



**Universitat Autònoma
de Barcelona**

TESIS DOCTORAL

**DESCRIPCIÓN CLÍNICA Y HALLAZGOS GENÉTICOS EN UNA NUEVA
FORMA DE ATAXIA ESPINOCEREBELOSA DOMINANTE**

M. del Carmen Serrano Munuera

**PROGRAMA DE DOCTORADO EN MEDICINA
DEPARTAMENTO DE MEDICINA
FACULTAD DE MEDICINA
UNIVERSITAT AUTÒNOMA DE BARCELONA
2014**

Directores

Dr. Jaume Kulisevsky Bojarski Dr. Antoni Matilla Dueñas Dr. Carles Roig Arnall



“Para saber algo no basta con haberlo aprendido”
Séneca

Dedicada a mis padres,

a mis pacientes,

a mis maestros,

a Susana

a David,

...por todo lo que me han dado

AGRADECIMIENTOS

A las familias L.C y R.M.

A los voluntarios sanos.

A mis directores de tesis.

A la Dra. Juan, Dr. Monleón, Dr. Del Río, Dra. Cacabelos, Dr. Rojas, Dr. Robledo, Dr. Casasnovas, Dra. Pagola, Dr. Moore, Dra. Fernández, Dra. Pascual, Dr. Iranzo, Dr. Peral, Dra. Martínez, Dra. Montaner, Dra. Cuesta y Dr. Álvarez.

A los equipos de los Dres. Matilla y Volpini con especial mención a Héctor San Nicolás.

A Sandra Montero y Raquel Menchén

A la “Associació Catalana d’Atàxies Hereditàries”.

Al personal del laboratorio del Hospital Juan Ramón Jiménez de Huelva.

Al personal del Centro de Salud de Alosno (Huelva).

Al personal de la residencia Misioneras Seglares de Salamanca (Salamanca).

Al personal de la residencia de ancianos Virgen de Clarines (Beas, Huelva).

Al personal de seguridad de aeropuertos y AVE.

A la Guardia Civil, especialmente a Rocío y Javier.

Al alcalde de Villablanca (Huelva), Excmo. Sr. D. Juan Manuel Zamora.

A todos ellos quiero expresar mi agradecimiento por su altruista, constante e imprescindible colaboración para que este proyecto llegara a buen fin.

Este estudio ha sido parcialmente financiado por “Fundació de la Marató de TV3” (“Televisió de Catalunya”, expediente 100730) y por Novartis (donación al Instituto de Investigación Biomédica de Bellvitge).

SUMARIO

AGRADECIMIENTOS	3
SUMARIO	4
LISTADO DE ABREVIATURAS	5
INTRODUCCIÓN	6
CUERPO DE TESIS	8
CAPÍTULO 1. ANTECEDENTES	8
CAPÍTULO 2. MATERIAL Y MÉTODOS.	21
Apartado 2.1. Familia A. Investigaciones clínicas.	21
Apartado 2.2. Familia B. Investigaciones clínicas.	23
Apartado 2.3. Registro óculo-gráfico en ambas familias y sujetos controles.	24
Apartado 2.4. Estudios genéticos.	28
CAPÍTULO 3. RESULTADOS.	30
Apartado 3.1. Descripción clínica. Familia A.	30
Apartado 3.2. Descripción clínica. Familia B.	37
Apartado 3.3. Registro óculo-gráfico de sujetos enfermos (IV:5 y IV:6) de la familia A.	39
Apartado 3.4. Estudio ROG de los sujetos en riesgo en ambas familias. ..	41
Apartado 3.5. Hallazgos de ROG en otras SCAs.	43
Apartado 3.6. Estudios genéticos de las familias A y B.	44
Apartado 3.7. Análisis global de los movimientos oculares en ambas familias, comparación con controles y con otros subtipos de SCA y relación con el haplotipo de riesgo.	45
CAPÍTULO 4. DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES.	48
BIBLIOGRAFÍA	60
Anexo 1. Tablas.	66
Anexo 2. Estudios genéticos. Metodología.	72
Anexo 3. Pedigrís con haplotipos.	76

LISTADO DE ABREVIATURAS

Acrónimo	Definición
AFCS	“Ataxia functional composite scale”
AG	Analítica
BARS	“Brief ataxia rating scale”
CCFS, CCFSw	“Composite cerebellar functional severity score (w: con test de escritura)”
CATSYS 2000	Acelerómetro Catsys 2000
DRPLA	Atrofia dentorubropalidolusiana
ECG	Electrocardiograma
EMG	Electromiografía
EMT	Estimulación magnética transcortical
FAIS	“Friedreich’s ataxia impact scale”
FARS	“Friedreich’s ataxia rating scale”
ICARS	“International cooperative ataxia rating scale”
IDIBELL	Instituto de Investigación Biomédica de Bellvitge
IGTP	Institut d’Investigació en Ciències de la Salut Germans Trias i Pujol
INAS	“Inventory of non-ataxic signs”
MICARS	“Modified ICARS”
NESSCA	“Neurological examination score for spinocerebellar ataxia”
RM	Resonancia magnética
ROG	Registro óculo-gráfico
SARA	“Scale for the assessment and rating of ataxia”
SCA	Ataxia espinocerebelosa
SCAFI	“Spinocerebellar ataxia composite index”
UMSARS	“Unified multiple system atrophy rating scale”

INTRODUCCIÓN

Objetivo. Describimos las características clínica y genéticas de una ataxia cerebelosa (SCA) con alteración precoz de los movimientos oculares verticales ligada a un nuevo locus.

Métodos. Se han investigado 83 sujetos pertenecientes a dos familias originarias de una pequeña población en la provincia de Huelva y se ha efectuado seguimiento clínico durante 10 años. Se han detectado 15 enfermos vivos al inicio del estudio, uno de ellos no pudo ser examinado pero su muestra de ADN pudo ser incorporada al estudio y su estado clínico de enfermo fue confirmado por dos fuentes independientes. En los otros 14 enfermos se ha realizado examen neurológico completo y se ha utilizado la escala SARA para cuantificación de su ataxia en 13 de ellos, ya que un sujeto falleció antes de la publicación de la escala. En dos enfermos, identificados al inicio de los síntomas, se ha efectuado un seguimiento clínico pormenorizado que ha incluido analítica completa (AG), electrocardiograma (ECG), ecocardiograma, audiometría, neurografía, electromiografía, resonancia magnética (RM) encefálica, potenciales evocados auditivos, visuales y somestésicos, registro óculo-gráfico (ROG) y estimulación magnética transcortical (EMT). Se han estudiado con RM y ROG un total de 14 individuos asintomáticos en riesgo pertenecientes a ambas familias del total de los 32 sujetos asintomáticos en riesgo participantes en el proyecto. El conjunto de hallazgos en ROG se ha comparado con los obtenidos en 18 controles sanos y 6 enfermos con otras SCAs genéticamente definidas con menos de cinco años de evolución clínica. Se han obtenido 56 muestras de sangre periférica. Se han descartado las mutaciones más comunes en nuestro medio para las SCAs dominantes. Doce individuos fueron incluidos en los estudios de ligamiento iniciales que posteriormente se ampliaron a la totalidad de las muestras.

Hipótesis. La entidad descrita constituye una nueva forma de SCA autosómica dominante con un comportamiento clínico de ataxia cerebelosa pura ligada a un nuevo locus. Todos los enfermos presentan alteraciones de los movimientos oculares en ambos ejes pero en las etapas iniciales están limitadas al eje

vertical. Estas anomalías pueden ser un signo precoz o predominante en algunos sujetos con esta SCA.

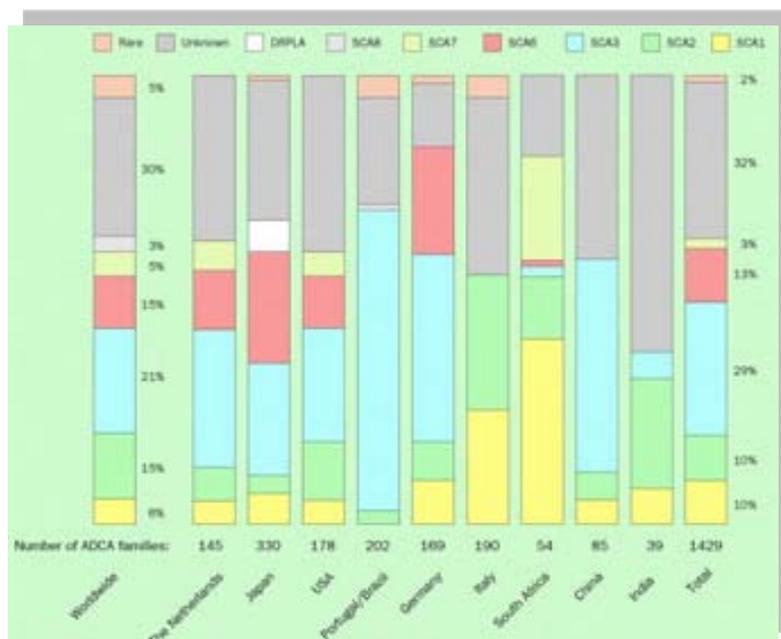
CUERPO DE TESIS

CAPÍTULO 1. ANTECEDENTES.

Las ataxias espinocerebelosas o SCAs, también llamadas ataxias autosómicas dominantes, son un grupo heterogéneo de enfermedades que se caracterizan fundamentalmente por la presencia de una ataxia cerebelosa progresiva. El cuadro clínico puede asociar una constelación de síntomas o signos como oftalmoplegía, demencia, retinopatía, polineuropatía, signos piramidales y extrapiramidales, todos ellos indicativos de la participación de diferentes estructuras del sistema nervioso central o periférico ^{1,2}.

Las SCAS se consideran enfermedades poco frecuentes ya que presentan una prevalencia inferior al 5 por 10.000 habitantes en la población europea (regulación Comunidad Europea nº 141/2000 ³) y la distribución de cada subtipo es variable entre los diferentes países ⁴(Figura1).

Figura 1. Distribución de los diferentes tipos de SCA.
(Lancet Neurol 2004; 3(5): 291-304).
Reproducido con permiso de Elsevier Limited. Copyright 2004.



Así, SCA12 es poco común excepto en la India y SCA10 se ha descrito exclusivamente en Latinoamérica. Adicionalmente, algunos subtipos pueden llegar a ser muy comunes en algunas áreas geográficas ^{5, 6} como ocurre con la SCA2 en Holguin, Cuba ⁷ donde se aprecia un efecto fundador, o la SCA3, también conocida como enfermedad de Machado-Joseph, en la más cercana Portugal ⁸.

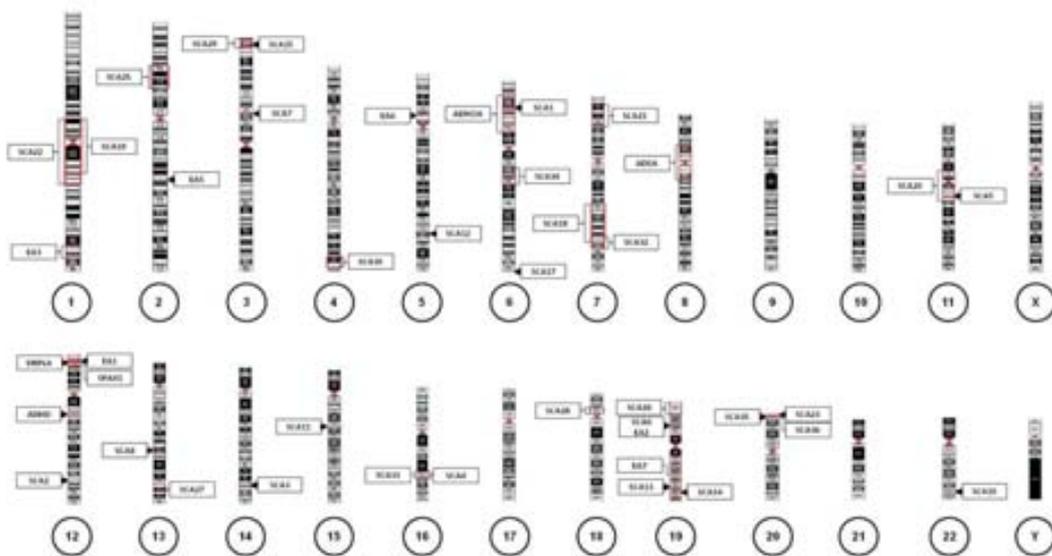
Inicialmente estas enfermedades se clasificaron desde el punto de vista nosológico en dos grandes categorías, la degeneración espinocerebelosa y la atrofia olivopontocerebelosa. Posteriormente, la Dra. Harding, introduce una clasificación clínica de las ataxias hereditarias ² de forma que designa como tipo I las ataxias dominantes con manifestaciones piramidales, extrapiramidales, amiotrofia o demencia, denomina tipo II a aquellas que asocian degeneración retiniana y finalmente reserva la designación de tipo III para las formas consideradas cerebelosas puras. A su vez incorpora el término IDCA para referirse a las ataxias esporádicas del adulto.

En la actualidad, sin embargo, la clasificación clínica ha sido reemplazada por la clasificación en base al genotipo, ésta última en continua expansión, y los diferentes subtipos se han denominado secuencialmente según la cronología de su descripción. Entre las ataxias cerebelosas autosómicas dominantes se incluyen pues seis formas de ataxia episódica, una forma clínica compleja como es la atrofia dentatorubropalidolusiana y un total de 36 subtipos de SCA. Se excluyen de esta clasificación otras enfermedades autosómicas dominantes poco frecuentes como las paraparesias espásticas hereditarias, la neuropatía sensitivo-motora con ataxia o la leucodistrofia de inicio en el adulto que también pueden debutar con ataxia pero cuyo cuadro clínico está dominado por otros síntomas y signos.

La primera mutación asociada a estas enfermedades se describió en 1993 para la SCA1 ⁹ y desde entonces se ha identificado el gen implicado en 26 de ellas y el locus asociado en otras nueve ¹⁰⁻⁵⁰.

El tipo de mutaciones descrito es heterogéneo. Se han reportado expansiones CAG codificadoras de poliglutamina en SCA1, SCA2, SCA3, SCA6, SCA7, SCA17 y DRPLA, expansiones no codificadoras de tripletes y pentanucleótidos (CTG, ATTCT, CAG y TGGAA) en SCA8, SCA10, SCA12, SCA31 y SCA36 y mutaciones “missense”, en el marco de lectura, o deleciones, en los diferentes genes identificados como el de la beta-espectrina en SCA5, la tubulin quinasa en SCA11, el canal de potasio dependiente de voltaje *KCNC3* en SCA13, la protein quinasa c gamma en SCA14, el receptor del inositol trifosfato en SCA15 y SCA16, el regulador del desarrollo relacionado con el interferón 1 en SCA18, la prodinorfina en SCA 23, el gen del factor de crecimiento de fibroblastos 14 en SCA 27, un gen de la familia de ATPasa para SCA28, la transglutaminasa *TGM6* en SCA35 y así sucesivamente hasta completar la lista conocida en la actualidad (Figura 2, reproducida con permiso de Corral-Juan ⁵¹ y Anexo 1, Tabla 1 ³²).

Figura 2. Distribución de las mutaciones descritas en los diferentes subtipos de SCAs.



En la mayoría de pacientes la clínica se inicia en la edad media, entre los 30 y los 40 años, aunque se han descrito pacientes de inicio en la infancia, especialmente en SCA2 y SCA7, o de debut tardío, superados los 60 años, como ocurre en SCA6. La enfermedad suele comenzar con alteración del

equilibrio y disimetría de las extremidades, disartria, temblor postural y de acción, acompañados de nistagmo u otras anomalías de los movimientos oculares, como alteraciones de la persecución o de los movimientos sacádicos. Posteriormente, a lo largo de los años, el desarrollo de una ataxia cerebelosa progresiva conlleva la aparición de caídas y, en los casos más graves, la necesidad de soportes externos para la deambulación y silla de ruedas para los desplazamientos. Sin embargo, las manifestaciones clínicas de las SCAs son variables entre los diferentes subtipos descritos, incluso dentro de la misma enfermedad o entre los diferentes miembros de la misma familia. En algunos subtipos, como en SCA2, la variabilidad fenotípica se ha explicado parcialmente por la presencia de polimorfismos en el gen de la glutatión-S-transferasa omega 2⁵² mientras que algunos rasgos característicos de la enfermedad, como la marcada alteración de la velocidad de los movimientos sacádicos, se ha relacionado con el tamaño de la expansión poliglutamínica, que es el defecto genético subyacente⁵³.

El fenotipo de “ataxia plus” o tipo I de Harding es el más prevalente entre todas las SCAs. Algunos síntomas o signos clínicos específicos, cuando aparecen, pueden contribuir al diagnóstico diferencial y sugerir el subtipo de SCA causante de la ataxia. Así, como hemos comentado con anterioridad, la ralentización de los movimientos sacádicos horizontales es común en SCA2, la oftalmoparesia y las fasciculaciones faciales y linguales apuntan a SCA3, la retinopatía a SCA7, las crisis epilépticas a SCA10, el retraso mental a SCA13, el mioclono axial precoz a SCA14, la neuropatía sensitiva a SCA4, SCA18 y SCA25, la corea y la demencia a SCA17, la disfonía y la calcificación precoz del núcleo dentado a SCA20 y finalmente los signos de enfermedad de neurona motora son sugestivos de SCA36. Teniendo en consideración estos rasgos clínicos, el diagnóstico genético de las SCAs puede orientarse en ocasiones de una forma eficiente, especialmente en familias con muchos sujetos enfermos. Adicionalmente, las medidas cuantitativas de la función neurológica, y entre ellas, el registro de los movimientos oculares, pueden contribuir a definir mejor clínicamente las diferentes SCAs y ante la continua y

creciente descripción de defectos genéticos asociados a estas entidades, orientar y limitar la investigación genética en la práctica clínica habitual ^{54, 55}.

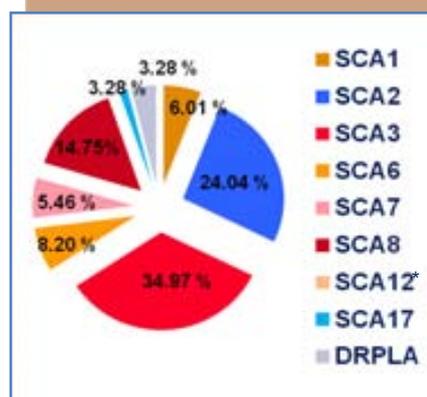
En muchas ocasiones, sin embargo, la fenomenología clínica no permite orientar definitivamente los estudios genéticos. El paradigma que ejemplifica esta situación es el llamado fenotipo “puro” o tipo III, según la clasificación de la Dra. Harding ². Si bien este fenotipo se asoció inicialmente a expansiones patológicas de CAG en SCA6, posteriormente fue descrito en otros subtipos, especialmente SCA5 ⁵⁶, SCA11 ⁵⁷, SCA14 ^{11, 58}, SCA15 ⁵⁹, SCA16 ³⁴ y SCA26 ⁴⁸, SCA30 ³⁹ y SCA31 ⁶⁰.

Por lo tanto y teniendo en cuenta estas reflexiones, el estudio genético de las SCAs debe basarse en un algoritmo que tenga en consideración tanto el conocimiento disponible sobre la prevalencia de los distintos subtipos de SCA en la población de origen del paciente como su fenotipo y sus asociaciones genotípicas (Figura 3).

Sin embargo, incluso en estas condiciones, un 30-50% ^{61, 62} de las familias son genéticamente distintas a los subtipos conocidos indicando aún mayor heterogeneidad genética.

Las SCAs son enfermedades lentamente progresivas y por ello se han desarrollado diversas escalas útiles tanto para cuantificar el efecto de la enfermedad en un paciente en particular como para establecer la historia natural de la misma. Se han desarrollado escalas semicuantitativas como ICARS, SARA, MICARS y BARS centradas en la ataxia; escalas semicuantitativas que recogen signos atáxicos y no atáxicos como UMSARS, FARS, NESSCA; escalas semicuantitativas destinadas exclusivamente a los signos no atáxicos como INAS; escalas cuantitativas como CATSYS 2000, AFCS, CCFS, CCFSw y SCAFI y finalmente escalas autoadministradas como la FAIS (en el listado de

*Figura 3. Prevalencia de los diferentes subtipos de SCA en nuestro medio. Cortesía del Dr. V. Volpini, CDGM, IDIBELL, Hospitalet del Llobregat, Barcelona. *SCA12 se investiga pero no se ha detectado ningún caso.*



abreviaturas se definen los acrónimos). No existe evidencia de la supremacía de una escala sobre el resto pero ICARS (*“International Cooperative Ataxia Rating Scale”*) y SARA (*“Scale for the Assessment and Rating of Ataxia”*) son las dos escalas mejor estudiadas y validadas y son consideradas buenos instrumentos de medida por cuanto incluyen subapartados específicos para la evaluación de la marcha. Este dato es relevante ya que la ataxia de la marcha es habitualmente el signo más invalidante para los pacientes, especialmente en las llamadas formas puras, y su empeoramiento se traduce en un cambio relevante en la autonomía para el cuidado personal y las actividades de la vida cotidiana ⁶³.

La escala ICARS ha sido la más extensamente utilizada y presenta una buena reproducibilidad y validez ⁶⁴ pero presenta problemas de interdependencia entre algunos de sus ítems ⁶⁵.

