, la ADN polimerasa iniciará la extensión de la cadena. El ciclo se iniciará de nuevo con la desnaturalización por calor de la molécula recién sintetizada. La repetición de este proceso entre 20 o 30 veces nos permitirá obtener millones de copias de la secuencia inicial. La enzima utilizada para esta reacción es una ADN polimerasa resistente a temperaturas elevadas obtenida de bacterias termófilas (*Thermus aquaticus*).¹⁰

Cada laboratorio debe optimizar su metodología y utilizar controles externos e internos. La calidad de los controles es especialmente

importante en este caso ya que los productos de PCR que contienen repeticiones CAG migran de forma anómala en electroforesis. Se recomienda participar en sistemas de control de calidad externos como el de la EMQN.

Es importante tener en cuenta la presencia de polimorfismos en la región del tracto CAG o zonas adyacentes, ya que puede dar lugar a una cuantificación incorrecta del tamaño de los alelos (Figura 1). En el diseño de los cebadores hay que tener en cuenta que:

- Existe una secuencia repetida CCG (tracto de Pro) en el extremo 3' del tracto CAG con valores entre 6 y 12, aunque los más frecuentes son 7 y 10. Si los cebadores incluyen este tracto, puede dar variaciones en el número al compararlos con otros individuos.
- Se ha descrito un polimorfismo, delección del triplete CAA, que se encuentra seguido del tracto CAG. Si los cebadores incluyen este triplete CAA y se encuentra delecionado, se impediría la hibridación del cebador a la secuencia de interés, dando lugar a un fallo de amplificación y una aparente homocigosidad alélica. Por lo tanto los resultados de homocigosidad para alelos normales han de interpretarse con precaución y realizar la confirmación con cebadores alternativos (Figura 2).

```

ATG GCG ACC CTG GAA AAG CTG ATG AAG GCC TTC GAG TCC CTC AAG TCC TTC CAG CAG CAG CAG
Met Ala Thr Leu Glu Lys Leu Met Lys Ala Phe Glu Ser Leu Lys Ser Phe Gln Gln Gln Gln

CAG CAA CAG CCG CCA CCG
Gln Pro Pro Pro

CCG CCG CCG CCG CCG CCG CCT CCT CAG CTT CCT CAG CCG CCG CCG CAG GCA CAG CCG CTG
Pro Pro Pro Pro Pro Pro Pro Pro Gln Leu Pro Gln Pro Pro Pro Gln Ala Gln Pro Leu

CTG CCT CAG CCG CAG CCG CCC CCG CCG CCG CCG
Leu Pro Gln Pro Gln Pro Pro Pro Pro Pro Pro

```

Figura 1. Secuencia NM_002111.6 del gen HTT: el tracto de Gln se subraya, el polimorfismo descrito tiene fondo amarillo y el tracto de Pro tiene fondo azul.

Otras técnicas menos utilizadas son la secuenciación del tracto de glutamina, el Southern blot sobre DNA genómico o TP-PCR (*Triplet Repeat Primed PCR*). Pueden ser útiles para identificar grandes expansiones no amplificadas por la PCR convencional en donde se observa una falsa homocigosidad, como las encontradas en las formas juveniles de EH.

Análisis indirecto.

Consiste en el análisis de distintos marcadores polimórficos cercanos al gen y su segregación.

Es un método alternativo que se utiliza en casos de diagnóstico prenatal, para corroborar el diagnóstico obtenido mediante estudio directo, o en el diagnóstico preimplantacional tanto para corroborar un estudio directo o como alternativa si el directo no amplifica en el embrión.

Existe una variante denominada test de exclusión: cuando uno de los progenitores presenta riesgo de ser portador pero no desea conocer su propia condición de portador o no de EH, pero sí desea una descendencia no afecta (Figura 2).

Se requiere del estudio indirecto de los abuelos del feto (uno de ellos afecto) y de los progenitores, tanto el probable afecto como el de la pareja.

