

<sup>1</sup>Departamento de Neurología,  
Clínica Las Condes. Santiago,  
Chile.

<sup>2</sup>Programa de Genética Humana,  
Instituto de Ciencias Biomédicas,  
Facultad de Medicina Universidad  
de Chile. Santiago, Chile.

<sup>3</sup>Departamento de Psiquiatría y  
Salud Mental Norte, Facultad de  
Medicina Universidad de Chile.  
Santiago, Chile.

Recibido el 18 de abril de 2017,  
aceptado el 5 de julio de 2017.

Correspondencia a:  
Dr. Marcelo Miranda  
Lo Fontecilla 441  
Las Condes  
Santiago, Chile.  
marcelo.miranda@clc.cl

## Expansión anormal de hexanucleótido en gen C9orf72 en una familia con demencia frontotemporal y cuadros asociados.

MARCELO MIRANDA C.<sup>1</sup>, M. LEONOR BUSTAMANTE C.<sup>2,3</sup>,  
LUISA HERRERA C.<sup>2</sup>

### Abnormal expansion of C9orf72 gene in familial frontotemporal dementia

*Frontotemporal Dementia (FTD) and Motor Neuron Disease (MND) may share similar pathogenic mechanisms. An abnormal hexanucleotide expansion in C9orf72 gene is the most common genetic abnormality of these conditions and explains their concurrence in the same family. We report a 77-year-old female presenting with non-fluent aphasia leading to mutism and a mild Parkinsonism. A magnetic resonance imaging showed a severe atrophy of frontal and temporal lobes. Several family members of the patient suffered of atypical Parkinsonism, lateral amyotrophic sclerosis and dementia. We identified an abnormal hexanucleotide expansion in the C9orf72 gene in the proband. To the extent of our knowledge, this is the first time that this diagnosis is confirmed in our country. The knowledge of the genetic basis of neurodegenerative disorders improves diagnosis and opens expectatives for future treatments of these disabling conditions.*

(Rev Med Chile 2017; 145: 896-900)

**Key words:** Frontotemporal Dementia; Motor Neuron Disease; Parkinsonian Disorders.

La demencia frontotemporal (DFT) es la segunda causa de demencia en menores de 65 años y la cuarta causa en mayores de esa edad. En la mitad de los casos presenta una herencia de tipo autosómico dominante y el resto es esporádica<sup>1</sup>.

Las formas más frecuentes de expresión clínica son: a) Variante conductual, en que predominan manifestaciones como apatía o desinhibición, cambios en hábitos alimentarios, ocasionalmente cuadros psicóticos; b) Afasia progresiva no fluente: alteración en la fluencia del lenguaje con fallas en nominación y que puede llevar al mutismo; y c) Demencia semántica, con pérdida del conocimiento conceptual o memoria semántica, causando anomia y alteración en la comprensión

de palabras y reconocimiento de caras y objetos. El habla es fluida, carente de contenido, con sustituciones de palabras específicas por términos más generales (ej. esa cosa, eso). La nominación está alterada, con errores semánticos (ej. flor por clavel)<sup>2</sup>.

Si bien la enfermedad de motoneurona (esclerosis lateral amiotrófica [ELA]) y DFT son claramente entidades clínicas distintas y con expresión patológica en distintas áreas del sistema nervioso central, ha llamado la atención en las dos últimas décadas la frecuente sobreposición de ELA con casos de DFT en un mismo paciente o en diversos miembros de una familia<sup>2-4</sup>. Lo mismo sucede con la presencia de parkinsonismo, que puede coexistir con ambas entidades.

Desde 1998 vienen identificándose diversos genes relacionados con estos fenotipos. Entre ellos figuran los genes codificantes para la proteína tau asociada a microtúbulos (MAPT), y progranulina (PRG)<sup>1</sup>. Estas proteínas son importantes en el citoesqueleto neuronal y en el transporte celular. Dos grupos distintos de investigadores describieron en el año 2011 la presencia de una expansión anormal del hexanucleótido GGGGCC en primer intrón del gen C9orf72 en familias afectadas por DFT y ELA<sup>3,4</sup>. En la actualidad se ha establecido que es la mutación más frecuente encontrada, tanto en ELA, como DFT esporádicas y familiares<sup>1</sup>.