La escala SARA, publicada en el año 2006 ⁶⁶, aporta algunas ventajas respecto a ICARS: no presenta redundancia y es mucho más fácil y rápida de administrar, presentando buena validez, consistencia interna y reproducibilidad. La escala otorga una puntuación entre 0 y 40, representando 0 la ausencia de ataxia y 40 el grado más grave de la misma. De forma específica parece ser que SARA progresa más rápidamente en SCA1 ($2,18 \pm 0,17$) que en SCA 3 ($1,61 \pm 0,12$) y SCA2 ($1,40 \pm 0,11$) ⁶⁷ y SCA6 presenta una progresión aún más lenta y no lineal. SARA pues se postula como una escala útil para la cuantificación de la progresión de la enfermedad en estudios de historia natural. Se desconoce sin embargo cuál es el cambio mínimo en SARA o en cualquier otra escala para ataxias que traduce una diferencia clínica relevante siendo éste un dato imprescindible en el diseño de ensayos clínicos terapéuticos.

En referencia al sustrato patológico de estas enfermedades hay que destacar que los hallazgos son variables y los estudios neuroanatómicos son recientes y escasos (revisado por Taroni⁶⁸ y Fratkin⁶⁹).

La ataxia es el signo clínico más prominente y va asociado a: a) La degeneración de las células de Purkinje (células ilustradas en las figuras 4 y 5) que se acompaña de hiperplasia e hipertrofia de la glía de Bergmann y b) La gliosis de los núcleos grises del cerebelo⁷⁰ como resultado de la pérdida de las terminales de las células de Purkinje y de la propia pérdida neuronal in situ. Sin embargo, muy pocas mutaciones asocian un síndrome cerebeloso puro con exclusiva degeneración del córtex cerebeloso.

En realidad, actualmente la mayoría de las SCAs se consideran enfermedades multisistémicas que asocian una gran variabilidad clínica y neuropatológica.

El hallazgo anátomo-patológico más frecuente en el conjunto de las SCAs es la atrofia

olivopontocerebelosa si bien podemos encontrar patrones específicos según el subtipo de SCA⁶⁸. Es importante remarcar que los hallazgos son variables para un mismo tipo de ataxia e incluso entre sujetos de la misma familia.

Los subtipos más ampliamente estudiados son los más comunes y conocidos: SCA1, SCA2, SCA3, SCA6, SCA7 y DRPLA⁶⁹. En SCA1 y SCA2 se observa una extensa pérdida de células de Purkinje y granulares con degeneración asociada de los núcleos de la protuberancia, las olivas inferiores, el asta anterior medular y la columna de Clark. La sustancia negra se encuentra

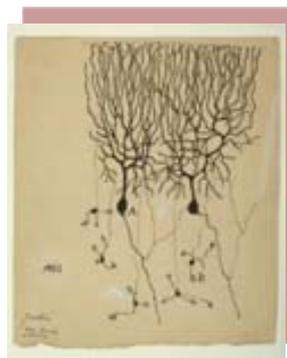


Figura 4. Dibujo de las células de Purkinje (A) y de las células granulares (B) en el cerebelo de paloma por S. Ramón y Cajal, 1899 . Legado Cajal, Instituto Cajal, CSIC, Madrid. Reproducido con permiso.

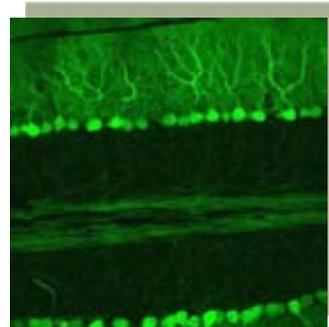


Figura 5. Micrografía confocal de cerebelo de ratón con fluorescencia verde marcando un promotor específico de la célula de Purkinje. The Gene Expression Nervous System Project, NINDS.

lesionada en SCA2 pero no en SCA1, lo que explicaría la falta de signos parkinsonianos en los pacientes con SCA1, presentes en SCA2. La lesión llamativa de múltiples núcleos pontinos incluidos los óculo-motores y la pérdida neuronal de las raíces dorsales explicaría las anomalías oculares y la pérdida precoz de reflejos musculares profundos con polineuropatía asociada a SCA2. En SCA3, por el contrario, los hallazgos patológicos predominan en los núcleos de la columna de Clarke, núcleos vestibulares y núcleos de la protuberancia, con una relativa preservación de las células de Purkinje y las olivas inferiores. En estos pacientes la ataxia se considera más relacionada con el deterioro de los sistemas eferentes y aferente cerebelosos que con la pérdida de células de Purkinje.

En SCA6 (Figura 6) encontraremos una depleción importante de células de Purkinje, células granulares y de neuronas del núcleo dentado pero el tronco del encéfalo y la médula espinal aparecen generalmente respetados, hallazgos que por lo general se relacionan con el fenotipo puro o ADCA III de la Dra. Harding que se asocia a este subtipo de ataxia. Sin embargo, hay descripciones más recientes que apuntan a que la extensión de las

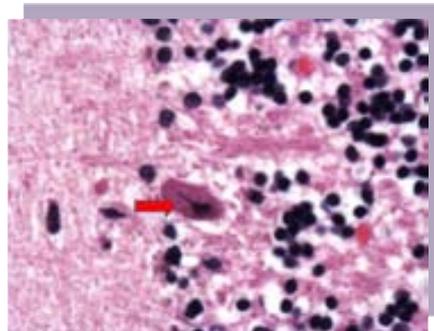


Figura 6. Pérdida neuronal de células de Purkinje en SCA6 en corte de cerebelo teñido con H&E. Obsérvese el núcleo deforme de la célula de Purkinje (flecha roja). Cortesía de Brian E. Moore, MD, Springfield, Illinois.

anomalías anátomo-patológicas más allá del cerebelo incluso en este subtipo clásicamente considerado “puro”. Así, se ha observado pérdida neuronal en pacientes con SCA6 en la capa V de células piramidales de Betz de la corteza motora primaria, en la capa pre-alpha de las regiones entorrinal y transentorrinal, en algunas regiones del tronco del encéfalo, como la sustancia negra, el núcleo rojo, el núcleo del motor ocular común o tercer par craneal, los núcleos vestibulares, el núcleo del motor ocular externo o sexto par craneal, algunos núcleos auditivos (lemnisco lateral y oliva superior) y un conjunto de núcleos relacionados con el proceso de la deglución (núcleos trigeminal mesencefálico, motor y espinal, reticular, facial, solitario, hipogloso y ambiguo).

En un paciente incluso se ha descrito pérdida neuronal en el núcleo sensitivo ventroposterolateral del tálamo y en los núcleos visuales del pulvinar ⁷¹. Todos los pacientes de SCA6 con estas extensas anomalías presentaban unos hemisferios y un tronco del encéfalo macroscópicamente normales. SCA7 se caracteriza porque además de los hallazgos en células de Purkinje y las olivas inferiores, el proceso se extiende a un gran número de núcleos en el tronco del encéfalo y a las células ganglionares de la retina, el tracto óptico, el tálamo y la corteza visual, en relación con la marcada pérdida visual de estos pacientes. La pérdida neuronal mesencefálica afecta principalmente a los núcleos intersticial de Cajal, el óculo-motor, el de Edinger-Westphal, y el intersticial rostral del fascículo longitudinal medial. En la protuberancia, los núcleos del rafe, vestibulares, retículo-tegmental y el núcleo del lemnisco lateral son los más gravemente dañados mientras que el núcleo vestibular espinal y el lateral reticular son los más afectados en el bulbo. Las áreas talámicas reticular, mediodorsal, ventral-anterior, ventral-lateral, el fascículo talámico y el núcleo subtalámico también presentan una clara pérdida neuronal, pero en contraste con SCA6, el núcleo ventroposterolateral y el pulvinar se encuentran relativamente preservados. Por último, también se ha observado pérdida neuronal en SCA7 en el córtex motor y entorrinal así como entre la neuronas motoras medulares. En la médula también se encuentran lesionadas las columnas dorsales y la columna de Clarke.

En SCA17 la extensión de los hallazgos patológicos a la corteza cerebral es común lo que se ha relacionado con la demencia y la psicosis que pueden presentar algunos de estos pacientes. ⁷²

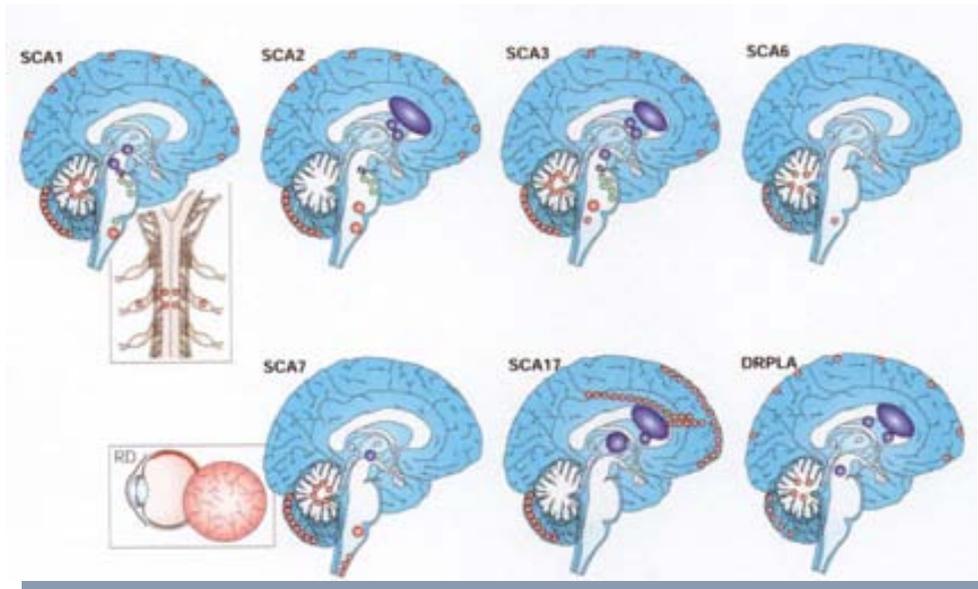


Figura 7. Hallazgos patológicos en diferentes subtipos de SCA. Los círculos de mayor tamaño indican mayor pérdida neuronal. En color azul se señala la pérdida neuronal de los núcleos extrapiramidales; en verde la participación de nervios craneales. La degeneración retiniana –RD- se observa en SCA7. Reproducido con permiso de Macmillan Publishers Ltd; Nature Reviews, 2004, vol 5, p.648. Copyright 2004.

Respecto a las posibilidades terapéuticas de estas entidades cabe mencionar que no disponemos de ningún tratamiento farmacológico definitivamente efectivo para evitar o retrasar la pérdida funcional progresiva des estos pacientes. Sin embargo, las investigaciones en este campo son numerosas y los buenos resultados en ensayos celulares y animales están promoviendo el desarrollo de ensayos en pacientes, habitualmente con fármacos ya comercializados bajo otra indicación ⁷³. Así, se han publicado resultados esperanzadores en modelos celulares de SCA2 con ácido valproico⁷⁴ que fueron trasladados a Drosófila en el mismo estudio. También se ha obtenido un efecto beneficioso en un modelo murino transgénico de SCA17 con el factor estimulador del crecimiento de las colonias de granulocitos ⁷⁵ y en un modelo murino de SCA1 con litio ⁷⁶ y con IGF-1 intranasal ⁷⁷. El litio, no obstante, no ha mostrado beneficio en el ratón transgénico de SCA3 , según resultados últimamente publicados⁷⁸.

Recientemente, investigadores del equipo del Dr. Alexis Brice en CR-ICM, Paris, tras demostrar que la ataxina 7 mutada se degrada en los cuerpos nucleares gracias a la proteína de la leucemia promielocítica y que interferón beta puede favorecer este proceso y proteger contra SCA7, demostraron una clara mejoría en el movimiento y el equilibrio de un modelo murino de SCA7 tratado con interferón-beta ⁷⁹. Por su parte, el equipo de la Dra. Davidson, en la Universidad de Iowa, ha conseguido demostrar que silenciar tanto la forma mutada como salvaje de ataxina-7 con ARN de interferencia inespecífico para uno u otro alelo, utilizando como vectores AAV1/2, es una estrategia segura que no altera la función retiniana en ratones BAC-Prp-SCA7-92Q, otro modelo murino de SCA7⁸⁰. Dado que este modelo no presenta enfermedad retiniana, el estudio no estaba diseñado para demostrar eficacia.

Los estudios en humanos son sin embargo más exigüos⁸¹. Estudios de series cortas sugerían un efecto beneficioso de la acetazolamida en SCA6 ⁸² pero el beneficio disminuía tras un año de tratamiento. Posteriormente, un estudio piloto con escaso número de sujetos tratados, mostró que algunos pacientes con SCA6 podrían beneficiarse del uso de gabapentina ³⁵. En la actualidad, la gabapentina se ha descartado definitivamente por su ineficacia. Se ha propuesto como alternativa el ensayo con pregabalina gracias a sus efectos, compartidos con gabapentina, sobre los canales de calcio voltaje dependientes tipo P/Q, cuya subunidad alpha 1A se encuentra mutada en estos pacientes ⁸³, ⁸⁴ pero hasta la fecha sólo disponemos de los resultados en dos pacientes diagnosticados con atrofia cortical cerebelosa ⁸⁵. La pregabalina es una opción terapéutica atractiva por cuanto el fármaco se encuentra comercializado para el tratamiento sintomático del dolor y presenta efectos secundarios leves y poco frecuentes. El estudio con vareniciclina en SCA3 ⁸⁶ abrió una nueva línea de actuación en un ensayo fase II, doble ciego, pero estos resultados aún no han sido reproducidos. Con anterioridad se había publicado un ensayo controlado cruzado con cotrimoxazol que no consiguió mostrar beneficio tras un seguimiento de 12 meses; también se han publicado estudios piloto con tandospirona ⁸⁷ y buspirona ⁸⁸ (ambos agonistas del receptor 5HT1A), hidroxitriptófano (precursor de serotonina que es a su vez el ligando de todos

los receptores 5HT) y lamotrigina⁸⁹, bloqueador de los canales de sodio voltaje dependientes, con beneficios esporádicos. Últimamente, se han comunicado resultados de un ensayo doble ciego con litio en SCA3⁹⁰. Si bien no se demostró un efecto significativo sobre la variable primaria, el beneficio observado en las variables secundarias y en el análisis por segmentos de la escala utilizada como variable primaria ha inducido a los investigadores a plantear un nuevo ensayo con mejoras en su diseño, incluyendo las herramientas de medida y la optimización de litemia, principalmente.

Por último se han reportado casos anecdóticos de respuesta a tiamina⁹¹ y a la estimulación cerebral profunda en SCA2⁹² y un ensayo controlado ha mostrado eficacia con suplementos orales de zinc⁹³ en este subtipo de ataxia pero el estudio duró sólo seis meses.

Las series más antiguas no distinguían entre los diferentes subtipos de ataxia e incluían pacientes bajo el diagnóstico genérico de ataxia espinocerebelosa, entre algunos de los estudios así diseñados se observó un efecto beneficioso de la TRH (hormona liberadora de tirotrópina)⁹⁴.

Otros muchos fármacos como la fluoxetina o el clonacepam se han ensayado sin éxito.

En definitiva y para la mayoría de SCAs, el tratamiento suele ser sintomático y centrado en la rehabilitación de funciones. Entre los tratamientos sintomáticos farmacológicos se ha propuesto el piracetam para el mioclono de SCA2⁹⁵, la toxina botulínica para la espasticidad⁹⁶ y L-dopa para la distonia⁹⁷ en SCA3 y la estimulación talámica para el temblor invalidante en cualquier degeneración espinocerebelosa⁹⁸. Además el tratamiento rehabilitador ha adquirido en los últimos años un peso específico en el mantenimiento o incluso la recuperación de algunas funciones que pueden suponer pequeñas mejoras clínicas pero conllevan grandes y positivas repercusiones en la calidad de vida de estos pacientes⁹⁹.

En este proyecto describimos las características clínicas de dos familias con una nueva ataxia autosómica dominante, clínicamente pura y caracterizada por una alteración de los movimientos oculares. Los sujetos enfermos no son portadores de ninguna de las mutaciones ligadas a las SCAs más prevalentes en nuestro medio y los estudios genéticos han demostrado ligamiento a un nuevo locus.

CAPÍTULO 2. MATERIAL Y MÉTODOS.

El estudio ha sido aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica de la Fundación de Investigación en Ciencias de la Salud Germans Trias y Pujol de Badalona y por la Fundació Unió Catalana d'Hospitals de Barcelona.

Todos los sujetos participantes firmaron un consentimiento informado autorizando la investigación clínica y genética. Así mismo, todos los sujetos participantes manifestaron verbalmente su deseo de conocer o ignorar los hallazgos clínicos y genéticos resultados de la investigación y así se registró durante la recogida de datos. Algunos sujetos firmaron el documento vigente en Hospital de St. Joan de Déu de Martorell para la cesión de su imagen con fines científicos o divulgativos.

Apartado 2.1. Familia A. Investigaciones clínicas.

Tras la identificación del caso índice en el año 2003 en la provincia de Barcelona se ha recogido información genealógica y clínica de la familia A durante los diez años del período de la investigación. Para ello y cuando ha sido necesario, el examinador (doctorando) se ha desplazado por la geografía española a los lugares de origen de los sujetos (Madrid, Huelva, y Salamanca). La Figura 8 muestra el árbol genealógico de la familia A.

En total, han sido investigados clínicamente 56 miembros en esta familia. La información sobre los sujetos enfermos fallecidos se obtuvo de forma retrospectiva y sólo se ha utilizado en la investigación aquella que ha podido ser contrastada por dos miembros distintos de la familia. Se ha realizado examen clínico en 38 sujetos: 9 enfermos (uno de los enfermos identificados al inicio del estudio pudo incluirse en los estudios genéticos pero falleció antes de poder ser examinado), 8 consortes y otros 21 miembros del pedigrí considerados asintomáticos en riesgo. En concreto, la escala SARA se aplicó en todos los sujetos enfermos vivos al menos en dos ocasiones a lo largo del estudio (años 2010 y 2012), y una vez al año en los sujetos IV.5 y IV:6 a lo

largo de los 10 años de seguimiento. Estos sujetos (IV.5 y IV:6) han sido investigados de una forma detallada y prospectiva utilizando un protocolo clínico estandarizado que además de la escala SARA y el examen neurológico incluye analítica completa (AG), electrocardiograma (ECG), ecocardiograma, audiometría, neurografía, electromiografía, resonancia magnética (RM) encefálica, potenciales evocados auditivos, visuales y somestésicos, registro óculo-gráfico (ROG) y estimulación magnética transcortical (EMT).

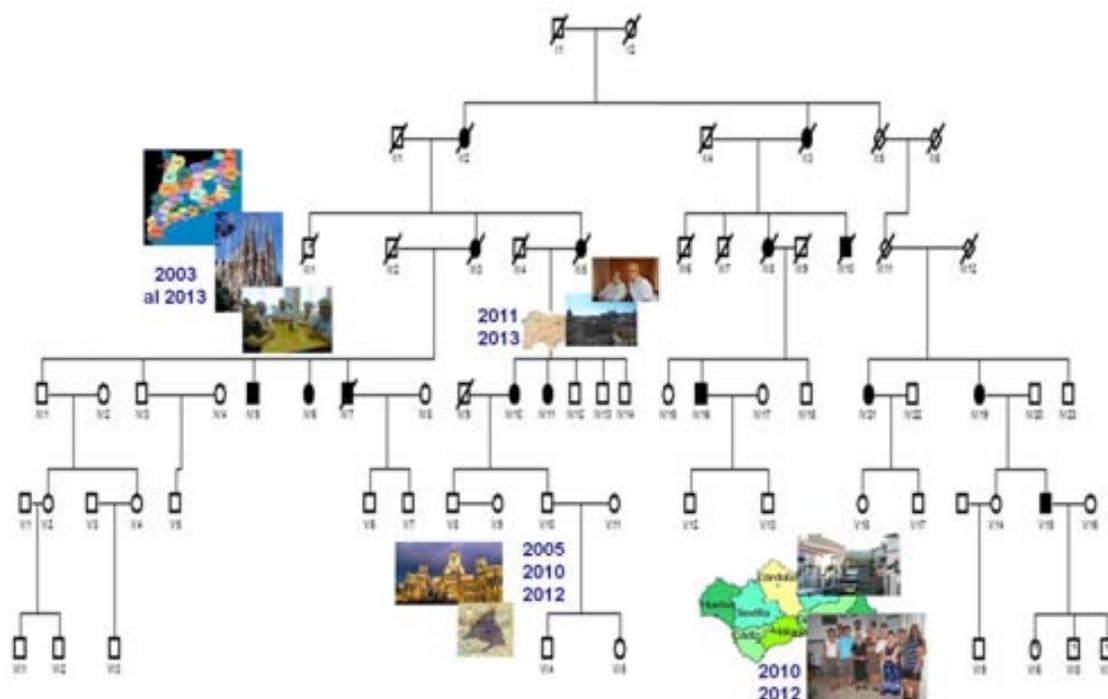


Figura 8. Árbol genealógico de la familia A.
 En azul, las fechas en las que el doctorando explora los diferentes núcleos familiares, de izquierda a derecha, en Barcelona, Madrid, Salamanca y Huelva.

Estos estudios se han realizado en la visita basal y de forma seriada durante el seguimiento (Tabla 1), así el examen neurológico y la escala SARA con una periodicidad anual mientras que el resto de las exploraciones se han administrado con una frecuencia variable según la técnica. Cuando no se ha podido cumplir el cronograma inicial propuesto, se han reajustado las

exploraciones a la disponibilidad de los pacientes permitiendo una variabilidad de 6 meses.

Tabla 1. Protocolo clínico final de seguimiento para los sujetos VI:5 y IV:6.
*NA: No aplicable, la escala SARA se utilizó tras su publicación en el año 2006.

