



Dra. Carmen AYUSO (consulta: Ext 3528) E-mail: Cayuso@fjd.es
Dra. Carmen RAMOS (laboratorio: Ext: 3338/3323) E-mail: cramosa@fjd.es
Servicio de Genética
Madrid, MAYO 2004

Los estudios genéticos que se realizan actualmente en nuestro Servicio son:

TIPO DE ESTUDIO CÓDIGO PRIVADOS TARIFAS (€)

Enfermedades Neurológicas

Ataxias dominantes (tipo SCA1, SCA2, SCA3,(enfermedad de Machado) SCA6, SCA7, y atrofia DRPL)

Ataxia de Friedreich

Corea de Huntington,

Distrofia Muscular de Duchenne,

Distrofia Miotónica de Steinert,

Distonía de Torsión (DYT1)

Charcot-Marie-Tooth 1A

Parálisis por presión

Epilepsia de Lafora (genes A y B)

Extracción de DNA (para banco)

Extracción de RNA (para banco)

Enfermedades Metabólicas y Sistémicas

Fibrosis Quística,

Fiebre Mediterránea Familiar

Hemocromatosis,

Hemocromatosis tipo 2

Síndromes Malformativos y/o Retraso Mental

Síndrome de Angelman*

S de Prader Willi*

S Williams

S .Velocardiofacial (catch-22)

X-Frágil,

Acondroplasia/hipocondroplasia

Displasias Esqueléticas fetales

Craneosinóstosis (Apert y Pfeifer)

S. Becwith Wiedemann

Incontinentia Pigmenti 2

S. Polimalformativo/ Rmental sin filiar (Sondas Subteloméricas)

Estudio de Disomía uniparental

Enfermedades Oftalmológicas

Distrofias Maculares AD

Retinosis Pigmentaria

Coroideremia

Retinosquiasis

Enfermedad de Norrie

Enfermedad de Stargardt

Amaurosis Congénita de Leber (8 genes)

Distrofias de Retina

Gen RPGR

Gen RP2

Gen RDS/periferina

Gen Rodopsina

Preguntar otros

Sorderas

Sordera mitocondrial

Sordera (gen Cx23)

Sordera (S Usher 2ª)

Enfermedades vasculares

Estudio Combinado de Trombofilia:

Factor V de Leyden y

Gen de protrombina y

MTHFR

-Genes Individuales:

Factor V de Leyden y

Gen de protrombina

Alteraciones de la Diferenciación Sexual / Sexado de muestras

Gen SRY

Gen Amelogenina

-Estudios de identificación

Zigosidad/ gemelaridad

-Esterilidad Masculina:

Microdeleciones Cr Y

Azoospermia Obstructiva (gen CFTR)

CITOGENETICA

Cariotipo en sangre periférica

Cariotipo en restos abortivos

Cariotipo en fibroblastos cultivados Código(00005) tarifa 331 €

(piel y otros)

FISH en sangre periférica código(00008) tarifa 240 €

PCR-QF ó FISH en restos abortivos tarifa 240 €

DIAGNOSTICO PRENATAL CROMOSÓMICO

Cariotipo en líquido amniótico

Cariotipo en sangre fetal

FISH + Cariotipo en biopsia corial

FISH + Cariotipo en líquido amniótico

FISH en sangre fetal

PCR-QF (sólo) en líquido amniótico

FISH (sólo) en líquido amniótico

PCR-QF (sólo) en biopsia corial

PCR-QF en sangre fetal

Los resultados de los estudios en liquido amniótico y vellosidades coriales mediante FISH o PCR-QF están en unas 48 horas.

*(Test de Metilación: 240; microdelección por FISH, o Estudio de Disomía uniparental)

ENVIO DE MUESTRAS :

Sangre Periférica:

15 cc de sangre con EDTA + 2cc de sangre con Heparina lito

Recepción en nuestro Laboratorio:

de 8:30 a 17:00 horas,

Sangre periférica los días Lunes, Martes y Viernes.

Otras muestras todos los días, excepto sábados, domingos y festivos.

Transporte:

Temperatura ambiente (4-15°C) en 24 horas máximo.

Para otras condiciones de envío u otro tipo de Diagnóstico consultar en el tfno: 91/5504872

Para información sobre otros estudios rogamos consulten nuevamente.

Un cordial saludo

Fdo: Dra Carmen AYUSO
Dra. Carmen RAMOS

Centro de Genética Médica y Molecular - Instituto de Investigación Oncológico Hospitalet de Llobregat, Barcelona



PROYECTO DE INVESTIGACION SOBRE ATAXIAS HEREDITARIAS DE APARICION TARDIA

Investigador principal: Victor Volpini Bertran.

Técnicos:

Jordi Corral Seija.

Isabel Banchs Escribá

1.- INTRODUCCIÓN

Las ataxias hereditarias de aparición tardía constituyen un grupo de enfermedades neurodegenerativas caracterizadas por un trastorno de la coordinación motora por patología cerebelosa o espinocerebelosa, siendo la ataxia de la marcha el signo más característico, además de ser su principal forma de comienzo. Su incidencia se estima en 5×10^{-5} . El inicio semiológico comprende desde los 15 a los 70 años, soliendo debutar en la década de los 30 ó 40.