Los dos posibles resultados son sano (excluida la enfermedad) si hereda el alelo del abuelo no afecto (en el ejemplo el marcador en verde) o posible portador, al igual que el progenitor, si hereda el del abuelo afecto (color rojo en el ejemplo) con una probabilidad del 50 % (Figura 2).

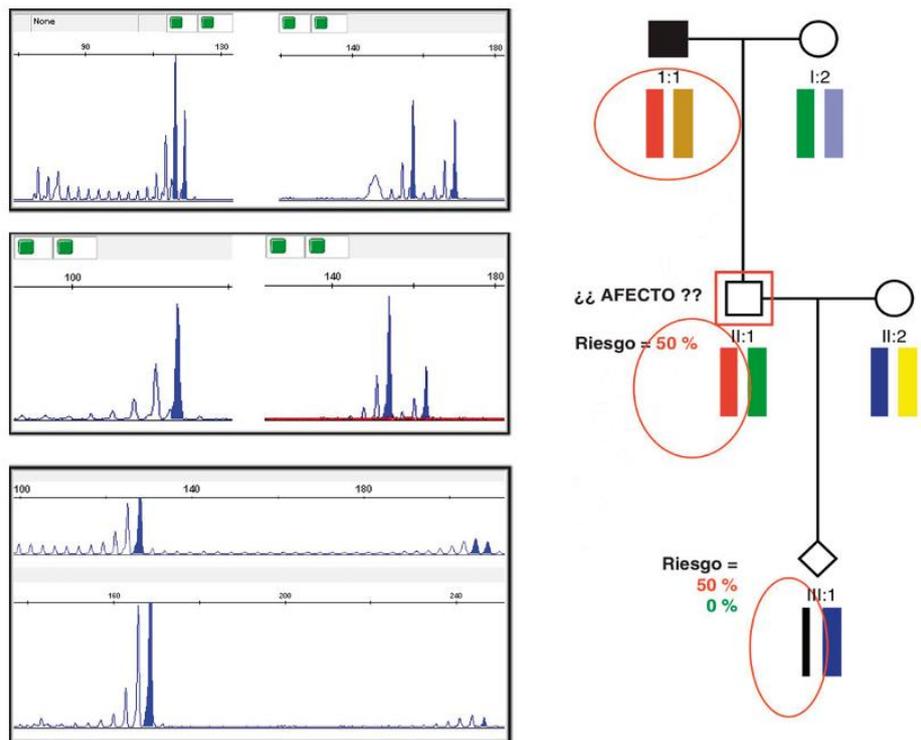


Figura 2. Análisis del gen *HTT*. A) Método directo con dos pares de cebadores distintos: primer caso, muestra de un paciente con dos alelos en el rango de la normalidad; segundo caso, muestra de un paciente con dos alelos en el rango de la normalidad, que es homocigoto para el primer par de cebadores; tercer caso, muestra de un paciente con un alelo expandido. B) Método indirecto: ejemplo de test de exclusión (extraído del Ramos-Arroyo MA).

IV. RESULTADOS

• Interpretación de resultados y elaboración de informes

La interpretación de los resultados debe hacerse siempre en el contexto clínico, la Tabla 1 resume los posibles resultados así como su interpretación. Para la redacción del informe se aconseja:

- Definir la metodología y cebadores utilizados dadas las características genéticas de la región así como la sensibilidad de la misma.
- La nomenclatura HGVS no se considera apropiada en la información de resultado del análisis de una repetición de trinucleótido. Se recomienda informar como resultado del test genético el número de repeticiones ininterrumpidas de CAG obtenido de los dos alelos, tanto el silvestre como el mutado.