Calendario	Basal	Visita 1	Visita 2	Visita 3	Visita 4	Visita 5	Visita 6	Visita 7	Visita 8	Visita 9	Visita 10
Fecha	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013
Exploracion	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
SARA	NA*	NA*	NA*	x	x	x	x	x	x	x	x
Ecocardiograma			x					x			
ECG	x		x					x			
P. Evocados			x					x			
Audiometria			x					x			
RM	x		x		x			x		x	
EMT			x		x			x		x	
ROG			x		x			x		x	
EMG			x		x			x		x	
AG	x		x		x			x		x	

Respecto a los sujetos asintomáticos en riesgo han sido examinados entre una y tres ocasiones a lo largo del estudio. Hemos realizado ROG (*vide infra*) y estudio por RM encefálica en una ocasión a los sujetos IV:3, IV:13, V:8, V:12, V:13, VI:6, VI:7 y VI:8 y en dos ocasiones a V:7 y V:10.

Apartado 2.2. Familia B. Investigaciones clínicas.

La Figura 9 muestra el árbol genealógico de la familia B. Esta familia solicitó espontáneamente su inclusión en el estudio en el año 2010, durante una de las visitas del doctorando a la provincia de Huelva para el estudio de la familia A. La familia B se incluyó en el estudio tras comprobar que padecían una ataxia autosómica dominante y que procedía de la misma población que la familia A cuyo censo no superaba los 3.000 habitantes en el año 2010 (Instituto Nacional de Estadística). Ninguno de los sujetos en ambas familias podía establecer consanguineidad entre ellas.

Se han investigado un total de 27 sujetos en esta familia y se han examinado personalmente 18 de ellos: 5 enfermos, 2 consortes y 11 sujetos asintomáticos en riesgo. En los sujetos enfermos vivos se ha aplicado la escala SARA en dos

ocasiones a lo largo del estudio (años 2010 y 2012) excepto para el sujeto III:10 de reciente incorporación al proyecto (año 2013) que ha sido explorado en una única ocasión.

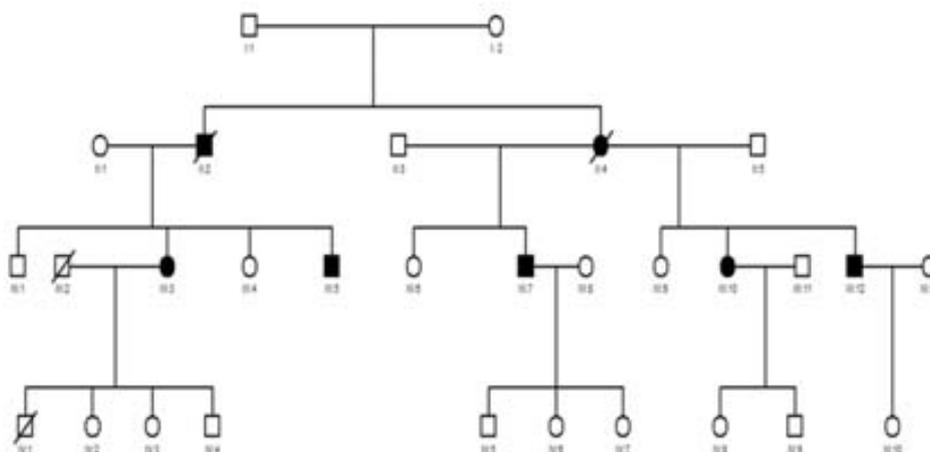


Figura 9. Árbol genealógico de la familia B.
Todos los sujetos fueron examinados en la provincia de Huelva en los años 2010 y 2012.

Los sujetos asintomáticos en riesgo se han examinado en una o dos ocasiones a lo largo del estudio y se ha realizado ROG y RM encefálica en una ocasión a III:1, IV:5, IV:6 y IV:9.

Todas las investigaciones se realizaron en ausencia de medicación.

Apartado 2.3. Registro óculo-gráfico en ambas familias y sujetos controles.

En la familia A se ha realizado ROG en los sujetos enfermos IV:5 y IV:6 en tres ocasiones durante el seguimiento. Los sujetos en riesgo V:7 y V:10 han sido estudiados con ROG en dos ocasiones con un intervalo de dos años entre cada una de ellas y los sujetos en riesgo IV:3, IV:13, V:8, V:12, V:13, VI:6, VI:7 y VI:8 han realizado ROG en una ocasión.

En la familia B se han estudiado con ROG los sujetos en riesgo III:1, IV:5, IV:6, y IV:9 en una sola ocasión. No se ha podido registrar ningún sujeto enfermo perteneciente a esta familia.

Todos los estudios fueron realizados por el mismo experto de una forma estandarizada (Dr. Roig, Servicio de Neurología, Hospital de la Santa Creu i St. Pau, Barcelona). El registro se realizó con un sistema de electronistagmografía automático y computarizado (Nystar, Nicolet Audiodiagnosics, Pittsburgh, Pennsylvania) y la metodología se ha descrito previamente ¹⁰⁰.

Durante el registro el paciente permanece sentado con la cabeza fijada, en la oscuridad, mientras que el estímulo visual aparece a la altura de la mirada. El estímulo consiste en una diana visual luminosa de 0.1" x 0.25" (Nicolet light bar visual stimulator, Nicolet Audiodiagnosics) reflejado en una pantalla curva de 80° con la finalidad de facilitar una visión homogénea a una distancia de 91 cm. La luz rota desde el eje horizontal al vertical para el registro de los movimientos verticales. Los electrodos de registro (NF-50-K/EU "Ambu" Blue Sensor, Copenhague; Dinamarca) se colocan en el ángulo externo de ambos ojos para los movimientos horizontales (canal A) y en la línea media del ojo izquierdo (convencional), por encima y por debajo del mismo, para los movimientos verticales (canal B). El electrodo de tierra se coloca en medio de la frente. Se realiza la calibración del registro con desplazamientos cuadrados de la diana de 15° durante 5 segundos, desde el centro, tanto en el eje vertical como en el horizontal. Los movimientos sacádicos aleatorios se registran solicitando al sujeto que siga 28 apariciones de la diana visual en cada eje (14 hacia la derecha, 14 hacia la izquierda, 14 hacia arriba y 14 hacia abajo). Dichos estímulos aparecen de forma casual durante 40 segundos con un rango de amplitud de 6° a 32° y con un intervalo de tiempo aleatorio.

El sistema proporciona de forma automática los siguientes parámetros:

a) Latencia: es el tiempo medio en milisegundos desde la diana al inicio del movimiento sacádico; b) Índice de velocidad máxima: es un cálculo automático entre la velocidad registrada y la media esperada; c) Precisión: es la diferencia

entre el estímulo y la media de la amplitud del movimiento del paciente expresado como un porcentaje ¹⁰¹.

Para el registro de los movimientos sacádicos fijos se les solicita a los sujetos que sigan 14 apariciones de la diana en cada eje (siete hacia la derecha, siete hacia la izquierda, siete hacia arriba y siete hacia abajo) durante 40 segundos. El estímulo aparece a una amplitud constante de 20° y en intervalos fijos de 2,5 segundos. Se analizan los mismos parámetros (latencia, índice de velocidad máxima y precisión) que los analizados para los movimientos sacádicos aleatorios.

Para el estudio del seguimiento ocular los sujetos deben seguir un estímulo visual que realiza un movimiento sinusoidal en el plano horizontal y en el plano vertical. Se estudian dos series de movimientos, ambos con una amplitud de 16°. La primera serie tiene una frecuencia de 0,4 Hz con una velocidad máxima de 40°/segundo. La segunda serie tiene una frecuencia de 0,2 Hz con una velocidad máxima de 20°/segundo. Ambas series se realizan durante 20 segundos. Los parámetros que se analizan en ambas series son: a) Velocidad máxima; b) Ganancia: es la razón entre la velocidad del ojo y la del estímulo y c) Número de intrusiones sacádicas.

Para el estudio del nistagmo optocinético (NOC) se solicita a los sujetos que miren a un punto medio de una fila de luces que se mueve a lo largo de la pantalla. La velocidad del movimiento de las luces es de 20°/segundo y de 40°/segundo en cada dirección (arriba, abajo, derecha e izquierda). Se registran dos series de NO durante 20 segundos con una distancia entre las dianas de 10,24°. El parámetro analizado es la velocidad media ocular de la fase lenta.

Los resultados de estos estudios se compararon con los obtenidos de forma paralela y prospectiva en 18 controles voluntarios sanos de edades comprendidas entre los 18 y 75 años y con los obtenidos en 6 sujetos enfermos con diagnóstico definitivo de otras SCAs de menos de cinco años de evolución

(cuatro enfermos de SCA3, un enfermo de SCA2 y un enfermo de SCA6, edades comprendidas entre 33 y 59 años). El reclutamiento de estos enfermos se realizó con la colaboración de la Associació Catalana d'Atàxies Hereditàries y de los Dres. Casanovas y Pagola, del Hospital Universitari Bellvitge.

La comparación inicial de los registros individuales se realizó con seis controles sanos, agrupados en dos categorías por edades, y para un parámetro dado se consideró anómalo el valor superior o inferior a la media \pm dos desviaciones estándar comprobado en dos registros independientes. Este requisito se decidió en base a la conocida variabilidad intraindividual del ROG y al hecho que la clasificación clínica correcta de los sujetos en riesgo contribuiría de forma fundamental a los estudios genéticos de ligamiento.

Posteriormente, los Dres. Monleón y Ríos del Departamento de Estadística de la Facultad de Biología de la Universidad de Barcelona realizaron el estudio estadístico de todos los ROG disponibles (46 casos). Se realizó un análisis discriminante que nos permite obtener funciones discriminantes de Fisher para separar de manera eficiente los diferentes grupos de sujetos a partir de las medidas oculares realizadas. A partir de n individuos clasificados en q grupos $\{G_i; i=1, \dots, q\}$ de tamaños $\{n_g; g=1, \dots, q\}$ que constituyen una partición de la muestra de la población de la que dichos individuos proceden. Sea $Y = (Y_1, \dots, Y_p)'$ un conjunto de variables numéricas observadas sobre dichos individuos con el fin de realizar una nueva clasificación entre los q grupos anteriores. Mientras no se diga lo contrario, supondremos que las variables son cuantitativas.

Los objetivos del análisis discriminante pueden sintetizarse en dos: a) Analizar si existen diferencias entre los grupos en cuanto a su comportamiento con respecto a las variables consideradas y averiguar en qué sentido se dan dichas diferencias y b) Elaborar procedimientos de clasificación sistemática de individuos de origen desconocido, en los grupos analizados.

Los cálculos se realizaron mediante el programa SPSS 21 (IBM Corp. Released 2012. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 21.0. Armond, NY: IBM Corp.)

Apartado 2.4. Estudios genéticos.

Los estudios fueron realizados por los doctores Antoni Matilla en el IGTP y Víctor Volpini en el IDIBELL y sus respectivos equipos de investigación. El doctorando participó en los mismos obteniendo, custodiando y trasladando todas las muestras biológicas y clasificando clínicamente a los sujetos de los que se obtuvieron.

Se obtuvieron muestras de sangre periférica de 38 sujetos en la familia A (10 enfermos) y 18 en la familia B (5 enfermos). El ADN se extrajo de los leucocitos sanguíneos utilizando un sistema de purificación de ADN automático (Chemagen, Alemania) e inicialmente se estudiaron las mutaciones más comunes en nuestro medio para las SCAs dominantes: SCA1, 2, 3, 6, 7, 8, 10, 12, 17 y DRPLA¹⁰². Se descartó ligamiento con SCA4 en el cromosoma 16²⁰,¹⁰³ y mutaciones en el gen *KCND3* responsable del la SCA19/22^{18, 31}.

Posteriormente se procedió a los estudios de ligamiento. Doce individuos, seis sanos y seis enfermos, pertenecientes a la familia A fueron incluidos en los estudios de ligamiento iniciales realizados con el panel de Infinium HumanLinkage-12 Genotyping BeadChip (Illumina Inc., San Diego, CA). El panel incluye 6.609 SNPs ("Single Nucleotide Polymorphism"). El estudio inicial de ligamiento genético se realizó en colaboración con los Profesores Alexis Brice y Giovanni Stevanin del Hospital de la Salpêtrière y del Institut national de la santé et de la recherche médicale (INRS), ambos en París (Francia), respectivamente. Los genotipos se asignaron con el software Bead Studio genotyping module (Illumina Inc.) y el ligamiento se analizó con el programa MERLIN¹⁰⁴. Se estableció una penetrancia del 80% para todos los sujetos. Posteriormente para confirmar el ligamiento y redefinir el mapa, 10 muestras de enfermos y 23 de sujetos asintomáticos, pertenecientes a la familia A, fueron investigadas con microsatélites localizados en el cromosoma 1 y SNPs ("Single nucleotide polymorphism") utilizando el "Genome Wide Human SNP Array" (Affymetrix) que contiene 906.600 SNPs. Se realizaron análisis de

ligamiento (dos puntos y “multipoint”) con los módulos MLINK y LINKMAP (versión 5.10) de FASTLINK (versión 4.1P). Para el análisis “multipoint” se utilizaron los mapas del Marshfield Medical Research Foundation ¹⁰⁵, deCODE Genetics ¹⁰⁶, y el Geneton ¹⁰⁷. Se realizó secuenciación exómica completa en dos sujetos enfermos de la familia A (IV:16 y V:15). La metodología de esta parte de la investigación se describe en el Anexo 2. Los estudios de ligamiento se reprodujeron utilizando la misma metodología en la familia B.

Las variantes conocidas se descartaron para análisis posteriores utilizando la información de la base de datos Ensembl versión 62. Los genes candidatos se priorizaron en base a las variantes potencialmente patológicas, como se ha descrito previamente ¹⁰⁸.

CAPÍTULO 3. RESULTADOS.

Apartado 3.1. Descripción clínica. Familia A.

El caso índice (IV:7) fue visitado por primera vez a la edad de 54 años en nuestra consulta de neurología general. Refería una historia de dos años de duración, de caídas y anomalías en el lenguaje. Negaba síntomas sensitivos, cognitivos o visuales. No refería antecedentes personales ni familiares de migraña o epilepsia. La exploración neurológica evidenció una moderada alteración de los movimientos oculares sacádicos y de seguimiento en el eje vertical, una disartria moderada con habla escándida, ataxia de tronco y marcada disimetría en la maniobra talón-rodilla en las extremidades inferiores y en la maniobra dedo-nariz en extremidad superior izquierda, con disidiadococinesia en dicha extremidad. Los reflejos musculares profundos fueron normales y un examen más exhaustivo no encontró déficit cognitivo, signos de afectación motora o sensitiva de vías largas, mioclonías, temblor, hipertonía en rueda dentada ni otros signos extrapiramidales.

El TC craneal reveló atrofia de ambos hemisferios cerebelosos y del vermis (Figura 10) con relativa preservación de la protuberancia (Figura 11).



Figura 10. Imagen de TC craneal del sujeto índice mostrando la atrofia de cerebelo con un incremento de los surcos en los hemisferios (imagen izquierda) y el vermis (imagen derecha).

Figura 11. TC craneal del sujeto índice donde se observa la protuberancia de tamaño normal.



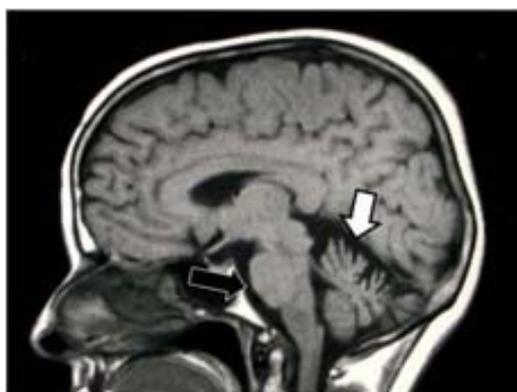
No se pudieron realizar exploraciones complementarias adicionales porque el paciente falleció de un adenocarcinoma diseminado a los 4 meses de la visita.

Su hermana (IV:6) consultó por primera vez a los 59 años, sólo unas semanas después. Aquejaba sensación de inestabilidad al caminar de un año de evolución. La exploración neurológica fue prácticamente normal mostrando únicamente una mínima dificultad en la marcha en tándem. El examen de los movimientos oculares mostró movimientos sacádicos verticales imprecisos y el seguimiento vertical era algo tosco, sin embargo ambos signos eran sutiles y no se traducían en ninguna molestia para la paciente. Al año del debut, la disartria se hizo evidente y la marcha en tándem resultaba muy difícil. A los cinco años del inicio de los síntomas, la exploración neurológica convencional detectó movimientos oculares horizontales sacádicos y de seguimiento alterados. La disfagia aunque leve apareció también en ese punto del curso de la enfermedad. Durante los 10 años de seguimiento se instauró un síndrome cerebeloso completo con hipotonía, disdiadococinesia y disimetría de las extremidades y ataxia de tronco, apareciendo caídas frecuentes. La paciente cesó su actividad laboral a los tres años del debut (62 años) por sus limitaciones motrices. En la actualidad se mantiene autónoma para el cuidado personal pero requiere ayuda para las actividades de la vida cotidiana.

La RM encefálica basal mostró atrofia cerebelosa difusa. El tronco del encéfalo no presentaba anomalías y se ha mantenido sin cambios a los largo del seguimiento (Figura 12).

El ECG, el ecocardiograma, la audiometría, la neurografía, la electromiografía, los potenciales

Figura 12. RM encefálica del sujeto IV:6: corte sagital en T1 que muestra la atrofia del vermis cerebeloso (flecha blanca) con la preservación del tronco del encéfalo (flecha negra).



evocados visuales, somestésicos y auditivos y la EMT no han mostrado alteraciones en los estudios basales ni durante el seguimiento. Las anomalías del ROG se detallan a continuación.

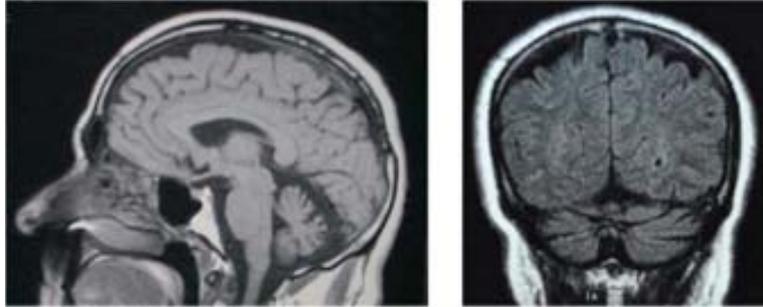
El sujeto IV:5 se visitó por primera vez a la edad de 64 años. No refería síntomas neurológicos pero estaba preocupado por la posibilidad de padecer la misma enfermedad que sus hermanos. La exploración neurológica resultó normal excepto por una marcha en tándem algo torpe, sin embargo los movimientos oculares sacádicos verticales eran muy imprecisos y el seguimiento vertical ocular muy tosco.

Durante el seguimiento se ha instaurado un síndrome cerebeloso leve que se ha manifestado con una marcha en tándem algo difícil, dismetría leve en ambas extremidades inferiores y disdiadococinesia en las superiores. Adicionalmente al año del debut se apreciaba una ligera disartria que se ha mantenido estable durante el seguimiento. A los cinco años desde el inicio, observamos un movimiento ocular de seguimiento horizontal alterado en la exploración convencional apareciendo nistagmo horizontal a los siete años de seguimiento.

Actualmente, tras diez años de seguimiento, el sujeto IV:5 es autónomo para el cuidado personal y a diferencia de su hermana también lo es para todas las actividades de la vida cotidiana lo que se refleja en una diferencia de dos puntos en la escala SARA entre ambos sujetos para el mismo tiempo de evolución de la enfermedad y una pendiente de la recta con tendencia a cero en el último año de seguimiento (Figura 13, página 35).

La RM encefálica mostró inicialmente atrofia del vermis del cerebelo que evolucionó a atrofia hemisférica en dos años (Figura 14). No ha aparecido atrofia de tronco del encéfalo durante el seguimiento.

Figura 14. RM encefálica del sujeto IV:5. A la izquierda se presenta un corte sagital en secuencia T1 donde se observa la atrofia del vermis cerebeloso. A la derecha se muestra un corte coronal en secuencia FLAIR donde se objetiva una atrofia cerebelosa que incluye a los hemisferios.



Los potenciales evocados auditivos detectaron un déficit endococlear ligero y bilateral, que se ha mantenido estable a lo largo del seguimiento, y las anomalías detectadas en el ROG se detallan en el siguiente apartado. El resto de las exploraciones complementarias del protocolo de la investigación clínica no mostraron anomalías.

Respecto al resto de sujetos enfermos, en la Tabla 2 se muestra un resumen de los hallazgos clínicos en exploración clínica convencional de todos los sujetos enfermos examinados. La edad media del debut de la enfermedad es de 48 años (rango 35-64) y para su cálculo incluimos información retrospectiva procedente de dos sujetos enfermos fallecidos (III:3, III:5). No hemos encontrado evidencia de anticipación en las tres generaciones en las cuales se conoce la edad de inicio de la enfermedad. El proceso no parece alterar la esperanza de vida pues todos los fallecidos antes o durante el estudio (III:3, III:5, IV:19) lo hicieron en la novena década de la vida (entre los 84 y 88 años) con una duración media de la enfermedad de 36 años. Se excluyó de este cálculo al sujeto IV:7 porque su fallecimiento fue debido a un adenocarcinoma diseminado sin relación aparente con la enfermedad neurológica. El resto de sujetos enfermos investigados no ha presentado ningún tipo de neoplasia maligna.

