

ESTIMACIÓN DEL RIESGO GENÉTICO, EDAD DE INICIO Y SUPERVIVENCIA EN LA ATAXIA ESPINOCEREBELOSA TIPO 2

ENTIDAD EJECUTORA PRINCIPAL: Centro para la Investigación y Rehabilitación de Ataxias Hereditarias

AUTOR PRINCIPAL: Luis Enrique Almaguer Mederos

OTROS AUTORES: Raúl Aguilera Rodríguez, Yanetza González Zaldívar, Yaimé Vázquez Mojena, José Miguel Laffita-Mesa, Milena Paneque Herrera, Nieves Santos Falcón, Dennis Almaguer Gotay, Danny Cuello Almarales, Gilberto Sánchez Cruz

Colaboradores: Luis Velázquez Pérez¹, Jacquelín Medrano Montero¹, Annelié Estupiñán Rodríguez¹, Nalia Canales Ochoa¹, Arnoy Peña Acosta¹, Jorge Aguiar Santiago², Patrick MacLeod³, Georg Auburger⁴

OTRAS ENTIDADES PARTICIPANTES:

¹ Centro para la Investigación y Rehabilitación de Ataxias Hereditarias, Holguín, Cuba.

² Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología, La Habana, Cuba.

³ Hospital General de Victoria, Columbia Británica, Canadá.

⁴ Sección de Neurogenética Molecular, Universidad de Frankfurt y Main, Frankfurt, Alemania.

AUTOR PARA LA CORRESPONDENCIA:

Luis Enrique Almaguer Mederos

Dirección Postal: Calle 25, entre 4^{ta} y 8^{va}. Bloque 23. Apto. 6. Rpto. Lenin. Holguín. CP: 80100.

Teléfono (institucional): 24462823

Fax (Dirección Provincial de Salud): 24463579

E-Mail: leam@ataxia.hlg.sld.cu; lalmaguermederos@gmail.com

RESUMEN

Antecedentes: La Ataxia Espinocerebelosa tipo 2 es una enfermedad que representa un serio problema de salud para la provincia Holguín, dada su naturaleza neurodegenerativa, progresiva y hereditaria, por alcanzar las más elevadas tasas de incidencia y prevalencia del mundo en Holguín, y por no existir ninguna alternativa terapéutica efectiva para el tratamiento de los enfermos.

Problema científico: Con este trabajo se dio solución a la ausencia de herramientas para la estimación del riesgo genético, de la edad de inicio de la enfermedad y de la supervivencia de pacientes con Ataxia Espinocerebelosa tipo 2 o portadores de la mutación patogénica, o sus descendientes.