- Las implicaciones de los alelos de baja penetrancia o alelos intermedios deben aparecer reflejados en el informe.
- Debe constar si es un diagnóstico predictivo o de sospecha clínica. En el caso del diagnóstico predictivo, si es positivo, ha de quedar bien claro en la conclusión del informe si se va a padecer la enfermedad o no. Y en el caso de sospecha clínica, si es confirmatorio o no (Tabla 1).
- Debe tenerse en cuenta que el resultado es importante para el paciente en estudio y también para el resto de miembros de la familia por lo que es imprescindible recomendar un adecuado consejo genético individual, familiar y reproductivo.
- Se debe incluir en comentarios una tabla con el rango de repeticiones, tanto patológico como no patológico, y las implicaciones de los mismos, reseñando la fuente de la que se obtienen.

Los resultados deben darse tanto de forma oral como escrita por un facultativo que pueda contestar todas las preguntas del afecto y familiares por lo que es necesario la realización del consejo genético por un genetista o un sanitario no facultativo con conocimientos excelentes genéticos de la enfermedad.

En el caso de los test predictivos, se recomienda poner una fecha final en la que se le va a dar el resultado al paciente para acotar la ansiedad que suele acompañar a este proceso. Se le debe aconsejar venir acompañado de una persona de confianza, familiar o no.

Es muy recomendable la formación de unidades interdisciplinarias (neurólogo, psicólogo/psiquiatra, genetista) para todo el proceso del test predictivo y la asistencia de los tres facultativos de estas especialidades el día que se da el resultado para poder atender con total integridad al paciente.

Del mismo modo, independientemente del resultado, es recomendable una cita con Psiquiatría/Psicología clínica para valorar la repercusión.

Número de repeticiones	Test diagnóstico		Test predictivo	
	Individuo	Descendencia	Individuo	Descendencia
Hasta 26: alelo normal	No tiene riesgo de desarrollar EH	Sin riesgo	No tiene riesgo de desarrollar EH	Sin riesgo
De 27 a35: alelo intermedio	No tiene riesgo de desarrollar EH	Riesgo de transmisión	No tiene riesgo de desarrollar EH	Riesgo de transmisión
De 36 a 39: penetrancia incompleta	Se confirma el diagnostico de EH	Riesgo de transmisión	Tiene riesgo de presentar manifestaciones clínicas de EH	Riesgo de transmisión
A partir de 40: penetrancia completa	Se confirma el diagnostico de EH	Riesgo de transmisión	Presentara manifestaciones clínicas	Riesgo de transmisión

Tabla1. Interpretación de los resultados obtenidos en el estudio del gen *HTT* en función de la indicación del test.

- **Repercusión psicológica**

Según numerosos estudios, las pruebas de predicción en su mayoría no se tradujeron en graves eventos adversos como el suicidio o enfermedad psiquiátrica. Sin embargo, este hecho no significa que los sujetos de prueba predictiva no experimentaron ningún problema en adaptarse al resultado de la prueba.

Se observaron problemas cuando los individuos se encontraron con el hecho de tener que cambiar sus expectativas y las intenciones futuras tales como la planificación de la familia. Otros no tuvieron

ningún problema con el resultado de la prueba mientras que no interfiera con su actual la vida.

Sin embargo, cuando la vida llega a ciertos puntos de transición, tales como el inicio de una relación a largo plazo, o cuando se planifica una familia se convierte en un problema importante, los portadores identificados pueden sentirse bloqueados o frustrados en sus planes para el futuro y es cuando por primera vez se vuelven plenamente conscientes de la importancia del resultado de la prueba.

Los individuos también reportaron problemas con la aceptación familiar del resultado de la prueba o cuando los familiares niegan o desacreditan el resultado. Los portadores tenían más probabilidades de divorciarse en los primeros 6 meses después de la notificación del resultado que los no portadores.

Por otra parte, las personas que tenían los niños tenían más problemas en aceptar un resultado desfavorable y más a menudo se sentían culpables, en comparación con los que no tenía hijos. Por consiguiente, la atención psicológica es vital en el proceso de adaptación post diagnóstico, con el fin de evitar situaciones adversas y mantener la calidad de vida del paciente.