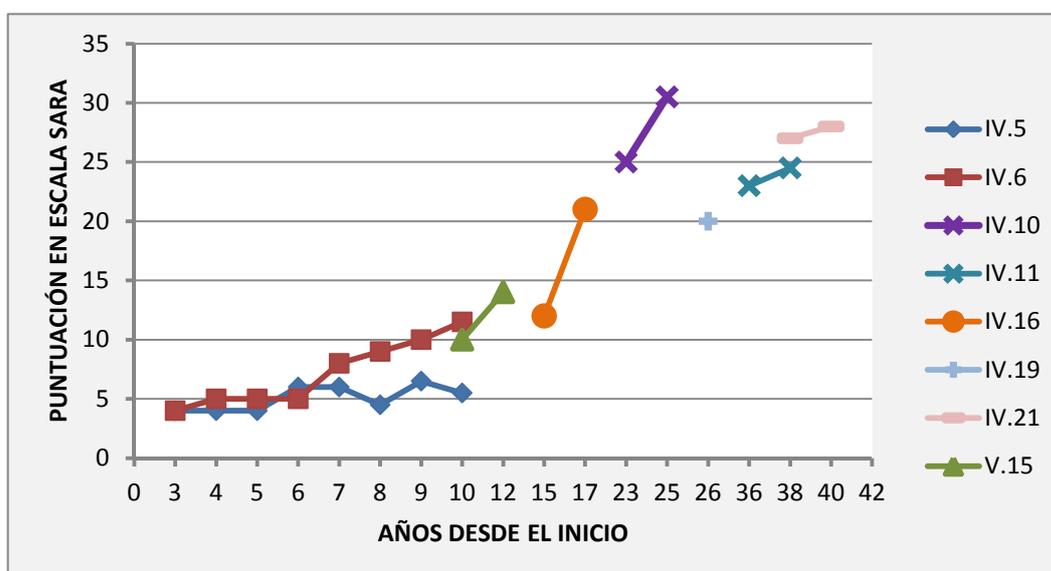
Tabla 2. Datos clínicos relevantes de los sujetos enfermos examinados en la familia A.
 ND: Información no disponible; alteración MOE: hace referencia a los movimientos sacádicos y de seguimiento.

Nº Pedigrí	Status 2013, edad	Edad, debut	Primer síntoma	Última SARA	Años evolución Última SARA	Silla ruedas (edad/años evolución)	Otros síntomas presentes en visita inicial (años desde el inicio de la enfermedad en visita inicial)	Otros síntomas durante el seguimiento (años evolución)
IV:7	Fallecido, 55	54	Torpeza, disartria	NA*	NA*	No	Alteración moderada MOE vertical (2)	*Fallecido 2004
IV:5	74	64	Torpeza	5,5	10	No	Alteración grave MOE vertical (0)	Alteración seguimiento horizontal (5), disartria (6), nistagmo (7), disimetría extremidad inferior (7), disdiadococinesia extremidad superior (10)
IV:6	71	59	Caídas	10	10	No	Alteración discreta MOE vertical (1)	Disartria (1), disfagia (5), clara alteración MOE vertical (5) y horizontal (7)
IV:10	83	55	Disartria	25	26	Sí (78/23)	Nistagmo, temblor, alteración grave MOE ambos ejes (18)	Intrusiones (26)
IV:11	79	39	Torpeza	30,5	40	Sí (72/33)	Disartria, temblor, alteración MOE ambos ejes (36)	Intrusiones (40)
IV:16	69	50	Torpeza, disartria	21	17	Sí, salidas (17/68)	Disfagia, alteración MOE ambos ejes (15)	Temblor (17)
IV:19	Fallecido, 85	56	Disartria	20*	28	Sí (80/24)	Disfagia, alteración MOE ambos ejes (26)	Fallecido 2012
IV:21	81	40	Disartria, caídas	28	40	Sí (50/10)	Disfagia, temblor, alteración MOE ambos ejes (38)	Nistagmo (40), giro cefálico compensatorio (40), intrusiones (40)
V:15	55	42	Disartria	14	12	No	Disfagia, alteración MOE ambos ejes (10)	Ninguno

Los síntomas iniciales incluyen caídas, disartria, torpeza o una combinación de los mismos. La progresión clínica es lenta aunque variable.

Las puntuaciones en la escala SARA de 8 sujetos enfermos se muestran en la Figura 13. El caso índice no aparece en el gráfico porque se estudió y falleció antes de la publicación de la escala. Así mismo, y de manera excepcional, solo se dispone de una determinación para el sujeto IV:19, porque falleció antes de la segunda visita planificada a los dos años de la primera.

Figura 13. Puntuación de la escala SARA en todos los sujetos vivos según el tiempo de evolución de la enfermedad. Nótese que el eje de abscisas no es lineal.



Cuatro sujetos vivos (IV:9, IV:11, IV:20 y IV:22) quedaron confinados a la silla de ruedas con un tiempo variable entre 10 y 33 años desde el debut de la enfermedad.

Los sujetos IV:5, IV:6 and IV:7 fueron examinados en los primeros dos años del inicio de los síntomas mientras que el resto de los sujetos enfermos llevaban un tiempo de evolución de la enfermedad variable, entre 10 y 38 años, cuando fueron visitados por primera vez.

Por entonces, además de un síndrome cerebeloso completo con habla escándida y ataxia de tronco y extremidades, todos ellos presentaban movimientos oculares anómalos en la exploración neurológica convencional, fundamentalmente en forma de movimientos sacádicos hipométricos y seguimiento en rueda dentada en ambos ejes. La disfagia se recogió en cinco de ocho sujetos enfermos (IV:6, IV:16, IV:19, IV:21 y V:15) mientras que el temblor cerebeloso se detectó únicamente en cuatro sujetos (IV:9, IV:11, IV:16 y IV:21). A pesar de las alteraciones oculares, el nistagmo parece ser un signo poco frecuente sólo presente en tres sujetos (IV:5, IV:9 y IV:21). Observamos intrusiones oculares en los movimientos sacádicos y de seguimiento en la exploración convencional en tres enfermos con largo tiempo de evolución de su enfermedad. En uno de ellos (IV:21), las intrusiones y las dificultades en la realización de los movimientos sacádicos fueron tan llamativas que la enferma intentaba compensar el déficit con el giro cefálico.

El TC craneal o la RM encefálica mostraron atrofia cerebelosa difusa en siete enfermos con preservación del tronco del encéfalo. En los sujetos enfermos restantes no se dispone de neuroimagen. No se han detectado otros síntomas o signos adicionales en ningún sujeto, especialmente ninguno refería síntomas sensitivos o motores, fasciculaciones, crisis comiciales o deterioro cognitivo.

La exploración neurológica en los sujetos en riesgo examinados fue estrictamente normal excepto el examen de la motilidad ocular extrínseca. Se observaron alteraciones en los movimientos de seguimiento del eje vertical en la primera visita del sujeto V:10 (36 años) que se confirmaron en todas las visitas del seguimiento. Se detectaron anomalías de los movimientos verticales en el sujeto V:7 (edad 32 años), en forma de hipometría elevadora y depresora y un seguimiento algo tosco, que se confirmaron dos años más tarde. Por último, en los hermanos VI:7 y VI:8 se detectó una hipometría depresora en los movimientos sacádicos a los 22 y 17 años de edad respectivamente que fue confirmada dos años más tarde en la visita de seguimiento sin otros hallazgos patológicos. Se desestimaron los resultados del sujeto V:8 y su continuidad en

el estudio por antecedente de consumo de tóxicos y necesidad de tratamiento continuado con fármacos psicotropos y antiepilépticos.

La RM encefálica no mostró anomalías en ninguno de los sujetos en riesgo a excepción del sujeto V:7 donde se observó una discreta dilatación de los surcos corticales cerebelosos asociada a un pequeño cavernoma en hemisferio cerebeloso izquierdo. Ningún otro miembro de la familia ha presentado malformaciones vasculares en ninguna localización.

Aparatado 3.2. Descripción clínica. Familia B.

Fueron examinados cinco sujetos enfermos de la familia B con edades comprendidas entre los 54 y 68 años (Tabla 3).

La edad de debut en estos sujetos osciló entre 43 y 50 años (edad media 46 años). Los síntomas iniciales consistieron en disartria, caídas, torpeza o una combinación de los mismos. Los sujetos fueron evaluados por vez primera entre los 7 y 19 años del debut.

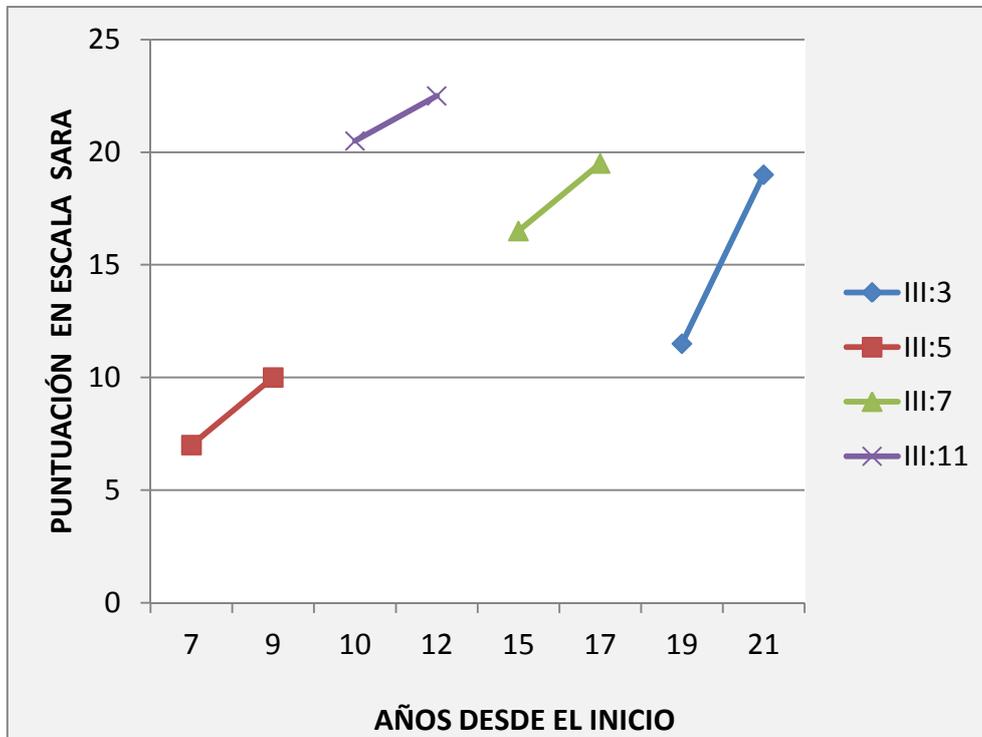
Se dispone de información del examen ocular basal en cuatro de ellos y todos presentaron una alteración difusa de los movimientos oculares sacádicos y de seguimiento en ambos ejes. En el sujeto III:11 no disponemos de esta información inicial pero dichas anomalías se constataron en la visita de seguimiento a los dos años de la primera.

Los sujetos III:7 y III:11 empezaron a utilizar la silla de ruedas para los desplazamientos exteriores a los 15 y 5 años del inicio de los síntomas, respectivamente. En consonancia con este rápido deterioro de la situación funcional, el sujeto III:11 presentó una puntuación muy alta en SARA a pesar del escaso tiempo de evolución de su enfermedad. En la Figura 15 se recogen las puntuaciones de la escala SARA en la familia B para todos los enfermos examinados en dos ocasiones.

Tabla 3. Datos clínicos relevantes de los sujetos enfermos examinados en la familia B.
 ND: Información no disponible; alteración MOE: hace referencia a los movimientos sacádicos y de seguimiento.

Nº Pedigrí	Status 2013, edad	Edad, debut	Primer síntoma	Última SARA	Años evolución Última SARA	Silla ruedas (edad/años evolución)	Años evolución visita inicial	Otros síntomas presentes en visita inicial (años de evolución hasta la aparición del síntoma si se conoce)	Otros síntomas durante el seguimiento (años evolución)
III:3	65	43	Disartria	11,5	21	No, caminador (62/19)	19	Alteración grave MOE vertical	Intrusiones en ambos ejes durante el seguimiento (21), sacádicos horizontales alterados (21), temblor (21)
III:5	55	45	Caídas	7	9	No, bastón en trayectos largos (54/9)	7	Alteración grave MOE vertical, sacádicos horizontales alterados; disartria (2)	Seguimiento horizontal alterado (9)
III:7	68	50	Caídas	16,5	18	Sí, salidas (65/15),	16	Alteración grave MOE vertical y horizontal; disartria.	Temblor (18)
III:10	61	45	Disartria, torpeza	19,5	16	No, salidas con una persona	16	Alteración grave MOE vertical y horizontal	ND
III:11	59	46	Disartria, torpeza	20,5	12	Sí, salidas (51/5)	10	ND	Alteración grave MOE vertical y horizontal (12), temblor (12)

Figura 15. Puntuación de la escala SARA de los sujetos de la familia B examinados en dos ocasiones. Nótese que las pendientes no son comparables entre ambas familias por la construcción del gráfico.

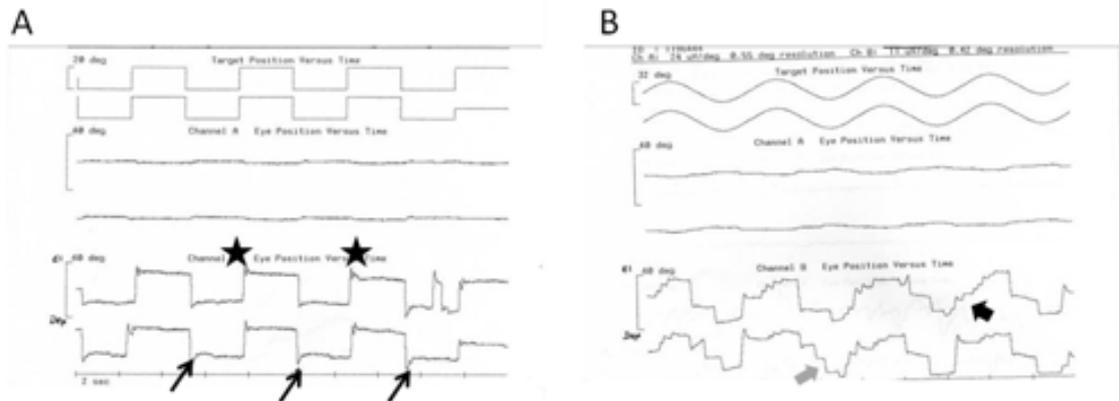


Apartado 3.3. Registro óculo-gráfico de sujetos enfermos (IV:5 y IV:6) de la familia A.

Estudio #1 (dos años desde la visita basal)

Todos los movimientos verticales (sacádicos, seguimiento y NOC) estaban alterados en ambos sujetos. IV:5 mostró alteraciones más graves que IV:6. IV:5 mostró unos movimientos sacádicos hipermétricos ascendentes y descendentes mientras que IV:6 presentó sacádicos hipométricos ascendentes e hipermétricos descendentes. La velocidad de estos movimientos fue normal en IV:5 y discretamente disminuida en IV:6. El seguimiento vertical estaba alterado en ambos hermanos, tanto la velocidad como la ganancia, especialmente en IV:5, y peor en sentido descendente. Estas anomalías se ilustran en la Figura 16.

Figura 16. Registro de los movimientos oculares sacádicos fijos verticales (20° amplitud) (A) y durante el seguimiento vertical (0.4 Hz, 16° amplitud, velocidad máxima 40°/seg, ganancia 0,20) (B) en el sujeto IV:5. **A.** Se observa la hipermetría ascendente (estrellas) y la hipermetría descendente (flechas) en el registro de los movimientos sacádicos. **B.** Sustitución sacádica del seguimiento vertical ascendente (flecha negra) y descendente (flecha gris).



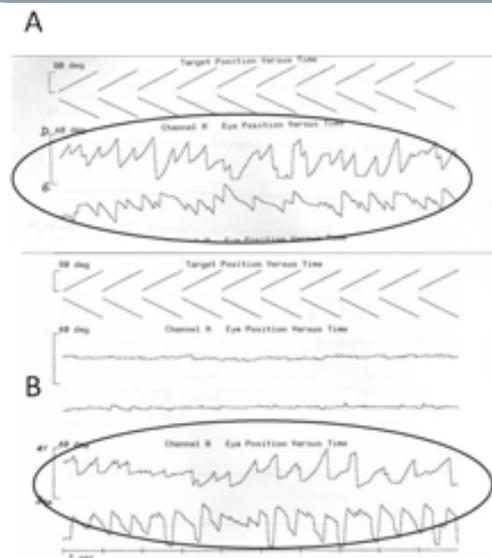
El NOC vertical mostró una velocidad de seguimiento disminuida en ambos (inferior a 14°/s en el sujeto IV:5 e inferior a 16°/s en el sujeto IV:6). Este hallazgo se ilustra en la Figura 17.

Respecto a los movimientos horizontales, fueron estrictamente normales en el sujeto IV:6. El sujeto IV:5 mostró como único hallazgo patológico en el eje horizontal un NO alterado mientras que los movimientos sacádicos y de seguimiento fueron normales en este eje.

Estudio #2 (cinco años desde la visita basal)

Los datos más relevantes de este estudio han sido previamente reportados¹⁰⁹ y los hallazgos más relevantes se muestran en el Anexo 1. Los movimientos en el eje vertical, que ya estaban muy alterados en el estudio basal, permanecieron sin cambios en este estudio para el sujeto IV:5. En su hermana, IV:6, se observó un empeoramiento en todos de los movimientos verticales especialmente en el sentido descendente

Figura 17. Registro del NOC vertical a 40°/s (elipse). **A.**Sujeto IV:5. **B.**Sujeto IV:6. En cada uno de ellos la línea superior corresponde al NOC ascendente y la línea inferior al NOC descendente.



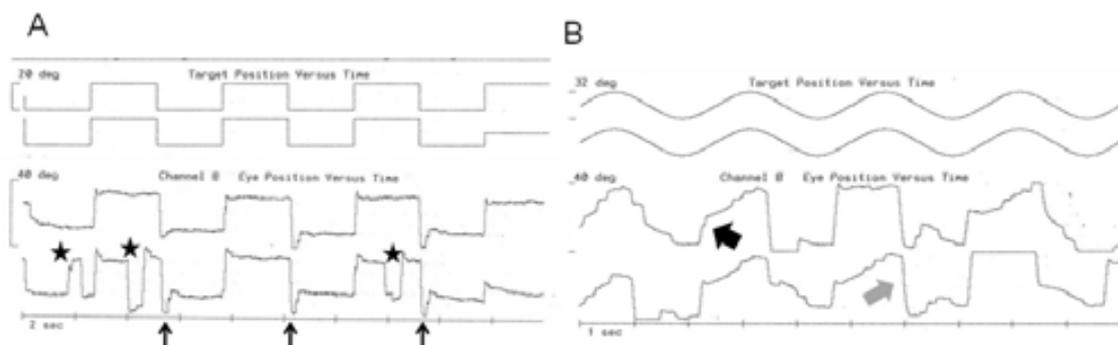
(Anexo 1, Tabla 2). A destacar que la velocidad de los movimientos sacádicos verticales es normal en ambos sujetos en este estudio.

Respecto a los hallazgos en el eje horizontal, se detectaron anomalías que no estaban presentes en el estudio basal. En ambos sujetos se detectó una mínima anomalía en la latencia de los movimientos sacádicos hacia la izquierda que no se confirmó en estudios posteriores (datos no mostrados) y el sujeto VI:6 empezó a mostrar anomalías discretas en la precisión de estos movimientos (Anexo 1, Tabla 2). El seguimiento horizontal se alteró marcadamente en ambos hermanos, predominantemente hacia la izquierda (Anexo 1, Tabla 3) y el NOC horizontal mostró una velocidad de seguimiento automático patológicamente disminuida en ambos, especialmente en IV:5 con un registro de 19°/segundo para un estímulo con una velocidad de 40°/segundo (Anexo 1, Tabla 4).

Estudio # 3 (siete años desde la visita basal)

En este estudio se confirma la progresión de las alteraciones descritas en los años previos. Adicionalmente, en el sujeto IV:5 se observa por primera vez nistagmo horizontal y en su hermana, IV:6, aparecen intrusiones sacádicas verticales (Figura 18). Es destacable que en el sujeto IV:5, los movimientos sacádicos horizontales se mantienen estrictamente normales tras siete años desde el debut.

Figura 18. Registro de los movimientos oculares sacádicos fijos verticales (20° amplitud) (A) y durante el seguimiento vertical (0.4 Hz, 16° amplitud, velocidad máxima 40°/seg, ganancia 0,20) (B) en el sujeto IV:6. A. Se observa la hipermetría descendente (flechas) y las intrusiones sacádicas (estrellas) especialmente en el registro de los movimientos sacádicos descendentes. B. Sustitución sacádica del seguimiento vertical ascendente (flecha negra) y descendente (flecha gris).



Apartado 3.4. Estudio ROG de los sujetos en riesgo en ambas familias.

Sujetos en riesgo de la familia A

El primer estudio del sujeto V:7 (edad 32 años) mostró movimientos estrictamente normales en el eje horizontal pero se observó una alteración de la precisión de los movimientos sacádicos verticales, especialmente en los movimientos sacádicos fijos a 20° en ambos sentidos, elevadores y depresores. También presentó un seguimiento vertical alterado tanto en velocidad como en ganancia y un NOC vertical con velocidad disminuida fundamentalmente a 40°¹⁰⁹. En el segundo estudio se confirmaron estos hallazgos.

El sujeto V:10 mostró anomalías clínicas en la primera evaluación a los 36 años de edad y fue estudiado posteriormente por ROG en dos ocasiones, a los 43 y 45 años de edad (datos no publicados). Las anomalías más consistentes fueron la disimetría clara en los movimientos sacádicos fijos depresores a 20° y en los movimientos sacádicos elevadores aleatorios con estímulos entre 6° y 32° y presentó un enlentecimiento muy grave en el seguimiento y en el NOC verticales. Ambos movimientos en el eje horizontal fueron estrictamente normales.