El presente reporte tiene como objetivo describir a una familia chilena afectada de DFT-ELA-parkinsonismo en la cual se confirmó la presencia de la mutación, de interés en el caso índice. Nos parece relevante la discusión de este caso para enfatizar la importancia de sospechar esta mutación en pacientes con DFT y, especialmente, en quienes coexistan antecedentes familiares de estos distintos fenotipos. También nos pareció oportuno revisar brevemente los mecanismos de daño neuronal asociados a esta mutación, que son un ejemplo de lo que se conoce como “toxicidad por ARN”. En una época en la que cada vez existe un mayor acceso a las tecnologías de diagnóstico genético, el conocimiento sobre las bases moleculares de las diferentes enfermedades y las mejores estrategias diagnósticas es crítico para los especialistas.

### Estudio familiar de caso clínico

El caso índice es una paciente de 77 años, profesora, con cuadro de 9 años de evolución caracterizado por apatía, progresivo deterioro en lenguaje hablado con menor fluencia, dificultad para encontrar el nombre de objetos comunes, circunloquios. En el año 2013 tuvo una evaluación neuropsicológica que mostró fallas atencionales, menor rendimiento global, pero memoria episódica conservada, con fallas en memoria semántica y en pruebas frontales. Se demostró un marcado deterioro en fluencia de lenguaje y parafasias. La evaluación neuropsicológica concluyó la presencia de una afasia primaria no fluente. Para la familia era evidente una apatía en las actividades diarias. En el examen neurológico se observaron

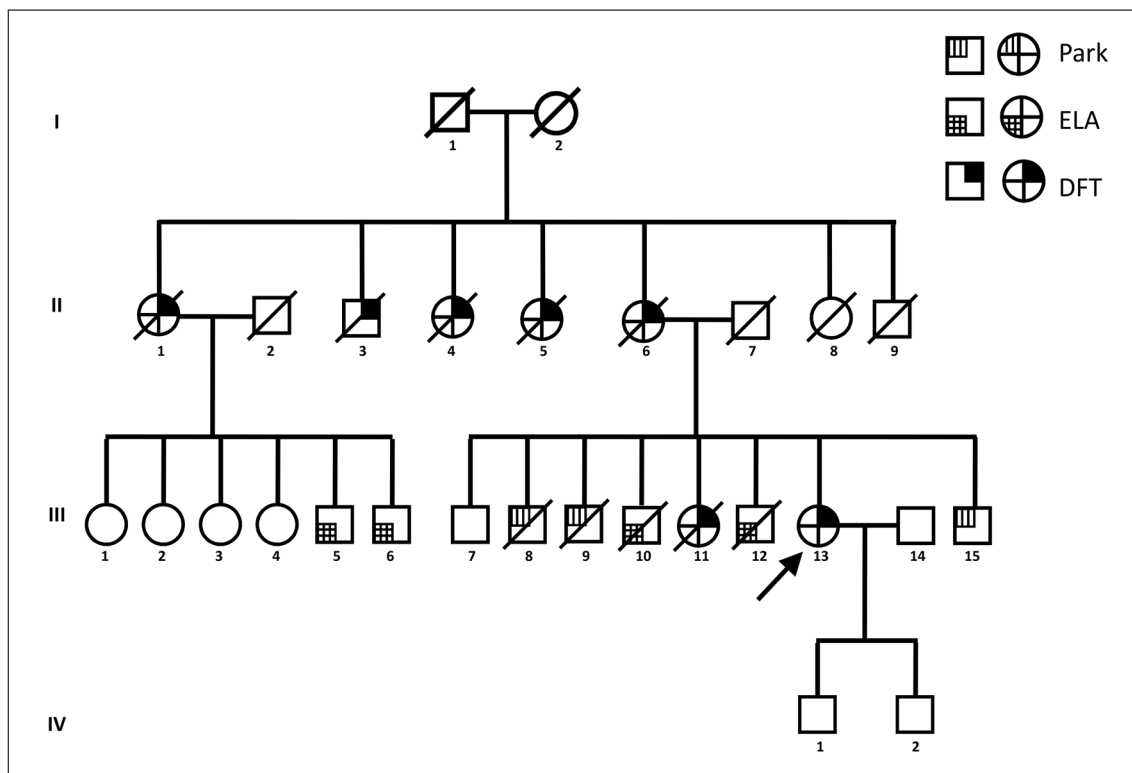
leves signos parkinsonianos como hipomimia y menor braceo al caminar, sin temblor de reposo ni rigidez, por lo que no se indicó levodopa. En suma, lo predominante en la paciente fue la afasia primaria no fluente. En la electromiografía no se evidenciaron elementos de enfermedad de motoneurona. Durante el año 2017 presentó franco mutismo, con dependencia en actividades de vida diaria, aunque lograba caminar y alimentarse por sí misma.