- **Resultado caso**

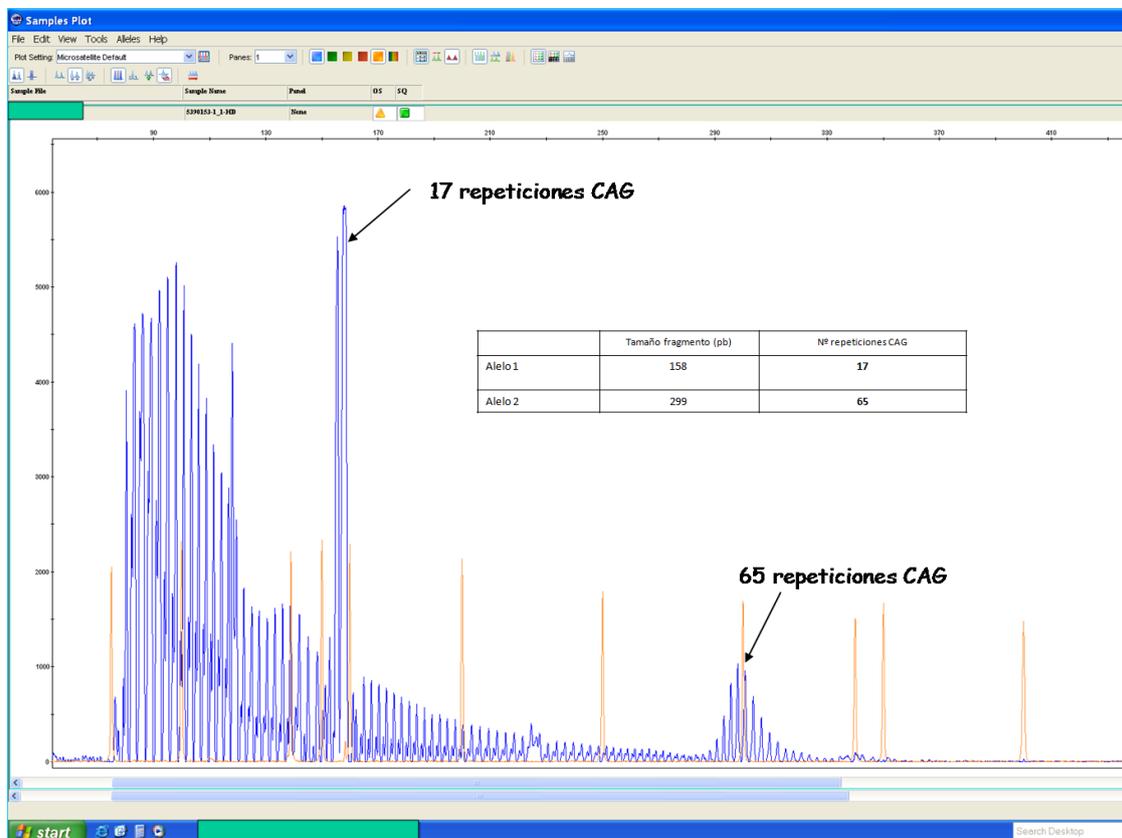
Volviendo al caso inicial, se realizó el estudio de mutación dinámica ¹³ (CAG)_n del gen HD (IT15), situado en el locus 4p 16.3, responsable de la enfermedad de Huntington mediante el kit de Huntington Disease GLHD GScan, Gene Link, amplificando la región dónde se encuentra la secuencia de repetición de trinucleótidos CAG y con detección fluorescente.