Los datos más relevantes del ROG de ambos sujetos se recogen en las Tablas 2, 3 y 4 del Anexo 1 donde también se muestran los obtenidos en tres controles sanos comparables por edad.

Respecto al resto de los sujetos en riesgo evaluados, de nuevo se desestimaron los resultados del sujeto V:8 y su continuidad en el estudio por antecedente de consumo de tóxicos y necesidad de tratamiento continuado con fármacos psicotropos y antiepilépticos. En IV:3, IV:13, V:12, V:13 y VI:6, el estudio fue estrictamente normal y en VI:7 y VI:8 presentó alguna anomalía aislada, pero no permitió resultados concluyentes por cuanto estos sujetos sólo han podido ser estudiados en una única ocasión. A pesar de ello, la estricta

normalidad observada en los sujetos IV:3 y IV:13 es especialmente relevante para catalogar a ambos sujetos como sanos con alta probabilidad, por cuanto el estudio se realizó a los 74 y 70 años de edad, respectivamente. Para el resto de los sujetos evaluados por ROG en los que el estudio fue normal o no concluyente, la clasificación clínica es incierta, ya que fueron examinados entre los 22 y 41 años de edad, y la edad media de debut de la enfermedad es de 46 años.

Sujetos en riesgo de la familia B

En la familia B se han estudiado con ROG los sujetos en riesgo III:1, IV:5, IV:6 y IV:10 en una ocasión. Todos los estudios resultaron normales (edades comprendidas entre 36 y 67 años). De nuevo, la normalidad del estudio en el sujeto III:1 de 67 años permite clasificarlo con alta probabilidad como sano; para el resto de los sujetos con edades comprendidas entre los 36 y los 42 años la clasificación clínica es incierta.

Apartado 3.5. Hallazgos de ROG en otras SCAs.

Con el fin de aproximarnos a la especificidad de las anomalías oculares precoces observadas en esta ataxia familiar dominante se estudiaron 4 sujetos con SCA3, un sujeto con SCA6 y un sujeto con SCA2 en los primeros cinco años del curso de su enfermedad. El sujeto con SCA6 y uno de los sujetos con SCA3 no tenían síntomas o signos de ataxia en el momento del estudio. Los datos obtenidos se incluyeron en el análisis estadístico global pero inicialmente se compararon con los obtenidos en seis controles sanos agrupados en dos categorías por edad de forma similar a como se trataron los datos de los sujetos asintomáticos en riesgo de ambas familias. De forma general, los enfermos presentaron las anomalías previamente descritas en los respectivos subtipos de SCA pero con algunos matices.

Así, los pacientes con SCA3, de edades comprendidas entre 35 y 59 años de edad, presentaron alteración en la precisión de los movimientos sacádicos en ambos ejes, en un sujeto la latencia y el índice de velocidad de los movimientos

sacádicos verticales también se vieron afectados, el seguimiento vertical fue anómalo en todos menos en un sujeto mientras que el seguimiento horizontal fue normal en todos ellos, comparado con controles. El NOC vertical también mostró velocidades enlentecidas en todos los sujetos y en dos de ellos esta anomalía se observó también en el NOC horizontal.

El paciente con SCA6, de 33 años, presentó anomalías discretas en la precisión de los sacádicos de ambos ejes, de carácter hipométrico en el eje vertical, e hipermétricos en el horizontal, con marcada alteración del seguimiento vertical y del NOC vertical y horizontal.

El paciente con SCA2, de 36 años de edad, ya tenía clínica atáxica y presentó una marcado enlentecimiento de los movimientos sacádicos horizontales con un índice de velocidad entre 0,49 y 0,25 (μ : 1,13; θ : 0,27 en controles, datos no mostrados). Además los movimientos sacádicos horizontales resultaron muy imprecisos en ambos sentidos con valores de precisión entre 51 y 68 indicativos de hipometría (Anexo 1, Tabla 2, para valores en controles). Los valores de la velocidad y la ganancia del movimiento de seguimiento horizontal se encontraban en el límite bajo de la normalidad. El NOC horizontal estaba abolido. Respecto al eje vertical el estudio estuvo limitado por la práctica imposibilidad para seguir el estímulo visual debido a las conocidas y marcadas alteraciones oculares que acompañan a este subtipo de SCA. No se obtuvieron parámetros analizables en ninguno de los movimientos estudiados en este eje.

Apartado 3.6. Estudios genéticos de las familias A y B.

Inicialmente se descartaron las mutaciones más comunes en nuestro medio para las SCAs dominantes: SCAs 1, 2, 3, 6, 7, 8, 10, 12, 17 y DRPLA¹⁰² en ambas familias. Posteriormente se excluyó ligamiento al locus SCA4^{20, 103} y las mutaciones en *KCND3* en la familia A. Los estudios de ligamiento iniciales con 12 sujetos (seis sanos y seis enfermos de la familia A) revelaron un ligamiento sugestivo a la región cromosómica 1p32 ($Z_{max} = 2,03$ a una $\theta = 0,00$). Los estudios de ligamiento posteriores con 21 muestras de la misma familia revelaron un LOD score significativo entre el locus del rasgo y el marcador

D1S2742 ($Z_{\max}=3,83$; $\theta=0,00$). El análisis multipunto localizó el locus para la enfermedad en un intervalo de 0,66 cM limitado por los marcadores D1S200 y D1S2742 ($Z_{\max}=6,539$; $P<.0001$). La familia B a su vez también obtuvo un LOD score altamente sugestivo de ligamiento con los mismos marcadores en la misma región ($Z_{\max}=2,993$; $P<.0001$). Los árboles genealógicos con los haplotipos se muestran en el Anexo 3.

Por último, también se obtuvo un ligamiento significativo en el análisis exclusivo de los 10 enfermos de la familia que evita cualquier influencia de las consideraciones sobre la penetrancia de la enfermedad en los individuos asintomáticos del pedigrí. La secuenciación exómic completa en dos individuos enfermos de la familia A (IV:16, V.15), tras el filtrado de las variantes encontradas utilizando las bases de datos mencionadas en el apartado de “Material y métodos”, identificó seis variantes en ambos, sin embargo ninguna de ellas segregaba con la enfermedad en todos los individuos afectados. No obstante una de ellas confirmó el ligamiento y delimitó proximalmente la región crítica en 1p32. El “Human Genome Nomenclature Committee” le ha asignado a esta ataxia la denominación de SCA37.

Apartado 3.7. Análisis global de los movimientos oculares en ambas familias, comparación con controles y con otros subtipos de SCA y relación con el haplotipo de riesgo.

En definitiva, todos los individuos enfermos de ambas familias presentaban anomalías en el examen de los movimientos oculares verticales; tanto los individuos clínicamente afectados de ataxia en el momento del primer examen neurológico como el sujeto IV:5 de la familia A que desarrolló una leve ataxia a posteriori. Adicionalmente, todos los enfermos con más de cinco años de evolución presentaban anomalías difusas en el eje horizontal excepto en el mencionado sujeto IV:5 de la familia A que mantuvo normales los movimientos horizontales sacádicos durante todo el seguimiento (10 años). En aquellos sujetos examinados al principio de la enfermedad (IV:5 y IV: 6 en la familia A), las anomalías de los movimientos verticales precedieron a la de los movimientos horizontales.

Respecto a los individuos en riesgo asintomáticos que heredaron el haplotipo de riesgo se han observado anomalías clínicas en la exploración de los movimientos oculares verticales en cinco de ellos (V:7, V:10, VI:7 y VI:8 de la familia A y IV:9 de la familia B) y han sido confirmadas por ROG en dos (V:7 y V:10, familia A). Hay que remarcar que el sujeto V:10 heredó sólo parte del haplotipo de riesgo (Anexo 3, figura 1). En VI:7 y VI:8 de la familia A, los estudios resultaron normales o no concluyentes cuando se compararon con tres controles sanos de su edad. El sujeto IV:9 de la familia B no pudo ser estudiado por ROG.

Las anomalías detectadas en V:7 y V:10, así como los hallazgos iniciales de IV:5 y IV:6, en la familia A, se distinguen de las observadas en sujetos jóvenes afectados de otras SCAs pre-sintomáticos o con escaso tiempo de evolución clínica especialmente porque las anomalías precoces observadas en estos sujetos de la familia A están claramente limitadas al eje vertical y se caracterizan por unos movimientos sacádicos imprecisos, pero de velocidad normal, y un seguimiento y NOC verticales enlentecidos, mientras que en el resto de SCAs examinadas las alteraciones se extienden al eje horizontal o bien afectan marcadamente a la velocidad de los movimientos sacádicos.

Por su parte, todos los sujetos asintomáticos que no heredaron el haplotipo de riesgo presentaron una exploración neurológica estrictamente normal, incluyendo los movimientos oculares, y el ROG confirmó esta normalidad en seis de ellos (IV:3 y IV:13 de la familia A y III:1, IV:5, IV:6 y IV:10 en la familia B).

El análisis de todos los ROG disponibles (n=46) según la función discriminante lineal de Fisher señaló la precisión de los movimientos sacádicos verticales como la función capaz de clasificar correctamente el 100% de los registros correspondientes a los sujetos enfermos con SCA37, el 100% de los registros correspondientes a los sujetos asintomáticos que habían heredado el haplotipo de riesgo para SCA37 y el 100% de los sujetos con otras SCAs. Los controles y

los sujetos asintomáticos que no habían heredado el haplotipo de riesgo para SCA37 se clasificaron correctamente en el 86,7% y el 87,5% de los casos, respectivamente. La variable que de forma aislada clasificaba mejor los grupos era la precisión de los movimientos sacádicos depresores a 20°. De hecho esta variable por sí sola clasificaba correctamente el 100% de los enfermos con SCA37 y el 52,9% de los controles. Cuando los grupos fueron fusionados en dos categorías clínicamente relevantes (a saber: enfermos y asintomáticos que habían heredado el haplotipo de riesgo para SCA37 en un solo grupo; controles y asintomáticos sin el haplotipo de riesgo para SCA37 en un segundo grupo) de nuevo el 100% de los sujetos del primer grupo fueron correctamente clasificados mientras que en el segundo grupo fueron clasificados correctamente el 91,3% de los casos. En total pues, el análisis global de la precisión del ROG permitió una clasificación correcta del 93,5% de los sujetos investigados. Este análisis incluyó a los ROG en los que todos los datos sobre la precisión de los sacádicos estaban disponibles. En concreto se incluyeron 36 ROG y se analizó la precisión de los movimientos sacádicos fijos a 20° y 30° y aleatorios (entre 6° y 32°) en ambos ejes. Al analizar el resto de los parámetros obtenidos (latencias e índice de velocidad de los movimientos sacádicos descritos, velocidad y ganancia del movimiento de seguimiento en ambos ejes a 20° y 40° y velocidad del NOC en ambos ejes a 20° y 40°) no se mejoraba la clasificación.

CAPÍTULO 4. DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES.

Describimos un nuevo tipo de ataxia espinocerebelosa tardía, con fenotipo puro, sin defecto genético conocido, y con ligamiento a la región cromosómica 1p32. El “Human Genome Nomenclature Committee” le ha asignado a esta ataxia la denominación de SCA37 ¹⁰⁹.

El fenotipo se caracteriza por una ataxia cerebelosa progresiva, de debut en la edad media (47 años como promedio), a la que se añade disfagia, temblor y/o nistagmo durante el seguimiento, correspondiendo por lo tanto a un fenotipo III según la clasificación de Harding ². La progresión clínica es lenta, aunque variable, y las puntuaciones en la escala SARA siguieron un patrón lineal, como era de esperar según observaciones previas en otras SCAs ⁶³. En las etapas iniciales de la enfermedad, la escala no resultó útil para medir la progresión de la misma, porque el síndrome cerebeloso no estaba completamente desarrollado y SARA no está diseñada como herramienta diagnóstica. En ese punto de la enfermedad, sin embargo, ya detectamos movimientos oculares anómalos con disimetría de los movimientos sacádicos y enlentecimiento de la persecución y del NOC, todo ello en el eje vertical, con posterior extensión al eje horizontal, por lo que el examen clínico de los movimientos oculares y el ROG fueron esenciales para determinar la progresión clínica cuando SARA era poco informativa.

La detección exclusiva de anomalías precoces en el eje vertical fue inicialmente interpretada con cautela debido a las dificultades inherentes a este tipo de exploración, pero los ROG seriados confirmaron la observación clínica inicial, incluso teniendo en consideración las dificultades inherentes a los registros verticales (interferencia del movimiento del tarso, sensibilidad de la técnica ¹¹⁰). Adicionalmente, las anomalías en el eje vertical fueron universales para todos los enfermos de más de cinco años de evolución, se hallaron en sujetos jóvenes asintomáticos que habían heredado el haplotipo de riesgo, no se

observaron en aquellos que no habían heredado dicho haplotipo y por último, se detectaron en un sujeto enfermo años antes de la aparición de la ataxia, e incluso cuando ésta apareció, los movimientos sacádicos en el eje horizontal se mantuvieron estrictamente normales.

Así, postulamos que los movimientos oculares verticales anómalos podían constituir un endofenotipo, como los descritos en SCA1¹¹¹, SCA2¹¹² y SCA7¹¹³, orientar hacia los fenómenos patológicos iniciales de esta enfermedad y tener un valor diagnóstico en SCA37, particularmente en la fase pre-sintomática o precoz de la misma.

Como en toda enfermedad neurodegenerativa, la identificación de sujetos pre-sintomáticos es extremadamente relevante en SCA37, por cuanto permite estudiar la historia natural de la enfermedad en dicho periodo del proceso nosológico y, en caso que finalmente se trate de una enfermedad monogénica como se hipotetiza, ofrecer consejo genético. Asimismo, en un futuro, permitiría un tratamiento precoz antes de la aparición de la ataxia. En esta investigación, adicionalmente, la correcta clasificación clínica de los sujetos de las generaciones más jóvenes era fundamental para facilitar e interpretar los estudios genéticos de ligamiento. Dicha clasificación parecía a priori difícil puesto que la edad media de debut de la ataxia resultó ser la quinta década.

En consecuencia, se planteó la investigación con ROG de la presencia y especificidad de posibles anomalías oculares en sujetos asintomáticos de ambas familias como signo precoz de enfermedad. Los hallazgos se compararon con controles y con sujetos pre-sintomáticos o con escaso tiempo de evolución clínica (máximo cinco años) portadores de mutaciones para otras SCAs y se relacionaron con el genotipo. Se determinó un límite de cinco años de evolución de la ataxia en la selección de sujetos con otras SCAs porque ese es el tiempo durante el cual las anomalías oculares estaban restringidas al eje vertical en SCA37.

Encontramos anomalías clínicas en los movimientos oculares en cinco sujetos jóvenes, asintomáticos, que resultaron portadores del haplotipo de riesgo para SCA37, así que dado el carácter autosómico dominante de la entidad, podían considerarse pre-sintomáticos. Cuatro de ellos pudieron ser estudiados con ROG. En dos, los resultados, a falta de un segundo estudio, no fueron concluyentes. En los otros dos, las anomalías detectadas en los estudios iniciales se confirmaron en un segundo registro y consistieron en anomalías difusas de los movimientos del eje vertical, pero con ciertas diferencias entre ambos, pues en un sujeto predominaron las anomalías de la precisión de los sacádicos y en el otro las alteraciones del seguimiento y del NOC verticales.

Este patrón de anomalías no se observó en los sujetos pre-sintomáticos con otras SCAs (SCA6, SCA3 y SCA2) investigados por nosotros ni en los previamente reportados.

En concreto, en SCA6 las manifestaciones oculares descritas en sujetos pre-sintomáticos han sido heterogéneas ¹¹⁴. Así, destacan la disimetría y la disminución de la velocidad de los movimientos sacádicos, la alteración de la velocidad del seguimiento y el nistagmo en las miradas laterales. Estos hallazgos afectan principalmente al eje horizontal pues las alteraciones verticales se limitaron solo a tres parámetros en dos sujetos de los cuatro investigados en el estudio citado: un sujeto mostró enlentecimiento de los movimientos sacádicos verticales elevadores con disimetría depresora y otro sujeto mostró enlentecimiento del seguimiento elevador. El sujeto con SCA6 investigado por nosotros encaja en esta descripción pues aunque la velocidad de los movimientos sacádicos fue normal, también mostró disimetría en ambos ejes y un seguimiento vertical enlentecido. Adicionalmente, el NOC vertical y el NOC horizontal también se encontraron alterados.

En lo que respecta a SCA3 se ha propuesto el nistagmo en las miradas laterales como un signo precoz, tras su detección en el 17% de los portadores ¹¹⁵ ya que este es un signo frecuente en sujetos con SCA3 y ataxia establecida (75%) ¹¹⁶ sin embargo nosotros no observamos nistagmo en los sujetos pre-

sintomáticos con SCA3 investigados, que por otra parte mostraron todo tipo de anomalías afectando a ambos ejes, similares a las descritas en sujetos con SCA3 con mayor tiempo de evolución clínica ¹¹⁶.

En el sujeto investigado con SCA2, la anomalía más marcada fue el grave enlentecimiento de la velocidad de los movimientos sacádicos horizontales. Este signo ha sido extensamente identificado previamente en SCA2, tanto en sujetos pre-sintomáticos ¹¹⁷ como sintomáticos ^{53, 112, 118} y contrasta con la estricta y persistente normalidad de este parámetro en ambos ejes en SCA37. El enlentecimiento de la velocidad de los movimientos sacádicos se considera un signo de afectación protuberancial y de hecho en SCA7 se asocia a la atrofia macroscópica de esta estructura ^{119, 120} y en la propia SCA2 a la pérdida de las neuronas excitatorias del núcleo reticular de la protuberancia ¹²¹. La normalidad de la velocidad sacádica pues en SCA37 sugiere que la protuberancia se encuentra preservada en esta entidad. Esta observación concuerda con el aspecto normal de la misma en los estudios seriados de RM realizados en nuestros pacientes, aunque son los estudios necrópsicos los que definitivamente pueden confirmar su estricta normalidad.

Existen investigaciones previas en sujetos pre-sintomáticos con otras SCAs y alteraciones oculares, como son SCA1 ¹²², SCA7 ¹¹³ y SCA17 ¹²³ pero los hallazgos también difieren de los observados en SCA37 ya que las anomalías descritas se centran en el eje horizontal y consisten de nuevo en disminución de la velocidad de los movimientos sacádicos (SCA1 ¹²² y SCA7 ¹¹³), acompañados en algunos subtipos de dismetría, nistagmo en las miradas laterales, y marcada alteración del NOC (SCA1 ¹²²) o enlentecimiento de la persecución (SCA1 ¹²² y SCA17 ¹²³). Ninguno de los autores describe anomalías aisladas o difusas del eje vertical como las observadas en los sujetos pre-sintomáticos con SCA37.

Por lo tanto, y considerando los hallazgos en los sujetos pre-sintomáticos de nuestro estudio en conjunto con los previamente reportados, SCA37 parece tener un comportamiento ocular en la fase pre-clínica o precoz de la

enfermedad distinto al resto de SCAs. Las diferencias sin embargo no pueden considerarse definitivas por cuanto la muestra de sujetos pre-sintomáticos estudiados para cualquier subtipo de SCA, incluida SCA37, es pequeña. El tamaño de estas muestras es difícil de mejorar, no solo porque nos enfrentamos a enfermedades poco prevalentes sino que se precisan de forma específica sujetos pre-sintomáticos lo que limita aún más la selección.

Respecto a otros síntomas y signos detectados en sujetos pre-sintomáticos con otras SCAs como rampas, síntomas sensitivos y discretas anomalías en la neurografía del nervio mediano ¹²⁴, con alteraciones en la morfometría por RM del tronco del encéfalo y cerebelo en SCA2 ¹²⁵ o discretas puntuaciones en la escala SARA y otras escalas para la cuantificación de la función cerebelosa en SCA1 y SCA2 ¹²⁵, debemos mencionar que ninguno de los sujetos asintomáticos portadores del haplotipo de riesgo para SCA37 presentó alteraciones en la exploración neurológica, excepto las oculares mencionadas, y todos ellos puntuaron 0 en la escala SARA, que fue la única utilizada en este estudio. Nosotros no realizamos morfometría de RM por lo que esta variable no es comparable ¹²⁵ con los estudios previos.

Ciertamente, a lo largo del proyecto y del seguimiento clínico, percibimos que no todas las anomalías en el ROG vertical iban a tener la misma trascendencia en SCA37. Así, frente a la mencionada y persistente normalidad de la velocidad de los movimientos sacádicos en ambos ejes, la precisión de los movimientos sacádicos verticales aparece universalmente alterada en SCA37, incluso al inicio de la clínica atáxica y empeora a lo largo del curso de la enfermedad. De hecho, el análisis de la precisión de todos los movimientos sacádicos fue capaz de clasificar correctamente los sujetos enfermos o pre-sintomáticos (asintomáticos que habían heredado el haplotipo de riesgo) diferenciándoles de los sujetos controles y de aquellos sujetos asintomáticos que no habían heredado dicho haplotipo. La mejor variable clasificatoria aislada fue la precisión de los movimientos sacádicos depresores a 20°.

