

---

## ENFERMEDAD DE HUNTINGTON

### **Caso clínico: Test predictivo en paciente con antecedentes familiares.**

*CARMEN CAÑADAS CASTAÑEDA. FEA en Bioquímica Clínica.*

*MARÍA FENOLLAR CORTÉS. FEA de Bioquímica Clínica. Sección Genética Clínica. Servicio de Análisis Clínicos. Hospital Clínico San Carlos.*

**Palabras clave:** Huntington, test predictivo, *HTT*, mutación dinámica

### **CASO CLÍNICO**

Mujer de 36 años que acude a la consulta de Genética Clínica para estudio genético de la enfermedad de Huntington por antecedentes familiares. La paciente refiere tener una madre afecta con 72 años, con inicio de la enfermedad dos años atrás con brotes psicóticos de difícil tratamiento. Presenta un estudio molecular de la madre con 39 y 28 repeticiones CAG en el exón 1 del gen *HTT*. La paciente solicita conocer su estatus genético, lo que se conoce como test predictivo. Viene derivada del Servicio de Neurología, donde ha sido evaluada, al igual que en el Servicio de Psiquiatría, y no presenta síntomas de la enfermedad ni psicopatología que contraindique la realización del test.

¿Es posible o conveniente realizar un estudio genético a una paciente asintomática? ¿Qué consideraciones debemos tomar antes de realizar un test predictivo e informar del resultado a la paciente?.

### **ENFERMEDAD DE HUNTINGTON**

La enfermedad de Huntington (EH; OMIM #143100) es una enfermedad neurodegenerativa que presenta síntomas motores, alteraciones psiquiátricas y deterioro cognitivo con carácter progresivo e irreversible. La corea es el signo clínico más conocido y característico, pero frecuentemente las alteraciones en la conducta (depresión, ansiedad, irritabilidad y apatía) aparecen antes que las dificultades motoras. Tiene una prevalencia de 1:10.000 nacidos de descendencia europea pero es mucho menor en la población asiática y en la africana. La forma clásica de presentación tiene los primeros síntomas entre los 35 y los 50 años con un curso de desarrollo de la enfermedad de entre 15 y 20 años. Entre un 5-10 % de las personas con EH

---

presentan manifestaciones clínicas antes de los 20 años (forma juvenil) y un 25 % de los casos, comienzan después de los 60 años. La característica patológica de la enfermedad es la muerte neuronal en regiones cerebrales específicas, principalmente del caudal y el putamen.

La EH se hereda con un patrón autosómico dominante. El gen implicado, denominado *HTT*, (OMIM 613004) antes conocido como *IT15*, codifica para la proteína huntingtina y está localizado en la región cromosómica 4p16.3, ocupa 180 kb y consta de 67 exones. La EH es debida, en un 99 % de los casos, a una mutación dinámica causada por una expansión de la secuencia repetida del trinucleótido CAG en el exón 1 del gen *HTT*, lo que se traduce en un tracto de poliglutamina extendido en la proteína. Se cree que esta proteína alterada tiene un efecto tóxico intracelular, lo que conduce a la neurodegeneración.

### Clasificación de alelos

La secuencia repetida del trinucleótido CAG es altamente polimórfica, con un rango poblacional en donde los alelos más frecuentes son el 15 y 20. Según el número de repeticiones, hoy en día y según la última clasificación publicada por el Grupo de Buenas prácticas del EMQN (*European Molecular Genetics Quality Network*), se distinguen:

- 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.

En cuanto a la relación genotipo-fenotipo, aunque no se puede predecir con exactitud la edad de comienzo de la enfermedad en cada caso, existe una correlación inversa entre el número de repeticiones CAG en el gen *HTT* y la edad de comienzo de la EH, de forma que las expansiones de mayor tamaño se asocian a una edad de inicio más temprana y con síntomas de mayor severidad.

Mutación dinámica	Secuencia de trinucleótidos repetidos con capacidad de aumentar su número de una generación a la siguiente. Todas ellas dan lugar a enfermedades neurodegenerativas
Anticipación	Fenómeno por el cual se observa un aumento de la gravedad de los síntomas o una disminución en la edad de inicio en las sucesivas generaciones
Transmisión	La capacidad de expansión del triplete es distinta si quien transmite es la madre o el padre. En la EH cuando es el padre el que transmite, el salto suele ser mayor. Si es la madre, es más estable el alelo en la transmisión.  La edad parece influir también, de modo que padres >35 años tiene más riesgo de transmitir alelos con más expansión.
Penetrancia	Proporción de individuos con la mutación que expresan el fenotipo patológico. De modo que si la enfermedad tiene una penetrancia completa, al heredar la mutación, se padecerá la enfermedad. En una penetrancia incompleta o reducida, no todos los individuos que presentan la mutación, expresarán la enfermedad.

**Tabla 1.** Características genéticas de la mutación dinámica en la EH.

En la tabla 1 se describen las características genéticas de las mutaciones dinámicas de la EH.

### Indicaciones clínicas de estudio genético de la EH

- 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).
- 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 Ley 14/2006 sobre Técnicas de Reproducción Asistida.