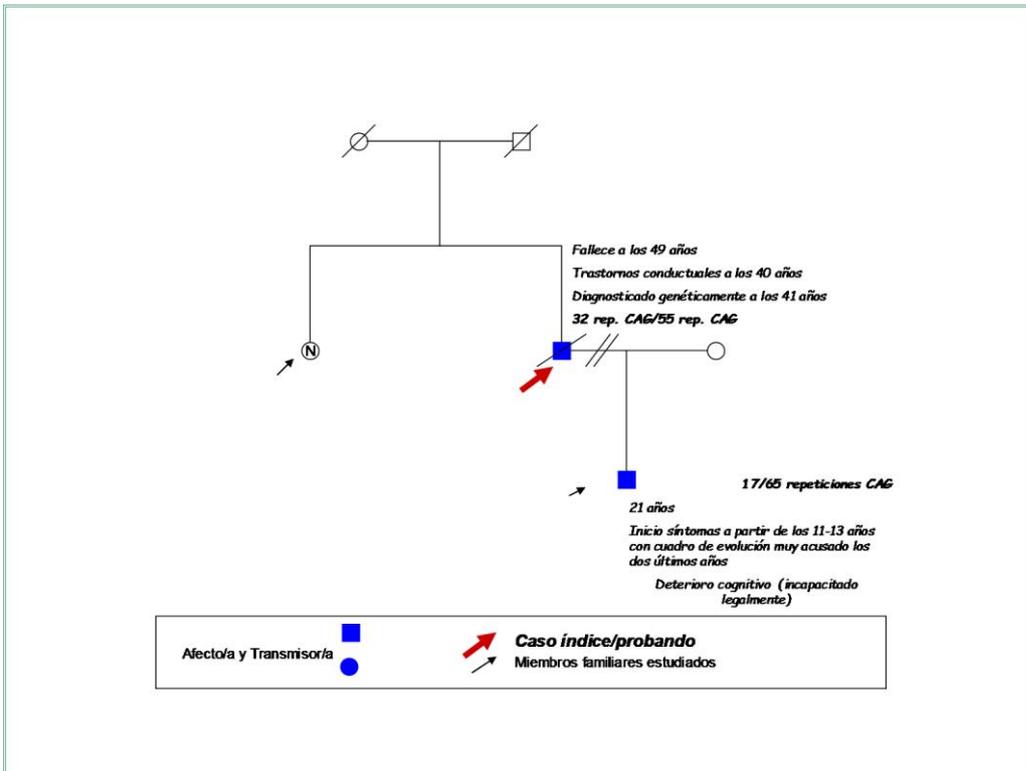
Análisis mediante un secuenciador ABI 3130xl y software GeneMapper 4.0 (Applied Biosystems). Método validado en laboratorio para el diagnóstico clínico.

El paciente presentaba expansión del triplete CAG de unas 65 repeticiones (heterocigoto: 17/65 repeticiones CAG) confirmándose así la sospecha clínica.

La cuantificación con exactitud del número de repeticiones CAG a través del estudio genético permite corroborar el fenómeno de anticipación genética en esta familia y el diagnóstico de Corea de Huntington Juvenil, con el adecuado asesoramiento genético en el paciente, actualmente con un deterioro cognitivo muy agravado e incapacitado y tutorizado legalmente por su madre.

Se le realiza seguimiento desde neurología y consultas de patología extrapiramidal.





V. CONCLUSIONES

La enfermedad de Huntington es una patología de herencia autosómica dominante que presenta manifestaciones de deterioro motor y mental y cuya velocidad de progresión depende del número de repeticiones del triplete CAG localizado en IT15 el cromosoma 4.

La progresión habitual se realiza a lo largo de 15-20 años, en los cuales el paciente va perdiendo capacidades consecutivamente, hasta acabar siendo totalmente dependiente del cuidador.

En el caso presentado, como demostró el análisis genético posterior, el número de repeticiones del triplete está dentro del rango patológico, con penetrancia completa. Es decir, que el sujeto tiene altísimas posibilidades de desarrollarla.

Sin embargo, al tratarse de un análisis genético de confirmación, antes del diagnóstico definitivo el paciente ya presentaba clínica de la enfermedad.

Tal y como se ha dicho anteriormente, las repeticiones por encima de 40 hacen muy probable el desarrollo de Huntington, y nuestro paciente presentaba 65 repeticiones del CAG, lo cual condicionó las manifestaciones de la enfermedad en una edad muy temprana, provocando la enfermedad de Huntington Juvenil.