Neuropatológicamente se observa atrofia y pérdida neuronal en áreas y centros grises de la corteza cerebelar (células de Purkinje), tronco encefálico, ganglios basales y médula (OPCA, atrofias olivo ponto cerebelosas). La clasificación más aceptada ha resultado ser la propuesta por A Harding (1983) que sitúa tres grupos fundamentales denominados ADCA tipos I-III. ADCAI incluye el grupo clínicamente más heterogéneo, en el que junto a la ataxia de la marcha se citan otras características adicionales como disartria, disfagia, oftalmoplejía, atrofia óptica, amiotrofia, demencia, distonía, temblor, rigidez, espasticidad, neuronopatía etc.... Constituye el grupo más prevalente de los tres. ADCAII recoge los casos en el que se añade la degeneración retiniana (retinitis pigmentosa) y macular, con atrofia óptica y pérdida de la agudeza visual o ceguera. ADCAIII se refiere al grupo en el que la ataxia de la marcha destacaría como signo progresivo y supuestamente único ("ataxia pura"). El síndrome atáxico hereditario comparte una etiología genética común consistente en un aumento del número de repeticiones de una secuencia genómica (CAG)_n, característica de todos los genes responsables de estas enfermedades descritos hasta ahora. Dicha secuencia nucleotídica está ubicada en todos los casos en

regiones exónicas y codifica para secuencias peptídicas de poliglutaminas. Los individuos enfermos presentan uno de los alelos del gen con la referida mutación y la transmiten a la mitad de sus descendientes. Es especialmente característico que dicha secuencia pueda aumentar de tamaño generación tras generación, expandiéndose así progresivamente, por lo que se habla de "mutaciones expansivas dinámicas". De ese modo, en las ADCAI se han aislado los genes SCA1 en 6p22-23; SCA2 en 12q24 y SCA3/MJD (enfermedad de Machado-Joseph) en 14q32.1; además el grupo incluye el loci SCA4 en 16q22.1 (una forma con neuropatía periférica), cuyo gen aún no se ha clonado. En las ADCAI se ha clonado el gen SCA7 en 3p14-p21 y en las ADCAI se citan los loci SCA5 en 11cen, en el que el gen todavía no se ha aislado y SCA6 en 19p13. Otra forma relacionada de ataxia que también presenta expansiones CAG es la atrofia dentato-rubro-pálido-Luisiana (DRPLA).

Bibliografía

H.T. Orr et al. Expansion of an unstable trinucleotide CAG repeat in spinocerebellar ataxia type 1. *Nature Genetics* 1993. 4:221-226.

S. M. Pulst et al. Moderate expansion of a normally biallelic trinucleotide repeat in spinocerebellar ataxia type 2. *Nature Genetics*. 1996. 14: 269-276.

Yoshiya Kawaguchi et al. CAG expansions in a novel gene for Machado-Joseph disease at chromosome 14q32.1. *Nature Genetics*. 1994. 8: 221-227.

K. Flanigan et al. Autosomal Dominant Spinocerebellar Ataxia with Sensory Axonal Neuropathy (SCA4): Clinical Description and Genetic Localization to Chromosome 16q22.1. *Am. J. Hum. Genet.* 59:392-399,1996.

L.P.W. Ranum et al. Spinocerebellar ataxia type 5 in a family descended from the grandparents of President Lincoln maps to chromosome 11. *Nature Genetics*. 1994: 280-284.

O. Zhuchenko et al. Autosomal dominant cerebellar ataxia (SCA6) associated with small polyglutamine expansions in the $\alpha 1A$ -voltage-dependent calcium channel. *Nature Genetics*. 1997. 5: 62-68.

G. David et al. Cloning of the SCA7 gene reveals a highly unstable CAG repeat expansion. *Nature Genetics*. 1997. 17: 65-70.

Harding AE. Classification of the hereditary ataxias and paraplegias. *Lancet* 1983; i: 1151-1153.

Polo JM, Calleja J, Combarros O, Berciano J. Hereditary ataxias and paraplegias in Cantabria, Spain. An epidemiological and clinical study. *Brain* 1991; 114: 855-866.

2.- Objetivos: Identificar y caracterizar molecularmente las mutaciones causantes de las heredoataxias dominantes. Estudiar la repercusión fenotípica de las mutaciones. Incidencia, prevalencia y distribución geográfica de las mutaciones en España (*ámbito de estudio*). Origen poblacional de las mutaciones.

3.- Hipótesis: 1) Existen otras expansiones CAG correspondientes a otros tantos loci SCA. 2) En la consecución del fenotipo atáxico final intervienen relaciones epistáticas de otros loci SCA. 3) Existen efectos fundadores relacionados con la distribución geográfica de las mutaciones.

4.- Métodos: Sujetos de estudio: enfermos con ataxia de aparición tardía y familiares relacionados. 1) Empleo de la PCR con los cebadores correspondientes a las regiones flanqueantes de las descritas mutaciones CAG de los diversos loci SCA 1-3, SCA 6-7 y DRPLA. 2) Identificar mutaciones no descritas por las técnicas RED y DIRECT. 3) Análisis de ligamiento genético: métodos Lod Score

o IBD. 4) Análisis de desequilibrio de ligamiento.

5.- Publicaciones:

1. **T. Matilla, V. Volpini, D. Genís, J. Rosell, J. Corral, A. Dávalos, A. Molins, X. Estivill.** Presymptomatic analysis of spinocerebellar ataxia type 1 (SCA1) via the expansion of the SCA1 CAG-repeat in a large pedigree displaying anticipation and parental male bias. *Human Molecular Genetics*. 1993. 5: 254-258.
2. **D. Genís, A. Dávalos, A. Molins, J. Rosell, V. Volpini.** Ataxias y paraplejias hereditarias. Aspectos clínicos y genéticos. 1993. 175-177. *Ediciones Argón*
3. **V. Volpini, T. Matilla, D. Genís, I. Banchs, J. Corral, X. Estivill.** Genetic mutation, linkage & heterogeneity analysis in Spanish pedigrees and isolated cases of autosomal dominant Spinocerebellar Ataxia (SCA). *Am. J. Hum. Genet.*, 1994; 55 Supplement A1448.
4. **A. Matilla Dueñas.** Estudio genético y molecular de las ataxias espinocerebelosas de herencia autosómico dominante (ADCA): Análisis molecular del gen SCA1 y su producto: la ataxina-1. *TESIS DOCTORAL*, 1995.
5. **D. Genís, T. Matilla, V. Volpini, J. Rosell, A. Dávalos, I. Ferrer, A. Molins, X. Estivill.** Clinical, neuropathologic, and genetic studies of a large spinocerebellar ataxia type 1 (SCA1) Kindred: (CAG)_n expansion and early premonitory signs and symptoms. *NEUROLOGY*. 1995; 45: 24-30.
6. **M.A. Pujana, V. Volpini, X. Estivill.** Cloning (CAG/GTC)_n STSs by an *Alu*-(CAG/GTC)_n PCR method: an approach to human Chromosome 12 and spinocerebellar ataxia 2 (SCA2). 1996. *Nucleic Acid Research*. 24: 3651-3652.
7. **M.A. Pujana, L. Martorell, V. Volpini, J. Valero, A. Labad, E. Vilella, X. Estivill.** Analysis of amino acid and nucleotide variants in the spinocerebellar ataxia type 1 (SCA1) gene in schizophrenic patients. 1997. *Human Genetics* 99: 772-775..
8. **D. Genís, V. Volpini.** Machado Joseph disease, spinopontine atrophy, and *SCA3*. 1997. *NEUROLOGY* 48: 1137-1138.
9. **L. Martorell, M. A. Pujana, V. Volpini, A. Sánchez, J. Joven, E. Vilella, X. Estivill.** The Repeat Expansion Detection (RED) Method in the Analysis of Diseases with CAG/CTG Repeat Expansion: Usefulness and Limitations. 1997. *Human Mutation* 10: 486-488.
10. **M.A. Pujana, M. Gratacós, J. Corral, I. Banchs, A. Sánchez, D. Genís, C Cervera, V. Volpini, X. Estivill.** Polymorphisms at thirteen expressed human sequences containing CAG/CTG repeats and analysis in Autosomal Dominant Cerebellar Ataxia (ADCA) patients. 1997. *Human Genetics* 101: 18-21.
11. **MA Pujana, V Volpini, M Gratacós, J Corral, I Banchs, A Sánchez, D Genís, C Cervera, X Estivill.** Uncloned expanded CAG/CTG repeat sequences in Autosomal Dominant Cerebellar Ataxia (ADCA) by the Repeat Expansion Detection (RED) method. 1998. *Journal of Medical Genetics* 35:99-102.
12. **L. Martorell, M. A. Pujana, J. Valero, J. Joven, V. Volpini, A. Labad,**

- X. Estivill, E. Vilella.** Anticipation is Not Associated with CAG Repeat Expansion in Parent-Offspring Pairs of Patients Affected with Schizophrenia. 1998. *American Journal of Medical Genetics* (en prensa).
13. **MA Pujana, V Volpini, X Estivill.** Large CAG/CTG repeat templates produced by PCR: application to clone the SCA3/MJD repeat expansion by a modified DIRECT method. 1998 *Nucleic Acids Research* (en prensa).

DIAGNOSTICO MOLECULAR Y ASESORAMIENTO GENETICO DE ATAXIAS HEREDITARIAS

La detección de una mutación expansiva constituye un diagnóstico molecular etiológico e identifica una enfermedad neurodegenerativa hereditaria, clasificándola por el tipo molecular de mutación hallada y permitiendo un diagnóstico diferencial con procesos afines. Adicionalmente, la caracterización molecular de las mutaciones expansivas y su procedencia paterna o materna, son un elemento pronóstico relevante del inicio, gravedad y grado de progresión de la enfermedad neurodegenerativa atáxica, confirmándose un modo particular de *imprinting* o herencia "influida por el sexo parental", en la transmisión y desarrollo de estas enfermedades.

En las ADCAs, actualmente es posible ofrecer con garantías diagnósticos prenatales y de portadores no penetrantes (presintomáticos), cuando se solicitan y valoran convenientemente, en el ámbito de un adecuado asesoramiento genético.

De tratarse de individuos sanos, los estudios de portadores constituyen diagnósticos pre-sintomáticos de la enfermedad. El conocimiento de tal circunstancia por parte de los mencionados sujetos puede comportarles severos disturbios psicológicos que aconsejan tomar las precauciones adecuadas antes de la exposición de los resultados por parte del asesor genético. El asesoramiento, de efectuarse, debe hacerse **tras un estudio psiquiátrico previo** de la personalidad de los consultantes y con un seguimiento y apoyo posterior; habida cuenta que se trata de unas enfermedades de aparición en la edad adulta, de curso progresivo y para las que no existen unos tratamientos efectivos.

Los conocimientos que se derivan de las investigaciones sobre estas enfermedades ayudan a clarificar su etiología y fisiopatología, pudiendo incidir en una terapia más eficaz, posiblemente aún paliativa. Los rápidos avances obtenidos en la investigación de estas enfermedades dan esperanzas de que se consigan abordar tratamientos etiológicos en un futuro no tan lejano, y así se logre aliviar definitivamente a estos enfermos de sus dolencias.

LA ENFERMEDAD DE CHARCOT-MARIE-TOOTH

Investigador responsable: Victor Volpini Bertran.
Técnicos: Isabel Banchs Escribá.

La enfermedad de Charcot-Marie-Tooth (CMT) es una de las enfermedades hereditarias más frecuentes, afectando a 1 entre 2500 personas. Se encuentra repartida por todo el mundo, sin diferencias apreciables geográficas o raciales.

