

# **Espectro clínico y genético de las ataxias cerebelosas hereditarias en la Comunidad Valenciana**



**V**NIVERSITAT  
**D**E VALÈNCIA

Departamento de Medicina

Facultad de Medicina

Programa de doctorado 3139 Medicina

Julio 2023

**Doctoranda:** Raquel Baviera Muñoz

**Director:** Luis Bataller Alberola



INFORME DIRECTORES/AS Y TUTOR/A PARA DEPÓSITO DE TESIS

**Director (es) / Codirector (es):**

1.- Apellidos y nombre: LUIS BATALLER ALBEROLA N.I.F. 22565127B, Departamento/Instituto: MEDICINA  
Centro: FACULTAD DE MEDICINA Y ODONTOLOGIA

Directores/as y tutor/a, respectivamente, de la tesis doctoral: "ESPECTRO CLÍNICO Y GENÉTICO DE LAS  
ATAXIAS CEREBELOSAS HEREDITARIAS EN LA COMUNIDAD VALENCIANA"

de D/Dña. RAQUEL BAVIERA MUÑOZ,

estudiante del Programa de Doctorado **3139 Medicina** (RD99/2011) en Medicina de la Universitat de València, emiten informe FAVORABLE para la realización del depósito y la defensa de la tesis doctoral.

Fecha: 27 de julio de 2023

LUIS|  
BATALLER|  
ALBEROLA|  
  
Firmado  
digitalmente por  
LUIS|BATALLER|  
ALBEROLA  
Fecha: 2023.07.27  
08:41:59 +02'00'

Fdo.: Luis Bataller Alberola  
Director de tesis

ESCUELA DOCTORAL  
UNIVERSITAT DE VALÈNCIA



## **Agradecimientos**

A Luis, que ha sido un guía excepcional en la elaboración de esta tesis doctoral.

Gracias por su disponibilidad y consejo para resolver todas mis inquietudes clínicas y académicas.

A Teresa Sevilla, que durante la residencia me animó a hacer la tesis y al acabar me permitió incorporarme al Grupo de Patología Neuromuscular y Ataxias con una beca post-MIR. Gracias también a la Unidad de Trastornos del Movimiento. Soy muy afortunada de formar parte de este pequeño-gran equipo. Gracias especialmente a Irene, que nos contagia su pasión por los trastornos del movimiento y siempre nos anima a crecer profesionalmente para que de ello se beneficien los pacientes.

A la Unidad de Genética de La Fe: Lidón, Elena, Teresa y Chema y a Carmina Espinós del CIPF. Sin duda, este trabajo no hubiese sido posible sin su inestimable ayuda. Su motivación constante ha sido y es fundamental para resolver el diagnóstico de más pacientes.

Gracias a mis padres, que desde pequeña me han proporcionado la mejor formación personal y académica que han podido. Me han transmitido el valor del esfuerzo, la constancia y la importancia de ser honesta en todos los ámbitos de mi vida. Todos mis logros personales y profesionales son también tuyos.

A Álvaro, por ser alegría y refugio en mi día a día, y a Pedro que acaba de llegar y nos hace inmensamente felices.



## **Financiación**

La presente tesis doctoral se ha podido desarrollar gracias a la financiación obtenida en la XX convocatoria de contratos de investigación para post-residentes del Instituto de Investigación Sanitaria La Fe y el contrato Rio Hortega (Ref. CM22/00099) financiado por el Instituto de Salud Carlos III.



## **ÍNDICE**

---

## ÍNDICE

---

<b>1. Glosario de abreviaturas.....</b>	15
<b>2. Enumeración de artículos que integran la tesis doctoral.....</b>	19
<b>3. Resumen .....</b>	27
<b>4. Introducción .....</b>	31
<b>3.1 <i>El cerebelo</i> .....</b>	33
3.1.1 Organización anatómica	
3.1.2 Organización funcional	
<b>3.2 <i>El síndrome cerebeloso</i> .....</b>	38
3.2.1 Manifestaciones motoras	
3.2.2 Manifestaciones no motoras	
3.2.3 Escalas para la evaluación clínica de los pacientes con ataxia	
3.2.4 Diagnóstico diferencial en ataxia cerebelosa	
<b>3.3 <i>Ataxias cerebelosas hereditarias</i> .....</b>	46
3.3.1 Clasificación. Recuerdo histórico.	
3.3.2 Epidemiología	
3.3.3 Estudios diagnósticos en ataxias	
A. Estudios bioquímicos y metabólicos	
B. Neuroimagen	
C. Estudios genéticos	
3.3.4 Tratamiento	
<b>5. Hipótesis .....</b>	65
<b>6. Objetivos .....</b>	69
<b>7. Material y métodos .....</b>	73

<b>8. Resultados.....</b>	83
7.1 Trabajo 1: Diagnostic efficacy of genetic studies in a series of hereditary cerebellar ataxias in Eastern Spain.....	89
7.2 Trabajo 2: Clinical and genetic characteristics of 21 Spanish patients with biallelic pathogenic <i>SPG7</i> mutations.....	107
7.3 Trabajo 3: Hereditary Spastic Paraplegia 7 presenting as multifocal dystonia with prominent crano-cervical involvement.....	117
7.4 Trabajo 4: Spinocerebellar ataxia 36 is a frequent cause of hereditary ataxia in Eastern Spain.....	123
<b>9. Discusión.....</b>	135
<b>10. Conclusiones .....</b>	147
<b>11. Bibliografía .....</b>	151
<b>12. Apéndice .....</b>	175



## **ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS**

---

### **FIGURAS**

<b>Figura 1:</b> A: Visión ventral del cerebelo. B: Corte sagital del cerebelo.....	34
<b>Figura 2.</b> A: Esquema de la organización histológica de la corteza cerebelosa. B: Esquema de las conexiones celulares en corteza cerebelosa.....	35
<b>Figura 3.</b> Aferencias y eferencias de las 3 divisiones funcionales cerebelosas.....	38
<b>Figura 4.</b> Diferencias entre NGS 2 <sup>a</sup> generación y NGS 3 <sup>a</sup> generación o secuenciación de lectura larga.....	58
<b>Figura 5.</b> Clasificación de criterios según evidencia de patogenicidad.....	59
<b>Figura 6.</b> Estrategia diagnóstica en pacientes con ataxia cerebelosa hereditaria en el Hospital Universitari i Politècnic La Fe .....	81

### **TABLAS**

<b>Tabla 1.</b> Correspondencia de divisiones anatómicas, filogenéticas, funcionales.....	37
<b>Tabla 2.</b> Etiología de las ataxias adquiridas.....	45
<b>Tabla 3.</b> Clasificación de las ataxias hereditarias de A. Harding.....	48
<b>Tabla 4.</b> Estudios bioquímicos y metabólicos en ataxias hereditarias.....	54
<b>Tabla 5.</b> Hallazgos característicos de RM cerebral en ataxia hereditaria.....	55
<b>Tabla 6.</b> Resumen del rendimiento diagnóstico de los estudios realizados con técnicas de secuenciación genética masiva.....	61
<b>Tabla 7.</b> Estudios complementarios en ataxias adquiridas.....	75
<b>Tabla 8.</b> Frecuencia global de las distintas formas de ataxia hereditaria identificadas en nuestra población.....	87



## **GLOSARIO DE ABREVIATURAS**

---



## **1. GLOSARIO DE ABREVIATURAS**

---

ACMG: Asociación Americana de Genética Médica (*American College of Medical Genetics*)

AD: autosómico dominante

ADN: ácido desoxirribonucleico

AE: ataxia episódica

AR: autosómico recesivo

ARCA: Autosomal Recessive Cerebellar Ataxia

AFP: alfa-fetoproteína

AMS: Atrofia Multisistema

AMS-C: Atrofia Multisistema de tipo cerebeloso

BARS: Brief Ataxia Rating Scale

CANVAS: Síndrome de ataxia cerebelosa con neuropatía y arreflexia vestibular (*Cerebellar Ataxia with Neuropathy and bilateral vestibular areflexia syndrome*).

CES: Exoma clínico (*Clinical exome sequencing*)

CCFS: Composite Cerebellar Functional Severity Score

CNVs: Variaciones en el número de copias (*Copy Number Variants*)

DE: Desviación estándar

DRPLA: Atrofia dento-rubro-palido-luisiana

EMG: electromiografía

FRDA: Ataxia de Friedreich

FXTAS: Síndrome de temblor y ataxia asociado al cromosoma X-frágil (*Fragile X-associated tremor/ataxia syndrome*).

HF: Historia familiar

ICARS: The International Cooperative Ataxia Rating Scale

ILOCA: Ataxia cerebelosa de inicio tardío (*Idiopathic Late-Onset Cerebellar Ataxia*)

INAS: Inventory of Non-Ataxia Signs

MDS: International Parkinson and Movement Disorders Society

mFARS: The modified Friedrich Ataxia Rating Scale

MLPA: Multiple Ligation-dependent probe amplification analysis

NGS: Secuenciación genética de nueva generación (*Next Generation Sequencing*)

PCR: Reacción en cadena de la polimerasa (*Polymerase Chain Reaction*)

PET: tomografía de emisión de positrones (*Positron Emission Tomography*)

RP-PCR: Repeat-Primed PCR

RM: Resonancia Magnética

SARA: Scale for the Assessment and Rating of Ataxia

SBR: Striatum to background ratios

SCA: Ataxia espinocerebelosa

SCAFI: Spinocerebellar ataxia Functional Index

SCAR: Ataxia espinocerebelosa recesiva

SPECT: Tomografía computarizada por emisión de positrones (*Single-photon emission computed tomography*)

UMSARS: Unified Multiple System Atrophy Rating Scale

TCSREM: Trastorno de conducta de sueño REM

VLCFA: Ácidos grasos de cadena muy larga (*Very long chain fatty acids*)

VOUS: variante de significado clínico incierto (*Variant of unknown significance*).

WES: Secuenciación de exoma completo (*Whole Exome Sequencing*)

WGS: Secuenciación de genoma completo (*Whole Genome Sequencing*)

XLD: dominante ligado a X

XLR: recesivo ligado a X

9HPT: 9-Hole Peg Test

## **ENUMERACIÓN DE ARTÍCULOS**

---



## **2. ENUMERACIÓN DE ARTÍCULOS**

---

Esta tesis doctoral se estructura en compendio de artículos. Los artículos que desarrollan la tesis doctoral están publicados en revistas indexadas y son los siguientes:

- 1. *Diagnostic efficacy of genetic studies in a series of hereditary cerebellar ataxias in Eastern Spain.*** Baviera-Muñoz R, Carretero-Vilarroig L, Vázquez-Costa JF, Morata C, Campins-Romeu M, Muelas N, Sastre-Bataller I, Martínez-Torres I, Pérez-García J, Sivera R, Sevilla T, Vilchez JJ, Jaijo T, Espinós C, Millán JM, Bataller L, Aller E. Neurol Genet Dec 2022, 8(6) e200038; doi: 10.1212/NXG.0000000000200038  
Neurology Genetics. Factor de impacto: 3.663, Q2
  
- 2. *Clinical and genetic characteristics of 21 Spanish patients with biallelic pathogenic SPG7 mutations.*** Baviera-Muñoz R, Campins-Romeu M, Carretero-Vilarroig L, Sastre-Bataller I, Martinez-Torres I, Vázquez-Costa JF, Muelas N, Sevilla T, Vilchez JJ, Aller E, Jaijo T, Bataller L, Espinós C. J Neurol Sci 2021; 15;429:118062. doi: 10.1016/j.jns.2021.118062.  
Journal of the Neurological Sciences. Factor de impacto: 4.553, Q2
  
- 3. *Hereditary Spastic Paraparesia 7 presenting as multifocal dystonia with prominent crano-cervical involvement.*** Campins-Romeu M, Baviera-Muñoz R, Sastre-Bataller I, Bataller L, Jaijo T, Martinez-Torres I. Mov Disord Clin Pract. 2021; 8(6);966-968, doi: 10.1002/mdc3.13257.  
Movement Disorders Clinical Practice. Factor de impacto: 4.514, Q2

**4. Spinocerebellar ataxia 36 is a frequent cause of hereditary ataxia in Eastern Spain.** Baviera-Muñoz R, Carretero-Vilarroig L, Muelas N, Sivera R, Sopena-Novales P, Martínez-Sanchis B, Sastre-Bataller I, Campins-Romeu M, Martínez-Torres I, García-Verdugo JM, Millán JM, Jaijo T, Aller E, Bataller L. Mov Disord Clin Pract. 2023; 10(6):992-997, doi: 10.1002/mdc3.13740.