Resultados: Se desarrollaron herramientas para la estimación del riesgo genético, de la edad de inicio de la enfermedad y de la supervivencia de pacientes con Ataxia Espinocerebelosa tipo 2 o portadores de la mutación patogénica, o sus descendientes, a la vez que se profundizó en la relación entre el genotipo y el fenotipo clínico relativos a esta enfermedad. Se demostró que el riesgo de heredar la mutación causante de la Ataxia Espinocerebelosa tipo 2 disminuye en la descendencia con el avance de la edad de los progenitores, obteniéndose riesgos relativamente bajos a edades reproductivas de la vida, lo que incrementa significativamente el valor de los estimados con fines de asesoramiento genético. Se obtuvieron estimados probabilísticos de manifestar la enfermedad a una edad determinada para un número de repeticiones de CAG dado, comprobándose que la variación en sólo una repetición de CAG en alelos *ATXN2* expandidos tuvo una influencia significativa sobre estos estimados. Se demostró que la Ataxia Espinocerebelosa tipo 2 tiene un impacto muy negativo sobre la supervivencia de los individuos afectados, lo que es significativamente modulado por el número de repeticiones de CAG en el gen *ATXN2*. Los hallazgos reportados son de gran importancia para la mejor comprensión de la historia natural de la enfermedad. El empleo de muestras extensas, la integración de métodos genético- moleculares, clínicos y estadísticos, y un profundo análisis teórico de los resultados, proveen a la investigación de un elevado rigor científico. Los resultados obtenidos son de novedad mundial, y sirven de referencia para el abordaje de otras poblaciones del mundo afectadas por la Ataxia Espinocerebelosa tipo 2. Los resultados obtenidos tienen importantes aplicaciones clínicas, fundamentalmente al asesoramiento genético de individuos en riesgo en el contexto del Programa Nacional para el Diagnóstico Predictivo de la Ataxia Espinocerebelosa tipo 2 y otras Ataxias Dominantes. También tienen aplicaciones al diseño y evaluación de ensayos clínicos y a la identificación de genes modificadores del fenotipo clínico de la enfermedad que representan dianas terapéuticas potenciales. Los resultados fueron presentados en 28 eventos científicos provinciales (9), nacionales (5) e internacionales (14). Fueron merecedores de 22 premios y distinciones científico-técnicas provinciales (11), nacionales (9) e internacionales (2). Los resultados principales también fueron diseminados en forma de cinco publicaciones nacionales (1) e internacionales (4), y existe otra publicación en fase de revisión por el cuerpo editorial de la revista *Genetics in Medicine* (factor de impacto: 7,71). Estos resultados también cuentan con su registro en el Centro Nacional de Derecho de Autor (CENDA) con los números de registro 2675-2005 y

1701-06-2016.

COMUNICACIÓN CORTA DEL RESULTADO

1. Introducción

La Ataxia Espinocerebelosa tipo 2 (SCA2) es una enfermedad neurodegenerativa y hereditaria, que alcanza la más elevada tasa de prevalencia a nivel mundial en la provincia Holguín: 40,18 cada 10⁵ habitantes,¹ constituyendo un serio problema de salud para el territorio. Es causada por la expansión de una secuencia repetitiva de CAG ubicada en el primer exón del gen *ATXN2*.² Desde el año 2000 se implementó en nuestro país el Programa Nacional para el Diagnóstico Predictivo de la Ataxia Espinocerebelosa tipo 2 y otras Ataxias Dominantes, que tiene como propósito principal, posibilitar a los descendientes en riesgo para esta enfermedad conocer su estatus genético con respecto a la misma, y favorecer la toma de decisiones relevantes para su salud.³

La estimación del riesgo genético para la SCA2 es un componente clave del proceso de asesoramiento genético.^{4, 5} Para la enfermedad de Huntington y la Ataxia Espinocerebelosa tipo 3 se ha demostrado que el riesgo empírico, o *a posteriori*, de haber heredado la mutación causante de la enfermedad disminuye con el avance de la edad del individuo.^{6, 7} Para la Ataxia Espinocerebelosa tipo 2 no se dispone de estimados del riesgo genético empírico para descendientes en riesgo.

Entre las principales preocupaciones de los descendientes en riesgo cuyo diagnóstico predictivo demuestre que son portadores de la mutación causante de la enfermedad, se relacionan el momento o edad a la que manifestaran la enfermedad y la duración de la enfermedad. El uso del marco metodológico del análisis de supervivencia ha permitido obtener estimados probabilísticos ajustados al número de repeticiones de CAG, de la edad en que con mayor probabilidad debutará la enfermedad en pacientes en riesgo para la enfermedad de Huntington^{8, 9}. Asimismo, para la enfermedad de Huntington y se ha evaluado el impacto de la enfermedad sobre la supervivencia de los pacientes afectados.¹⁰ Sin embargo, para la SCA2 no se disponía de estimados probabilísticos para la edad de inicio o la supervivencia de pacientes con SCA2 o portadores de la mutación.