Fue originariamente descrita en 1986 por los médicos Jean-Marie Charcot, Pierre Marie y Howard-Henry Tooth; pero su causa no se ha comenzado a dilucidar hasta nuestros días. Los pacientes aprecian una lenta y progresiva incapacidad en el uso y movimientos de las manos, los brazos, las piernas y los pies, como consecuencia de una degeneración de los nervios de las extremidades. Los músculos afectados se atrofian, especialmente el peroneal, con la consiguiente merma en la realización de sus funciones. A diferencia de las distrofias, el defecto primario no es propiamente muscular, sino de la inervación.

Uno de los primeros signos de la enfermedad es el pie exageradamente arqueado o pie cavo, que va acentuándose con el tiempo. Se afectan asimismo los dedos, que resultan agarrotados o "en martillo". Son frecuentes los tropiezos, las caídas y las torceduras de tobillos. La progresiva disfunción muscular causa dificultades en la deambulación y en el mantenimiento del equilibrio. La debilidad muscular se extiende en ocasiones a los brazos. La función de las manos se afecta por la progresiva atrofia, repercutiendo fundamentalmente en movimientos de precisión como la escritura, que se ve así dificultada. Las anteriores alteraciones funcionales se acompañan asimismo de una merma en la sensibilidad táctil y térmica (sensación frío-calor) en las áreas afectadas. La gravedad y la evolución del cuadro puede variar mucho de un paciente a otro, incluso dentro de una misma familia. Un hijo puede estar menos gravemente afectado que el progenitor del que heredó la enfermedad, y viceversa.

La herencia de la enfermedad corresponde a una transmisión generalmente autosómico-dominante, de forma que un progenitor afectado tiene un 50% de probabilidades de transmitirla a sus hijos. Existen casos de herencia dominante ligada al sexo, en los que las mujeres afectadas la transmiten a la mitad de sus hijos o hijas, mientras que los varones afectados la pasan a todas sus hijas pero a ninguno de sus hijos. Asimismo se han descrito algunos casos de herencia autosómico-recesiva, en la que los padres asintomáticos, pero portadores de la enfermedad, la transmiten a la cuarta parte de sus hijos.

El diagnóstico de la enfermedad de CMT se fundamenta en la semiología clínica; exploración de los reflejos miotáticos, generalmente disminuidos o abolidos y en la evaluación de la atrofia muscular. Son asimismo muy importantes los estudios electromiográficos, midiendo la velocidad de conducción nerviosa, sensitiva y motora. Es imprescindible recabar datos acerca de otros familiares afectados, elaborándose una reconstrucción genealógica en donde poder observar la transmisión hereditaria de la enfermedad. Actualmente es posible efectuar un diagnóstico genético-molecular de índole **etiológico**, por la detección de mutaciones en los genes involucrados en la herencia de estos procesos.

Existen distintos tipos de CMT, clasificados según su gravedad, evolución y datos acerca de la velocidad de conducción nerviosa. El más común es el tipo 1A, que depende en más de un 70% de los casos de la herencia de una duplicación a escala molecular que afecta al gen PMP22 (proteína mielínica periférica), situado en la región cromosómica 17p11.2. El CMT tipo 1 es de inicio precoz, con marcada disminución de la velocidad de conducción, a diferencia del tipo 2, de inicio más tardío y con velocidad de conducción normal. Las formas recesivas

son mucho más graves y de curso más invalidante, ocupando un lugar intermedio las formas ligadas al sexo.

El tratamiento de la enfermedad depende de medidas quirúrgicas u ortopédicas, así como de fisioterapia; observándose una mejoría con la práctica de una actividad física moderada. No existe un tratamiento etiológico que solucione definitivamente la enfermedad.

La investigación de las causas de la enfermedad de Charcot-Marie-Tooth esta siendo llevada a cabo por muchos laboratorios de neurogenética-molecular nacionales y extranjeros. Los resultados que se obtengan permitirán conocer mejor la enfermedad para así idear terapias futuras más eficaces. Es tarea de toda la sociedad el impulsarla, siendo imprescindible la colaboración de las familias afectadas en un ámbito sanitario coordinado.

La neuropatía tomaculosa o *neuropatía con susceptibilidad a la parálisis por presión (HNPP)* se refiere a una enfermedad hereditaria caracterizada por repentinas parálisis musculares o parestesias secundarias generalmente a la compresión de un tronco o plexo nervioso. La parálisis generalmente se recupera tras un lapso de tiempo breve aunque a veces se prolonga días o meses. La enfermedad se transmite de forma autosómica dominante y recientemente se ha demostrado que en la mayoría de los casos la etiología corresponde a una deleción en la región 17p11.2 que afecta al gen PMP22. Empleando la misma tecnología que para CMT es posible detectar dichas mutaciones y de ese modo ofrecer un asesoramiento genético en esas familias. El conocimiento de ser portador de la mencionada deleción como factor predisponente, puede prevenir al sujeto de comportamientos que lleven a comprimir estructuras nerviosas periféricas y así evitar la subsiguiente parálisis. Su diagnóstico molecular se realiza utilizando la misma tecnología que en CMT.

El diagnóstico molecular de Charcot-Marie-Tooth o de neuropatía tomaculosa, se basa fundamentalmente en la detección de **duplicaciones o deleciones**, respectivamente, en 17p11.2, mayoritarias en estos pacientes. El resto de mutaciones son de difícil y costosa detección, labor que puede conllevar mucho tiempo y que generalmente es infructuosa.

El asesoramiento genético de estas enfermedades se basa en el estudio familiar de su transmisión, de acuerdo con los patrones citados anteriormente, en la evaluación de los estudios clínicos de los pacientes afectados y en la detección de las mutaciones causantes de la enfermedad. Este último aspecto constituye un diagnóstico molecular etiológico de la enfermedad, esclarece un diagnóstico diferencial, identifica portadores asintomáticos en los que la enfermedad no se ha manifestado (no penetrantes) y permite un diagnóstico prenatal en el ámbito de una adecuada planificación familiar.