Disponemos de escasa información previa sobre las anomalías en la precisión de los movimientos sacádicos verticales en las diferentes SCAs incluso cuando la clínica atáxica ya está totalmente establecida. Como ocurría con los sujetos pre-sintomáticos, las alteraciones descritas en la precisión afectan fundamentalmente al eje horizontal (SCA1¹²², SCA2⁵³, SCA3¹¹⁶, SCA4¹⁰³, SCA5⁵⁶, SCA6^{114, 126}, SCA7¹¹³, SCA8¹²⁷, y SCA17¹²³). Por el contrario, el eje vertical ha sido raramente investigado y por ello, en parte, son menos abundantes las anomalías reportadas. Las limitadas descripciones se centran en SCA6 y SCA30. Conocemos que la precisión de los movimientos sacádicos verticales puede verse alterada en SCA6^{114, 126}. Esta anomalía, sin embargo, suele acompañarse de un marcado enlentecimiento de los movimientos sacádicos verticales, especialmente depresores, y del seguimiento vertical depresor¹¹⁴ o bien de nistamo, también básicamente depresor¹²⁶. Además, las intrusiones y el nistagmo pueden ser tan llamativos que interfieren en el desarrollo de los movimientos sacádicos. Este patrón de alteraciones oculares, y tal y como ocurría con los sujetos pre-sintomáticos, es heterogéneo y presenta marcadas diferencias con SCA37, especialmente en lo que respecta a la velocidad de los sacádicos y la presencia frecuente de nistagmo depresor. En SCA37, el nistagmo aparece en la mirada lateral y es un signo tardío y poco habitual. También se ha reportado disimetría elevadora en la SCA30³⁹. Storey y colaboradores³⁹ estudiaron una familia australiana con una ataxia de seis años de evolución y encontraron disimetría horizontal y depresora con preservación de la velocidad de los movimientos sacádicos. El seguimiento fue normal. Los autores no especifican si algún paciente presentó disimetría depresora aislada o si este parámetro precedió a las anomalías horizontales.

Respecto al resto de las anomalías oculares detectadas en los enfermos con SCA37, el enlentecimiento de los movimientos de seguimiento que inicialmente sólo afectaba al eje vertical, también se ha observado en SCA6^{114, 126} y SCA26⁴⁸, mientras que la posterior extensión al eje horizontal es un dato poco específico, presente en muchos subtipos de SCAs, indicativo únicamente de degeneración cerebelosa y relacionado con el enlentecimiento del NOC¹¹¹.

En definitiva, el patrón de anomalías observado en enfermos de SCA37 con alteración de la precisión de los movimientos sacádicos, preservación de la velocidad de los mismos, enlentecimiento del seguimiento y del NOC, e inicio en el eje vertical, no se repite hasta el momento en otro subtipo de SCA, según las descripciones previas. No obstante, de nuevo se hace necesario ampliar este estudio a un mayor número de pacientes con SCA37 y otros tipos de SCA, para definir la verdadera sensibilidad y especificidad de nuestros hallazgos, utilizando la misma metodología y condiciones.

Desconocemos el sustrato patológico subyacente a las anomalías específicas del eje vertical detectadas, pero sí disponemos de conocimiento sobre el control anatómico y funcional de la mayoría de los movimientos estudiados. La normalidad de la motilidad ocular depende no solo de la integridad de las neuronas motoras oculares sino del correcto funcionamiento de las estructuras premotoras y sus aferentes, incluido el cerebelo. Las estructuras premotoras son la formación reticular paramediana pontina (FRPP) para la mirada horizontal y los núcleos intersticial de Cajal e intersticial superior de la cintilla longitudinal medial para la mirada vertical. Estas estructuras, aunque anatómicamente separadas, presentan conexiones cruzadas que aseguran una correcta coordinación y participan en la generación de los movimientos sacádicos en los respectivos ejes y en el mantenimiento de la mirada en posición ocular excéntrica durante los mismos. Las principales aferencias que estas estructuras premotoras reciben para el control de la mirada conjugada proceden del sistema visual y de los núcleos vestibulares. Las vías descendentes visuales proceden del córtex visual primario, y sus conexiones frontales y parietales, así como del sistema visual accesorio, y alcanzan las estructuras premotoras directamente a través del tubérculo cuadrigémino superior o indirectamente a través de los ganglios basales (por la vía directa del núcleo caudado-sustancia negra-tubérculo cuadrigémino superior o por la vía indirecta del globo pálido externo-núcleo subtalámico-sustancia negra-tubérculo cuadrigémino superior). El tubérculo cuadrigémino superior se convierte así en un centro crucial para la codificación de la magnitud y dirección del sacádico pues, a través del núcleo reticular tegmentis ponti, inhibe el núcleo intersticial

del rafe y su acción sobre las estructuras premotoras mencionadas (FRPP y núcleo intersticial de la cintilla longitudinal medial). Por su parte, los núcleos vestibulares emiten proyecciones directas a todos los subgrupos de neuronas motoras oculares lo que permite, por ejemplo, inducir la desviación de la mirada con la rotación pasiva de la cabeza incluso ante la presencia de lesión de la FRPP. La generación del NOC sin embargo requiere la integridad tanto de las estructuras premotoras, de las que depende la fase rápida, como del sistema vestibular. Por último, se conoce que diversas partes del cerebelo, como el vermis posterior (lóbulos VI y VII), el núcleo fastigial, el flóculo y el paraflóculo ventral, están íntimamente ligadas a algunas funciones óculo-motoras y reciben información del tubérculo cuadrigémino superior, de nuevo a través de fibras procedentes del núcleo reticular tegmentis ponti, y del tronco del encéfalo, a través de fibras procedentes de la oliva inferior. Las funciones específicamente controladas por el cerebelo son la precisión de los movimientos sacádicos guiados por estímulos visuales, el seguimiento a velocidad lenta, el NOC a velocidad rápida, y la supresión visual del nistagmo vestibular. Característicamente ninguna de estas funciones desaparece en las lesiones cerebelosas pero su precisión o velocidad puede verse marcadamente alteradas ¹²⁸.

En definitiva, y a pesar de que no se puede construir un diagrama funcional simple, el conocimiento anatómico acumulado y las descripciones previas en otras SCAs y procesos cerebelosos neurodegenerativos ¹¹¹, permiten inferir con carácter general que la mayoría de las anomalías detectadas en nuestros pacientes se relacionan precisamente con patología específica del cerebelo, en concreto, con las estructuras mencionadas. El vermis posterior controla específicamente la precisión de los movimientos sacádicos mediante un circuito neuronal que incluye a las células P de los lóbulos VI y VII y sus proyecciones inhibitorias hacia las neuronas caudales del núcleo fastigial subyacente ¹¹¹. Estas neuronas son específicamente sensibles al movimiento ocular en contraste con las neuronas de la porción rostral del núcleo fastigial que son moduladas por estímulos vestibulares. La velocidad de los movimientos sacádicos permanece normal en nuestros pacientes porque no es un

parámetro dependiente de estructuras cerebelosas. De hecho su normalidad sugiere una probable preservación de la protuberancia, como ya hemos mencionado y se ha descrito previamente en SCA17⁷². Las anomalías del seguimiento y el NOC por su parte son inespecíficas y se correlacionan con patología del núcleo fastigial caudal, flóculo y paraflóculo. De hecho, el flóculo interviene prácticamente en todos los movimientos oculares en respuesta a un estímulo visual incluyendo no solo el seguimiento sino también el NOC¹²⁸. Se conoce que las lesiones del flóculo, paraflóculo y núcleo fastigial en primates reducen el seguimiento en diferentes porcentajes¹²⁹ y la cerebelectomía lo elimina completamente¹³⁰.

Nos parece interesante desde el punto de vista de la patogénesis de las anomalías oculares, que las alteraciones en el eje vertical, además de presentarse de forma precoz en sujetos pre-sintomáticos y preceder a las alteraciones en el eje horizontal al menos para los dos sujetos estudiados en las fases iniciales de la enfermedad, no siempre se sigan de las correspondientes anomalías en el eje horizontal, lo que sugiere que el proceso afecta de forma claramente distinta a una y otra función. Clásicamente, sin embargo, se ha considerado que el control de los movimientos verticales y horizontales lo ejercen las mismas estructuras cerebelosas ya mencionadas^{128, 131}. Creemos que tal vez, en humanos, las células P de los núcleos cerebelosos profundos presentan un comportamiento de descarga diferente durante los estímulos verticales y horizontales, tal y como se ha demostrado previamente en primates¹³² y este comportamiento podría alterarse de una manera particular y concreta en los inicios del proceso patológico que dará lugar a la SCA37. La información de los estudios post-mortem, esencialmente los hallazgos en el vermis posterior y flóculo, puede resultar de gran ayuda para entender este hallazgo clínico y la topografía anatómica diferenciada de estos movimientos en humanos.

Los análisis genéticos mostraron un ligamiento sugestivo en el cromosoma 1p32. Otras SCAs se han relacionado previamente con el mismo cromosoma 1. En concreto, la SCA19 en 1p21-q21⁴³ y la SCA22 en 1p21-q23¹³³. Además se

ha descrito una ataxia autosómica recesiva con intrusiones sacádicas ligada a 1p36¹³⁴.

SCA19 y SCA22 presentan fenotipos distintos entre sí y difieren también de SCA37, sin embargo las dos primeras han sido consideradas recientemente la misma entidad y relacionadas con mutaciones en el canal de potasio *KCND3*^{18, 31}. Desde el punto de vista fenotípico, SCA19 fue descrita en una familia holandesa y se caracteriza por ataxia, seguimiento en rueda dentada en los movimientos oculares, disimetría ocular, nistagmo horizontal, neuropatía axonal periférica y disminución de la capacidad ejecutiva¹³⁵. Por lo tanto, se trata de un fenotipo de “ataxia plus” o tipo I según la nosología de Harding² mientras que SCA37 presenta un fenotipo relativamente puro (tipo III por Harding). En la ataxia que describimos, los estudios de conducción nerviosa realizados (un total de dos estudios en cada sujeto del protocolo a lo largo de los siete años de seguimiento) han sido repetidamente normales y ninguno de los otros miembros de la familia ha referido síntomas ni ha presentado signos sugestivos de lesión del sistema nervioso periférico. Nuestro protocolo no incluyó un estudio neuropsicológico pero ningún sujeto ni sus familiares refirieron déficits de memoria o de sus capacidades ejecutivas ni siquiera los más longevos. Por último, SCA19, y a diferencia de SCA37, presenta variabilidad de la edad de debut con fenómeno de anticipación, temblor cefálico con mioclono ocasional e incremento de los tiempos de conducción central en algunos pacientes. SCA22 fue descrita con posterioridad a SCA19 en una familia de origen chino con un fenotipo puro¹³³ y se asemeja clínicamente a SCA37, con ataxia progresiva y disfagia, pero la información clínica disponible es limitada por cuanto sólo un sujeto perteneciente a la familia china original fue exhaustivamente investigado. Otra familia francesa y una familia judía Askenazi norteamericana fueron identificadas como SCA22 pero los detalles clínicos no se reportaron³¹. En consonancia con SCA19, SCA22 presenta fenómeno de anticipación e incremento de los tiempos de conducción central pero como ocurre en SCA37, no se observó temblor cefálico, mioclono, neuropatía o alteraciones ejecutivas. En cuanto a los movimientos oculares y tras 23 años de evolución de la enfermedad, el paciente con SCA22 presentaba unos

movimientos horizontales sacádicos precisos, con velocidad normales, un seguimiento horizontal alterado por microsacádicos intermitentes y nistagmo horizontal. No se hace mención de anomalías en el eje vertical.

Tras la descripción de SCA22, y a pesar de las diferencias clínicas con SCA19, se generó una marcada controversia respecto a la posibilidad de que se tratase de diferentes formas alélicas de la misma enfermedad ya que el locus se localizaba en la misma región del cromosoma 1¹³⁶ y finalmente, a principios del año 2013, se demostró que la mutación se hallaba en el mismo gen^{18, 31} y la variabilidad clínica entre las familias se relacionaba con mutaciones específicas. Por el contrario, SCA37 no se asocia a mutaciones en el canal de potasio *KCND3* y el locus candidato para la familia que nosotros describimos se estima situado a una distancia de 29,3 Mb distal a 1p21.

Finalmente, se describió una familia de origen esloveno con ataxia recesiva e intrusiones sacádicas (SCASI) ligada a 1p36¹³⁴. El fenotipo clínico incluye ataxia progresiva, neuropatía sensitivo-motora axonal, y una alteración de la capacidad de fijación visual con intrusiones sacádicas. La mayoría de los pacientes descritos refieren un inicio de los síntomas sobre los 20 años, cuando las intrusiones sacádicas son tan graves que dificultan la lectura porque obligan al paciente a saltar de línea de forma involuntaria. Nosotros hemos detectado intrusiones subclínicas por ROG sólo en una enferma con siete años de evolución e intrusiones clínicas en otros tres enfermos de larga evolución (más de 20 años). Además el fenotipo de SCASI es un fenotipo de “ataxia plus” pues todos los pacientes presentan neuropatía periférica grave confirmada por neurografía, signos de lesión de la vía córtico-espinal y, en algunos casos, mioclonías, lo que les diferencia clínicamente de nuestros pacientes.

Respecto a la posible mutación subyacente en SCA37 se desconoce. Los sujetos con SCA37 no sufren enfermedades sistémicas que orienten hacia un tipo de mutación específica. La ausencia de anticipación no descarta un expansión patológica de poliglutamina por tripletes CAG, pues si bien la longitud de la expansión inestable inicialmente se relacionaba con la edad de

debut y la gravedad de la enfermedad esto solo es cierto para algunas SCAs como SCA1, SCA2 y SCA3, mientras que en otras, como SCA6, las edades de debut pueden variar entre 24 y 63 años a pesar de un número uniforme de repeticiones¹²⁶. Sin embargo, la preservación de la velocidad de los movimientos sacádicos en SCA37 hace poco probable este tipo de mutación por cuanto suele asociarse al enlentecimiento grave de los mismos (SCA1, SCA2, SCA3, enfermedad de Huntington...) y el fenotipo cerebeloso puro de lenta progresión clínica con atrofia cerebelosa aislada de SCA37 se aleja del asociado a las SCAs con expansiones poliglutamínicas¹³⁷. Por otro lado, la normalidad obtenida de la secuenciación exómicca indicaría que la mutación se encuentra en una región no codificante o que consiste en otro tipo de expansión patológica o en una variante estructural de la región diana.

En definitiva, hemos investigado dos familias con una ataxia autosómica dominante tardía, sin evidencia de anticipación y con una alteración precoz y peculiar de los movimientos oculares en el eje vertical. Este fenotipo ha presentado un ligamiento sugestivo a la región genómica 1p32 y los datos clínicos y genéticos lo distinguen de las SCAs previamente descritas ligadas al cromosoma 1 por lo que ha sido designada como SCA37. Se precisan estudios adicionales para definir la especificidad y sensibilidad de las anomalías detectadas en los movimientos oculares verticales lo que permitiría establecer su posible papel como biomarcador pre-clínico y como característica fenotípica objetiva en la evaluación de la progresión de la enfermedad. Los estudios post-mortem, ya en curso, aportarán información sobre las estructuras implicadas en la génesis de este signo clínico. A pesar de que conocemos la región de ligamiento, se precisan nuevos y extensos estudios moleculares para definir el gen implicado. La identificación de dicho gen permitirá un diagnóstico genético definitivo, evaluar los hallazgos oculares como marcador de daño genético, realizar consejo genético en la quinta y sexta generaciones y conocer los mecanismos moleculares implicados en la degeneración cerebelosa que subyace a esta SCA, lo que en definitiva redundará en el desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas.

BIBLIOGRAFÍA

1. Duenas AM, Goold R, Giunti P. Molecular pathogenesis of spinocerebellar ataxias. *Brain* 2006;129:1357-70.
2. Harding AE. The clinical features and classification of the late onset autosomal dominant cerebellar ataxias. A study of 11 families, including descendants of the 'the Drew family of Walworth'. *Brain* 1982;105:1-28.
3. REGLAMENTO (CE) No 141/2000 DEL PARLAMENTO EUROPEO Y DEL CONSEJO de 16 de diciembre de 1999 sobre medicamentos huérfanos (DO L 18 de 22.1.2000, p. 1).
4. Schols L, Bauer P, Schmidt T, Schulte T, Riess O. Autosomal dominant cerebellar ataxias: clinical features, genetics, and pathogenesis. *Lancet Neurol* 2004;3:291-304.
5. Erichsen AK, Koht J, Stray-Pedersen A, Abdelnoor M, Tallaksen CM. Prevalence of hereditary ataxia and spastic paraplegia in southeast Norway: a population-based study. *Brain* 2009;132:1577-88.
6. Tsuji S, Onodera O, Goto J, Nishizawa M. Sporadic ataxias in Japan--a population-based epidemiological study. *Cerebellum* 2008;7:189-97.
7. Velazquez Perez L, Cruz GS, Santos Falcon N, et al. Molecular epidemiology of spinocerebellar ataxias in Cuba: insights into SCA2 founder effect in Holguin. *Neurosci Lett* 2009;454:157-60.
8. Vale J, Bugalho P, Silveira I, Sequeiros J, Guimaraes J, Coutinho P. Autosomal dominant cerebellar ataxia: frequency analysis and clinical characterization of 45 families from Portugal. *Eur J Neurol* 2009;17:124-8.
9. Orr HT, Chung MY, Banfi S, et al. Expansion of an unstable trinucleotide CAG repeat in spinocerebellar ataxia type 1. *Nat Genet* 1993;4:221-6.
10. Bakalkin G, Watanabe H, Jezierska J, et al. Prodynorphin mutations cause the neurodegenerative disorder spinocerebellar ataxia type 23. *Am J Hum Genet* 2010;87:593-603.
11. Brkanac Z, Bylenok L, Fernandez M, et al. A new dominant spinocerebellar ataxia linked to chromosome 19q13.4-qter. *Arch Neurol* 2002;59:1291-5.
12. Brusse E, de Koning I, Maat-Kievit A, Oostra BA, Heutink P, van Swieten JC. Spinocerebellar ataxia associated with a mutation in the fibroblast growth factor 14 gene (SCA27): A new phenotype. *Mov Disord* 2006;21:396-401.
13. Cagnoli C, Mariotti C, Taroni F, et al. SCA28, a novel form of autosomal dominant cerebellar ataxia on chromosome 18p11.22-q11.2. *Brain* 2006;129:235-42.
14. Chen DH, Brkanac Z, Verlinde CL, et al. Missense mutations in the regulatory domain of PKC gamma: a new mechanism for dominant nonepisodic cerebellar ataxia. *Am J Hum Genet* 2003;72:839-49.
15. David G, Giunti P, Abbas N, et al. The gene for autosomal dominant cerebellar ataxia type II is located in a 5-cM region in 3p12-p13: genetic and physical mapping of the SCA7 locus. *Am J Hum Genet* 1996;59:1328-36.
16. Di Bella D, Lazzaro F, Brusco A, et al. Mutations in the mitochondrial protease gene AFG3L2 cause dominant hereditary ataxia SCA28. *Nat Genet* 2010;42:313-21.
17. Di Gregorio E, Borroni B, Giorgio E, et al. *ELOVL5* mutations cause Spinocerebellar Ataxia 38. *The American Journal of Human Genetics* 2014; Published Online First on August 7, 2014 as 10.1016/j.ajhg.2014.07.001.
18. Duarri A, Jezierska J, Fokkens M, et al. Mutations in potassium channel *kcnd3* cause spinocerebellar ataxia type 19. *Ann Neurol* 2013;72:870-80.
19. Dudding TE, Friend K, Schofield PW, Lee S, Wilkinson IA, Richards RI. Autosomal dominant congenital non-progressive ataxia overlaps with the SCA15 locus. *Neurology* 2004;63:2288-92.
20. Flanigan K, Gardner K, Alderson K, et al. Autosomal dominant spinocerebellar ataxia with sensory axonal neuropathy (SCA4): clinical description and genetic localization to chromosome 16q22.1. *Am J Hum Genet* 1996;59:392-9.