Movement Disorders Clinical Practice. Factor de impacto: 4.514, Q2

**Publicaciones en el período pre-doctoral, que no forman parte de la tesis doctoral:**

- 1. A 3.9-Mb Deletion on 2p11.2 Comprising the REEP1 Gene Causes Early-Onset Atypical Parkinsonism.** Baviera-Muñoz R, Martínez-Rubio MD, Sastre-Bataller I, Campins-Romeu M, Losada-López M, Pérez-García J, Novella-Maestre E, Martinez-Torres I, Espinós C. Neurol Genet 2021;7:e642, doi: 10.1212/NXG.0000000000000642
- 2. Mutations, genes, and phenotypes related to movement disorders and ataxias.** Martínez-Rubio D, Hinarejos I, Sancho P, Gorría-Redondo N, Bernadó-Fonz R, Tello C, Marco-Marín C, Martí I, Martínez-Gonzalez MJ, Garcia-Ribes A, Baviera-Muñoz R, Sastre-Bataller I, Martínez-Torres I, Duat-Rodríguez A, Janeiro P, Moreno E, Pías-Peleteiro L, O'Callaghan Gordo M, Ruíz-Gómez A, Muñoz-García JE, Martí MJ, Sánchez-Monteagudo A, Fuster C, Andres-Borderia A, Maria Pons R, Jesús-Maestre S, Mir P, Lupo V, Pérez-Dueñas B, Darling A, Aguilera-Albesa S, Espinós C. International Journal of Molecular Sciences 23(19):11847; doi: 10.3390/ijms231911847
- 3. Refractory status epilepticus due to vitamin B6 deficit in a Parkinson's disease patient in treatment with levodopa/carbidopa intestinal gel.**

Baviera-Muñoz R, Buigues-Lafuente A, Campins-Romeu M, Garcés-Sánchez M, Martínez-Torres I. Neurología (Engl Ed). 2022; 37(7):608-609, doi: 10.1016/j.nrleng.2021.10.002.

**4. Adverse effects and complications of continuous intestinal infusion of levodopa-carbidopa in a cohort of patients with Parkinson's disease in a tertiary hospital.** Campins-Romeu M, Sastre-Bataller I, Pons-Beltrán V, Baviera-Muñoz R, Losada-López M, Morata-Martínez C, Pérez-García J, Martínez-Torres I. Rev Neurol. 2022; 74(5):143-148, doi: 10.33588/rn.7405.2021482.

**5. Síndromes atáxicos. Ataxias heredodegenerativas.** Baviera-Muñoz R, Tarruella-Hernández D, Bataller L. Medicine – Programa de Formación Médica Continuada Acreditado. 2023; 76(13): 4516-4524, doi: 10.1016/j.med.2023.03.022

**6. Combined subthalamic nucleus and globus pallidus internus deep brain stimulation in Parkinson's disease.** Campins-Romeu M, Sastre-Bataller I, Conde-Sardón R, Baviera-Muñoz R, Morata-Martínez C, Freire-Álvarez E, Gutiérrez-Martin A, Martínez-Torres I. Rev Neurol. 2023 Aug 1;77(3):83-86, doi: 10.33588/rn.7703.2022250.

#### Presentaciones a congresos durante el período pre-doctoral:

**1. Caracterización clínica y genética de una serie de pacientes con ataxia episódica.** Baviera Muñoz R, Carretero Vilarroig L, Cabello Murgui FJ, Saro Buendía M, Pérez Guillén V, Andrés Bordería A, Martín E, Campins Romeu M, Jaijo T, Aller E, Espinós C, Bataller L. LXXIII Reunión Anual de la Sociedad Española de Neurología. Virtual. 2021.

- 2. Talamotomía por ultrasonidos de alta intensidad aplicada al temblor esencial. Resultados a 6 meses.** Campins-Romeu M, Sastre-Bataller I, Conde-Sardón R, Morata-Martínez C, Baviera-Muñoz R, Pérez-García J, Gutiérrez-Martín A, Martínez-Torres I. LXXIV Reunión Anual de la Sociedad Española de Neurología, 15-19 Noviembre de 2022.
- 3. Mutations, genes and phenotypes related to movement disorders: a never-ending list.** Martínez-Rubio MD, Sancho P, Hinarejos I, Martí I, Jesús-Maestre S, Baviera R, Sastre I, Martínez I, Correa-Vela M, Tello C, Andrés-Bordería A, Sánchez-Monteagudo A, Darling A, Duat A, Janeiro P, Moreno E, Martínez-González MJ, Ruiz A, Lupo V, Mir P, Pérez-Dueñas B, Aguilera S, Espinós C. European Human Genetics Virtual Conference 2021, August 28-31.
- 4. Mutaciones, genes y fenotipos relacionados con los trastornos del movimiento: una lista interminable.** Martínez-Rubio MD, Sancho P, Hinarejos I, Martí I, Jesús-Maestre S, Baviera R, Sastre I, Martínez I, Correa-Vela M, Tello C, Andrés-Bordería A, Sánchez-Monteagudo A, Darling A, Ruiz A, Lupo V, Mir P, Pérez-Dueñas B, Aguilera S, Espinós C. III Congreso Interdisciplinar en Genética Humana. Valencia, 3-5 Noviembre 2021.
- 5. Cribado de la ataxia espinocerebelosa tipo 36 (SCA36) en la Comunidad Valenciana.** Aller E, Carretero-Vilarroig L, Baviera-Muñoz R, Bustos I, Martínez-Rubio MD, Jaijo T, Espinós C, Bataller L. III Congreso Interdisciplinar en Genética Humana. Valencia, 3-5 Noviembre 2021.
- 6. Identificación SCA19 en una cohorte de pacientes con ataxia.** Carretero-Vilarroig L, Baviera-Muñoz R, Aller E, Jaijo T, Bataller L. XXXVIII Reunión de la Sociedad Valenciana de Neurología. Colegio de Médicos de Valencia, Mayo 2022.

- 7. Clinical and Genetic spectrum of congenital ataxia patients.** Baviera-Muñoz R, Carretero-Vilarroig L, Campins-Romeu M, Morata C, Sastre-Bataller I, Muelas N, Martínez-Torres I, Tomás-Vila M, Jaijo T, Aller E, Bataller L. International Congress of Parkinson's disease and Movement Disorders 2022. Madrid, September 15-18.
- 8. Magnetic Resonance Image-guided high intensity focused ultrasound (MRIgFUS) subthalamotomy in Spanish Parkinson's disease (PD) patients.** Campins-Romeu M, Sastre-Bataller I, Baviera-Muñoz R, Morata-Martínez C, Conde-Sarrión R, Gutiérrez-Martín A, León-Guijarro JL, Martínez-Torres I. International Congress of Parkinson's disease and Movement Disorders 2022. Madrid, September 15-18.
- 9. Resultados a largo plazo de la talamotomía por ultrasonidos focalizados de alta intensidad en el síndrome temblor/ataxia asociado al cromosoma X frágil.** Morata-Martínez C, Campins-Romeu M, Martínez-Torres I, Baviera-Muñoz R, Gutiérrez-Martín A, Conde-Sardón R, Losada-López M, Sastre-Bataller I. LXXIV Reunión Anual de la Sociedad Española de Neurología (SEN). Sevilla, 15-19 Noviembre 2022.



## **RESUMEN**

---



### **3. RESUMEN**

---

**Introducción.** Las ataxias cerebelosas hereditarias son enfermedades muy heterogéneas clínica y genéticamente. Las técnicas de secuenciación genética masiva (NGS) han permitido identificar un gran número de genes causales de ataxia. Asimismo, en los últimos años se han reconocido expansiones dinámicas responsables de formas de ataxia dominante (*NOP56*, *FGF14*) y recesiva (*RFC1*).

**Hipótesis:** El espectro de mutaciones responsables de las ataxias cerebelosas hereditarias es extraordinariamente variable. Las NGS son herramientas diagnósticas de elevado rendimiento en el estudio diagnóstico de las ataxias cerebelosas hereditarias. El cribado sistemático de expansiones pentanucleotídicas o hexanucleotídicas contribuirá a establecer la frecuencia de éstas en nuestra área geográfica, así como a su caracterización fenotípica. Profundizar en el estudio clínico y genético de nuestros pacientes mejorará los algoritmos diagnósticos actuales.

**Objetivos:** Analizar mediante técnicas de secuenciación masiva los pacientes de nuestra área geográfica sin diagnóstico. Realizar un cribado sistemático de la ataxia espinocerebelosa tipo 36 (SCA36) para conocer la prevalencia y espectro fenotípico en nuestra serie. Caracterizar el espectro fenotípico de los genes más más frecuentes en nuestra serie y realizar estudios de correlación fenotipo-genotipo. Revisar cual es la estrategia diagnóstica más apropiada en nuestra área geográfica.

**Métodos:** Se trata de un estudio observacional, analítico, transversal y unicéntrico. Se han incluido casos índice familiares o esporádicos con síndrome cerebeloso progresivo no congénito valorados desde enero de 2012 hasta septiembre de 2022. En todos los pacientes se excluyeron mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR) convencional expansiones trinucleotídicas en *ATXN1* (SCA1), *ATXN2* (SCA2),

*ATXN3* (SCA3), *CACNA1A* (SCA6), *ATXN7* (SCA7), *ATXN8* (SCA8), *PPP2R2B* (SCA12), *TBP* (SCA17), *ATN1* (DRPLA) y *FXN* (ataxia de Friedreich). Los probandos sin diagnóstico tras estudio de expansiones trinucleotídicas se estudiaron con exoma clínico (CES). El cribado de SCA36 se realizó con PCR convencional y Repeat-primed PCR (RP-PCR) en casos sin diagnóstico y presentación AD o esporádica.

**Resultados:** Se han valorado 297 familias, de las cuales 99 (33.3%) corresponden a ataxias por expansiones trinucleotídicas. La forma AD más frecuente fue SCA3 (10.8%) y la ataxia de Friedreich la AR más frecuente (8.1%). Se realizó CES a 130 casos índice. Se alcanzó el diagnóstico definitivo en 50 familias (39%). El diagnóstico molecular más frecuente fue la ataxia por mutación en *SPG7* (n=15). El fenotipo más frecuente de los pacientes con *SPG7* fue el de ataxia espástica (57%). Los casos heterocigotos compuestos presentaban edad de inicio más precoz ( $p <0.05$ ) y mayor frecuencia de fenotipos complejos ( $p <0.05$ ) que los homocigotos. El cribado de SCA36 en casos con presentación AD y esporádicos ha revelado que es la segunda ataxia AD más frecuente en nuestra población tras SCA3. Se ha confirmado la existencia de efecto fundador mediante estudio de haplotipo.

**Conclusiones:** El CES es una herramienta adecuada aunque insuficiente para desentrañar la heterogeneidad genética de las ataxias, ya que no resolvió el diagnóstico en la mayoría de casos (61%). *SPG7* es la segunda ataxia AR más frecuente tras la enfermedad de Friedreich. SCA36 es la segunda ataxia AD tras la SCA3, por lo que en casos con presentación AD de nuestra área geográfica es conveniente el análisis de SCA36 con anterioridad a los estudios de secuenciación genética masiva.

## **INTRODUCCIÓN**

---



## **4. INTRODUCCIÓN**

---

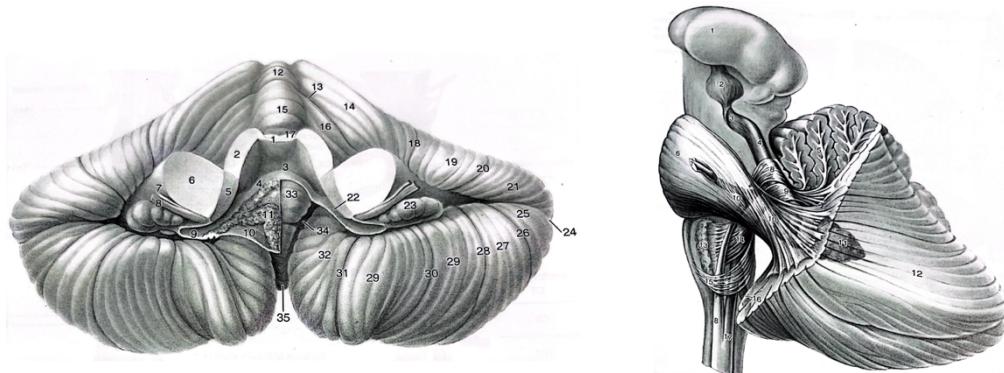
### **3.1 EL CEREBELO**

#### **3.1.1 Organización anatómica**

El cerebelo (del latín *cerebellum* o “pequeño cerebro) es una estructura anatómica localizada en la fosa posterior craneal. Aunque representa solo el 10% del volumen cerebral, contiene aproximadamente la mitad de neuronas del conjunto del sistema nervioso<sup>1</sup>. Externamente se divide en vermis, situado centralmente y dos hemisferios cerebelosos laterales. La superficie del cerebelo está surcada por pliegues, denominados folias, orientados en su mayoría transversalmente. Se distinguen fisuras o indentaciones cerebelosas más prominentes que dividen el cerebelo en lóbulos. La fisura prima separa el lóbulo cerebeloso anterior del posterior y la fisura postero-lateral u horizontal separa el lóbulo cerebeloso posterior del flóculo-nodular<sup>2</sup>. En la línea media se forman a ambos lados las tonsilas o amígdalas cerebelosas, que quedan adosadas al foramen magno de la base del cráneo. La continuación vermiana a nivel de las amígdalas forma la úvula. En la profundidad de la sustancia blanca cerebelosa o lámina medular se encuentran 4 pares de núcleos, denominados de medial a lateral: fastigio, globosos o interpósito posterior, emboliforme o interpósito anterior y dentado<sup>3</sup>.