Solicitud de análisis molecular DE CHARCOT-MARIE-TOOTH O DE ATAXIA

Nuestro laboratorio de genética-molecular lleva a cabo dichas determinaciones,

precisando para su realización efectiva:

- Solicitud de la prueba analítica por parte de un facultativo.
- Compromiso de pago por parte de la administración del centro emisor.
- Envío de muestras de sangre periférica (15 cc) recogidas con el anticoagulante EDTA y remitidas siempre a temperatura ambiente. Las muestras pueden conservarse circunstancialmente en nevera a 4° C; pero no deben congelarse.
- Es conveniente adjuntar copias de las historias e informes clínicos de los pacientes y familiares relacionados en estudio.

Las peticiones deben dirigirse al Dr. Victor Volpini Bertran del *CENTRE DE GENÈTICA MÈDICA I MOLECULAR- Institut de Recerca Oncològica*. Hospital Duran i Reynals, Autovía de Castelldefels km 2,7. 08907- l'Hospitalet de Llobregat, Barcelona. Spain.

Tel.: (34) 93 - 2607775
FAX: (34) (9)3- 2607776
e-mail: vvolpin@iro.es
Web: <http://www.iro.es>

Servicio de diagnóstico de enfermedades genéticas mitocondriales humanas



Julio Montoya
Departamento de Bioquímica y Biología Molecular y Celular. Facultad de Veterinaria.
Universidad de Zaragoza. Miguel Servet 177. E-50013 Zaragoza (España)
Teléfono: 34 (9)76 761640
FAX: 34 (9)76 761612
jmontoya@posta.unizar.es

Antecedentes

La biogénesis de la mitocondria depende de la expresión coordinada de los dos sistemas genéticos que poseen las células de los mamíferos, el nuclear y el mitocondrial. El DNA mitocondrial codifica 13 polipéptidos que forman parte de los complejos respiratorios de la mitocondria. En 1988 se describieron las primeras mutaciones en el DNA mitocondrial relacionadas con enfermedades humanas. Éstas tienen como característica común afectar a la síntesis de ATP y,

por tanto, al estado energético de la célula.

La genética mitocondrial presenta una serie de caracteres que la diferencian de la mendeliana: herencia materna, segregación replicativa, expresión umbral, y una alta velocidad de mutación.

Actividades

Desde 1991 se ha establecido en nuestro laboratorio un Servicio de Diagnóstico de Enfermedades Genéticas Mitocondriales. En él se realiza el diagnóstico genético de una serie de enfermedades que se han asociado con mutaciones puntuales, deleciones o duplicaciones en el DNA mitocondrial. Entre ellas, por el momento, se analizan las siguientes:

1 Mutaciones puntuales

- Neuropatía óptica hereditaria de Leber (LHON).
- 15 mutaciones distintas localizadas en las posiciones 3394; 3460; 4160; 4216; 4917; 5244; 7444; 9438; 9804; 11778; 13708; 14459; 14484; 15277; 15812.
- Síndrome de MELAS: 3 mutaciones; 3243; 3271; 3291.
- Síndrome de MERRF: 2 mutaciones; 8344; 8356.
- Síndrome de Leigh: 2 mutaciones en la posición 8993.
- Necrosis bilateral del Estriado.-
- Una mutación en la posición 9176, también relacionada con el síndrome de Leigh.
- Síndrome de NARP: Una mutación en la posición 8993.
- Síndrome de Leigh (mutación nuclear). Asimismo, se analiza la presencia de la única mutación en un gen nuclear de proteínas de los complejos respiratorios descrita hasta ahora. Ésta se encuentra en el gen de la succinato deshidrogenasa (complejo II) en el nucleótido 1684.

2 Deleciones

Las posibles deleciones en el DNAm se analizan por la técnica de hibridación Southern, utilizando sondas del DNAm humano:

- Síndrome de CPEO (Oftalmoplejía Progresiva Externa)
- Síndrome de Kearns-Sayre
- Síndrome de Pearson
- Asimismo, diferentes deleciones se han asociado con diversos síndromes (encefalomiopatías mitocondriales, diabetes, etc.) y se estudian sistemáticamente en pacientes con deficiencias en los complejos respiratorios que no presentan las mutaciones puntuales previamente descritas.

Muestras

Las mutaciones se analizan a partir de DNA obtenido de células sanguíneas o de biopsias de tejidos. La sangre debe de recogerse preferiblemente en EDTA y enviarla inmediatamente a nuestro laboratorio. Los tejidos y sangre almacenados

deben conservarse a $-70\pm 4^{\circ}\text{C}$ y enviarla en hielo seco.

Ambito de análisis.

Hasta ahora se reciben muestras de hospitales de todo el ámbito nacional. Hasta la fecha se han analizado más de 450 muestras (Noviembre 1996).

Perspectivas

En un futuro está previsto poner a punto en nuestro laboratorio el análisis de otras mutaciones en el DNAm descritos hasta ahora en cardiomiopatías, diabetes, etc. Informaremos puntualmente de los resultados

Grupo.

Actualmente participan en los análisis: Julio Montoya (Profesor Titular), Ana Playán (Becaria del FIS), Ana Fleta y Mónica Bescós (Tesisandas).

Instituto de Bioquímica Clínica
Servicio de Diagnóstico de Enfermedades Metabólicas Hereditarias



Dra. Pámpols directora IBC Dra. Chabás (Jefe del Departamento) Dra. Coll
Enfermedades lisosomales
Dra. M. Girós. Enfermedades perioxosomales
Dra. Ribes, Dra. Rodés y Dra. Briones. Metabolismo intermediario.
Institut de Bioquímica Clínica. Corporació sanitària Clinic.