Su historia familiar está marcada por la presencia de varios familiares afectados por parkinsonismo atípico (pobre respuesta a levodopa, rápida progresión, marcada y precoz inestabilidad), ELA y demencia, incluyendo hermanos, su madre y tíos maternos (ver genealogía donde se especifica diagnóstico de los otros familiares afectados en Figura 1). Estas personas fueron diagnosticadas por otros médicos especialistas reconocidos y con los test apropiados (electromiografía y cuantificación del transportador de dopamina en SPECT, por ejemplo) pero no se profundizó en un diagnóstico común para la familia. No se realizó estudio neuropatológico en ningún caso. La información clínica de los otros miembros afectados fue proporcionada por la familia, ya que la mayoría de los afectados estaban fallecidos al momento de evaluar por vez primera a la paciente, y no se tuvo acceso a examinar directamente a los familiares afectados aún vivos.

La resonancia magnética nuclear de cerebro mostró una severa atrofia de lóbulos frontales y temporales.

Los exámenes de pruebas tiroideas, niveles de vitamina B12 y folatos estaban normales.

Previo consentimiento informado escrito y aprobación por el Comité de Ética local, se solicitó la determinación de la expansión en gen C9orf72. El estudio fue realizado en el Departamento de Genética Médica de la Universidad de Bochum, Alemania. Se extrajo ADN a partir de sangre periférica y se efectuó una técnica conocida como “*repeat-primed PCR*”, que es una técnica ampliamente validada para el diagnóstico de expansiones de repeticiones de nucleótidos. Es de especial utilidad en este caso, dado el tipo de secuencia repetida, rica en los nucleótidos G y C. El número normal de repeticiones es 30 o menos. En esta paciente, la electroforesis de los fragmentos obtenidos por PCR a partir de uno de los alelos mostró un patrón típico en “dientes de sierra”. Este patrón es carac-



**Figura 1.** Genealogía de la familia afectada, el caso índice aparece individualizado con una flecha. DFT: demencia frontotemporal, ELA: esclerosis lateral amiotrófica, PK: parkinsonismo.

terístico de un alelo con al menos 60 repeticiones, si bien la técnica no permite establecer el número con precisión<sup>5</sup>.

**Discusión**

**Genética de DFT y ELA. Mecanismos de daño por expansión de hexanucleótidos**

Los avances en genética en últimas décadas están permitiendo entender los mecanismos moleculares involucrados en la fisiopatología de diversas enfermedades neurodegenerativas. En DFT y en ELA se identificó en el año 2011 la mutación por expansión de un hexanucleótido en el gen C9orf72<sup>3,4</sup>. Esto se realizó en dos familias, que presentaban una historia familiar con casos de estas dos patologías. A partir de entonces, se ha encontrado cada vez con mayor frecuencia como causante de estas enfermedades.