El cerebelo está unido al tronco del encéfalo por los pedúnculos cerebelosos (superior, medio e inferior), por los que se extienden sus vías aferentes, dirigidas a la corteza cerebelosa y eferentes, originadas en los núcleos cerebelosos profundos. El velo medular superior que se extiende entre los pedúnculos cerebelosos superiores y cierra el IV ventrículo cranealmente. El pedúnculo cerebeloso inferior contiene fibras

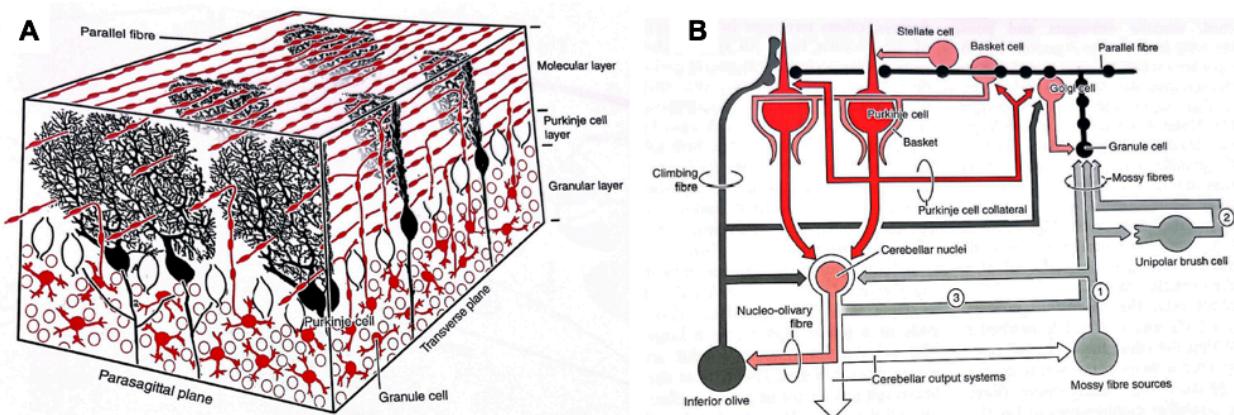
afferentes originadas mayoritariamente en médula espinal y tronco-encéfalo. Está compuesto por el cuerpo restiforme (afferencias medulares) y el cuerpo yuxta-restiforme, aferencia desde núcleos vestibulares. El pedúnculo cerebeloso medio o *brachium pontis*, está formado por fibras originadas en núcleos pontinos contralaterales. El pedúnculo cerebeloso superior o *brachium conjunctivum* contiene fundamentalmente vías eferentes de los núcleos cerebelosos. Se decusa en la línea media a la altura de los tubérculos cuadrigéminos inferiores, dividiéndose en una rama débil y descendente hacia la médula espinal y una rama fuerte y ascendente hacia el mesencéfalo y diencéfalo (núcleo rojo y tálamo).



**Figura 1: A:** Visión ventral del cerebelo. 1: velo medular superior, 2: pedúnculo cerebeloso superior, 3: fastigio, 4: velo medular inferior, 5: pedúnculo cerebeloso inferior, 6: pedúnculo cerebeloso medio, 8: VIII par craneal, 12: culmen del vermis 24: fisura horizontal, **B:** Corte sagital del cerebelo. Imágenes extraídas de The human central nervous system. Nieuwenhuys R. et al, 2008<sup>3</sup>.

La corteza cerebelosa presenta la misma estructura trilaminar en todos los lóbulos. La capa más superficial es el estrato molecular, que contiene fibras paralelas o axones de las células granulosas que terminan en la capa molecular y establecen sinapsis excitatorias glutamatérgicas con las dendritas de las células de Purkinje, controlando

así el patrón de descarga. En la capa molecular se encuentran también las células en cesta y estrelladas que establecen sinapsis inhibitorias con células de Purkinje. Inferiormente se sitúa el estrato ganglionar o de Purkinje. Los axones eferentes de las células de Purkinje atraviesan la sustancia blanca cerebelosa hasta alcanzar núcleos cerebelosos profundos y también núcleos vestibulares. Las células de Purkinje son inhibidoras y utilizan gamma-amino-butírico como neurotransmisor. Sus axones son la única vía eferente cortical. El estrato granuloso contiene fundamentalmente células granulosas y las células de Golgi, las cuales establecen sinapsis inhibitorias con las células granulosas. En esta capa se encuentran también fibras aferentes musgosas originadas mayoritariamente fuera del cerebelo, en médula espinal, bulbo y puente y fibras aferentes trepadoras, originadas en las olivas bulbares. Las fibras musgosas establecen sinapsis excitatorias glutamatérgicas con células granulosas. Las fibras trepadoras establecen sinapsis excitatorias glutamatérgicas con las células de Purkinje.



**Figura 2.** A: Esquema de la organización histológica de la corteza cerebelosa. B: Esquema de las conexiones celulares en corteza cerebelosa. Las sinapsis inhibitorias están representadas en rojo y las excitatorias (fibras musgosas y

trepadoras) en gris. Imágenes extraídas de The human central nervous system.

Nieuwenhuys R. et al, 2008<sup>3</sup>.

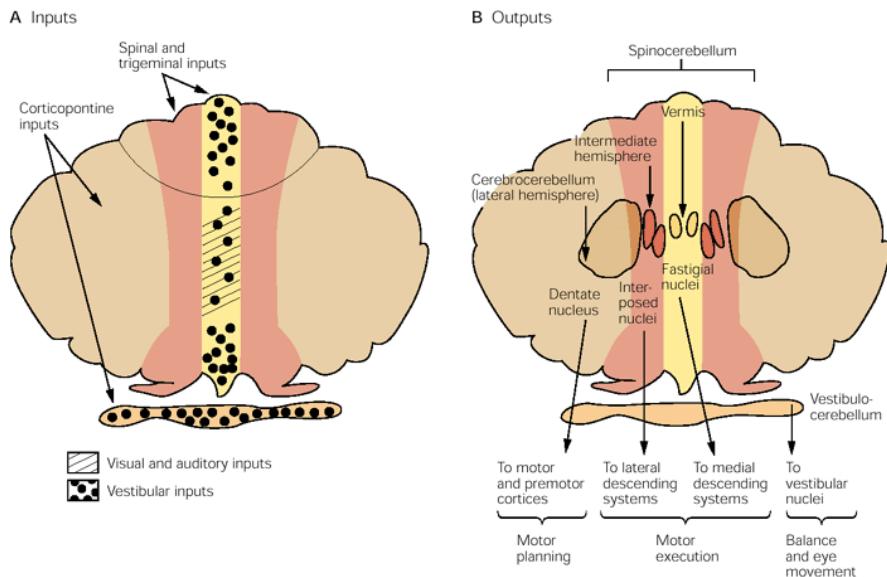
### 3.1.2 Organización funcional

Las principales funciones del cerebelo son la coordinación motora, especialmente de movimientos voluntarios y la regulación del tono muscular. Además, se ha implicado también al cerebelo en la modulación del estado emocional y en algunos aspectos cognitivos<sup>4,5</sup>. Para ello, el cerebelo se organiza de forma modular. Existe una correspondencia aproximada entre las divisiones filogenéticas y anatómicas y la organización funcional cerebelosa (tabla 1). La porción filogenéticamente más antigua o arquicerebelo se localiza en el lóbulo flóculo-nodular, ya presente en animales inferiores como los peces. El lóbulo anterior o paleocerebelo es la porción rostral en relación con la fisura primaria. Está formado por el vermis anterosuperior y la corteza paravermiana contigua. El lóbulo posterior o neocerebelo está conformado por las divisiones medias del vermis y sus grandes extensiones laterales. En lo que se refiere a sus proyecciones aferentes y eferentes, el cerebelo se organiza en zonas longitudinales: vermiana, paravermiana o intermedia y lateral (figura 3). El *arquicerebelo* (lóbulo flóculo-nodular) recibe información de los núcleos vestibulares por lo que también se denomina vestíbulocerebelo. Su principal función es la conservación del equilibrio y la coordinación de los movimientos oculares<sup>6</sup>. El vermis y la región paravermiana constituyen el espinocerebelo, denominado así porque son las únicas regiones que reciben información somatosensitiva espinal. El vermis recibe aferencias vestibulares, visuales, auditivas e información cefálica y de regiones corporales proximales a través de los fascículos espinocerebelosos dorsal (miembros inferiores) y ventral (miembros superiores). La corteza vermiana proyecta sus

eferencias al núcleo fastigio que envía fibras a los núcleos vestibulares de ambos lados y en menor medida a la formación reticular del puente y bulbo raquídeo. Su principal función es coordinar el equilibrio axial y la mirada. La región paravermiana recibe información de regiones distales de las extremidades y proyecta sus eferencias a los núcleos interpósitos. El cerebrocerebelo recibe sus fibras aferentes desde la corteza cerebral por los núcleos pontinos, por lo que también se denomina pontocerebelo. Está implicado en la programación de los movimientos que se inicia en la corteza cerebral y también en otras funciones. Las fibras de los núcleos dentado, emboliforme y globoso que forman el pedúnculo cerebelo superior se decusan y se dividen en una porción ascendente que proyecta al núcleo ventrolateral del tálamo y en menor medida a núcleos talámicos intra-laminares y una porción descendente hacia la médula espinal. Dado que la vía de los núcleos cerebelosos al tálamo y de ahí a la corteza motora es<sup>5</sup>.

División filogenética	División anatómica	División funcional	Núcleo
Arquicerebelo	Lóbulo flóculo-nodular	Vestibulocerebelo	Fastigio
Paleocerebelo	Lóbulo anterior, porciones del vermis Lóbulo posterior región medial.	Espinocerebelo	Interpósitos (globoso, emboliforme)
Neocerebelo	Porciones laterales del lóbulo posterior	Cerebrocerebelo o pontocerebelo	Dentado

**Tabla 1.** Correspondencia de divisiones anatómicas, filogenéticas y funcionales.



**Figura 3.** Aferencias y eferencias de las 3 divisiones funcionales cerebelosas.

Imagen extraída de Principles of Neural Science de ER. Kandel et al, 2012<sup>7</sup>.

### 3.2 EL SÍNDROME CEREBELOSO

La ataxia cerebelosa es un síndrome caracterizado por la pérdida del equilibrio y la coordinación motora con afectación de la marcha, las extremidades y el habla<sup>8</sup>. Etimológicamente el término ataxia deriva del griego *taxis* que significa “orden” y el prefijo *a* “ausencia de”<sup>9</sup>. Las primeras observaciones sobre la función cerebelosa corresponden a los fisiólogos Luigi Rolando (1773-1831), Marie-Jean-Pierre Flourens (1794-1867)<sup>10</sup> y Luigi Luciani (1840-1919)<sup>11</sup>. Todos ellos describieron la repercusión sobre el equilibrio y la coordinación motora de lesiones en animales de experimentación<sup>12</sup>. Hasta entonces se habían atribuido funciones diversas al cerebelo, como la de ser una válvula que regulaba el flujo entre el III y IV ventrículo o ser el origen de los pares craneales (Galen 129-199 AC)<sup>13</sup>. El término ataxia además, se utilizaba con múltiples acepciones<sup>9</sup>. Las primeras descripciones clínicas de los signos cerebelosos clásicos corresponden a William Hammond (1828-1900), William Gowers

(1845-1915) y Joseph Babinski (1857-1932). Hammond describió en su tratado de neurología *A Treatise on the Diseases of the Nervous System* la marcha con aumento de la base de sustentación, la presencia de manifestaciones vertiginosas y la mayor incidencia en lesiones cerebelosas de náuseas, vómitos y cefalea occipital<sup>14</sup>. Gowers describió la ataxia truncal característica de lesiones vermianas, así como la implicación del cerebelo en la motilidad ocular<sup>10</sup>. Babinski acuño los términos “asinergia cerebelosa”, que hace referencia a la incapacidad de realizar movimientos que requieren la coordinación de varios grupos musculares produciéndose la descomposición del movimiento y “disdiadiococinesia”, del griego *diadocho* que significa “alternante” y *kinesia* que significa “movimiento”<sup>9,10</sup>. Asimismo, observó que los problemas de coordinación de los pacientes con ataxia cerebelosa, no estaban influenciados por la deprivación visual con la consiguiente ausencia del signo de Romberg<sup>9</sup>. Años más tarde Gordon Holmes (1857-1932) analizó en detalle las manifestaciones clínicas debidas a lesiones cerebelosas en la I Guerra Mundial, definiendo el temblor de intención cerebeloso o la hipotonía cerebelosa.

### **3.2.1 Manifestaciones motoras**

1. Trastorno de la postura y de la marcha: los pacientes con ataxia cerebelosa tienen grados variables de dificultad para mantener la postura erecta y realizar la marcha. Las correlaciones clínico-anatómicas localizan la alteración del equilibrio axial a nivel del vermis anterior. La principal característica de la marcha cerebelosa es la ampliación variable de la base de sustentación. La longitud de los pasos es variable y colocan los pies de forma desalineada. Para mantener el equilibrio pueden recurrir al arrastre de los pies. En pacientes con ataxia de la marcha leve puede hacerse evidente la dificultad

pidiéndole que camine en tandem, lo que suele desencadenar que tras uno o dos pasos ponga un pie al lado para no caer.