- **Enfermedades lisosomales**

Análisis genético	Enfermedad	Muestra
-------------------	------------	---------

		fibroblastos
Análisis indirecto	Hunter (MPS II) portadoras	Sangre total y fibroblastos

-
- **Enfermedades Perioxosomales**

Análisis genético	Enfermedad	Muestra
Mutaciones del gen adrenoleucodistrofia	X-ADL/AMN	Sangre total y fibroblastos

-
- **Trastornos del metabolismo intermediario**

Análisis genético	Enfermedad	Muestra
Mutación G985A del gen de MCAD	Déficit de (MCAD) acil-Coa deshidrogenasa de cadena media	Sangre total, sangre seca
Mutación G1528C del gen de la LCHAD	Déficit de 3-OH-acil-CoA deshidrogenasa de cadena larga	Sangre total, sangre seca
Mutación Q188R del gen de la galactosa 1P uridil transferasa	Galactosemia clásica	Sangre total, sangre seca

- **A dónde se deben enviar las muestras; teléfonos de contacto:**
- Institut de Bioquímica Clínica. Corporació sanitària Clínic
C/Mejia Lequerica s/n Edificio Elios, III planta baja
Barcelona 08028
- Para más información sobre la preparación de muestras y su envío, telf. 93-2277583
No enviar muestras ni viernes ni festivos. En Cataluña son fiesta el 11 de septiembre, el 24 de septiembre, el 26 de diciembre y el lunes de Pascua de Pentecostés (variable).
- Para información específica o consultas profesionales, póngase en contacto con:
- Dra. Pámpols directora IBC
Dra. Chabás (Jefe del departamento), Dra. Coll., Enfermedades lisosomales
Dra. M. Girós. Enfermedades perioxosomales
Dra. Ribes, Dra. Rodés y Dra. Briones. Metabolismo intermediario.
- Teléfonos: (93) 2275600
FAX: (93) 2275668



Dra. M. Baiget
Servicio de Genética
Hospital de la Sta. Creu i St. Pau
Av. Pare Claret 167
Barcelona 08025
Teléfono: 29199361-2919194-2919000/ext2367
Fax: 2919192

Enfermedades Hereditarias

Distrofia muscular de Duchenne

Se estudia el gen de la distrofina, responsable de la distrofia muscular de Duchenne (DMD), localizado en Xp21.

Tipo de herencia: recesivo ligado al cromosoma X

Estudio directo: detección de deleciones específicas del gen de la distrofina en cada familia a través de:

PCR de 25 exones y los promotores cerebral y muscular
PCR de STRs 44, 45, 49 y 50
Southern blot: HindIII + cADN

Estudio indirecto: ligamiento con microsatélites (PCR + ECL) i RFLPs (Southern) de la región Xp21

Tiempo de duración del estudio: 2 meses

Persona a contactar: Pia Gallano

Comentario: Los estudios moleculares permiten realizar diagnóstico de portadoras y diagnóstico prenatal

Distrofia muscular de Becker

Exactamente los mismos estudios que para la DMD, ya que se trata del mismo gen responsable.

En estas dos enfermedades, si no se halla deleción en el gen de la distrofina es necesario hacer un estudio inmunohistoquímico en biopsia muscular del paciente con anticuerpos antidistrofina.

Distrofia de cinturas tipo LGMD2D o alfa-Sarcoglicanopatía**

Antes de realizar el estudio genético es necesario hacer el estudio inmunohistoquímico de la biopsia muscular del paciente con anticuerpos dirigidos contra dos proteínas: adhalina (o alpha-

sarcoglicano**) y gamma-sarcoglicano**. El gen responsable de esta enfermedad está localizado en 17q12-21.

Tipo de herencia: autosómico recesivo

Screening de mutaciones específicas: SSCP y secuenciación de los 10 exones del gen de la adhalina o alpha-sarcoglicano**.

Tiempo de duración del estudio: 3 meses

Persona a contactar: Pia Gallano

Comentario: en las familias en las que se detecta la mutación responsable, se puede realizar diagnóstico de portadores y diagnóstico prenatal.

Distrofia de cinturas tipo LGMD2C o gamma-Sarcoglicanopatía**

Antes de realizar el estudio genético es necesario hacer el estudio inmunohistoquímico de la biopsia muscular del paciente con anticuerpos dirigidos contra el alpha- i gamma -sarcoglicano**. El gen responsable de esta enfermedad está localizado en 13q12.

Tipo de herencia: autosómico recesivo

Estudio directo: detección de la mutación: C283Y y (521-T en el gen (-sarcoglicano en familias afectadas.

Estudio indirecto: detección de ligamiento con el locus 13q12 utilizando microsatélites de la región.

Tiempo de duración del estudio: 2 meses

Persona a contactar: Pia Gallano

Comentario: en la actualidad sólo se puede realizar diagnóstico de portadores y prenatal en las familias con las mutaciones C283Y y 521-TDelta.

Distrofia de cinturas tipo LGMD2A o calpainopatía

Antes de realizar el estudio genético es necesario realizar el estudio inmunohistoquímico con los anticuerpos anti alpha- y anti gamma-sarcoglicano**, a fin de descartar una sarcoglicanopatía** (en la actualidad todavía no existen los anticuerpos anticarpaína).

Se estudia el gen de la calpaína (canp3) responsable de esta enfermedad.

Tipo de herencia: autosómico recesivo

Estudio directo: screening de mutaciones en el gen de la calpaína con

SSCP en los 25 exones y posterior secuenciación.

Estudio indirecto: análisis de ligamiento con el locus 15q15-21 (donde se sitúa el gen de la calpaína).

Tiempo de duración del estudio: 6 meses

Persona a contactar: Pia Gallano

Comentario: en las familias en la que se detecta la mutación responsable, se puede realizar diagnóstico de portadores y diagnóstico prenatal.