Este caso muestra de manera muy gráfica, la progresión de la patología, empezando por la disminución paulatina del rendimiento escolar, pasando por las alteraciones motoras que se vuelven severas, hasta la dependencia total para las actividades de vida diaria básicas y retraso mental grave.

Se realizó la búsqueda de otros casos^{10,11,12} de Enfermedad de Huntington juvenil y podemos destacar un caso en particular cuya única manifestación fueron las alteraciones psiquiátricas.

Se trata de un caso de EH Juvenil, cuya presentación fue estrictamente psiquiátrica y la paciente no mostraba alteraciones motoras en el momento diagnóstico.⁹

Fue una paciente 18 años, ingresada por motivo de intento de suicidio, graves alteraciones conductuales y crisis convulsivas de difícil control.

En su historia clínica destacan: antecedentes psiquiátricos personales y familiares de aparición temprana, antecedente de enfermedad de Huntington en el abuelo materno, situación socioeconómica precaria. Tras las valoraciones básicas, que incluían analítica sanguínea y de orina, valoración por Psiquiatría y Neurología el juicio clínico fue de: síndrome deficitario de zonas prefrontales dorsolateral, orbitaria y

cingulada anterior de tipo córtico-subcortical en grado moderado-grave, así como afectación cortical de zonas temporales.

Se solicitó la Citogenética para descartar la Enfermedad de Huntington como causante de sus alteraciones.

El análisis genético mostró un alelo patológico con 52 repeticiones, que correspondería a un rango de repeticiones del triplete CAG patológico y de penetrancia completa.

La Enfermedad de Huntington debuta con manifestaciones psiquiátricas en aproximadamente el 30% de los casos, siendo la sintomatología más frecuente cambios en la personalidad, depresión y graves alteraciones conductuales como desinhibición y agresividad. Dado que numerosas enfermedades, tanto neurológicas como sistémicas, cursan con clínica psiquiátrica, la recogida de una buena historia clínica, incluyendo siempre los antecedentes familiares, así como la realización de las pruebas complementarias necesarias, reduce la probabilidad de errores diagnósticos que pueden conducir a la demora tanto de la adopción de medidas terapéuticas adecuadas como de la búsqueda de recursos intra y/o extrahospitalarios de apoyo psicosocioeconómico que precisen.

Cabe mencionar de nuevo la importancia de análisis genético de los progenitores, sobre todo del padre, para el establecimiento del diagnóstico en los casos de aparición de novo, dado que son más propensos a presentar el número de repeticiones inestable y tienden a la expansión del triplete CAG.

El punto más destacable a mencionar es que a pesar de conocer las manifestaciones clínicas, disponer de métodos diagnósticos eficaces y conocer el origen de la enfermedad de Huntington, no se dispone de un tratamiento curativo o como mínimo, de un tratamiento que frene el avance de la enfermedad.

Como consecuencia, hay pacientes con el diagnóstico establecido que son plenamente conscientes de que en los próximos 15-20 años sufrirán una involución progresiva hasta ser incapaces de valerse por

sí mismos para las actividades más básicas, y lo más difícil de asumir es el hecho de que en la mayoría de las personas ocurrirá en la edad adulta, y solo en un 16% en las personas que se consideran adultos-ancianos.

El caso de Huntington juvenil aun es más drástico dado que se produce en la edad muy temprana y tanto los pacientes como sus parientes más cercanos quedan obligados a observar como deterioran paulatinamente.

De ahí viene la importancia del apoyo psicológico al enfermo y sobre todo a su familia, en cualquier edad de presentación de enfermedad de Huntington, dirigido para controlar el estado emocional de los participantes e incluso en las condiciones tan duras poder brindar la mejor calidad de vida posible en estas circunstancias.