21. Holmes SE, O'Hearn EE, McInnis MG, et al. Expansion of a novel CAG trinucleotide repeat in the 5' region of PPP2R2B is associated with SCA12. *Nat Genet* 1999;23:391-2.
22. Houlden H, Johnson J, Gardner-Thorpe C, et al. Mutations in TTBK2, encoding a kinase implicated in tau phosphorylation, segregate with spinocerebellar ataxia type 11. *Nat Genet* 2007;39:1434-6.
23. Ikeda Y, Dick KA, Weatherspoon MR, et al. Spectrin mutations cause spinocerebellar ataxia type 5. *Nat Genet* 2006;38:184-90.
24. Imbert G, Saudou F, Yvert G, et al. Cloning of the gene for spinocerebellar ataxia 2 reveals a locus with high sensitivity to expanded CAG/glutamine repeats. *Nat Genet* 1996;14:285-91.
25. Jiang H, Zhu HP, Gomez CM. SCA32: an autosomal dominant cerebellar ataxia with azoospermia maps to chromosome 7q32-q33. *Movement Disorders* 2010;25.
26. Kawaguchi Y, Okamoto T, Taniwaki M, et al. CAG expansions in a novel gene for Machado-Joseph disease at chromosome 14q32.1. *Nat Genet* 1994;8:221-8.
27. Knight MA, Hernandez D, Diede SJ, et al. A duplication at chromosome 11q12.2-11q12.3 is associated with spinocerebellar ataxia type 20. *Hum Mol Genet* 2008;17:3847-53.
28. Kobayashi H, Abe K, Matsuura T, et al. Expansion of intronic GGCCTG hexanucleotide repeat in NOP56 causes SCA36, a type of spinocerebellar ataxia accompanied by motor neuron involvement. *Am J Hum Genet* 2011;89:121-30.
29. Koide R, Ikeuchi T, Onodera O, et al. Unstable expansion of CAG repeat in hereditary dentatorubral-pallidolusian atrophy (DRPLA). *Nat Genet* 1994;6:9-13.
30. Koob MD, Moseley ML, Schut LJ, et al. An untranslated CTG expansion causes a novel form of spinocerebellar ataxia (SCA8). *Nat Genet* 1999;21:379-84.
31. Lee YC, Durr A, Majczenko K, et al. Mutations in KCND3 cause spinocerebellar ataxia type 22. *Ann Neurol* 2013;72:859-69.
32. Matilla-Duenas A. The ever expanding spinocerebellar ataxias. *Editorial. Cerebellum* 2011;11:821-7.
33. Matsuura T, Yamagata T, Burgess DL, et al. Large expansion of the ATTCT pentanucleotide repeat in spinocerebellar ataxia type 10. *Nat Genet* 2000;26:191-4.
34. Miyoshi Y, Yamada T, Tanimura M, et al. A novel autosomal dominant spinocerebellar ataxia (SCA16) linked to chromosome 8q22.1-24.1. *Neurology* 2001;57:96-100.
35. Nakamura K, Yoshida K, Miyazaki D, Morita H, Ikeda S. Spinocerebellar ataxia type 6 (SCA6): clinical pilot trial with gabapentin. *J Neurol Sci* 2009;278:107-11.
36. Pulst SM, Nechiporuk A, Nechiporuk T, et al. Moderate expansion of a normally biallelic trinucleotide repeat in spinocerebellar ataxia type 2. *Nat Genet* 1996;14:269-76.
37. Sato N, Amino T, Kobayashi K, et al. Spinocerebellar ataxia type 31 is associated with "inserted" penta-nucleotide repeats containing (TGGAA)_n. *Am J Hum Genet* 2009;85:544-57.
38. Stevanin G, Broussolle E, Streichenberger N, Kopp N, Brice A, Durr A. Spinocerebellar ataxia with sensory neuropathy (SCA25). *Cerebellum* 2005;4:58-61.
39. Storey E, Bahlo M, Fahey M, Sisson O, Lueck CJ, Gardner RJ. A new dominantly inherited pure cerebellar ataxia, SCA 30. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2009;80:408-11.
40. Tsoi H, Yu AC, Chen ZS, et al. A novel missense mutation in CCDC88C activates the JNK pathway and causes a dominant form of spinocerebellar ataxia. *J Med Genet* 2014;Published Online First on July 25, 2014 as 10.1136/jmedgenet-2014-102333.
41. van de Leemput J, Chandran J, Knight MA, et al. Deletion at ITPR1 underlies ataxia in mice and spinocerebellar ataxia 15 in humans. *PLoS Genet* 2007;3:e108.
42. van Swieten JC, Brusse E, de Graaf BM, et al. A mutation in the fibroblast growth factor 14 gene is associated with autosomal dominant cerebellar ataxia [corrected]. *Am J Hum Genet* 2003;72:191-9.
43. Verbeek DS, Schelhaas JH, Ippel EF, Beemer FA, Pearson PL, Sinke RJ. Identification of a novel SCA locus (SCA19) in a Dutch autosomal dominant cerebellar ataxia family on chromosome region 1p21-q21. *Hum Genet* 2002;111:388-93.
44. Verbeek DS, van de Warrenburg BP, Wesseling P, Pearson PL, Kremer HP, Sinke RJ. Mapping of the SCA23 locus involved in autosomal dominant cerebellar ataxia to chromosome region 20p13-12.3. *Brain* 2004;127:2551-7.
45. Vuillaume I, Devos D, Schraen-Maschke S, et al. A new locus for spinocerebellar ataxia (SCA21) maps to chromosome 7p21.3-p15.1. *Ann Neurol* 2002;52:666-70.

46. Wang JL, Yang X, Xia K, et al. TGM6 identified as a novel causative gene of spinocerebellar ataxias using exome sequencing. *Brain* 2010;133:3510-8.
47. Waters MF, Minassian NA, Stevanin G, et al. Mutations in voltage-gated potassium channel KCNC3 cause degenerative and developmental central nervous system phenotypes. *Nat Genet* 2006;38:447-51.
48. Yu GY, Howell MJ, Roller MJ, Xie TD, Gomez CM. Spinocerebellar ataxia type 26 maps to chromosome 19p13.3 adjacent to SCA6. *Ann Neurol* 2005;57:349-54.
49. Zhuchenko O, Bailey J, Bonnen P, et al. Autosomal dominant cerebellar ataxia (SCA6) associated with small polyglutamine expansions in the alpha 1A-voltage-dependent calcium channel. *Nat Genet* 1997;15:62-9.
50. Delplanque J, Devos D, Huin V, et al. TMEM240 mutations cause spinocerebellar ataxia 21 with mental retardation and severe cognitive impairment. *Brain* 2014.
51. Corral-Juan M, Corral J, San Nicolás H, Volpini V, Matilla-Dueñas A, eds. *Genetics of the Autosomal Dominant Spinocerebellar Ataxias*. Chichester: John Wiley & Sons Ltd.; 2011.
52. Almaguer Mederos LE, Aguilera Rodriguez R, Almaguer Gotay D, et al. Glutathione-S-transferase omega 2 influence the clinical phenotype of spinocerebellar ataxia type 2. *Journal of the Neurological Sciences* 2013;333:e128.
53. Velazquez-Perez L, Seifried C, Santos-Falcon N, et al. Saccade velocity is controlled by polyglutamine size in spinocerebellar ataxia 2. *Ann Neurol* 2004;56:444-7.
54. Burk K, Abele M, Fetter M, et al. Autosomal dominant cerebellar ataxia type I clinical features and MRI in families with SCA1, SCA2 and SCA3. *Brain* 1996;119 (Pt 5):1497-505.
55. Moschner C, Perlman S, Baloh RW. Comparison of oculomotor findings in the progressive ataxia syndromes. *Brain* 1994;117 (Pt 1):15-25.
56. Burk K, Zuhlke C, Konig IR, et al. Spinocerebellar ataxia type 5: clinical and molecular genetic features of a German kindred. *Neurology* 2004;62:327-9.
57. Worth PF, Giunti P, Gardner-Thorpe C, Dixon PH, Davis MB, Wood NW. Autosomal dominant cerebellar ataxia type III: linkage in a large British family to a 7.6-cM region on chromosome 15q14-21.3. *Am J Hum Genet* 1999;65:420-6.
58. Yamashita I, Sasaki H, Yabe I, et al. A novel locus for dominant cerebellar ataxia (SCA14) maps to a 10.2-cM interval flanked by D19S206 and D19S605 on chromosome 19q13.4-qter. *Ann Neurol* 2000;48:156-63.
59. Storey E, Gardner RJ, Knight MA, et al. A new autosomal dominant pure cerebellar ataxia. *Neurology* 2001;57:1913-5.
60. Ishikawa K, Toru S, Tsunemi T, et al. An autosomal dominant cerebellar ataxia linked to chromosome 16q22.1 is associated with a single-nucleotide substitution in the 5' untranslated region of the gene encoding a protein with spectrin repeat and Rho guanine-nucleotide exchange-factor domains. *Am J Hum Genet* 2005;77:280-96.
61. Brusco A, Gellera C, Cagnoli C, et al. Molecular genetics of hereditary spinocerebellar ataxia: mutation analysis of spinocerebellar ataxia genes and CAG/CTG repeat expansion detection in 225 Italian families. *Arch Neurol* 2004;61:727-33.
62. Moseley ML, Benzow KA, Schut LJ, et al. Incidence of dominant spinocerebellar and Friedreich triplet repeats among 361 ataxia families. *Neurology* 1998;51:1666-71.
63. Saute JA, Donis KC, Serrano-Munuera C, et al. Ataxia rating scales--psychometric profiles, natural history and their application in clinical trials. *Cerebellum* 2012;11:488-504.
64. Trouillas P, Takayanagi T, Hallett M, et al. International Cooperative Ataxia Rating Scale for pharmacological assessment of the cerebellar syndrome. The Ataxia Neuropharmacology Committee of the World Federation of Neurology. *J Neurol Sci* 1997;145:205-11.
65. Schmitz-Hubsch T, Tezenas du Montcel S, Baliko L, et al. Reliability and validity of the International Cooperative Ataxia Rating Scale: a study in 156 spinocerebellar ataxia patients. *Mov Disord* 2006;21:699-704.
66. Schmitz-Hubsch T, du Montcel ST, Baliko L, et al. Scale for the assessment and rating of ataxia: development of a new clinical scale. *Neurology* 2006;66:1717-20.
67. Jacobi H, Bauer P, Giunti P, et al. The natural history of spinocerebellar ataxia type 1, 2, 3, and 6: a 2-year follow-up study. *Neurology* 2011;77:1035-41.

68. Taroni F, DiDonato S. Pathways to motor incoordination: the inherited ataxias. *Nat Rev Neurosci* 2004;5:641-55.
69. Fratkin JD, Vig PJ. Neuropathology of degenerative ataxias. *Handb Clin Neurol* 2012;103:111-25.
70. Scherzed W, Brunt ER, Heinsen H, et al. Pathoanatomy of Cerebellar Degeneration in Spinocerebellar Ataxia Type 2 (SCA2) and Type 3 (SCA3). *Cerebellum* 2011;11:749-60.
71. Gierga K, Schelhaas HJ, Brunt ER, et al. Spinocerebellar ataxia type 6 (SCA6): neurodegeneration goes beyond the known brain predilection sites. *Neuropathol Appl Neurobiol* 2009;35:515-27.
72. Rolfs A, Koeppen AH, Bauer I, et al. Clinical features and neuropathology of autosomal dominant spinocerebellar ataxia (SCA17). *Annals of Neurology* 2003;54:367-75.
73. Matilla-Dueñas A, Serrano-Munuera C, Ivanovic Y, Alvarez R, Latorre P, Genis D. Novel Therapeutic Challenges in Cerebellar Diseases In: M. Manto DLG, J.D. Schmahmann, N. Koibuchi, F. Rossi (eds.), ed. *Handbook of the Cerebellum and Cerebellar Disorders*. Dordrecht: Springer Science+Business Media; 2013:2371-96.
74. Yi J, Zhang L, Tang B, et al. Sodium Valproate Alleviates Neurodegeneration in SCA3/MJD via Suppressing Apoptosis and Rescuing the Hypoacetylation Levels of Histone H3 and H4. *PLoS One* 2013;8:e54792.
75. Chang YC, Lin CY, Hsu CM, et al. Neuroprotective effects of granulocyte-colony stimulating factor in a novel transgenic mouse model of SCA17. *J Neurochem* 2011;118:288-303.
76. Watase K, Gatchel JR, Sun Y, et al. Lithium therapy improves neurological function and hippocampal dendritic arborization in a spinocerebellar ataxia type 1 mouse model. *PLoS Med* 2007;4:e182.
77. Vig PJ, Subramony SH, D'Souza DR, Wei J, Lopez ME. Intranasal administration of IGF-I improves behavior and Purkinje cell pathology in SCA1 mice. *Brain Res Bull* 2006;69:573-9.
78. Duarte-Silva S, Neves-Carvalho A, Soares-Cunha C, et al. Lithium Chloride Therapy Fails to Improve Motor Function in a Transgenic Mouse Model of Machado-Joseph Disease. *Cerebellum* 2014;Published Online First on August, 12, 2014 as 10.1007/s12311-014-0589-9.
79. Chort A, Alves S, Marinello M, et al. Interferon beta induces clearance of mutant ataxin 7 and improves locomotion in SCA7 knock-in mice. *Brain* 2013;136:1732-45.
80. Ramachandran PS, Bhattarai S, Singh P, et al. RNA interference-based therapy for spinocerebellar ataxia type 7 retinal degeneration. *PLoS One* 2014;9:e95362.
81. Trujillo-Martin MM, Serrano-Aguilar P, Monton-Alvarez F, Carrillo-Fumero R. Effectiveness and safety of treatments for degenerative ataxias: a systematic review. *Mov Disord* 2009;24:1111-24.
82. Yabe I, Sasaki H, Yamashita I, Takei A, Tashiro K. Clinical trial of acetazolamide in SCA6, with assessment using the Ataxia Rating Scale and body stabilometry. *Acta Neurol Scand* 2001;104:44-7.
83. Gazulla J, Tintore M. The P/Q-type voltage-dependent calcium channel: a therapeutic target in spinocerebellar ataxia type 6. *Acta Neurol Scand* 2007;115:356-63.
84. Gazulla J, Tintore MA. The P/Q-type voltage-dependent calcium channel as pharmacological target in spinocerebellar ataxia type 6: gabapentin and pregabalin may be of therapeutic benefit. *Med Hypotheses* 2007;68:131-6.
85. Gazulla J, Benavente I. Single-blind, placebo-controlled pilot study of pregabalin for ataxia in cortical cerebellar atrophy. *Acta Neurol Scand* 2007;116:235-8.
86. Zesiewicz TA, Greenstein PE, Sullivan KL, et al. A randomized trial of varenicline (Chantix) for the treatment of spinocerebellar ataxia type 3. *Neurology* 2012;78:545-50.
87. Takei A, Fukazawa T, Hamada T, et al. Effects of tandospirone on "5-HT1A receptor-associated symptoms" in patients with Machado-Joseph disease: an open-label study. *Clin Neuropharmacol* 2004;27:9-13.
88. Friedman JH. Machado-Joseph disease/spinocerebellar ataxia 3 responsive to buspirone. *Mov Disord* 1997;12:613-4.
89. Liu CS, Hsu HM, Cheng WL, Hsieh M. Clinical and molecular events in patients with Machado-Joseph disease under lamotrigine therapy. *Acta Neurol Scand* 2005;111:385-90.
90. Saute JA, de Castilhos RM, Monte TL, et al. A randomized, phase 2 clinical trial of lithium carbonate in Machado-Joseph disease. *Mov Disord*;29:568-73.
91. Costantini A, Pala MI, Colangeli M, Savelli S. Thiamine and spinocerebellar ataxia type 2. *BMJ Case Rep* 2013;Jan.

92. Freund HJ, Barnikol UB, Nolte D, et al. Subthalamic-thalamic DBS in a case with spinocerebellar ataxia type 2 and severe tremor-A unusual clinical benefit. *Mov Disord* 2007;22:732-5.
93. Velazquez-Perez L, Rodriguez-Chanfrau J, Garcia-Rodriguez JC, et al. Oral zinc sulphate supplementation for six months in SCA2 patients: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Neurochem Res* 2011;36:1793-800.
94. Filla A, De Michele G, Di Martino L, et al. [Chronic experimentation with TRH administered intramuscularly in spinocerebellar degeneration. Double-blind cross-over study in 30 subjects]. *Riv Neurol* 1989;59:83-8.
95. De Rosa A, Striano P, Barbieri F, et al. Suppression of myoclonus in SCA2 by piracetam. *Mov Disord* 2006;21:116-8.
96. Freeman W, Wszolek Z. Botulinum toxin type A for treatment of spasticity in spinocerebellar ataxia type 3 (Machado-Joseph disease). *Mov Disord* 2005;20:644.
97. Nandagopal R, Moorthy SG. Dramatic levodopa responsiveness of dystonia in a sporadic case of spinocerebellar ataxia type 3. *Postgrad Med J* 2004;80:363-5.
98. Shimojima Y, Hashimoto T, Kaneko K, et al. Thalamic stimulation for disabling tremor in a patient with spinocerebellar degeneration. *Stereotact Funct Neurosurg* 2005;83:131-4.
99. Miyai I. Challenge of neurorehabilitation for cerebellar degenerative diseases. *Cerebellum* 2011;11:436-7.
100. Marti-Fabregas J, Roig C. Oculomotor abnormalities in motor neuron disease. *J Neurol* 1993;240:475-8.
101. Baloh RW, Sills AW, Kumley WE, Honrubia V. Quantitative measurement of saccade amplitude, duration, and velocity. *Neurology* 1975;25:1065-70.
102. Infante J, Combarros O, Volpini V, Corral J, Llorca J, Berciano J. Autosomal dominant cerebellar ataxias in Spain: molecular and clinical correlations, prevalence estimation and survival analysis. *Acta Neurol Scand* 2005;111:391-9.
103. Nagaoka U, Takashima M, Ishikawa K, et al. A gene on SCA4 locus causes dominantly inherited pure cerebellar ataxia. *Neurology* 2000;54:1971-5.
104. Abecasis GR, Cherny SS, Cookson WO, Cardon LR. Merlin--rapid analysis of dense genetic maps using sparse gene flow trees. *Nature Genetics* 2002;30:97-101.
105. Broman KW, Murray JC, Sheffield VC, White RL, Weber JL. Comprehensive human genetic maps: individual and sex-specific variation in recombination. *Am J Hum Genet* 1998;63:861-9.
106. Kong A, Gudbjartsson DF, Sainz J, et al. A high-resolution recombination map of the human genome. *Nat Genet* 2002;31:241-7.
107. Dib C, Faure S, Fizames C, et al. A comprehensive genetic map of the human genome based on 5,264 microsatellites. *Nature* 1996;380:152-4.
108. Ng SB, Buckingham KJ, Lee C, et al. Exome sequencing identifies the cause of a mendelian disorder. *Nat Genet* 2009;42:30-5.
109. Serrano-Munuera C, Corral-Juan M, Stevanin G, et al. New subtype of spinocerebellar ataxia with altered vertical eye movements mapping to chromosome 1p32. *JAMA Neurol* 2013;70:764-71.
110. Barry W, Jones G. Influence of eye lid movement upon electro-oculographic recording of vertical eye movements. *Aerosp Med* 1965;36:855-8.
111. Wessel K, Moschner C, Wandinger KP, Kompf D, Heide W. Oculomotor testing in the differential diagnosis of degenerative ataxic disorders. *Arch Neurol* 1998;55:949-56.
112. Wadia N, Pang J, Desai J, Mankodi A, Desai M, Chamberlain S. A clinicogenetic analysis of six Indian spinocerebellar ataxia (SCA2) pedigrees. The significance of slow saccades in diagnosis. *Brain* 1998;121 (Pt 12):2341-55.
113. Oh AK, Jacobson KM, Jen JC, Baloh RW. Slowing of voluntary and involuntary saccades: an early sign in spinocerebellar ataxia type 7. *Annals of Neurology* 2001;49:801-4.
114. Christova P, Anderson JH, Gomez CM. Impaired eye movements in presymptomatic spinocerebellar ataxia type 6. *Arch Neurol* 2008;65:530-6.
115. Raposo M, Vasconcelos J, Bettencourt C, Kay T, Coutinho P, Lima M. Nystagmus as an early ocular alteration in Machado-Joseph disease (MJD/SCA3). *BMC Neurol* 2014;14:17.
116. Burk K, Fetter M, Abele M, et al. Autosomal dominant cerebellar ataxia type I: oculomotor abnormalities in families with SCA1, SCA2, and SCA3. *Journal of Neurology* 1999;246:789-97.

117. Velazquez-Perez L, Seifried C, Abele M, et al. Saccade velocity is reduced in presymptomatic spinocerebellar ataxia type 2. *Clin Neurophysiol* 2009;120:632-5.
118. Seifried C, Velazquez-Perez L, Santos-Falcon N, et al. Saccade velocity as a surrogate disease marker in spinocerebellar ataxia type 2. *Ann N Y Acad Sci* 2005;1039:524-7.
119. Bang OY, Lee PH, Kim SY, Kim HJ, Huh K. Pontine atrophy precedes cerebellar degeneration in spinocerebellar ataxia 7: MRI-based volumetric analysis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2004;75:1452-6.
120. Martin J, Van Regemorter N, Del-Favero J, Lofgren A, Van Broeckhoven C. Spinocerebellar ataxia type 7 (SCA7) - correlations between phenotype and genotype in one large Belgian family. *J Neurol Sci* 1999;168:37-46.
121. Geiner S, Horn AK, Wadia NH, Sakai H, Buttner-Ennever JA. The neuroanatomical basis of slow saccades in spinocerebellar ataxia type 2 (Wadia-subtype). *Prog Brain Res* 2008;171:575-81.
122. Klostermann W, Zuhlke C, Heide W, Kompf D, Wessel K. Slow saccades and other eye movement disorders in spinocerebellar atrophy type 1. *Journal of Neurology* 1997;244:105-11.
123. Hubner J, Sprenger A, Klein C, et al. Eye movement abnormalities in spinocerebellar ataxia type 17 (SCA17). *Neurology* 2007;69:1160-8.
124. Velazquez-Perez L, Rodriguez-Labrada R, Canales-Ochoa N, et al. Progression of early features of spinocerebellar ataxia type 2 in individuals at risk: a longitudinal study. *Lancet Neurol* 2014;13:482-9.
125. Jacobi H, Reetz K, du Montcel ST, et al. Biological and clinical characteristics of individuals at risk for spinocerebellar ataxia types 1, 2, 3, and 6 in the longitudinal RISCA study: analysis of baseline data. *Lancet Neurol* 2013;12:650-8.
126. Gomez CM, Thompson RM, Gammack JT, et al. Spinocerebellar ataxia type 6: gaze-evoked and vertical nystagmus, Purkinje cell degeneration, and variable age of onset. *Annals of Neurology* 1997;42:933-50.
127. Day JW, Schut LJ, Moseley ML, Durand AC, Ranum LP. Spinocerebellar ataxia type 8: clinical features in a large family. *Neurology* 2000;55:649-57.
128. Henn V, Hepp K, Buttner-Ennever JA. The primate oculomotor system. II. Premotor system. A synthesis of anatomical, physiological, and clinical data. *Hum Neurobiol* 1982;1:87-95.
129. Zee DS, Yamazaki A, Butler PH, Gucer G. Effects of ablation of flocculus and paraflocculus of eye movements in primate. *J Neurophysiol* 1981;46:878-99.
130. Burde RM, Stroud MH, Roper-Hall G, Wirth FP, O'Leary JL. Ocular motor dysfunction in total and hemispherectomized monkeys. *Br J Ophthalmol* 1975;59:560-5.
131. Furman JM, Baloh RW, Yee RD. Eye movement abnormalities in a family with cerebellar vermian atrophy. *Acta Otolaryngol* 1986;101:371-7.
132. Fukushima K, Fukushima J, Kaneko CR, Fuchs AF. Vertical Purkinje cells of the monkey floccular lobe: simple-spike activity during pursuit and passive whole body rotation. *J Neurophysiol* 1999;82:787-803.
133. Chung MY, Lu YC, Cheng NC, Soong BW. A novel autosomal dominant spinocerebellar ataxia (SCA22) linked to chromosome 1p21-q23. *Brain* 2003;126:1293-9.
134. Swartz BE, Li S, Beshpalova I, et al. Pathogenesis of clinical signs in recessive ataxia with saccadic intrusions. *Annals of Neurology* 2003;54:824-8.
135. Schelhaas HJ, Ippel PF, Hageman G, Sinke RJ, van der Laan EN, Beemer FA. Clinical and genetic analysis of a four-generation family with a distinct autosomal dominant cerebellar ataxia. *Journal of Neurology* 2001;248:113-20.
136. Schelhaas HJ, Verbeek DS, Van de Warrenburg BP, Sinke RJ. SCA19 and SCA22: evidence for one locus with a worldwide distribution. *Brain* 2004;127:E6-E7.
137. Durr A. Autosomal dominant cerebellar ataxias: polyglutamine expansions and beyond. *Lancet Neurol* 2010;9:885-94.