Atrofia muscular espinal

Se estudia el gen SMN (SURvival Motor Neuron) determinante de la atrofia muscular espinal infantil localizado en 5q31.

Estudio indirecto: ligamiento de los casos familiares/prenatales utilizando microsatélites.

Screening específico de mutaciones: detección directa de presencia/ausencia de genes SMN y NAIP con SSCP, también por diagnóstico prenatal (presencia en el 90% de los casos). Detección de la delección AGAG en el exón 3 (presencia en aproximadamente el 7%)

Tiempo de duración del estudio: 2 meses

Persona a contactar: Eduardo Tizzano

Comentario: existe un programa de investigación de esta enfermedad.

Distrofia miotónica de Steinert

*Screening de mutaciones específicas:*expansiones CTG utilizando PCR y Southern blot

Tiempo de duración del estudio: 2 meses

Persona a contactar: Loreto Martorell

Tipo de muestra

El ADN que se necesita para los estudios moleculares se puede extraer de muchos tejidos diversos, siendo los más empleados:

Sangre periférica:

El estudio molecular que realizamos en nuestro laboratorio requiere una muestra de 20 ml de sangre periférica en anticoagulante EDTA. Las muestras deben enviarse a temperatura ambiente con un sistema de

transporte urgente porque llegan entre 24 y 48 horas después de la extracción.

Vellosidades coriales

Las vellosidades coriales son la muestra más indicada para realizar un diagnóstico prenatal con las técnicas de la genética molecular, ya que permiten extraer una buena cantidad de ADN fetal. Es imprescindible que la obtención de esta muestra la realice un equipo obstetrico con experiencia.

**Laboratorio de Genética Molecular.
Hospital Sant Joan de Déu**



CATÁLOGO DE ANÁLISIS

A continuación se resumen las patologías que se diagnostican en el Laboratorio de Genética Molecular del Hospital Sant Joan de Déu de Barcelona. Se adjuntan también las instrucciones para mandar las muestras y la hoja de Solicitud de Análisis.

Para todas las patologías se puede realizar también estudio prenatal en biopsia de corion (preferencialmente) o en líquido amniótico.

Ataxia de Friedreich: Análisis de la expansión GAA.

Déficit de 21-Hidroxilasa (Hiperplasia Adrenal Congénita): Estudio de deleciones, grandes conversiones y de las 9 mutaciones puntuales más frecuentes.

Distrofia Miotónica: Análisis de la expansión CTG.

Distrofia Muscular De Duchenne/Becker - Análisis de deleciones

- Estudio familiar o de portadoras

Fibrosis Quística - Estudio de las 31 mutaciones más frecuentes.

- Análisis indirecto por marcadores

- Estudio de portadores (mutación previamente identificada)

Polimorfismo termolábil gen MTHFR (metilene tetrahidrofolato reductasa)

Neuropatía Hereditaria Sensitiva y Motora Tipo 1A o Charcot-Marie-Tooth Tipo 1A:
Análisis de la duplicación 17p11.2

Neurofibromatosis: Análisis de ligamiento para NF1 y NF2 en casos familiares. Requiere el estudio de un número máximo de familiares afectados y sanos de 2 o 3 generaciones.

Síndrome del cromosoma X Frágil - Test de exclusión por PCR - Análisis de la expansión: Se realizará sólo cuando el test de exclusión lo indique.

Síndromes de Prader-Willi Y Angelman -Análisis de metilación.

-Análisis de la mutación: Deleción, disomía uniparental o mutación de imprinting. Requiere muestra de sangre con EDTA de ambos progenitores.

-Análisis del riesgo de recurrencia: cariotipo y FISH del progenitor de riesgo en los casos positivos por deleción o disomía uniparental. Requiere muestra de sangre con heparina del padre en caso de paciente con PWS o de la madre en caso de paciente con AS.

Síndrome de Williams

-Estudio de la deleción en DNA: Requiere muestra de paciente y progenitores.

-Estudio de la deleción por FISH: Requiere sólo muestra del paciente (sangre con heparina)

BANCO DE DNA

PLAZO DE ENTREGA DE RESULTADOS:

Estudios en sangre periférica: Entre 1 y 2 meses, variable en función del volumen de muestras.

Diagnóstico prenatal a partir de biopsia de corion o cultivo de líquido amniótico: Entre 1 y 2 semanas.

Diagnóstico prenatal a partir de líquido amniótico sin cultivar: Entre 3 y 4 semanas.

Enviar las muestras a: Dra. Eugènia Monrós
Secció de Genètica, Hospital Sant Joan de Déu
Av. Sant Joan de Déu 2, 08950 Esplugues (Barcelona)
Tel: 93.253.21.03
E-mail: emonros@hsjdbcn.org

EXTRACCIÓN SANGUÍNEA: En tubos o jeringas con EDTA potásico

-Lactantes: 3 ml

-Niños de 2 a 6 años: 5 ml

-Más de 6 años: 10 ml

ENVÍO DE LAS MUESTRAS: Las muestras (sangre o DNA) se enviarán a temperatura ambiente mediante un servicio de transporte urgente (24-48h) que asegure su llegada al Hospital Sant Joan de Déu por la mañana, en días laborables excepto viernes.

Ante cualquier duda, agradeceremos se pongan en contacto con nosotros.

Atentamente,

Eugènia Monrós
Adjunto Sección Genética

Laboratorio de Inmunogenética. Hospital Clínic. Barcelona.



Médicos Responsables: Dr. J. Yagüe / Dr. Juan I. Aróstegui.
Técnicos: Fina Rius, Susana Plaza.

laboratorio de Inmunogenética.
Servicio de Inmunología (Escalera 5- 5ª planta).
Villarroel, 170.
08036-Barcelona.
Teléfono: 93.227.54.00 Ext 2195
Fax: 93.451.80.38

Polineuropatía Familiar Amiloidótica.