No están completamente aclarados los meca-

nismos por los cuales la expansión de un hexanucleótido en una región no codificante (intrón) del gen C9orf72 lleva a disfunción neuronal. Entre los mecanismos propuestos donde existe más evidencia figura la ganancia de función tóxica, ya sea por moléculas de ARNs como de proteínas<sup>6,7</sup>. La toxicidad por ARNs se podría explicar por la transcripción de las dos hebras de la repetición G4C2 y G2C4 (hebras sentido y antisentido), a diferencia de la condición normal en que sólo se transcribe la hebra molde (antisentido). Esto determina la formación de focos de ARN sentido y antisentido en todo el sistema nervioso central<sup>6,7</sup>. La toxicidad por proteínas se podría explicar por traducción no convencional en distintos marcos de lectura de los mismos ARNs producidos por transcripción de las dos hebras de la repetición G4C2 y G2C4, lo que lleva a formación de inclusiones de dipéptidos<sup>7</sup>. La acumulación de ARN tóxico y la formación de dipéptidos inducirían disfunción del transporte núcleo-citoplasmático y estrés celular<sup>6,7</sup>. Final-

mente. también se ha reportado la acumulación de otra proteína TDP-43 (acrónimo en inglés de *Transactive Response DNA Binding Protein* 43 kDa, TDP43) que es el sello patológico de ELA y de gran parte de los casos de DFT<sup>1</sup>.

### *Diagnóstico genético en DFT y ELA*

Determinar la causa última que explica una condición hereditaria como esta es importante para la toma de decisiones concernientes al paciente y familia, incluyendo portadores asintomáticos interesados en conocer su propia información<sup>8</sup>. Más aun, en esta y otras enfermedades por expansión de repeticiones, se han empezado a usar oligonucleótidos antisentido que silencian la expresión del alelo con la secuencia expandida anormalmente, lo que abre una esperanza de tratamiento específico para esta devastadora enfermedad<sup>9</sup>.

En la actualidad, las estrategias para el diagnóstico genético en las enfermedades neurodegenerativas han tenido un crecimiento explosivo, especialmente gracias a la reducción en los costos de las técnicas de secuenciación a escala genómica<sup>10</sup>. Es posible que la secuenciación del genoma o del exoma (la porción del genoma que codifica para proteínas) se conviertan en el corto plazo en el *gold standard* del diagnóstico molecular. Esto porque a un costo relativamente similar a los actualmente usados en paneles de secuenciación, se puede obtener información genética más abundante por varios órdenes de magnitud, y así encontrar mutaciones causales, incluso con solo un caso afectado. Sin embargo, estas estrategias no están exentas de limitaciones, y una de ellas es la baja sensibilidad para el diagnóstico de las expansiones de nucleótidos. En estos casos, la estrategia más costo efectiva es hacer una búsqueda dirigida de mutaciones.

El presente caso ejemplifica lo crítico que es la adecuada selección de los candidatos para que las técnicas de diagnóstico molecular tengan un rendimiento óptimo. En este caso se pudo efectuar el diagnóstico con un solo examen, optimizando los recursos económicos y el tiempo destinado al estudio. Una de las claves para la elección del examen fueron los datos extranjeros sobre la frecuencia de la mutación. En la actualidad se reconoce que esta expansión de hexanucleótidos puede explicar entre 20 y 80% de los casos, dependiendo de la población de origen. Así, la

mayor frecuencia está en poblaciones europeas, especialmente Finlandia, y la menor en Asia, especialmente en India<sup>11,12</sup>. En nuestra población chilena, no se ha estudiado la frecuencia de esta mutación en los casos (familiares o esporádicos) de ELA y DFT, así como tampoco del haplotipo de riesgo. Ese es un importante desafío para establecer nuestros protocolos locales de diagnóstico molecular.

En esta presentación destacamos por primera vez en nuestro país el diagnóstico de una mutación recientemente descrita en una paciente con DFT familiar. El caso descrito se caracteriza por una historia familiar con varios casos de enfermedades relacionadas, a saber demencia, Parkinson y enfermedad de motoneurona, lo que llevó a confusión diagnóstica, hasta que se accedió al diagnóstico molecular.