Por tanto, en esta investigación nos propusimos caracterizar la relación genotipo-fenotipo en la SCA2 a partir de la obtención de estimados probabilísticos del riesgo genético, edad de inicio de la enfermedad, y supervivencia de pacientes con SCA2 o portadores de la mutación. Los resultados obtenidos son de novedad a nivel mundial, contribuyen a la mejor comprensión de los mecanismos fisiopatológicos que subyacen a su expresión clínica de la enfermedad, y tienen aplicaciones al asesoramiento genético, a la identificación de genes modificadores del fenotipo clínico de la enfermedad, y a la evaluación de estrategias terapéuticas potenciales.

2. Riesgo bayesiano dependiente de la edad para la Ataxia Espinocerebelosa

tipo 2

En la muestra estudiada de 748 pacientes con Ataxia Espinocerebelosa tipo 2 con evaluación neurológica y genealógica completas, y con diagnóstico molecular de SCA2, se obtuvo que para individuos asintomáticos con un riesgo *a priori* del 50% indicó la existencia de una progresiva disminución del riesgo genético a medida que avanza la edad del individuo. Así, mientras que para un individuo de siete años de edad o menos el riesgo empírico es del 50%, los individuos de 30 años tienen un riesgo empírico del 33%, y para los casos de 65 años de edad o más, el riesgo empírico estimado disminuye hasta aproximadamente un cero por ciento. El cálculo del riesgo Bayesiano para individuos asintomáticos con un riesgo *a priori* del 25% también indicó la existencia de una progresiva disminución del riesgo genético a medida que avanza la edad del individuo. Así, mientras que para un individuo de nueve años de edad o menos el riesgo empírico es del 25%, los individuos de 30 a 31 años tienen un riesgo empírico del 14%, y los individuos de 62 años de edad o más, tienen un riesgo empírico estimado de aproximadamente un cero por ciento.

Resultados similares se han obtenido para la enfermedad de Huntington y en la Ataxia Espinocerebelosa tipo 3, pero en estos casos la disminución del riesgo es demasiado lenta como para obtener riesgos suficientemente bajos durante la etapa reproductiva de la vida.^{6,7} Contrario a lo que ocurre en la enfermedad de Huntington y en la Ataxia Espinocerebelosa tipo 3, en la SCA2 la disminución del riesgo es bien marcada.

Además de las implicaciones fisiopatológicas, los resultados obtenidos tienen aplicaciones sustanciales al asesoramiento genético de individuos en riesgo de enfermar. El uso de información adicional que permite mejorar la objetividad de los estimados de riesgo genético, favorece el proceso de asesoramiento genético que se desarrolla en el contexto del Programa Nacional para el Diagnóstico Predictivo de la Ataxia Espinocerebelosa tipo 2 y otras Ataxias Dominantes.^{3, 4}

3. Estimación de la edad de inicio en pacientes con Ataxia Espinocerebelosa tipo 2

En una muestra de 833 individuos portadores de alelos *ATXN2* expandidos, de los cuales 468 están enfermos y 365 son presintomáticos para la Ataxia Espinocerebelosa tipo 2, se obtuvo la probabilidad acumulativa para la manifestación de la enfermedad para un número de repeticiones de CAG dado. A medida que el número de repeticiones de CAG aumentó de 34 a 45 unidades, hubo un aumento significativo en la probabilidad de manifestación de la enfermedad ($p < 0,001$) para una edad dada. Se observó que una diferencia de tan sólo una unidad de CAG tuvo un efecto significativo sobre la edad de inicio estimada para un individuo determinado ($p \leq 0,001$). Se obtuvo una correlación lineal altamente significativa entre el número de repeticiones de CAG en alelos *ATXN2* expandidos y la edad de inicio media ($r^2 = -0,98$; $p \leq 0,001$).