2. Coordinación extremidades: que se manifiestan en la descomposición del movimiento apendicular o dismetría. Se evidencia dificultad para calcular la distancia, velocidad y dirección del movimiento<sup>15</sup>. Se puede explorar mediante la maniobra dedo-nariz o talón-rodilla, así como con el movimiento alternante de manos que evidencia disdiadocinesia. Otra manifestación de la descoordinación o disinergia cerebelosa es el temblor de intención, que es perpendicular a la trayectoria del movimiento y se produce predominantemente en el plano horizontal
3. Hipotonía: consiste en una disminución de la resistencia normal de los músculos a la manipulación pasiva. Suele ser más evidente en lesiones cerebelosas agudas que en crónicas. Para la exploración de la hipotonía existen varias maniobras como el golpeteo del carpo con brazos extendidos, en cuyo caso la extremidad afectada (o ambas en la enfermedad cerebelosa difusa) oscila y se desplaza en un ángulo más amplio que lo normal. El fenómeno de rebote es también característico. Al flexionar el brazo contra una resistencia que se libera de manera súbita, el paciente es incapaz de contener el movimiento de flexión, hasta el punto que el brazo puede golpear la cara.
4. Alteración del habla o disartria: la articulación de las palabras está enlentecida, con separación de las palabras y entonación variable con tendencia a acentuar todas las sílabas o habla escandida<sup>5,16</sup>.
5. Alteración de la motilidad ocular: las enfermedades cerebelosas pueden producir nistagmus, dismetría de las sácas, fragmentación del seguimiento lento, lentitud de las sácas y desviación en skew, siendo el hallazgo más

habitual el nistagmus en la dirección de la mirada<sup>16</sup>. Algunas formas de ataxias hereditarias tienen manifestaciones oculomotoras características como las sácasas horizontales muy lentas en la ataxia espinocerebelosa tipo 2 (SCA 2). La alteración del reflejo vestíbulo-ocular es un rasgo distintivo del síndrome de ataxia cerebelosa con neuropatía y arreflexia vestibular (CANVAS), aunque también se ha descrito en pacientes con SCA3 o enfermedad de Machado-Joseph<sup>17</sup>.

6. Síndrome vestibular: suele ser más frecuente en patología cerebelosa aguda. Los pacientes pueden presentar clínica vertiginosa de origen central, habitualmente por afectación de territorio de Arteria Cerebelosa Postero-Inferior o de la Arteria Cerebelosa Antero-Inferior. No obstante, también en los pacientes con ataxias hereditarias de tipo episódico presentan crisis de vértigo y/o ataxia recurrentes.

### **3.2.2 Manifestaciones no motoras**

1. Síndrome cognitivo-afectivo cerebeloso: En las últimas décadas ha cobrado relevancia la implicación del cerebelo en aspectos cognitivos y emocionales. En 1998 se definió el llamado síndrome cognitivo-afectivo cerebeloso por Jeremy D. Schmahmann, que se caracteriza por: 1) alteración de funciones ejecutivas, con déficits en planificación, flexibilidad mental, razonamiento abstracto, memoria de trabajo y disminución de fluencia verbal; 2) alteración de la memoria visuo-espacial y desorganización visuo-espacial; 3) cambios de personalidad consistentes en aplanamiento afectivo y comportamiento desinhibido o inapropiado; 4) alteraciones del lenguaje como disprosodia, agramatismo o leve anomia<sup>4</sup>. Una forma extrema de síndrome cognitivo-

afectivo cerebeloso sería el mutismo cerebeloso que se observa en ocasiones tras la cirugía de tumores cerebelosos en edad pediátrica. Suele aparecer 24 horas tras la cirugía, pudiendo acompañarse de clínica cerebelosa motora. La tendencia habitual es hacia la resolución completa en un plazo aproximado de seis meses<sup>18</sup>. Las correlaciones anatomo-clínicas señalan la disfunción del lóbulo posterior cerebeloso (cerebro-cerebelo), filogenéticamente más reciente, como la principal responsable de las manifestaciones cognitivas<sup>19,20</sup>. Estudios de neuroimagen funcional han demostrado la activación cortical cerebelosa ante la realización de actividades cognitivas no motoras<sup>21,22</sup>. Por otra parte, el fenómeno de diasquisis o hipoperfusión cerebral cortical (habitualmente en regiones parietales, temporales y prefrontales), en pacientes con patología cerebelosa apoya la participación de las conexiones cerebelo-talámico-cerebrales en la coordinación de funciones mentales superiores<sup>20</sup>.

2. Fatiga: la astenia es un síntoma ya descrito en las primeras descripciones del síndrome cerebeloso<sup>11</sup>. Se ha observado que la prevalencia de la fatiga es alta en pacientes con enfermedades cerebelosas crónicas, tanto neurodegenerativas como inflamatorias, incluso en estadios iniciales<sup>23,24</sup>.
3. Otros: las ataxias cerebelosas son enfermedades muy heterogéneas clínicamente. Es frecuente, especialmente en formas neurodegenerativas y/o genéticas, que los pacientes asocien signos clínicos de otras entidades neurológicas relacionadas, como paraparesia espástica<sup>25,26</sup>, mioclonías<sup>27,28</sup> o distonía<sup>29</sup>. Asimismo, algunas formas de ataxias pueden presentar manifestaciones sistémicas características como los xantomas cutáneos en la xantomatosis cerebro-tendinosa, la esplenomegalia en Niemann-Pick tipo C o las telangiectasias oculares en la ataxia-telangiectasia.

### **3.2.3 Escalas para la evaluación clínica de los pacientes con ataxia**

Se han desarrollado distintas escalas clínicas para cuantificar los hallazgos en la exploración de los pacientes, así como para analizar la historia natural de la enfermedad. Se distinguen escalas que recogen exclusivamente signos cerebelosos como Scale for the Assessment and Rating of Ataxia (SARA)<sup>30</sup>, The International Cooperative Ataxia Rating Scale (ICARS) o Brief Ataxia Rating Scale (BARS)<sup>31</sup>; escalas que incluyen clínica cerebelosa y no cerebelosa como The modified Friedreich Ataxia Rating Scale (mFARS)<sup>32</sup> o Unified Multiple System Atrophy Rating Scale (UMSARS)<sup>33</sup> y escalas centradas en manifestaciones no cerebelosas como Inventory of Non-Ataxia Signs (INAS)<sup>34</sup> o la escala del síndrome cognitivo-afectivo cerebeloso o de Schmahmann<sup>35</sup>.

La escala SARA es la más ampliamente utilizada. Se trata de una escala semi-cuantitativa, fácil y rápida de administrar. Está integrada por 8 ítems (4 bilaterales) que evalúan: marcha, postura, sedestación, habla, maniobra de persecución dedo, dedo-nariz, talón-rodilla y test de movimientos alternantes. La puntuación total puede oscilar entre 0 y 40 puntos. Distintos estudios han demostrado que es una escala útil para cuantificar la progresión de la enfermedad en distintas ataxias hereditarias<sup>36,37</sup>. Además, se ha utilizado para definir clínicamente el estadio de paciente atáxico como aquel con puntuación en la escala SARA mayor o igual a 3 y pre-atáxico o portador pre-sintomático si la puntuación es inferior a 3 puntos, asocia síntomas neurológicos inespecíficos o alteración sugestiva en exploraciones complementarias<sup>38</sup>. Estudios recientes en el campo de los biomarcadores séricos y de líquido cefalorraquídeo (LCR) están ayudando también a definir estos estadios<sup>39,40</sup>.

Para evaluar la repercusión funcional de la enfermedad se utilizan escalas cuantitativas que incluyen tareas específicas de coordinación como Spinocerebellar ataxia Functional Index (SCAFI) que combina la prueba de marcha de 8 metros (*8m walk*) a máxima velocidad posible, the 9-hole peg test (9HPT) y PATA rate test que evalúa el habla<sup>41</sup> o el Composite Cerebellar Functional Severity Score (CCFS) que combina el 9HPT y el click test<sup>42</sup>. No obstante, en la práctica clínica habitual y en los ensayos clínicos, es más relevante utilizar escalas que evalúan el estadio de enfermedad en base fundamentalmente a la marcha y a la repercusión sobre la independencia funcional. Para ello, se utilizan mayoritariamente la Ataxia Disability Scale o escala de Klockgether<sup>43</sup> o bien el ítem de estadio funcional de la escala mFARS<sup>32</sup>.

### **3.2.4 Diagnóstico diferencial en ataxia cerebelosa.**

Las ataxias cerebelosas se clasifican según su etiología en adquiridas, hereditarias y degenerativas idiopáticas<sup>44</sup>. Establecer el curso temporal de los síntomas (agudo, subagudo, crónico) es importante para identificar la etiología subyacente. Las ataxias de inicio agudo suelen ser secundarias a infartos, tumores, hemorragias, infecciones o lesiones desmielinizantes (tabla 2). Las ataxias de curso más subagudo o progresivo suelen ser de etiología tóxica, nutricional, inmunológica o degenerativa. Es importante tener en cuenta que las ataxias metabólicas y de etiología mitocondrial, aunque son de causa genética, pueden manifestarse de forma aguda o subaguda y con frecuencia en el contexto de infecciones, traumatismos o transgresiones dietéticas.

En el grupo de las ataxias degenerativas idiopáticas se incluye la atrofia multisistema de tipo cerebeloso (AMS-C) y la atrofia cerebelosa idiopática de inicio tardío (*Idiopathic*

*Late Onset Cerebellar Ataxia, ILOCA).* La AMS-C es una forma de parkinsonismo atípico por depósito de alfa-sinucleinopatía en el citoplasma de los oligodendrocitos. Para el diagnóstico se requiere la presencia de disautonomía, siendo la clínica cardiovascular y urogenital la más prominente<sup>45</sup>. Los pacientes también pueden presentar un grado variable de parkinsonismo, así como trastorno de conducta del sueño REM (TCSREM). Es recomendable en todos los pacientes con sospecha de AMS-C el análisis de las ataxias espinocerebelosas más frecuentes ya que clínica y radiológicamente pueden ser indistinguibles<sup>44</sup>.

El término ILOCA hace referencia a aquellos casos esporádicos en los que se han excluido extensamente etiologías adquiridas y genéticas y no se ha alcanzado el diagnóstico. Se ha planteado que sea una entidad neurodegenerativa distinta de la AMS-C. La mayoría de los pacientes presentan síndrome cerebeloso puro de inicio en la quinta década de la vida y tienen un mejor pronóstico que la AMS-C<sup>43,46</sup>.

<b>Vascular</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Ictus o hemorragia en territorio vertebro-basilar</li> <li>- Malformaciones vasculares en territorio posterior</li> </ul>
<b>Neoplasias</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Hemangioblastoma, meduloblastoma, astrocitoma, meningioma, schwannoma</li> <li>- Metástasis, carcinomatosis meníngea</li> </ul>
<b>Tóxico-metabólica</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Intoxicación alcohólica, encefalopatía de Wernicke</li> <li>- Antiepilepticos: fenitoína, fenobarbital, carbamacepina</li> <li>- Anti-neoplásicos: fluorouracilo, arabinósido de citosina, metotrexate, ciclosporina</li> <li>- Tóxicos: litio, mercurio, talio, plomo, mercurio, tolueno, alcohol etílico, solventes</li> <li>- hipertermia, hipotermia</li> <li>- Hipomagnesemia</li> </ul>
<b>Infecciosa</b>

- Cerebelitis viral: herpes simplex, varicela zóster, echovirus, coxsackie A y B, Epstein-Barr, Mycoplasma pneumoniae, virus JC, encefalopatía VIH
- Enfermedad de Creutzfeld-Jakob adquirida

#### **Autoinmune**

- Cerebelitis post-infecciosa
- Enfermedades desmielinizantes: Esclerosis múltiple, neuromielitis óptica
- Ataxia con Ac anti-GAD
- Ataxia subaguda paraneoplásica (Anti-Yo, anti-Hu, anti-Ri, anti-Tr, anti-Ma2, anti-VGCC, anti-CRMP5/CV2, anti-mGluR1)
- Ataxia asociada a la enfermedad celíaca
- Encefalopatía de Hashimoto

#### **Otras**

- Malformación de Arnold-Chiari, hemosiderosis superficial

**Tabla 2.** Etiología de las ataxias adquiridas. Adaptado de Síndromes atáxicos.

Ataxias heredodegenerativas. Baviera-Muñoz R, et al. Medicine – Programa de Formación Médica Continuada Acreditado. 2023; 76(13): 4516-4524<sup>47</sup>

### **3.3 ATAXIAS CEREBELOSAS HEREDITARIAS**

Las ataxias cerebelosas hereditarias son enfermedades muy heterogéneas clínica y genéticamente<sup>48</sup>. Pueden clasificarse según su patrón de herencia en: autosómico dominante (AD), autosómico recesivo (AR), ligado a X y mitocondrial. Según la edad de inicio se dividen en ataxia cerebelosa de inicio temprano (inicio <20 años)<sup>49,50</sup> y ataxia cerebelosa de inicio tardío (inicio >20 años). Las ataxias congénitas no progresivas constituyen una entidad distinta clínica y biológicamente. Se deben a alteraciones del desarrollo del cerebelo y suelen manifestarse con retraso del desarrollo psicomotor. Los pacientes suelen tener un curso estático, no progresivo, combinando ataxia y retraso intelectual en grado variable<sup>51</sup>.