ANEXO 1. TABLAS.

Anexo 1. Tabla 1. Genotipos en SCAs. Modificada de Matilla-Dueñas, A. ³²

Subtipo SCA	Localización Genómica	Gen	Proteína	Función	Mutación ADN
SCA1	6p22.3	ATXN1	Ataxina 1	Regulación transcripción	(CAG)n
SCA2	12q24.12	ATXN2	Ataxina 2	Metabolismo ARN	(CAG)n
SCA3/MJD	14q32.12	ATXN3	Ataxina 3	De-ubiquitinación, regulación transcripción	(CAG)n
SCA4	16q22.1	SCA4	Desconocida	Desconocida	Desconocida
SCA5	11q13.2	SPTBN2	β -spectrina, no eritrocítica 2	Esqueleto de membrana neuronal	I,D, MM
SCA6	19p13.2	CACNA1A	CACNA1A	Señalización/homeostasis de Ca ²⁺	(CAG)n
SCA7	3p14.1	ATXN7	Ataxina 7	Regulación transcripción	(CAG)n
SCA8	13q21	ATXN8OS/ATXN8	Ataxina 8	Desconocido	(CUG/CAG)n
SCA9	Reservado	Desconocido	Desconocido	Desconocido	Desconocido
SCA10	22q13.31	ATXN10	Ataxina 10	Neuritogénesis	Intrónica (ATTCT)n
SCA11	15q15.2	TTBK2	Tau tubulin quinasa 2	Implicada en la fosforilación de tau	FM, MM
SCA12	5q32	PPP2R2B	PPP2R2B	Regulación de actividad PP2, regulación transcripción	5'-UTR (CAG)n
SCA13	19q13.33	KCNC3	KCNC3	Señalización K ⁺	MM
SCA14	19q13.42	PRKCG	PRKCG	Fosforilación, señalización celular	I,D, MM
SCA15/16	3p26.1	ITPR1	Receptor inositol 1,4,5-trifosfato	Señalización inositol 1,4,5-trifosfato calcio	D,MM
SCA17/HDL4	6q27	TBP	TBP	Transcripción general (complejo)	(CAG)n
SCA18	7q22-q32	IFRD1	IFRD1	Desconocido	MM
SCA19/22	1p21-q21	KCND3	Canal potasio dep. voltaje Kv4.3	Excitabilidad neuronal	MM
SCA20	11q12.2-11q13.3	Desconocido	Desconocido	Duplicación cromosómica	Desconocido
SCA21	7p21.3-p15.1	TMEM240	Proteína transmembrana TMEM240	Desconocido	MM, stop

(continua de Tabla 1)

SCA23	20p13	PDYN	Prodynorfina	Transmisión sináptica	MM
SCA24	Desconocido	Desconocido	Desconocido	Desconocido	Desconocido
SCA25	2p21-p15	Desconocido	Desconocido	Desconocido	Desconocido
SCA26	19p13.3	Desconocido	Desconocido	Desconocido	Desconocido
SCA27	13q33.1	FGF14	FGF14	Transducción de señal, regulación canales Na _v	FM, MM
SCA28	18p11.21	AFG3L2	Gen familia ATPasa 3-like 2	Actividad proteasa dependiente ATP	MM
SCA29*	3p26	Desconocido	Desconocido	Desconocido	Desconocido
SCA30	4q34.3-q35.1	Desconocido	Desconocido	Desconocido	Desconocido
SCA31	16q21-q22	BEAN/TK2	BEAN/TK2	Desconocido	Intrónica (TGGAA)n
SCA32	7q32-33	Desconocido	Desconocido	Desconocido	Desconocido
SCA33	Desconocido	Desconocido	Desconocido	Desconocido	Desconocido
SCA34	6q	Desconocido	Desconocido	Desconocido	Desconocido
SCA35	20p13	TGM6	Transglutaminasa 6	"Cross-linking" proteico	MM
SCA36	20p13	NOP56	Homólogo ribonucleoproteína	Procesamiento pre-rARN	Intrónica (GGCCTC)n
SCA37	1p32	Desconocido	Desconocido	Desconocido	Desconocido
SCA38	6p	ELOVL5	Elongasa ELOVL5	Síntesis de ácidos grasos poliinsaturados	MM
SCA40		CCDC88C	CCDC88C o DAPLE	Interactúa con la protein Dishevelled, regula negativamente la vía de señalización Wnt	MM
DRPLA	12p13.31	ATN1	Atrofina 1	Represión transcripción	(CAG)n

MM: mutación "missense" o con cambio de sentido; D: delección; FM: mutación con desplazamiento del marco de lectura, I: inserción

Anexo 1. Tabla 2. Registro de la precisión de los movimientos sacádicos en dos sujetos jóvenes pre-sintomáticos de la familia A, dos sujetos enfermos de la familia A y seis controles sanos. Se muestran en negrita los valores anómalos. En cursiva valores anómalos según controles pero cercanos al valor estándar esperable (100).

Sujetos (edad)	Sacádicos fijos verticales				Sacádicos aleatorios verticales 6-32°		Sacádicos fijos horizontales				Sacádicos aleatorios horizontales 6-32°	
	20°		30°		Arriba	Abajo	20°		30°		Derecha	Izquierda
	Arriba	Abajo	Arriba	Abajo			Derecha	Izquierda	Derecha	Izquierda		
Sujeto V:7 (32 años)	77	81	92	92	89	98	85	92	83	88	85	86
Sujeto V:10 (45 años)	94	95	91	88	88	100	89	<i>96</i>	<i>99</i>	<i>107</i>	98	103
Sujeto IV:5 (69 años)	89	123	91	124	93	125	93	92	85	89	89	90
Sujeto IV:6 (64 años)	118	155	94	109	102	113	112	114	114	111	115	113
Controles (n: 3:, edad: 40-44, promedio, DS)	101,0 (0,1)	93,5 (4,9)	102,5 (4,9)	106 (2,8)	102,5 (0,7)	106,5 (5,7)	85,3 (5,1)	82,7 (5,5)	83,3 (6,0)	79,7 (6,0)	89,7 (6,7)	89,7 (2,0)
Controles (n: 3:, edad: 65-74, promedio, DS)	97,7 (3,5)	88,0 (6,9)	93,0 (8,6)	96,3 (10,1)	98,7 (6,4)	92,5 (3,5)	83,3 (8,1)	82,7 (7,0)	81,7 (6,1)	80,7 (6,0)	83,7 (11,9)	85,3 (5,0)

Anexo 1. Tabla 3. Registro de los movimientos de seguimientos vertical y horizontal en dos sujetos jóvenes pre-sintomáticos de la familia A, dos sujetos enfermos de la familia A y seis controles sanos. Se muestran en negrita los valores anómalos.

Sujetos (edad)	Seguimiento vertical 20°/sec		Seguimiento vertical 40°/sec		Seguimiento horizontal 40°/sec	
	Velocidad pico (°/sec)	Ganancia	Velocidad pico (°/sec)	Ganancia	Velocidad pico (°/sec)	Ganancia
Sujeto V:7 (32 años)	13,7	0,68	19	0,47	33,2	0,83
Sujeto V:10 (45 años)	2,93	0,14	3,66	0,09	24,51	0,61
Sujeto IV:5 (69 años)	4,2	0,20	8,1	0,20	20	0,5
Sujeto IV:6 (64 años)	9,5	0,47	8,3	0,20	26	0,65
Controles (n: 3; edad: 40-44 años, promedio, DS)	21,7 (3,2)	1,08 (0,2)	36,8 (4,4)	0,9 (0,1)	29,5 (4,9)	0,7 (0,1)
Controles (n: 3; edad: 65-74, promedio, DS)	17,9 (3,7)	0,9 (0,2)	28,7 (2,2)	0,7 (0,1)	26,8 (6,0)	0,7 (0,1)

Anexo 1. Tabla 4. Registro del nistagmo optocinético en dos sujetos jóvenes pre-sintomáticos de la familia A, dos sujetos enfermos de la familia A y seis controles sanos. Se muestran en negrita los valores anómalos.

Sujetos (edad)	Nistagmo optocinético vertical 20°/seg		Nistagmo optocinético vertical 40°/seg		Nistagmo optocinético horizontal 20°/seg		Nistagmo optocinético horizontal 40°/seg	
	Velocidad arriba derecha (°/seg)	Velocidad abajo izquierda (°/seg)	Velocidad arriba derecha (°/seg)	Velocidad abajo izquierda (°/seg)	Velocidad arriba derecha (°/seg)	Velocidad abajo izquierda (°/seg)	Velocidad arriba derecha (°/seg)	Velocidad abajo izquierda (°/seg)
Sujeto V:7 (32 años)	19	20	21	41	17	17	33	29
Sujeto V:10 (45 años)	11	17	9	13	19	20	27	31
Sujeto IV:5 (69 años)	11	12	0	9	13	15	19	19
Sujeto IV:6 (64 años)	13	14	14	14	16	16	20	15
Controles (n: 3;, edad: 40-44 años, promedio, DS)	19,0 (0,0)	21,5 (2,1)	34,5 (6,4)	40,0 (0,0)	19,5 (0,7)	19,0 (1,4)	34,0 (4,2)	31,0 (8,5)
Controles (n: 3;, edad: 65-74, promedio, DS)	20,7 (1,1)	20,6 (1,5)	28,0 (0,0)	27,5 (3,5)	19,3 (1,1)	19,6 (0,6)	34,0 (3,0)	35,3 (1,2)

ANEXO 2. ESTUDIOS GENÉTICOS. METODOLOGÍA.

Estudios *genéticos*

Se estableció una incidencia para SCA de 1/200.000. Se asignaron doce clases de penetrancia según un baremo que atribuye la edad de aparición de la enfermedad de los individuos en riesgo clínicamente asintomáticos en base a la de edad de inicio de la ataxia de los individuos enfermos de la familia A. Las clases de penetrancia se construyeron asumiendo una distribución normal de la edad de inicio, con una media de $\mu = 48.36$ años y una desviación estándar de $\sigma = 9.89$. Se construyó una función de densidad normal según los valores de la variable normalizada (Z) de la edad de debut (X) en un total de 10 individuos enfermos (N= 10) pertenecientes a la familia A ($Z = (X - \mu) / \sigma$). El valor de la penetrancia para cada individuo se calculó como la probabilidad de estar enfermo, con un genotipo heterocigoto (+/m) o homocigoto (m/m), en las respectivas edades actuales, y de acuerdo con la distribución normal de los datos normalizados. Utilizando las tablas de probabilidad de la función normal referenciadas en (1), asignamos la probabilidad de estar enfermos para cada uno de los 22 individuos clínicamente asintomáticos del pedigrí y posteriormente los reagrupamos según los rangos de sus edades actuales en doce clases de susceptibilidad (“liability”, LC) de la siguiente forma:

LC1= 0.9999 (hasta 83 años); LC2 = 0.9962 (72 -78 años); LC3 = 0.9522 (66 - 67 años); LC4 = 0.8732 (59 – 61 años); LC5 = 0.6057 (50 – 53 años); LC6 = 0.4248 (46 – 47 años); LC7 = 0.2454 (41 – 42 años); LC8 = 0.1977 (40 años); LC9 = 0.1360 (37 – 38 años); LC10 = 0.0495 (32 años); LC11 = 0.0137 (26 años); LC12 = 0.0028 (21 años). Utilizamos nueve marcadores microsatélites en el cromosoma 1p32: D1S319, D1S2661, D1S417, D1S2652, D1S475, D1S200, D1S2742, D1S2690, y D1S2867, y calculamos las frecuencias respectivas de los alelos para los cuatro marcadores más cercanos obtenidos en 100 cromosomas procedentes de la población general. Para los marcadores más cercanos ligados genéticamente, las frecuencias alélicas fueron: D1S475 (1, 0.2976; 2, 0.3929; 3, 0.0119; 4, 0.0238; 5, 0.0238; 6, 0.1310; 7, 0.0119; 8, 0.0476; 9, 0.0119; 10, 0.0238; 11, 0.0238); D1S200 (1, 0.2083; 2, 0.1563; 3, 0.3333; 4, 0.1042; 5, 0.1354; 6, 0.0313; 7, 0.0104; 8, 0.0104; 9, 0.0104); D1S2742 (1, 0.0213; 2, 0.0532; 3, 0.0425; 4, 0.1809; 5, 0.0851; 6, 0.2128; 7,

0.1170; 8, 0.0106; 9, 0.0638; 10, 0.0851; 11, 0.1064; 12, 0.0213); D1S2690 (1, 0.5; 2, 0.4667; 3, 0.0111; 4, 0.0000; 5, 0.0111; 6, 0.0111). Se estudió la influencia del modelo de penetrancia en el resultado del estudio de ligamiento realizando un análisis en individuos afectos exclusivamente, este análisis basa el estudio de ligamiento únicamente en el genotipo de marcadores de los 10 enfermos del pedigrí, sin considerar ninguna información genotípica o fenotípica de los individuos asintomáticos. Utilizamos las funciones de mapeo de Haldane y Kosambi en el análisis “multipoint” para transformar la distancia genética en fracción de recombinación (2). En el análisis “multipoint”, obtuvimos el valor de P en un análisis simulado del pedigrí con 1.000 repeticiones con los datos fenotípicos reales y utilizando una asignación pseudo-aleatoria del número del genotipo con el método Monte Carlo incorporado en el programa SLINK (LSIM function), el cual calcula el valor de P como la probabilidad de obtener un valor de “LOD score” igual o superior al “LOD score” estimado para los datos observados, asumiendo la hipótesis de no ligamiento ($\theta = 0.5$) entre el locus del rasgo y el conjunto de marcadores (hipótesis nula, H_0). Para la secuenciación exómica el ADN se enriqueció con SureSelect All Human Exome v.2 (50 Mb) siguiendo el protocolo del fabricante (Agilent, CA). El ADN enriquecido se secuenció por estrategia “paired-end” en un ABI SOLiD v4 (Life Technologies, CA).

Las lecturas se contrastaron con el genoma humano de referencia (UCSC hg19) con Bioscope v1.3 (solidsoftwaretools.com) utilizando los parámetros establecidos por defecto. La búsqueda de variantes e inserciones-delecciones se realizó utilizando una combinación de Genome Analysis Toolkit (3) y SAMtools v0.16 (4). Basándonos en la hipótesis que la mutación subyacente en esta enfermedad familiar rara no está presente en la población general, las variantes conocidas se desestimaron en los análisis ulteriores según la información de la base de datos Ensembl v62, la cual contiene datos procedentes de las fuentes de datos sobre variaciones humanas más importantes como son 1000 Genomes, dbSNP o HapMap entre otras. Posteriormente, se descartaron las variantes que no estaban siendo compartidas por dos enfermos. Los cambios sinónimos se identificaron y se

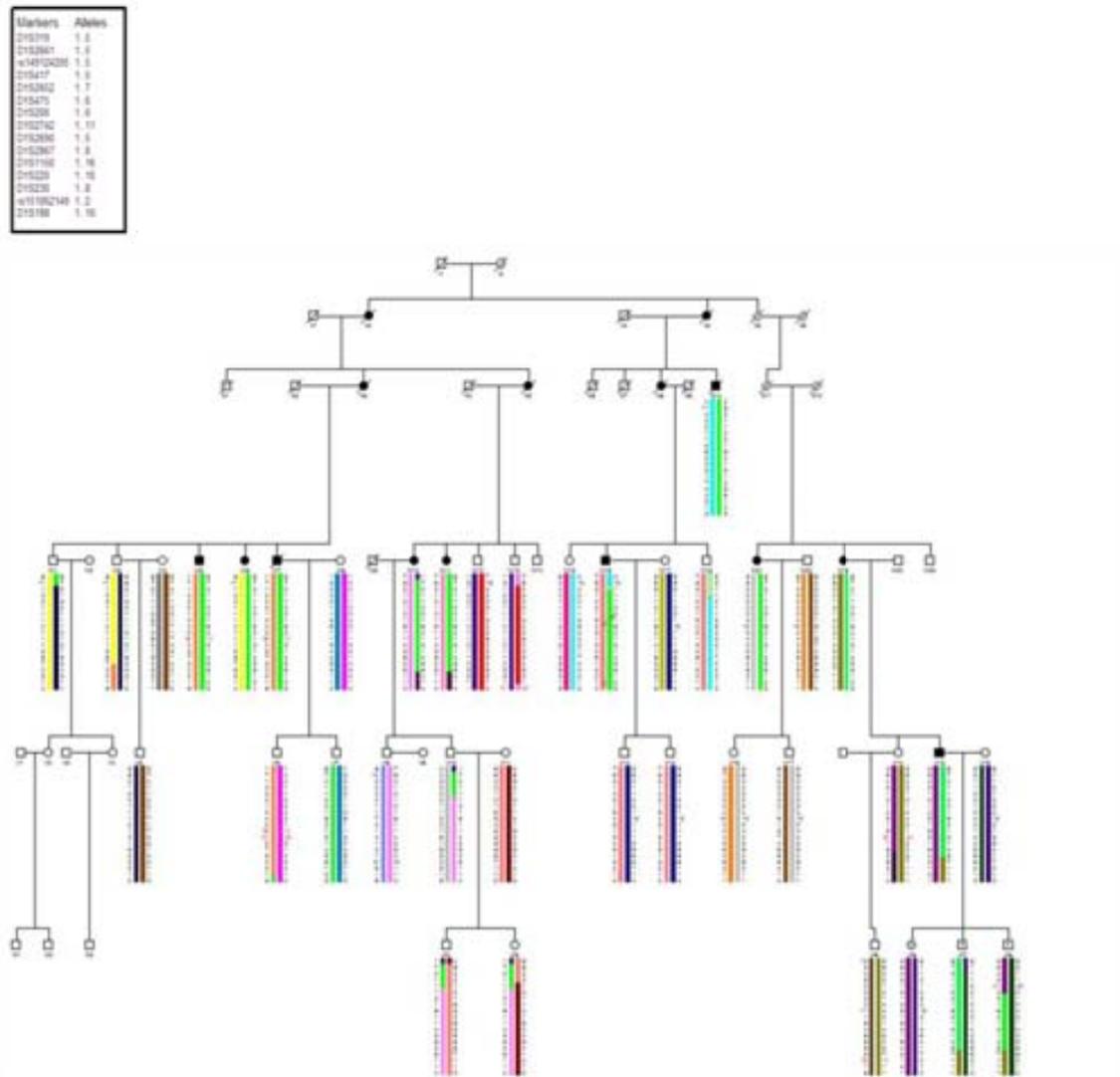
filtraron con CONsensus Deleteriousness score of missense SNVs (Condel) (bg.upf.edu/condel/analysis) (5). Llegados a este punto de la investigación, los genes candidatos se han priorizado para estudios posteriores en base a las variantes potencialmente patológicas (6).

Referencias

1. Feller W. An Introduction to Probability Theory and Its Applications. Vol 2, 2nd Edition. 2nd ed: John Wiley & Sons; 1971.
2. Ott J. Analysis of human genetic linkage. Third Edition. Baltimore and London: John Hopkins University Press; 1999.
3. McKenna A, Hanna M, Banks E, et al. The Genome Analysis Toolkit: a MapReduce framework for analyzing next-generation DNA sequencing data. *Genome Res.* 2010;20(9):1297-1303.
4. Li H, Handsaker B, Wysoker A, et al. The Sequence Alignment/Map format and SAMtools. *Bioinformatics.* 2009;25(16):2078-2079.
5. Gonzalez-Perez A, Lopez-Bigas N. Improving the assessment of the outcome of nonsynonymous SNVs with a consensus deleteriousness score, Condel. *Am J Hum Genet.* 2011;88(4):440-449.
6. Ng SB, Buckingham KJ, Lee C, et al. Exome sequencing identifies the cause of a mendelian disorder. *Nat Genet.* 2010;42(1):30-35.

ANEXO 3. PEDIGRÍS CON HAPLOTIPOS.

Anexo 3. Figura 1. Pedigrí de la familia A con haplotipos



Anexo 3. Figura 2. Pedigrí de la familia B con haplotipos.

Markers	Alleles
CH22B1	1, 5
CH22B2	1, 5
CH22B3	1, 5
CH22B4	1, 5
CH22B5	1, 7
CH22B6	1, 6
CH22B7	1, 6
CH22B8	1, 6
CH22B9	1, 11
CH22B10	1, 5
CH22B11	1, 8
CH22B12	1, 16
CH22B13	1, 16
CH22B14	1, 8
CH22B15	1, 10
CH22B16	1, 10