La Polineuropatía Familiar Amiloidótica (PAF), también conocida como enfermedad de Corino-Andrade, es una forma de amiloidosis hereditaria descrita por vez primera en el año 1939 en el norte de Portugal. Desde entonces son múltiples los casos identificados en todo el mundo, sin diferencias geográficas o raciales apreciables. Clínicamente la PAF se presenta habitualmente entre los 40-60 años como una neuropatía periférica, sensitiva, motora y/o autonómica, siendo frecuente la afectación cardíaca, como miocardiopatía.

El gen codificante de la Transtirretina (TTR) es el responsable de este tipo de amiloidosis hereditaria, presentando un patrón de herencia autosómico dominante. Entre todas las mutaciones del gen TTR asociadas a PAF destaca por su elevada frecuencia la Val30Met, si bien es preciso señalar que han sido descritas más de 70 mutaciones en dicho gen asociadas a enfermedad.

El tratamiento de esta enfermedad hereditaria consiste en la actualidad en el trasplante hepático, debido a que este órgano es el encargado de sintetizar la proteína TTR.

Estudio genético: Consiste en el análisis mutacional del gen TTR para detectar cualquier mutación que afecte a este gen. El estudio se realiza mediante amplificación por PCR de todos los exones y posterior secuenciación. Para llevar a cabo dicho estudio se precisa:

- Solicitud de la prueba analítica por parte de un facultativo.

- Consentimiento informado firmado por el paciente (si fuera mayor de edad) o por sus progenitores o tutores legales (si fuera menor de edad). Se proporcionara documento estándar tras ponerse en contacto con el laboratorio.
- Se deberá adjuntar el cuestionario de datos clínicos convenientemente cumplimentado (se proporcionara el modelo estándar por mail).
- Compromiso de pago por parte de la administración del centro solicitante.

Envío de muestras: Se proporcionaran instrucciones detalladas de tipo de muestra, condiciones y dirección de envío tras contactar con el médico responsable.

Tiempo de respuesta: 2 semanas.

Personas a contactar: Dr. Jordi Yagüe / Dr. Juan I. Aróstegui.

Síndrome Crónico Infantil Neurológico Articular (CINCA / NOMID).

El Síndrome Crónico Infantil Neurológico Articular (CINCA), también conocido como Enfermedad Inflamatoria Multisistémica de debut Neonatal (NOMID), es un trastorno autoinflamatorio descrito por vez primera en el año 1981 por los Dres. Prieur y Griscelli. Clínicamente el Síndrome CINCA / NOMID debuta en la edad neonatal como exantema urticariforme, fiebre recurrente, afectación severa del SNC (meningitis crónica aséptica, papiledema bilateral, sordera neurosensorial, atrofia cerebral, grados variables de retraso mental) y afectación articular (artropatía crónica por osificación de las metafisis, especialmente visible en rodillas).

En muchos casos con diagnóstico clínico de Síndrome CINCA / NOMID se han encontrado mutaciones en el gen CIAS1/PYPAF1/NALP3, con un patrón de herencia autosómico dominante. El gen responsable codifica para la proteína criopirina / NALP3, involucrada en la vía de transducción de señales inflamatorias.

Estudio genético: Consiste en el análisis mutacional del gen CIAS1/PYPAF1/NALP3 para detectar cualquier mutación que afecte a este gen. El estudio se realiza mediante amplificación por PCR de todos los exones y posterior secuenciación. Para llevar a cabo dicho estudio se precisa:

- Solicitud de la prueba analítica por parte de un facultativo.
- Consentimiento informado firmado por el paciente (si fuera mayor de edad) o por sus progenitores o tutores legales (si fuera menor de edad). Se proporcionara documento estándar tras ponerse en contacto con el laboratorio.
- Se deberá adjuntar el cuestionario de datos clínicos convenientemente cumplimentado (se proporcionara el modelo estándar por mail).

- Compromiso de pago por parte de la administración del centro solicitante.

Envío de muestras: Se proporcionaran instrucciones detalladas de tipo de muestra, condiciones y dirección de envío tras contactar con el médico responsable.

Tiempo de respuesta: 2 semanas.

Personas a contactar: Dr. Jordi Yagüe / Dr. Juan I. Aróstegui.

Aciduria mevalónica.

La aciduria mevalónica (AM) es una enfermedad metabólica hereditaria de debut infantil, caracterizada por retraso psicomotor, ataxia, retraso en el crecimiento, cataratas, fiebre recurrente y cierto grado de dismorfia.

El patrón de herencia es autosómico recesivo y el gen responsable de la AM codifica para el enzima Mevalonato kinasa (MVK), un enzima clave de la ruta metabólica de síntesis de colesterol e isoprenoides.

Estudio genético: Consiste en el análisis mutacional del gen MVK para detectar cualquier mutación que afecte a este gen. El estudio se realiza mediante amplificación por PCR de todos los exones y posterior secuenciación. Para llevar a cabo dicho estudio se precisa:

- Solicitud de la prueba analítica por parte de un facultativo.
- consentimiento informado firmado por el paciente (si fuera mayor de edad) o por sus progenitores o tutores legales (si fuera menor de edad). Se proporcionara documento estándar tras ponerse en contacto con el laboratorio.
- Se deberá adjuntar el cuestionario de datos clínicos convenientemente cumplimentado (se proporcionara el modelo estándar por mail).
- Compromiso de pago por parte de la administración del centro solicitante.

Envío de muestras: Se proporcionaran instrucciones detalladas de tipo de muestra, condiciones y dirección de envío tras contactar con el médico responsable.

Tiempo de respuesta: 2 semanas.

Personas a contactar: Dr. Jordi Yagüe / Dr. Juan I. Aróstegui.