### **3.3.1 Clasificación. Recuerdo histórico.**

La primera descripción de una familia con ataxia hereditaria corresponde al patólogo alemán Nikolaus Friedreich (1825-1882) en 1863<sup>52,53</sup>. Friedreich describió un síndrome clínico diferenciado en nueve pacientes de cinco familias diferentes. Además de ataxia progresiva de la marcha de inicio en la adolescencia, los pacientes presentaban arreflexia, escoliosis, diabetes y taquicardia. La autopsia demostró la degeneración de los cordones posteriores, raíces espinales posteriores y cordones laterales. Además, tres de ellos presentaban miocardiopatía<sup>54</sup>. En el siglo XX se propusieron diversas clasificaciones por distintos autores basadas en los hallazgos neuro-patológicos<sup>55</sup>. Greenfield propuso una primera clasificación distinguiendo tres grupos<sup>56</sup>: 1) formas predominantemente espinales que incluían la ataxia de Friedreich y la ataxia espástica hereditaria, 2) formas espinocerebelosas y 3) formas predominantemente cerebelosas<sup>54</sup>. Dentro de estos grupos, se distinguían a su vez múltiples entidades nosológicas, muchas veces difíciles de diferenciar<sup>57</sup>. Destacar de entre todas ellas la ataxia olivo-ponto-cerebelosa descrita por Déjerine y Thomas. Este es un término heterogéneo que aún se sigue utilizando en la actualidad, especialmente en relación con las formas de AMS de tipo cerebeloso, si bien en las clasificaciones originales se distinguían formas hereditarias (tipo Menzel) y formas esporádicas (tipo Déjerine-Thomas)<sup>58</sup>. Las clasificaciones clínico-patológicas eran difíciles de interpretar y escasamente útiles en la práctica clínica habitual. Incluso miembros de una misma familia podían clasificarse en categorías neuro-patológicas distintas. Para resolver estas inconsistencias, Anita Harding propuso en 1983 una clasificación clínico-genética que permitió organizar la heterogeneidad de las ataxias hereditarias y mejorar su manejo diagnóstico. Harding estableció dos categorías principales (tabla 3)<sup>57</sup>: síndromes de etiología conocida y síndromes de etiología

desconocida, entre los que se distinguen formas de ataxia de inicio por debajo de los 20 años, la mayoría de herencia recesiva y formas de ataxia de inicio tardío o por encima de los 20 años, la mayoría de herencia dominante. En este último grupo se distinguían 4 categorías , aunque posteriormente se estableció que el grupo IV correspondía a una citopatía mitocondrial. Esta clasificación fue aceptada universalmente, lo que contribuyó a asentar las bases metodológicas de la ataxiología clínica moderna. Los trabajos de Harding contribuyeron además a una mejor definición de categorías clínicas que siguen utilizándose en la actualidad<sup>59,60</sup>.

TIPO	HERENCIA
<b>I. TRASTORNOS DE ETIOLOGÍA METABÓLICA U OTRA CAUSA CONOCIDA</b>	
<u>Enfermedades metabólicas:</u>	
- Ataxias progresivas:	
Abelipoproteinemia (síndrome Bassen-Kornzweig)	AR
Hipobetalipoproteinemia	AR
Deficiencia hexosaminidasa	AR
Deficiencia glutamato deshidrogenasa	AR
Colestanolosis	AR
- Ataxias intermitentes:	
Déficit piruvato deshidrogenasa	AR
Enfermedad de Hartnup	AR
Deficiencias enzimáticas en ciclo de la urea (déficit de ornitina transcarbamila*, argininosuccinico aciduria, arginemia)	AR/XLD*
<u>Trastornos de reparación ADN:</u>	
- Ataxia telangiectasia (síndrome Louis Bar)	AR
- Xeroderma pigmentoso (síndrome de Sanctis-Cacchione)	AR
- Síndrome de Cockayne	AR
<b>II. TRASTORNOS DE ETIOLOGÍA DESCONOCIDA</b>	
<u>Ataxia cerebelosa de inicio precoz (&lt;20 años):</u>	
- Ataxia de Friedreich	AR
- Ataxia de inicio precoz con reflejos tendinosos conservados	AR
- Con hipogonadismo con o sin sordera y/o demencia	AR
	AR

- Con sordera congénita	AR
- Con sordera de inicio en la infancia y retraso mental	AR
- Con retinosis pigmentaria y/o retraso mental y/o sordera	AR
- Con atrofia óptica y retraso mental y/o sordera espasticidad (síndrome de Behr)	AR
- Con cataratas y retraso mental (síndrome de Marinesco-Sjögren)	AR/AD
- Con mioclonia (síndrome de Ramsay-Hunt)	XLR
- Ataxia espinocerebelosa recesiva ligada al cromosoma X	AD
- Ataxia cerebelosa con temblor esencial	
<u>Ataxia cerebelosa de inicio tardío (&gt;20 años):</u>	AD
- Ataxia cerebelosa con atrofia óptica, oftalmoplejía, demencia, amiotrofia, clínica extrapiramidal (incluye ataxia de Machado-Joseph) o ataxias AD tipo I	AD
- Ataxia con retinosis pigmentaria y/o oftalmoplejía y/o clínica extrapiramidal o ataxia AD tipo II	AD
- Ataxia cerebelosa pura de inicio tardío o ataxia AD tipo III	AD
- Ataxia cerebelosa pura con mioclonia y sordera o ataxia AD tipolIV	AD

**Tabla 3.** Clasificación de las ataxias hereditarias de A. Harding. AD: herencia autosómico dominante, AR: herencia autosómico recesiva, XLD: dominante ligado a X, XLR: recesivo ligado a X. Adaptado de Classification of the hereditary ataxias and paraplegias. Harding A.E. The Lancet 1983; 1151-1154<sup>57</sup>.

En los últimos 30 años la investigación en genética de las ataxias ha permitido descubrir un gran número de genes causales. La primera mutación causal de ataxia autosómico dominante que se identificó en 1993 fue la expansión de colas de poliglutaminas (CAG) en el gen *ATX1*<sup>61</sup>, que se denominó ataxia espinocerebelosa tipo 1 (SCA1). La mutación causal de la ataxia de Friedreich, la expansión homocigota intrónica GAA en el gen de la frataxina (*FXN*), se identificó en 1996<sup>62</sup>. En los años siguientes se descubrieron nuevos genes causales de ataxia hereditaria AD, que se denominaron por orden cronológico de descubrimiento con el término ataxia

espinocerebelosa (SCA) y el número correspondiente, sin aplicarse esta nomenclatura a las ataxias episódicas (AE) y la atrofia dento-palido-luisiana (DRPLA)<sup>63</sup>. Las ataxias AD más frecuentes están en su mayoría causadas por expansiones dinámicas exónicas (SCA1, SCA2, SCA3, SCA6, SCA7, SCA17, DRPLA), presentando muchas de ellas fenómeno de anticipación con aumento del tamaño de la expansión y consiguiente agravamiento del cuadro clínico en generaciones sucesivas. No obstante, se han identificado también formas dominantes por expansiones intrónicas (SCA10, SCA12, SCA31, SCA36, SCA37, SCA27B) o en extremos 3' o 5' no codificantes (SCA8, SCA12) y por mutaciones puntuales (SCA5, SCA11, SCA13, SCA14, SCA15, SCA19/22, SCA23, SCA26, SCA27A, SCA28, SCA35)<sup>63,64</sup>, cuyo número ha aumentado considerablemente con el advenimiento de las nuevas herramientas de secuenciación genética masiva. La última mutación causal de ataxia AD ha sido identificada mediante WGS en 2023. Se trata de la expansión (GAA)<sub>>250</sub> en el intrón 1 del gen *FGF14*<sup>65,66</sup>. Mutaciones puntuales en este gen son responsables de la SCA27A, una ataxia de inicio temprano asociada con temblor, discinesias y deterioro cognitivo. Por el contrario, los pacientes con expansiones intrónicas presentan un fenotipo de ataxia cerebelosa pura de inicio tardío. Pueden asociar de manera variable vestibulopatía, neuropatía, disautonomía y signos piramidales, dando lugar por consiguiente a un fenotipo CANVAS-like<sup>65-67</sup>. Se ha estimado que SCA27B podría ser una de las etiologías más frecuentes de ataxia de inicio tardío, con una frecuencia incluso superior a la de SCA3<sup>66</sup>.

En relación con las ataxias hereditarias recesivas el número de genes causales identificados ha aumentado también de forma exponencial.<sup>65</sup> Las más frecuentes son las causadas por mutaciones convencionales, sin embargo existen también formas

recesivas por expansiones intrónicas como la ataxia de Friedreich o el síndrome de CANVAS (*RFC1*). Por otra parte, en los últimos años se han identificado formas recesivas de ataxia causadas por mutaciones bialélicas en genes dominantes como *AFG3L2*, *SPTBN2*, *OPA1* o *ITPR1*<sup>68</sup>. La gran heterogeneidad clínica y genética de las ataxias AR ha dificultado su nomenclatura y clasificación<sup>47,69</sup>. Los sistemas de clasificación ARCA y SCAR (SCA-recesivas) enumeran las ataxias de forma cronológica. No obstante, ninguna de las dos clasificaciones incluye la totalidad de las formas recesivas y además, la denominación numérica ARCA y SCAR no coincide con frecuencia<sup>70</sup>, por ejemplo, ARCA1 y SCAR8 hacen referencia a la misma enfermedad, la ataxia por mutación de *SYNE1*. En 2016 la *International Parkinson and Movement Disorders Society (MDS) Task Force on Classification and Nomenclature of Genetic Movement Disorders* propuso una clasificación de los trastornos del movimiento genéticos basado en el fenotipo<sup>71</sup>. El objetivo era superar las limitaciones de las clasificaciones previas mediante un sistema que fuese uniforme y adaptable al creciente número de entidades identificadas. Así pues, el prefijo ATX seguido del gen causal es utilizado para designar los trastornos genéticos recesivos y ligados a X cuya manifestación principal es la ataxia. Mientras que en las formas dominantes de ataxia la MDS, mantiene el prefijo SCA de la clasificación original seguido del gen. En las enfermedades que combinan ataxia y otro trastorno del movimiento se utiliza un doble prefijo seguido del gen, como es el caso de ATX/HSP-SACS (ataxia espástica recesiva de Charlevoix-Saguenay) o MYC/ATX-CSTB (epilepsia mioclónica de Unverricht y Lundborg), situando en primer lugar el prefijo correspondiente a la manifestación predominante<sup>70</sup>.

Las ataxias ligadas a X son raras y en su mayoría son congénitas o de inicio precoz, asociadas con hipoplasia o malformaciones cerebelosas<sup>72</sup>. Las ataxias ligadas a X que con mayor frecuencia se manifiestan en edad adulta son la variante atáxica de la adrenoleucodistrofia (*ABCD1*)<sup>72-74</sup> y el síndrome de temblor y ataxia asociado al cromosoma X-frágil (FXTAS). Las ataxias mitocondriales pueden producirse por mutaciones en ADN nuclear o en ADN mitocondrial, que es de herencia materna. La disfunción mitocondrial ocasiona fenotipos complejos con diversas manifestaciones neurológicas y sistémicas como cataratas, sordera diabetes o miocardiopatía<sup>5,75</sup>. La ataxia es una manifestación bien establecida y cardinal en distintos síndromes mitocondriales como el síndrome de Kearns-Sayre o el síndrome NARP (Neurogenic Ataxia and Retinitis Pigmentosa)<sup>5</sup>.

### **3.3.2 Epidemiología**

Individualmente las ataxias son enfermedades muy poco frecuentes, incluidas dentro del grupo de enfermedades raras, pero globalmente generan importante discapacidad y coste socio-económico. La prevalencia mundial se estima en 5-7 casos por cada 100.000 habitantes. En nuestro país la prevalencia de ataxia hereditaria es de 5.48 por 100.000 habitantes, siendo de 1.62/100.000 habitantes en ataxias dominantes y 1.53/100.000 habitantes en ataxias recesivas<sup>76</sup>. La ataxia autosómico dominante más frecuente en nuestro entorno es la ataxia espinocerebelosa tipo 3 o enfermedad de Machado-Joseph (SCA3), mientras que la ataxia recesiva más frecuente es la ataxia de Friedreich, con una prevalencia de 2-4.7/100.000 habitantes y una frecuencia de portador sano de 1/60-1/90. Por otra parte, las nuevas herramientas de secuenciación genética masiva, han permitido reconocer causas frecuentes de ataxia, hasta ahora infra-diagnosticadas, como la ataxia por mutación del gen *SPG7*, relacionado

inicialmente con la paraparesia espástica tipo 7. Por otra parte, se debe tener en cuenta la prevalencia geográfica de determinadas mutaciones. En España se han identificado dos nuevas formas genéticas de ataxia. La SCA36 causada por la expansión intrónica en el gen *NOP56* del hexanucleótido GGCCTG fue identificada simultáneamente en Japón y en la Costa da Morte de Galicia<sup>77,78</sup>. Se trata de una ataxia de inicio entre la cuarta y sexta década de vida. Los pacientes además de ataxia pueden asociar grados variables de espasticidad y otras manifestaciones características como hipoacusia neurosensorial y fasciculaciones lingüales. La SCA37, provocada por la expansión intrónica de un pentanucleótido en el gen *DAB1*, es una ataxia cerebelosa pura de inicio en la edad adulta, que se precede de alteración de movimientos oculares verticales que fue identificada en familias del sur de España<sup>79,80</sup>. No se han descrito hasta el momento casos en otras áreas geográficas.