## Métodos de análisis genético de la EH

**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). 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

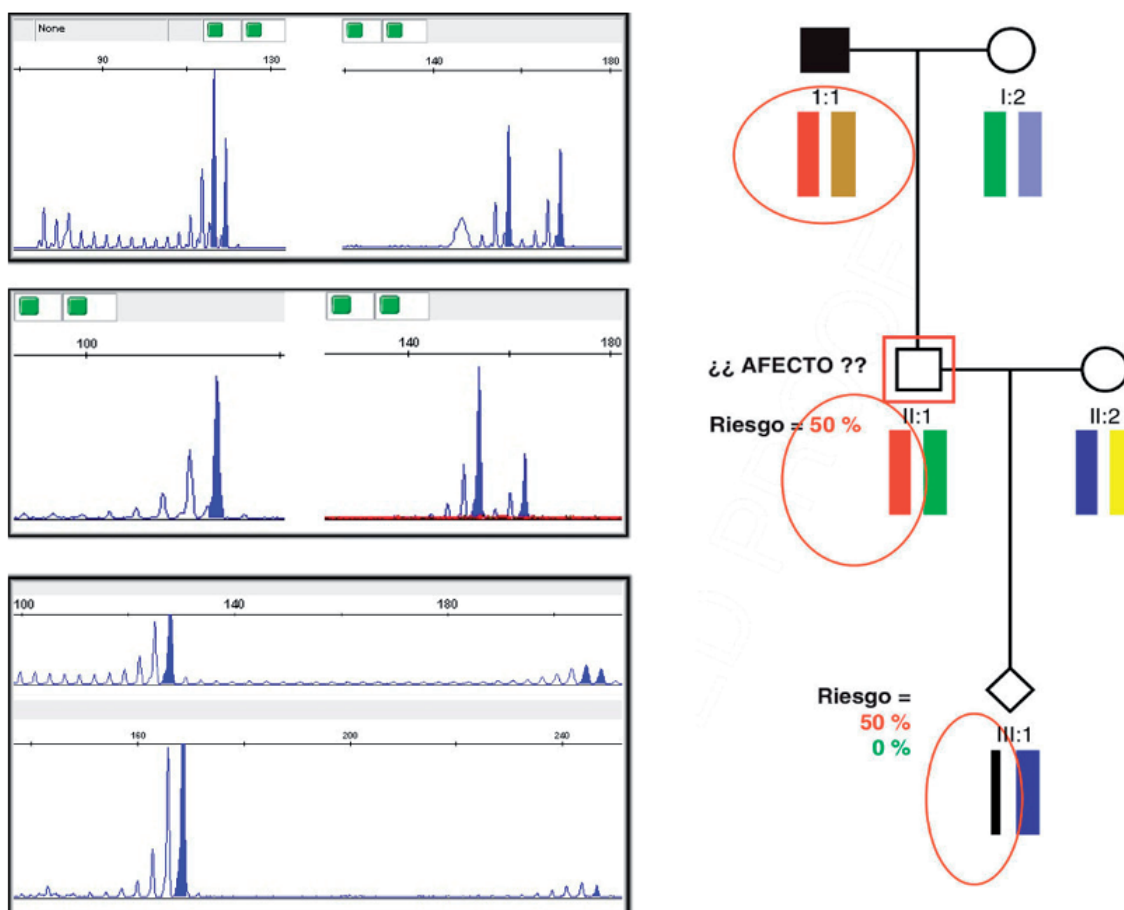
CAG CAG CAG CAG CAG CAG CAG CAG CAG CAG CAG CAG CAG CAG CAG CAG CAG CAG CAG CAG CAG
Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Pro Pro Pro

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.



**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). Ver explicación en el texto.

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 afectada (Figura 2). Se requiere del estudio indirecto de los abuelos del feto (uno de ellos afectado) y de los progenitores, tanto el probable afectado 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).

## Interpretación de resultados y elaboración de informes

La interpretación de los resultados debe hacerse siempre en el contexto clínico, la Tabla 2 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 sospecha clínica. Si es positivo, ha de quedar bien claro en la conclusión del informe si se va a padecer la enfermedad o no, en el caso de los predictivos; o si es confirmatorio o no en el caso de la sospecha clínica (Tabla 2).
- 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 (figura de asesor genetista). 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

de este resultado en el individuo. Todas estas indicaciones son las recomendaciones publicadas para las guías de buenas prácticas.

El manejo de esta enfermedad puede llevar en algunas ocasiones a consideraciones éticas incluso para el propio facultativo por lo que es recomendable ante una situación así, la consulta al Comité de Ética Asistencial que cada hospital tiene formado.

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 a 35: 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 diagnóstico 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 diagnóstico de EH	Riesgo de transmisión	Presentará manifestaciones clínicas de EH	Riesgo de transmisión

**Tabla 2.** Interpretación de los resultados obtenidos en el estudio del gen *HTT* en función de la indicación del test.