El diagnóstico genético en las enfermedades neurodegenerativas ofrece la posibilidad de mejorar el manejo integral de nuestros pacientes chilenos. Actualmente, las posibilidades de acceso a tecnologías de diagnóstico molecular para nuestros especialistas chilenos están creciendo<sup>13</sup>, por lo que el conocimiento sobre las bases genéticas de estas enfermedades debe ser una prioridad para nuestros especialistas

**Agradecimientos:** agradecemos la evaluación inicial del caso índice realizada por Dras. Patricia Lillo y Andrea Slachevsky.

### Referencias

1. Burrell JR, Halliday GM, Kril JJ, Ittner LM, Götz J, Kiernan MC, et al. The frontotemporal dementia-motor neuron disease continuum. *Lancet* 2016; 388: 919-31.
2. Lillo P, Matamala JM, Valenzuela D, Verdugo R, Castillo JL, Ibáñez A, et al. [Overlapping features of frontotemporal dementia and amyotrophic lateral sclerosis]. *Rev Med Chile [Internet]* 2014; 142 (7): 867-79.
3. DeJesus-Hernández M, Mackenzie IR, Boeve BF, Boxer AL, Baker M, Rutherford NJ, et al. Expanded GGG-GCC Hexanucleotide Repeat in Noncoding Region of C9ORF72 Causes Chromosome 9p-Linked FTD and ALS. *Neuron* 2011; 72 (2): 245-56.
4. Renton AE, Majounie E, Waite A, Simón-Sánchez J, Rollinson S, Gibbs JR, et al. A hexanucleotide repeat expansion in C9ORF72 is the cause of chromosome 9p21-linked ALS-FTD. *Neuron* 2011; 72 (2): 257-68.

5. Cleary EM, Pal S, Azam T, Moore DJ, Swingler R, Gorrie G, et al. Improved PCR based methods for detecting C9orf72 hexanucleotide repeat expansions. *Mol Cell Probes* 2016; 30 (4): 218-24.
6. Boeynaems S, Bogaert E, Van Damme P, Van Den Bosch L. Inside out: the role of nucleocytoplasmic transport in ALS and FTL D. *Acta Neuropathol [Internet]* 2016; 132 (2): 159-73.
7. Haeusler AR, Donnelly CJ, Rothstein JD. The expanding biology of the C9orf72 nucleotide repeat expansion in neurodegenerative disease. *Nat Rev Neurosci [Internet]*. 2016; 17 (6): 383-95.
8. Goldman JS. Genetic Testing and Counseling in the Diagnosis and Management of Young-Onset Dementias. *Psychiatr Clin North Am* 2015; 38 (2): 295-308.
9. Jiang J, Zhu Q, Gendron TF, Saberi S, McAlonis-Downes M, Seelman A, et al. Gain of Toxicity from ALS/FTD-Linked Repeat Expansions in C9ORF72 Is Alleviated by Antisense Oligonucleotides Targeting GGGGCC-Containing RNAs. *Neuron* 2016; 90 (3): 535-50.
10. Fogel BL, Satya-Murti S, Cohen BH. Clinical exome sequencing in neurologic disease. *Neurol Clin Pract* 2016; 6 (2): 164-76.
11. Ishiura H, Tsuji S. Epidemiology and molecular mechanism of frontotemporal lobar degeneration/amyotrophic lateral sclerosis with repeat expansion mutation in C9orf72. *J Neurogenet [Internet]* 2015; 29 (2-3): 85-94.
12. Majounie E, Renton AE, Mok K, Dopper EGP, Waite A, Rollinson S, et al. Frequency of the C9orf72 hexanucleotide repeat expansion in patients with amyotrophic lateral sclerosis and frontotemporal dementia: A cross-sectional study. *Lancet Neurol* 2012; 11 (4): 323-30.
13. Miranda M, Bustamante M. Commentary to medical genetics and genomic medicine in Chile: Chilean experience on molecular diagnosis for neurodegenerative disorders. *Mol Genet Genomic Med* 2017; 5 (4): 305-6.