VI. BIBLIOGRAFIA

1. María Antonia Ramos Arroyo, María José Trujillo-Tiebas, Montserrat Milá, Grupo AEGH/CIBERER. Recomendaciones de buena práctica para el diagnóstico genético de la enfermedad de Huntington. En: Med. Clín. (Barc) , 2012; Vol. 138, Issue 13, p. 584-588
- 2.Orphanet. http://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC_Exp.php?Ing=ES&Expert=399#formulaire_reagir.php?Ing=ES/C/Corea%20de%20Huntington/Paginas/Cover%20corea.aspx
3. Åsa Petersen, Kevin Mani, and Patrik Brundin. Review. Recent Advances on the Pathogenesis of Huntington's Disease. Experimental Neurology. 1999; 157, 1-18
4. Roger L. Albin and Danilo A. Tagle. Genetics and molecular biology of Huntington's disease. Trends Neurosci. 1995;18 (2), 11-14
5. Christopher A Ross, Sarah J Tabrizi. Huntington's disease: from molecular pathogenesis to clinical treatment. The Lancet Neurology (Impact Factor: 21.82). 01/2011; 10(1):83-98.
6. Carmen Cañadas Castañeda. María Fenollar Cortés. Enfermedad de Huntington. Caso clínico: test predictivo en paciente con antecedentes familiares. Ed cont lab clín; (2014) 21: 51 - 59
7. MacLeod R, Tibben A, Frontali M, Evers-Kiebooms G, Jones A, Martinez-Descales A, Roos RA and Editorial Committee and Working Group 'Genetic Testing Counselling' of the European Huntington Disease Network. Recommendations for the predictive genetic test in Huntington's disease. Clin Genet. 2013 Mar;83(3):221-31

8. Monique Lasekoot, Martine J van Belzen, Sara Seneca, Peter Bauer, Susan AR Stenhouse, David E Barton. EMQN/CMGS best practice guidelines for the molecular genetic testing of Huntington disease. *European Journal of Human Genetics* (2013) 21, 480-486
9. L. Reyes Molón, R.M. Yáñez Sáez, M.I. López-Ibor Alcocer. Enfermedad de Huntington juvenil: presentación de un caso y revisión bibliográfica. *Actas Esp Psiquiatr.* 2010 Sep-Oct;38(5):285-94.
10. Dr. Luis Enrique Meza Escobar, Dr. Jorge Luis Orozco, Dra. Yuri Takeuchi, Dr. Yoseth Ariza y Dr. Harry Pachajoa. Retraso en el diagnóstico de un cuadro grave de enfermedad de Huntington juvenil: un reporte de caso. *Arch. argent. pediatr.* feb. 2014 vol.112 no.1 Buenos Aires
11. Osborne, J.P., Munson, P., Burman, D. Huntington's chorea. Report of 3 cases and review of the literature. *Archives of Disease in Childhood.* 1982; Volume (57), Issue 2: p. 99-103
12. Grabska N., Rudzińska M., Wójcik-Pędziwiatr, M., Michalski, M., Sławek, J., Szczudlik, A. Saccadic eye movements in juvenile variant of Huntington disease. *Neurologia i Neurochirurgia Polska.* July-August 2014; Volume (48), Issue 4, p. 236-241
13. Izquierdo Álvarez, S., Gazulla Abio, J., Rodríguez Valle, A., Miramar Gallart, M^aD., Barrio Ollero, E., Alcaine Villarroja, M^aJ. et all. Fenómeno de anticipación genética en varón de 21 años: importancia de la cuantificación del número de repeticiones CAG en la Enfermedad de Huntington. 8^o congreso nacional del laboratorio clínico Sevilla 2014.

14. Mohamed Jama, Alison Millson, Christine E. Miller, Elaine Lyon. Triplet Repeat Primed PCR Simplifies Testing for Huntington Disease. *The Journal of Molecular Diagnostics*, March 2013; Vol. 15, No. 2.

15. Mónica Alejandra Rosales-Reynoso y Patricio Barros-Núñez. Diagnóstico molecular de la enfermedad de Huntington. *Gac Méd Méx.* 2008; Vol. 144 No. 3.