## RESULTADO CASO

Previo a la obtención de la muestra para la realización del análisis, la paciente tuvo una consulta genética pre-test en la que se le explicó las peculiaridades genéticas de la enfermedad (patrón de herencia, expansiones, alelo inestable,...) así como las características genéticas de su madre ya que presentaba dos alelos inestables: uno de penetrancia incompleta (39) y otro (28) que no provocaba la enfermedad en sí pero que sí podía aumentar al ser heredado por ella. Por lo tanto la probabilidad de heredar un alelo inestable era, en la paciente, de un 100 %, con una probabilidad del 50 % de heredar uno con el que no desarrollaría la enfermedad, y otro con el que sí.

La paciente tenía dos hijos y era importante para ella conocer la probabilidad de que ellos heredaran un alelo inestable. En este caso, la probandus tiene un riesgo del 100 % de heredar cualquier de los dos alelos inestables por lo que su descendencia tiene un 50 %, justo el doble que una persona cuya abuela sólo tuviese un alelo inestable.

Tras esta cita, se le citó en cinco días para la toma de muestra si decidía continuar con el proceso, al cual accedió. Se cita a la paciente tres semanas más tarde advirtiéndole que el día de la cita estará presente la neuróloga, la psiquiatra y la genetista.

El estudio genético realizado, mediante PCR y posterior análisis de fragmentos, puso de manifiesto que la paciente porta un alelo con 11 repeticiones (no patológico) y otro alelo expandido de 40 repeticiones en el gen *HTT*, por lo que se le diagnostica de portadora de la Enfermedad de Huntington con un alelo de penetrancia completa. El día de la cita, se le comunica el resultado y se le da un consejo genético tanto oral como escrito.

Es común el hecho de encontrar en un Servicio de Genética pacientes asintomáticos y sanos que acuden para solicitar la realización de una prueba genética diagnóstica de alguna enfermedad. El caso de enfermedad de Huntington es especialmente delicado dadas las características de la misma, puesto que es una enfermedad neurodegenerativa cuyos síntomas se presentan en la edad adulta con mayor o menor prontitud y sin opción de prevención o curación (al menos hasta el momento), y el conocimiento del resultado genético positivo provocará consideraciones vitales, incluidas reproductivas, en el paciente sometido a estudio.

## RESUMEN

La enfermedad de Huntington es una enfermedad neurodegenerativa que está causada por la expansión de una repetición de un trinucleótido (CAG) $n$  inestable en el exón 1 del gen *HTT*. El diagnóstico genético de la EH implica la estimación del número de repeticiones CAG en la región implicada. La técnica empleada mayoritariamente es PCR con posterior análisis de fragmentos en electroforesis capilar. La correcta identificación del número de repeticiones es crítica para la determinación de alelo normal o del patológico y posterior interpretación del resultado. Dentro del estudio de esta enfermedad tiene especial importancia el test predictivo o asintomático, un tipo de test genético que implica unas consideraciones particulares y diferentes al test diagnóstico.



## BIBLIOGRAFÍA

- **Ramos-Arroyo MA, Trujillo-Tiebas MJ, Milá M.** Recomendaciones de buena práctica clínica para el diagnóstico genético de la enfermedad de Huntington. *Med Clin (Barc)* 2012; 138 (13): 584-588.
- **Losekoot M, van Belzen M J, Seneca S, Bauer P, Stenhouse S AR, Barton D E.** EMQN/CMGS best practice guidelines for the molecular genetic testing of Huntington disease. *Eur J Hum Genet* 2013; 21: 480-486.
- **MacLeod R, Tibben A, Frontalo M, Evers-Kiebooms G, Jones A.** Recommendations for the predictive genetic test in Huntington's disease. *Clin Genet* 2012; 83(3): 221-231.
- International Huntington Association (IHA) and the World Federation of Neurology (WFN) Research Group on Huntington's Chorea. Guidelines for the molecular genetics predictive test in Huntington's Disease. *J Med Genet* 1994;31:555-559.
- Ley 14/2006, de 26 de mayo, sobre técnicas de reproducción humana asistida.
- Ley Orgánica 2/2010, de 3 de marzo, de salud sexual y reproductiva y de la interrupción voluntaria del embarazo.
- **Potter NT, Spector EB, Prioir TW.** Technical standards and guidelines for Huntington disease testing. *Genet Med* 2004;6(1):61-5.

---

## FORMACIÓN CONTINUADA EN GENÉTICA COMISION DE GENETICA MOLECULAR

Josep Oriola Ambrós, Ana M<sup>a</sup> Sánchez de Abajo, Atocha Romero (*coordinadora del curso*), Begoña Ezquieta, Carmen Cañadas, Concha Alonso, Cristina Torreira Banzas, Jesús Molano, María Arruebo Muño, María Santamaría González, Orland Diez, Pilar Carrasco Salas

## ACTIVIDADES FORMATIVAS DEL COMITÉ DE EDUCACIÓN

M. Rodríguez (*presidente*), D. Balsells, R. Deulofeu, M. Gassó, J.A. Lillo, A. Merino, A. Moreno, MC. Villà

ISSN 1887-6463 - Febrero 2015 (recibido para su publicación Enero 2015)