Estudios anteriores que exploran la relación entre la edad de inicio y el número de repeticiones de CAG en alelos *ATXN2* expandidos, se han basado en análisis de regresión

donde solo toman en consideración a individuos enfermos, y que sobre-estiman el efecto del número de repeticiones de CAG sobre el fenotipo clínico.^{11, 12} La inclusión de individuos presintomáticos junto a enfermos, permitió obtener curvas de supervivencia para predecir la probabilidad de que un individuo manifieste la SCA2 a una edad determinada. El análisis realizado produjo estimados más desfavorables en comparación con los reportados para la enfermedad de Huntington,⁸ lo que refuerza la hipótesis que plantea que las secuencias flanqueantes en la ataxina-2, protegen poco contra la ganancia de función producida por la expansión de la secuencia poliglutamínica.¹³ Estos resultados también tienen implicaciones significativas para el diseño de ensayos clínicos en busca de opciones terapéuticas. El propósito de nuevas terapias para la SCA2 está dirigido a enlentecer o detener el progreso de la enfermedad, o a retardar su aparición en sujetos presintomáticos.¹⁴

4. Estimación de la supervivencia global y de la supervivencia después del inicio de la enfermedad en pacientes con Ataxia Espinocerebelosa tipo 2

En una muestra consistente de 1220 individuos, se obtuvieron estimados probabilísticos de supervivencia. En el grupo de los pacientes con SCA2, las medias (D.E) para los estimados de supervivencia global y de supervivencia después del inicio de la enfermedad fueron de 52,0 (17,7) y 21,8 (9,3) años, respectivamente. Las curvas de supervivencia correspondientes a los grupos de individuos afectados y no afectados fueron significativamente diferentes entre sí, de modo global y por sexo, aunque no hubo diferencias significativas para las curvas de supervivencia entre individuos de sexo masculino o femenino en los grupos estudiados ($p \geq 0,70$). Se comprobó que una diferencia de tan sólo una unidad de CAG tuvo un efecto significativo sobre estas variables para un individuo determinado (Prueba de Rangos Log; $p < 0,001$).

En pacientes franceses con SCA1,¹⁵ españoles con SCA2 o SCA3,¹⁶ y en brasileños con SCA3,¹⁷ se han reportado estimados de supervivencia global promedios que rondan la sexta década de vida, lo que coincide con el estimado de 66 años obtenido en pacientes cubanos con SCA2. Estimados previos para la supervivencia después del inicio de la enfermedad varían entre 17 y 25 años para pacientes alemanes, españoles o brasileños con SCA1, SCA2 o SCA3,¹⁶⁻¹⁸ e incluso para pacientes italianos con la enfermedad de Huntington.¹⁰ Estos resultados son consistentes con los estimados obtenidos para pacientes cubanos con SCA2.

Nunca antes se habían realizado comparaciones para la supervivencia entre individuos afectados y parientes sanos, e incluso los estimados de supervivencia que se han obtenido con anterioridad en pacientes con SCA2, han estado limitados por el pequeño número de pacientes evaluados.^{16, 19} En este estudio se demuestra por primera vez a nivel mundial, que el número de repeticiones de CAG en el gen *ATXN2* está significativamente asociado a la supervivencia global y a la supervivencia después del inicio de la enfermedad en pacientes con SCA2.

Conclusión

La investigación aquí presentada, ofrece nueva y significativa información para los individuos en riesgo y profesionales involucrados en el Programa Nacional para el Diagnóstico Predictivo de la Ataxia Espinocerebelosa tipo 2. El asesoramiento genético gana en efectividad y objetividad basado en los estimados obtenidos. Además, un genotipaje exacto hace posible conocer si un paciente ha heredado cambios en el ADN asociados a la SCA2, pero también contribuye a definir la probabilidad de estar enfermo a determinada edad, o la probabilidad de sobrevivir determinado tiempo después del inicio de la enfermedad. Esta información también se emplea para el diseño de estudios orientados a la identificación de genes modificadores de la severidad clínica de la enfermedad, y para la evaluación del impacto a mediano o largo plazo de intervenciones terapéuticas.