### **3.3.3 Estudios diagnósticos en ataxias cerebelosas hereditarias**

#### **A. Estudios bioquímicos**

La realización de estudios bioquímicos y pruebas metabólicas específicas puede ayudar al diagnóstico de sospecha de determinadas ataxias (tabla 4)<sup>81</sup>. No obstante, con la gran disponibilidad actual de estudios de secuenciación genética masiva, la principal aplicación de estudios bioquímicos y metabólicos es guiar el llamado fenotipado inverso, contribuyendo a establecer correlaciones fenotipo-genotipo especialmente en casos con variantes genéticas de significado incierto<sup>82,83</sup>. En este sentido, es importante también tener en cuenta que se ha descrito que sujetos sanos portadores de mutaciones en *SETX* o *ABCD1* pueden presentar elevaciones de menor

magnitud alfa-fetoproteína (AFP)<sup>83</sup> o de ácidos grasos de cadena muy larga (*very long chain fatty acids*, VLCFA)<sup>84</sup>.

Determinación	Enfermedad (gen)
Vitamina E	Ataxia con déficit de vitamina E ( <i>TTPA</i> ), Abetalipoproteinemia ( <i>MTTP</i> )
Alfa-fetoproteína (AFP)	Ataxia-telangiectasia ( <i>AT</i> ), Ataxia con Apraxia Oculomotora tipo 1 ( <i>APTX</i> ), Ataxia con Apraxia Oculomotora tipo 2 ( <i>SETX</i> ), Ataxia con Apraxia Oculomotora tipo 4 ( <i>PNKP</i> ), ARCA3 ( <i>ANO10</i> )
Albumina	Ataxia con Apraxia oculomotora tipo 1 ( <i>APTX</i> )
Inmunoglobulinas	Ataxia-telangiectasia ( <i>AT</i> )
Ácidos grasos de cadena muy larga (VLCFA)	Adrenoleucodistrofia, variante atáxica ( <i>ABCD1</i> )
Colestanol	Xantomatosis cerebrotendinosa ( <i>CYP27A1</i> )
Ácido fitánico	Enfermedad de Refsum ( <i>PHYH</i> )
Ceruloplasmina, cobre sérico y en orina 24h.	Enfermedad de Wilson ( <i>ATP7B</i> )
Coenzima Q10	Ataxia cerebelosa autosómico recesiva 2 ( <i>ADCY3</i> )
Ácido láctico	Síndrome de neuropatía atáxica sensitiva disartria oftalmoplejía ( <i>POLG</i> ), Síndrome de ataxia recesiva mitocondrial ( <i>POLG</i> ) Ataxia de herencia mitocondrial
Quitotriosidasa	Niemann-Pick C ( <i>NPC1</i> , <i>NPC2</i> )
Oxisteroles	
Actividad Hexosaminidasa	Enfermedad de Tay-Sachs ( <i>HEXA</i> ), enfermedad de Sandhoff. ( <i>HEXB</i> )

**Tabla 4.** Estudios bioquímicos y metabólicos en ataxias hereditarias. Adaptado de Síndromes atáxicos. Ataxias heredodegenerativas. Baviera-Muñoz R, et al, Medicine – Programa de Formación Médica Continuada Acreditado. 2023;76(13): 4516-4524<sup>47</sup>.

## B. Neuroimagen

La Resonancia Magnética (RM) cerebral es una prueba indispensable en todos los pacientes con ataxia<sup>44,85</sup>. La atrofia cerebelosa es el hallazgo más común en los pacientes con ataxia hereditaria. No obstante, hay formas genéticas de ataxia que no suelen presentar en estadios iniciales atrofia cerebelosa porque la inestabilidad se relaciona con una afectación sensitiva cordonal o polineuropática grave, como la ataxia de Friedreich, la ataxia por déficit de vitamina E (*TTPA*) o la ataxia por mutaciones en *POLG*<sup>44</sup>. En algunas entidades se observan hallazgos característicos que pueden ayudar a identificar la causa genética subyacente.

Hallazgos RM cerebral	Etiología
Ataxia sin atrofia cerebelosa	Ataxia de Friedreich Ataxia con déficit de vitamina E ( <i>TTPA</i> ) Abetalipoproteinemia ( <i>MTTP</i> )
Hiperintensidad en T2 en pedúnculos cerebelosos medios	Síndrome de temblor/ataxia asociado a la premutación de X-frágil. Atrofia multisistémica
Signo de la cruz ( <i>hot cross bun</i> )	SCA1, SCA2, SCA3, 6, 7, 8, 34 Atrofia multisistémica
Hiperintensidades en tronco y cerebelo	Xantomatosis cerebro-tendinosa, enfermedad de Alexander
Telangiectasias	Ataxia-Telangiectasia
Calcificaciones núcleo dentado	Ataxia espinocerebelosa tipo 20
Restricción a la difusión cortical Atrofia de tronco y cerebelo	Síndrome Gerstmann-Straussler-Scheinken
Hiperintensidad de sustancia blanca en pedúnculos cerebelosos y subcortical	Ataxia por mutación <i>POLR3A</i>
Hiperintensidad T2 bilateral en núcleos olivares inferiores	Ataxia <i>POLG</i> , enfermedad de Alexander del adulto.

**Tabla 5.** Hallazgos característicos de RM cerebral en ataxia hereditaria. Adaptado de Síndromes atáxicos. Ataxias heredodegenerativas. Bavier-Muñoz R, et al.

Las pruebas de medicina nuclear no se utilizan con frecuencia en el manejo clínico de los pacientes con ataxia. El estudio con tomografía computarizada por emisión de fotón único (SPECT) de la vía presináptica nigroestriada con <sup>123</sup>I-lofluopano o DaTSCAN o de la vía post-sináptica con tomografía de emisión de positrones (PET) de fluorodopa (<sup>18</sup>F) permite una mejor caracterización de los pacientes con ataxia y manifestaciones extrapiramidales<sup>86,87</sup>. El PET con fluoro-desoxi-glucosa (<sup>18</sup>FDG), se emplea fundamentalmente en el ámbito de la investigación clínica, con el objetivo de caracterizar el deterioro cognitivo de los pacientes con ataxia<sup>88</sup>.

### C. Estudios genéticos

Aproximadamente el 60% de las mutaciones causales de ataxias se deben a expansiones de tripletes en genes clásicamente descritos<sup>89</sup>. Por tanto, el protocolo habitual en las unidades de ataxia es analizar inicialmente mediante PCR (reacción en cadena de polimerasa) los genes causales de ataxia por expansiones trinucleotídicas: ATXN1 (SCA1), ATXN2 (SCA2), ATXN3 (SCA3), CACNA1A (SCA6), ATXN7 (SCA7), ATXN8 (SCA8), PPP2R2B (SCA12), TBP (SCA17), ATN1 (DRPLA) and FXN (ataxia de Friedreich). Tradicionalmente si el estudio de expansiones era negativo, se realizaba el estudio de mutaciones convencionales dirigido por Sanger gen a gen, en función del fenotipo del paciente hasta alcanzar el diagnóstico. Este proceso consumía lógicamente mucho tiempo y recursos sin muchas veces alcanzarse el diagnóstico. Los nuevos métodos de secuenciación genética masiva (*Next Generation Sequencing*, NGS) permiten secuenciar de forma precisa miles de

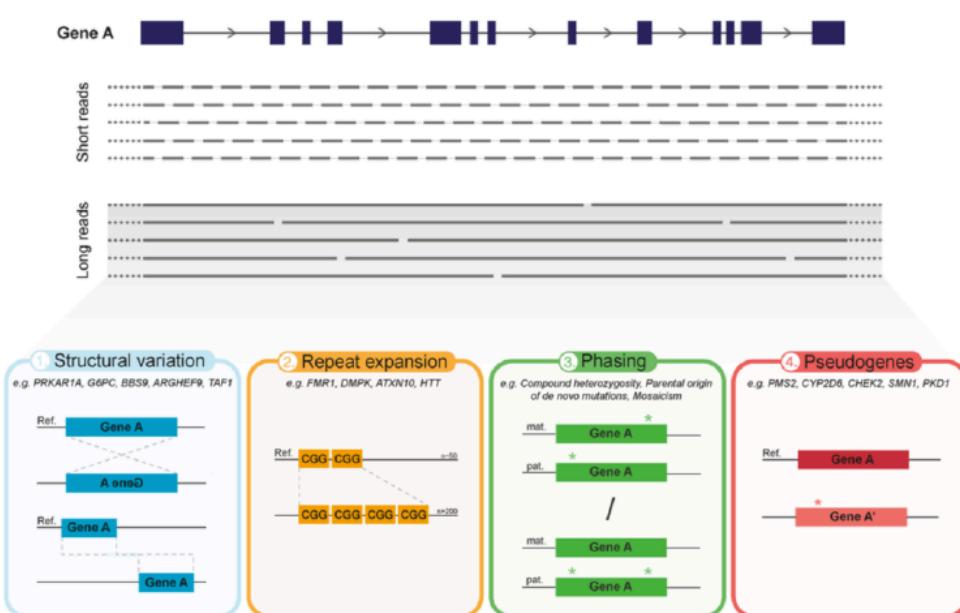
genes en menor tiempo y coste económico<sup>11</sup>. En función del volumen de material genético analizado distinguimos:

1. *Paneles genéticos dirigidos.* Secuenciación de región exónica de genes implicados en ataxias hereditarias
2. *Exoma clínico (Clinical Exome Sequencing).* Secuenciación de región exónica de todos los genes implicados en enfermedades genéticas mendelianas. La principal ventaja del exoma clínico, es que permite reanalizar genes relacionados con otras entidades si el paciente desarrolla otra clínica.
3. *Exoma completo (Whole Exome Sequencing).* Secuenciación de región exónica de todos los genes, incluyendo aquellos no relacionados hasta el momento con patología. La principal ventaja de esta técnica es que permite identificar nuevos genes causales, aunque habitualmente solo disponible en el ámbito de la investigación.
4. *Genoma completo (Whole Genome Sequencing).* Secuenciación tanto de exones como de intrones. Actualmente solo disponible en el ámbito de la investigación. Permite reconocer mutaciones en regiones intrónicas, no accesibles con las técnicas anteriores<sup>90</sup>.

Las NGS de segunda generación son las más utilizadas en la práctica clínica actual. Tienen capacidad para detectar mutaciones puntuales, inserciones y delecciones, translocaciones y variaciones en el número de copias de corta longitud. Han permitido identificar un gran número de mutaciones causales desde su introducción. No obstante, su capacidad de lectura es de solo unas 250-300 pares de bases y por tanto están limitadas para la identificación de mutaciones de gran

tamaño. Por tanto, están limitadas para la identificación de grandes mutaciones estructurales y expansiones dinámicas.

En los últimos años se han desarrollado las NGS de 3<sup>a</sup> generación o Long Reading Sequencing (LRS) son capaces de leer de forma continua secuencias extensas desde 10 kilobases a varias megabases, o incluso un cromosoma completo de telómero a telómero. La lectura se realiza con Real Time PCR, sin necesidad de amplificación de la secuencia con PCR, lo que hace posible la lectura del ADN (ácido desoxirribonucleico) en su estado nativo. Las herramientas LRS han superado importantes limitaciones de las técnicas NGS convencionales como: 1) detección de mutaciones estructurales de gran tamaño (pe. grandes inversiones o translocaciones); 2) secuenciación de expansiones de repeticiones y áreas ricas en GC; 3) reconocimiento de herencia paterna o materna de una mutación o origen de novo; 4) diferenciación entre genes y pseudogenes<sup>91,92</sup>. No obstante, aún deben perfeccionarse distintos aspectos técnicos de la detección de variantes, el análisis bioinformático de las mismas o la corrección de errores de lectura.



**Figura 4.** Diferencias entre NGS 2<sup>a</sup> generación y NGS 3<sup>a</sup> generación o secuenciación de lectura larga. Extraído de Mantere T, et al. *Front Genet.* 2019; 10(May): 426<sup>91</sup>.

Para interpretar la patogenicidad de las variantes identificadas con la tecnología NGS se utilizan los criterios de la Asociación Americana de Genética Médica (ACMG), basados en bases de datos poblacionales, la realización de estudios funcionales, estudios de conservación aminoacídica y estimaciones por predictores bioinformáticos, datos alélicos, de segregación y correlación fenotipo-genotipo. En base a estos criterios, las variantes se pueden clasificar en: 1) patogénica; 2) probablemente patogénica; 3) significado clínico incierto (*variant of unknown significance*, VOUS); 4) probablemente benigna y 5) benigna<sup>92</sup>.