Referencias bibliográficas

1. Velázquez-Pérez L, Sánchez-Cruz G, Santos-Falcón N, Almaguer-Mederos LE, Escalona- Batallan K, Rodríguez-Labrada R, et al. Molecular epidemiology of spinocerebellar ataxias in Cuba: Insights into SCA2 founder effect in Holguin. *Neuroscience Letters* 2009; 454: 157-160.
2. Klockgether T, Paulson H. Milestones in Ataxia. *Movement Disorders* 2011; 26(6): 1134-1141.
3. Cruz-Mariño T, Velázquez-Pérez L, González-Zaldívar Y, Aguilera-Rodríguez R, Velázquez- Santos M, Vázquez-Mojena Y, et al. The Cuban program for predictive testing of SCA2: 11 years and 768 individuals to learn from. *Clin Genet.* 2013; 83(6):518-24.
4. Ogino S, Wilson RB, Gold B, Flodman P. Bayesian risk assessment in genetic testing for autosomal dominant disorders with age-dependent penetrance. *J Genet Couns.* 2007; 16(1):29-39.
5. Stark A, Morgan G. Use of Bayes' formula to make a genetic risk estimate. *Twin Res Hum Genet.* 2011; 14(4):340-2.
6. Harper PS, Newcombe RG. Age at onset and life table risks in genetic counselling for Huntington's disease. *J Med Genet* 1992;29 (4):239-242.
7. Sequeiros J, Murphy EA. Age of onset and genetic counseling in Machado- Joseph disease. *Am J Med Genet* 1984; 36:126S.
8. Brinkman RR, Mezei MM, Theilmann J, Almqvist E, Hayden MR. The likelihood of being affected with Huntington disease by a particular age, for a specific CAG size. *Am. J. Hum. Genet.* 1997; 60:1202-1210.
9. Langbehn DR, Brinkman RR, Falush D, Paulsen JS, Hayden MR, *et al.* A new model for prediction of the age of onset and penetrance for Huntington's disease based on CAG length. *Clin Genet* 2004; 65: 267-277.

10. Rinaldi C, Salvatore E, Giordano I, De Matteis S, Tucci T, Russo Cinzia V, et al. Predictors of survival in a Huntington's disease population from Southern Italy. *Can J Neurol Sci* 2012; 39:48-51.
11. Pulst SM, Santos N, Wang D, Yang H, Huynh D, Velásquez L, Figueroa KP. Spinocerebellar ataxia type 2: polyQ repeat variation in the CACNA1A calcium channel modifies age of onset. *Brain* 2005; 128:2297-2303.
12. van de Warrenburg BP, Hendriks H, Durr A, van Zuijlen MC, Stevanin G, Camuzat A, et al. Age at onset variance analysis in spinocerebellar ataxias: a cohort study in a Dutch–French cohort. *Ann Neurol* 2005; 57:505-512.
13. Chai Y, Wu L, Griffin JD, Paulson HL. The role of protein composition in specifying nuclear inclusion formation in polyglutamine disease. *J Biol Chem.* 2001; 276(48): 44889-97.
14. Velázquez-Pérez L, Rodríguez-Labrada R, García-Rodríguez JC, Almaguer-Mederos LE, Cruz- Mariño T, Laffita-Mesa JM. A Comprehensive Review of spinocerebellar Ataxia Type 2 in Cuba. *Cerebellum* 2011; 10(2):184-98.
15. Monin M-L, du Montcel ST, Marelli C, Cazeneuve C, Charles P, Tallaksen CI, et al. Survival and severity in dominant cerebellar ataxias. *Annals of Clinical and Translational Neurology* 2015; 2(2): 202-207.
16. 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(6): 391-399.
17. Kieling C, Prestes PR, Saraiva-Pereira ML, Jardim LB. Survival estimates for patients with Machado-Joseph disease (SCA3). *Clin Genet* 2007; 72: 543-545.
18. Klockgether T, Ludtke R, Kramer B et al. The natural history of degenerative ataxia: a retrospective study in 466 patients. *Brain* 1998; 121:589-600.
19. Estrada R, Galarraga J, Orozco G, Nodarse A, Auburger G. Spinocerebellar ataxia 2 (SCA2): morphometric analyses in 11 autopsies. *Acta Neuropathol* 1999; 97: 306-310.