	Benign			Pathogenic		
	Strong	Supporting	Supporting	Moderate	Strong	Very strong
<b>Population data</b>	MAF is too high for disorder BA1/BS1 OR observation in controls inconsistent with disease penetrance BS2			Absent in population databases PM2	Prevalence in affecteds statistically increased over controls PS4	
<b>Computational and predictive data</b>		Multiple lines of computational evidence suggest no impact on gene /gene product BP4  Missense in gene where only truncating cause disease BP1  Silent variant with non predicted splice impact BP7  In-frame indels in repeat w/out known function BP3	Multiple lines of computational evidence support a deleterious effect on the gene /gene product PP3	Novel missense change at an amino acid residue where a different pathogenic missense change has been seen before PM5  Protein length changing variant PM4	Same amino acid change as an established pathogenic variant PS1	Predicted null variant in a gene where LOF is a known mechanism of disease PVS1
<b>Functional data</b>	Well-established functional studies show no deleterious effect BS3		Missense in gene with low rate of benign missense variants and path. missenses common PP2	Mutational hot spot or well-studied functional domain without benign variation PM1	Well-established functional studies show a deleterious effect PS3	
<b>Segregation data</b>	Nonsegregation with disease BS4		Cosegregation with disease in multiple affected family members PP1	Increased segregation data		
<b>De novo data</b>				De novo (without paternity & maternity confirmed) PM6	De novo (paternity and maternity confirmed) PS2	
<b>Allelic data</b>		Observed in <i>trans</i> with a dominant variant BP2  Observed in <i>cis</i> with a pathogenic variant BP2		For recessive disorders, detected in <i>trans</i> with a pathogenic variant PM3		
<b>Other database</b>		Reputable source w/out shared data = benign BP6	Reputable source = pathogenic PP5			
<b>Other data</b>		Found in case with an alternate cause BP5	Patient's phenotype or FH highly specific for gene PP4			

**Figura 5.** Clasificación de criterios según evidencia de patogenicidad. BS: benign strong; BP: benign supporting, FH: family history, LOF: loss of function, MAF: minor allele frequency; path: pathogenic; PM: pathogenic moderate; PP: pathogenic supporting; PS: pathogenic strong; PVS: pathogenic very strong. Extraído de Richards S, et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: A joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genetics in Medicine*. 2015;17(5):405-424. <sup>92</sup>.

La mayoría de trabajos sobre la aplicación de NGS en el campo de las ataxias hereditarias han utilizado paneles, exoma clínico (CES) o exoma completo (WES). El rendimiento en la práctica clínica habitual con estas herramientas no supera el 50% en la mayoría de series publicadas (tabla 6)<sup>93</sup>. Aunque es difícil establecer comparaciones por las diferencias entre las series de pacientes estudiados, técnicas empleadas y número de genes analizados, los distintos trabajos publicados han permitido estimar la prevalencia de las distintas formas de ataxia hereditaria producidas por mutaciones puntuales. La secuenciación de genoma, tanto de lectura corta como de lectura larga, aún no se emplea en la práctica clínica habitual y son pocos los trabajos realizados en el campo de las ataxias hereditarias<sup>94-96</sup>. El exoma representa solo 1-2% del genoma. Por tanto, el procesamiento de la gran cantidad de variantes generadas con Whole Genome Sequencing (WGS) dificulta su procesamiento y análisis bioinformático<sup>97</sup>. No obstante, aunque esta tecnología se utilice fundamentalmente en el ámbito de la investigación<sup>91</sup>, es clave para resolver los casos que quedan sin diagnóstico. Ha permitido la identificación de nuevas etiologías ataxia como la expansión intrónica (GAA)<sub>>250</sub> en FGF14 (SCA27B). No obstante, aún

deben perfeccionarse distintos aspectos técnicos de la detección de variantes, el análisis bioinformático de las mismas o la corrección de errores de lectura.

<b>Primer autor, año</b>	<b>Nº y tipo de pacientes</b>	<b>Estrategia NGS (nº genes)</b>	<b>Rendimiento diagnóstico</b>
Coutelier et al, 2017 <sup>98</sup>	412 con HF HAD	Panel (65)	12.1% (50/412)
Hadjivassiliou et al, 2017 <sup>99</sup>	146	Panel (42)	32% (46/146)
Iqbal et al, 2017 <sup>100</sup>	105 SPG y ataxia	Panel (18)	19% (20/105)
Fogel et al, 2014 <sup>101</sup> Ngo et al, 2019 <sup>102</sup>	76	CES (226) WES	CES 21% (16/76) WES: 28% (21/76)
Coutelier et al, 2018 <sup>103</sup>	319 sin HF HAD	CES (209)	22.6% (72/319)
Kang et al, 2018 <sup>104</sup>	Panel n=32, WGS n=3	Panel (46 o 98) WGS	Panel 34.4% (11/32) WGS 33.3% (1/3)
Sun et al, 2019 <sup>105</sup>	170	CES (441)	52% (88/170)
Kim et al, 2019 <sup>106</sup>	18, SPG con o sin ataxia	WGS	38.9% (7/18)
Graça et al, 2022 <sup>107</sup>	76	CES	35.5% (27/76)

**Tabla 6.** Resumen del rendimiento diagnóstico de los estudios realizados con técnicas de secuenciación genética masiva.

El estudio de expansiones pentanucleotídicas (CANVAS, SCA10, SCA31, SCA37) o hexanucleotídicas (SCA36, C9orf72<sup>108,109</sup>) se realiza de forma dirigida si el fenotipo y

la historia familiar son sugestivas mediante *Repeat-Primed-PCR* (RP-PCR), a diferencia de la PCR convencional utilizada para expansiones trinucleotídicas. No obstante, ya se dispone de estudios preliminares que demuestran la aplicabilidad de la técnica para la detección de expansiones dinámicas de gran tamaño, como la expansión del cromosoma X-frágil, la enfermedad de Huntington o C9orf72<sup>94</sup>.

### 3.3.4 Tratamiento

Lamentablemente muy pocos tipos de ataxias son tratables. No obstante, en la actualidad, existen varias líneas de investigación destinadas a desarrollar terapias modificadoras de enfermedad que puedan ser beneficiosas para los subtipos más comunes<sup>89</sup>.

Determinados fármacos que se emplean en otras enfermedades neurológicas han demostrado que pueden proporcionar una mejoría de algunos síntomas. En este sentido, el empleo de riluzole (nivel de evidencia B) podría mejorar la inestabilidad de la marcha y la disartria en algunos pacientes. La amantadina (nivel de evidencia C) podría contribuir a un alivio sintomático independientemente del tipo de ataxia. Las ataxias episódicas disponen de algunos tratamientos sintomáticos beneficiosos<sup>110</sup>. La acetazolamida es el tratamiento de elección en las ataxias episódicas, siendo especialmente efectivo en la disminución del número de ataques en la ataxia episódica tipo 2. La 4-aminopiridina puede reducir el número de ataques en pacientes con ataxia episódica tipo 1 y, también, mejorar los síntomas del nistagmo vertical hacia abajo<sup>111</sup>.

Hay diversos tratamientos que están disponibles para algunos tipos de ataxias recesivas, con resultados variables. La coenzima Q10 podría ser beneficiosa cuando

se evidencia una deficiencia de la misma (mutaciones en *ADCK3*)<sup>112</sup>. El ácido quenodesoxicólico se utiliza en la xantomatosis cerebrotendinosa. Mientras que la reposición con vitamina E en la ataxia asociada al déficit de la vitamina E (mutaciones *TTPA*) podría contribuir a una mejoría de los síntomas de la misma<sup>113</sup>.



## **HIPÓTESIS**

---



## **5. HIPÓTESIS**

---

Las hipótesis formuladas son:

- 1) La mayoría de las ataxias cerebelosas progresivas (infantiles y del adulto) tienen una base genética. El espectro de mutaciones responsables de este síndrome es extraordinariamente variable, de modo que innumerables mutaciones en innumerables genes causan un mismo fenotipo.
- 2) Las técnicas de secuenciación masiva son una herramienta clínica útil en la práctica clínica para el diagnóstico genético de las ataxias cerebelosas.
- 3) El cribado sistemático de ataxias por expansiones dinámicas pentanucleotídicas o hexanucleotídicas contribuirá a establecer la frecuencia de estas mutaciones en nuestra área geográfica, así como a una mejor caracterización fenotípica.
- 4) Conocer el espectro fenotípico y su correlación genotípica permite mejorar los algoritmos de diagnóstico clínico de un modo coste-efectivo. Las variaciones regionales en la frecuencia de mutaciones permite adaptar este tipo de algoritmos a diferentes áreas geográficas, como la Comunidad Valenciana.



## **OBJETIVOS**

---



## **6. OBJETIVOS**

---

Estudiar desde un punto de vista clínico y genético una serie de pacientes con ataxia cerebelosa hereditaria en seguimiento en la Unidad de Ataxias y Paraparesias espásticas del Hospital Universitari i Politècnic La Fe, de referencia a nivel nacional del sistema CSUR (Centros, Servicios y Unidades de Referencias). Objetivos particulares:

1. Analizar mediante técnicas de secuenciación masiva (exoma clínico) el conjunto de pacientes con ataxia cerebelosa sin diagnóstico tras estudio exhaustivo de etiologías adquiridas y genéticas más frecuentes.
2. Caracterizar el espectro fenotípico de los genes más frecuentemente mutados en nuestra serie, así como realizar estudios de correlación fenotipo-genotipo.
3. Realizar un cribado sistemático de la ataxia espinocerebelosa tipo 36 (SCA36) para conocer la prevalencia y espectro fenotípico de la misma en nuestra área geográfica.
4. Definir el algoritmo diagnóstico más apropiado para orientar los estudios genéticos de los pacientes afectos de ataxia cerebelosa hereditaria en la Comunidad Valenciana.



## **MATERIAL Y MÉTODOS**

---



## **7. MATERIAL Y MÉTODOS**

---

### **7.1 SELECCIÓN DE PACIENTES**

Se trata de un estudio observacional, analítico, transversal y unicéntrico. Los pacientes objeto de estudio son casos en seguimiento en la Unidad de Ataxias y Paraparesias espásticas del servicio de Neurología y estudiados en la Unidad de Genética del Hospital Universitari i Politècnic La Fe desde enero de 2012 hasta septiembre de 2022. Se han incluido casos índice familiares o esporádicos con un síndrome cerebeloso progresivo no congénito (inicio a partir de los 2 años)<sup>51,114</sup> en los que se hayan excluido pertinentemente las etiologías adquiridas<sup>101,115</sup>, tabla 7.

<i>Estudio básico</i>	Hemograma Bioquímica general: glucosa, electrolitos, función renal, función hepática Perfil lipídico (Colesterol total, LDL, HDL, TG) TSH Vitamina B9, B12, E Cobre sérico, ceruloplasmina Serologías: VIH, VHB, VHC, sífilis Ac anti-GAD65 Ac anti-transglutaminasa Ac anti-tiroides, Ac anti-peroxidasa RM cerebral
<i>Estudio avanzado, casos seleccionados</i>	Ac onco-neuronales, Ac IgLon5 Ac antinucleares, Ac Sjögren (SSA, SSB) Inmunofijación suero y orina Punción lumbar: citobioquímico, bandas oligoclonales, estudio microbiológico

**Tabla 7.** Estudios complementarios en ataxias adquiridas. Ac: anticuerpos, LDL: Low Density Lipoprotein, HDL: High-Density lipoprotein, TG: triglicéridos. VHB: virus hepatitis B, VHC: virus hepatitis C, GAD65: glutamato descarboxilasa isoforma 65.

No se han incluido en este trabajo aquellos síndromes complejos en los que la ataxia no era una manifestación predominante.

## 7.2 EVALUACIÓN CLÍNICA

La evaluación clínica se realizó de forma sistemática durante las visitas de seguimiento habitual de los pacientes en consultas externas de Neurología, recogiéndose la historia familiar, variables demográficas y variables clínicas.

- *Historia familiar:* los pacientes se clasificaron según el patrón de presentación en autosómico dominante (AD) si árbol familiar con evidencia de transmisión vertical<sup>116</sup>, autosómico recesivo (AR) si afectación de al menos dos hermanos o historia de consanguinidad sin la existencia de casos en otras generaciones<sup>103</sup> y ligado a X si existía afectación de varones con transmisión materna.
- *Variables demográficas:* sexo, fecha de nacimiento, lugar de nacimiento
- *Variables clínicas:* edad de inicio de la clínica, edad al examen, síntoma de inicio, otras manifestaciones neurológicas, manifestaciones sistémicas, escala SARA (ver apéndice) y valoración funcional con la escala “ataxia disability scale” o escala de Klockgether<sup>43</sup>. Asimismo, se evaluó clínicamente a los familiares a riesgo disponibles, clasificándose en afectos o asintomáticos. Se

clásico como estatus pre-clínico o presintomático si la puntuación en escala SARA fue inferior a 3.

### **7.3 EXPLORACIONES COMPLEMENTARIAS**

En todos los pacientes se realizaron estudios bioquímicos básicos relacionados con ataxias hereditarias (alfa-fetoproteína, albúmina, inmunoglobulinas, vitamina E). En casos seleccionados, con fenotipo sugestivo se solicitaron estudios bioquímicos adicionales (lactato, colesterol, ácidos grasos de cadena muy larga, actividades enzimáticas lisosomales, aminoácidos en plasma o ácidos orgánicos en orina).

Se revisaron las RM cerebrales realizadas en la práctica clínica habitual. Por protocolo se obtienen en un equipo de 1.5-Teslas Siemens, Avanto (Erlangen, Alemania) secuencias ponderadas en T1, T2, FLAIR (Fluid-Attenuated Inversion Recovery), DWI (Diffusion Weighted Imaging) y ADC (Apparent Diffusion Coefficient). En casos seleccionados que asociaban signos de parkinsonismo (temblor de reposo, bradicinesia, rigidez) se realizó estudio de la vía nigroestriada presináptica mediante SPECT con 123I-lofluopano o DaTSCAN. Se utilizó el programa DaTQUANT version 2.000 Software application (GE Healthcare, Little Chalfont, UK) para analizar los resultados obtenidos de forma semi-cuantitativa. Los volúmenes de interés en putamen y caudado derecho e izquierdo se seleccionaron de forma semi-automática en el plano transaxial. Para el cálculo del *striatum to background ratios* (SBR), la captación del radiotrazador de ganglios basales se comparó con una región de referencia en corteza cerebral. Los resultados del SBR se compararon con una base de datos de controles sanos (z-score).

Dentro de la práctica clínica habitual los pacientes con manifestaciones sugestivas de neuropatía se estudiaron mediante los pertinentes exámenes neurofisiológicos: estudios de conducción nerviosa, electromiografía (EMG) y/o potenciales evocados somatosensoriales, así como EMG y/o biopsia muscular en pacientes con sospecha de miopatía.

## **7.4 ESTUDIOS GENÉTICOS**

Los análisis genéticos se realizaron en la Unidad de Genética del Hospital Universitari i Politècnic La Fe. El ADN se extrajo de muestras de 10 mL de sangre periférica en EDTA (ácido etilendiaminotetraacético) mediante los métodos estandarizados tras la firma del consentimiento informado para estudio genético (ver apéndice).

En todos los pacientes se excluyeron mediante PCR convencional expansiones trinucleotídicas en *ATXN1* (SCA1), *ATXN2* (SCA2), *ATXN3* (SCA3), *CACNA1A* (SCA6), *ATXN7* (SCA7), *ATXN8* (SCA8), *PPP2R2B* (SCA12), *TBP* (SCA17), *ATN1* (DRPLA) y *FXN* (ataxia de Friedreich). En algunos casos con fenotipo y patrón de herencia sugestivo se estudio de forma directa el gen causal (expansiones CANVAS y FXTAS, otros).

### **7.4.1 Estudios de secuenciación genética masiva: exoma clínico.**

Los probandos sin diagnóstico tras estudio de expansiones dinámicas se estudiaron mediante el exoma clínico, *Targeted-Exome Sequencing Panel* (Agilent Technologies, Santa Clara, CA) para Illumina (San Diego, CA) que comprende 184 genes causales

de ataxia y trastornos relacionados. En los casos con fenotipo de ataxia episódica (episodios recurrentes de ataxia de duración variable)<sup>110</sup>, se investigaron inicialmente los genes causales de AE, ampliéndose el estudio a todos los genes de ataxia cerebelosa en los casos que no se identificara mutación causal. Casos seleccionados fueron estudiados en el Centro de Investigación Príncipe Felipe (CIPF), en el laboratorio del Grupo de Enfermedades Raras Neurodegenerativas, en el marco de proyectos de investigación en los que participa la Unidad de Ataxias y Paraparesias espásticas del Hospital La Fe. En estos casos se aplicó el panel de genes relacionados con trastornos del movimiento MovDisord-498 previamente reportado en otros trabajos<sup>117</sup>.

La preparación de librerías genéticas se realizó mediante el protocolo Bravo NGS SureSelectQXT Automated Target Enrichment (Agilent Technologies) para Illumina Multiplexed Sequencing. Las librerías seleccionadas se secuenciaron en el secuenciador NextSeq500 (Illumina) en un modo de lectura desde ambos extremos para generar así una cobertura media mínima de 100x. Las secuencias obtenidas se alinearon contra la secuencia del genoma de referencia (GRCh37/hg19) para así realizar la detección de variantes con la plataforma Alissa Clinical Informatics (Agilent Technologies). Las variantes se filtraron inicialmente según un valor de frecuencia alélica (MAF) ≤0.02, aunque solo se consideraron candidatas las variantes con una MAF ≤0.01. La frecuencia de las variantes se evaluó con la base de datos Exome Aggregation Consortium database/gnomAD ([gnomAD.broadinstitute.org](http://gnomAD.broadinstitute.org)) y 1000 genomas ([internationalgenome.org](http://internationalgenome.org)). Las variantes se clasificaron según las guías del ACMG<sup>92</sup>. Para la clasificación se consultaron la anotación de las variantes en la base de datos The single polymorphism database (dbSNP, [ncbi.nlm.nih.gov/SNP/](http://ncbi.nlm.nih.gov/SNP/)) y su

descripción en ClinVar ([ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/)), Varsome ([varsome.com/](https://varsome.com/)), Human Gene Mutation Database ([hgmd.cf.ac.uk](https://www.hgmd.cf.ac.uk)) y Leiden Open Variation Database, LOVD ([lovd.nl/](https://lovd.nl/)). La conservación de la base aminoacídica se analizó con la aplicación Genomic Evolutionary Rate Profiling (GERP)<sup>118</sup>. Los análisis *in silico* se realizaron con las herramientas predictivas Protein Variation Effect Analyzer (PROVEAN)<sup>119</sup>, Sorting Intolerant from Tolerant (SIFT)<sup>120</sup>, Polyphen<sup>121</sup> and MutationTaster<sup>122</sup>. Todas las variantes patogénicas/probablemente patogénicas se confirmaron con Sanger. Se realizó la segregación de las variantes con familiares a riesgo disponibles siempre que fue posible. En todos los casos se comprobó la correlación genotipo-fenotipo. En todos los casos de AE sin diagnóstico se realizó estudio de variaciones en el número de copias (CNVs) con Multiple Ligation-dependent probe amplification analysis (MLPA; MRC Holland, Amsterdam, the Netherlands) del gen CACNA1A con la SALSA P279. En los casos con una única variante patológica/probablemente patológica en gen recesivo y fenotipo compatible se analizaron las CNVs con MLPA o microarray citogenómico (aCGH, CytoScan XON array, ThermoFisher, Waltham, MA) cuando no existiese disponibilidad comercial de kit MLPA para el gen objeto de estudio. Para el análisis de MLPA y microarrays se utilizaron respectivamente el Coffalyser Software y el Chromosome Analysis Suite.

#### **7.4.2 Cribado de ataxia espinocerebelosa 36 (SCA36)**

El cribado de SCA36 se realizó en casos sin diagnóstico y presentación AD o esporádica. La expansión GGCCTG en el gen NOP56 se analizó inicialmente con PCR convencional según los métodos estándar [secuencia directa del cebador: TTTCGGCCTGCGTTCGGG (marcado con fluorescencia) e inversa AGCCGACCGCGTGCTCAA; temperatura de hibridación: 60°C]. Posteriormente se

realizó Repeat-primed PCR (RP-PCR) según lo descrito previamente<sup>78</sup>. Las moléculas obtenidas con PCR se separaron con ABI Prism 3130 Analyzer (Applied Biosystems, Vernon Hills, Illinois, USA) y fueron analizados con GeneMapper software (Applied Biosystems, Vernon Hills, Illinois, USA). Se consideró resultado positivo la combinación de un pico único en el electroferograma de la PCR convencional y el patrón en sierra clásico en la RP-PCR.

**3º ANÁLISIS DE OTRAS EXPANSIONES:  
SCA36, CANVAS, FXTAS**

**2º EXOMA CLÍNICO GENES ATAXIA CEREBELOSA**  
Análisis variaciones en número de copias con MLPA o aCGH

**1º ANÁLISIS EXPANSIONES TRINUCLEOTÍDICAS**

SCA1, SCA2, SCA3, SCA6, SCA7, SCA8, SCA12, SCA17, DRPLA, FRDA

**Figura 6.** Estrategia diagnóstica en pacientes con ataxia cerebelosa hereditaria en el Hospital Universitari i Politècnic La Fe.

## 7.5 ESTADÍSTICA

Se realizó análisis descriptivo de los hallazgos clínicos y paraclínicos, comparando las diferencias entre pacientes en los que se alcanzó el diagnóstico y aquellos no diagnosticados. Se utilizó el programa IBM SPSS Statistics para Mac versión 27.0.1. Las variables categóricas se expresaron en valor absoluto y porcentajes y se compararon mediante test de Fisher o de chi-cuadrado, según correspondiese. La distribución de las variables continuas se evaluó con el test de Shapiro-Wilk en el caso de  $n < 50$  o Kolmogorov-Smirnov si  $n > 50$ , utilizándose test paramétricos o no

paramétricos en función del resultado. En todos los análisis se consideró p valor <0.05 como estadísticamente significativo.

## **7.5 ASPECTOS ÉTICOS**

El estudio se realizó siguiendo las recomendaciones de la declaración de Helsinki. Fue aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital Universitari i Politècnic La Fe (número de registro 2022-388-1). Todos los pacientes y los familiares a riesgo estudiados dieron su consentimiento por escrito para la recogida y análisis de datos clínicos y genéticos en el marco de esta investigación (ver apéndice). Antes y después de la realización de los estudios genéticos se ofreció asesoramiento genético. Todos aquellos pacientes cuyas imágenes o grabaciones fueron utilizadas para publicaciones científicas firmaron también un consentimiento específico para tal fin (ver apéndice).

## **RESULTADOS**

---



## **8. RESULTADOS**

---

En esta sección se resumen los resultados de los trabajos publicados que integran la presente tesis doctoral. En total se han valorado 297 familias (tabla 8), de las cuales 99 (33.3%) corresponden a ataxias por expansiones trinucleotídicas, siendo la forma dominante más frecuente SCA3 (10.8%) y la ataxia de Friedreich la recesiva más frecuente (8.1%). En pacientes con fenotipo sugestivo se estudió de forma dirigida las expansiones causales de FXTAS y CANVAS, identificándose 4 y 5 casos respectivamente.

Se realizó exoma clínico a un total de 130 casos índice, siendo la forma de presentación AD en 37 (29%), AR en 28 (21%) y esporádica en 65 (50%). Se alcanzó el diagnóstico definitivo en 50 familias (39%). En total, se han identificado 22 variantes novedosas patogénicas o probablemente patogénicas según los criterios de la ACMG. El rendimiento diagnóstico fue mayor en casos AR (18/28, 64%), que en esporádicos (23/65%) o AD (9/37, 24%). En la mayor parte de casos esporádicos se identificaron etiologías AR (11 *SPG7*, 5 *SETX*, 2 *POLR3A*, 1 *CAPN*, 1 *SPG11*). Globalmente, el diagnóstico molecular más frecuente fue la ataxia por mutación en *SPG7* (n=15), seguido de *SETX* (n=6), *CACNA1A* (n=5), *POLR3A* (n=4) y *SYNE1* (n=3). La mayor parte de los casos de *SPG7* en nuestra serie fueron varones (n=19, 90.5%) y la edad media de inicio fue de 37.4 años, rango 15-64. c (n=12, 57%), seguido de paraparesia espástica (n=4, 19%) y fenotipos complejos (n=4, 19%). En los casos con fenotipos complejos se identificaron manifestaciones mitocondriales como miopatía y oftalmoplejía externa progresiva y extrapiramidales como distonía<sup>123</sup>. Un paciente debutó a los 17 años con distonía multifocal de predominio cráneo-cervical. En la RM

cerebral se identificaba leve atrofia cerebelosa e hiperintensidad de pedúnculos cerebrales. Con la progresión se hicieron evidentes signos cerebelosos y piramidales<sup>124</sup>. La variante más frecuente fue p.Ala510Val (27/42 alelos, 64.3%). Los casos heterocigotos compuestos presentaban edad de inicio más precoz ( $p < 0.05$ ) y mayor frecuencia de fenotipos complejos ( $p < 0.05$ ) que los homocigotos<sup>123</sup>. Por otra parte, la aplicación de NGS ha permitido el diagnóstico de formas raras de ataxias con afectación de 1 o 2 familias (*KCND3*, *KIF1C*, *AFG3L2*, *ANO10*, *CAPN1*, *CWF19L1*, *ITPR1*, *KCNA1*, *OPA1*, *PNPLA6*, *SPG11*, *SPTBN2*, *TPP1*).

El cribado sistemático de SCA36 en nuestra población ha revelado que es la segunda forma más frecuente de ataxia cerebelosa hereditaria AD ( $n=16$ , 5.4%). La mayoría eran originarios de la misma región geográfica (La Costera, Comunidad Valenciana), excepto dos pedigríos originarios de las ciudades de Valencia y Murcia. La edad media de inicio fue de 52.5 años (rango 44-67). Todos los casos presentaban un fenotipo de ataxia cerebelosa progresiva con manifestaciones extracerebelosas frecuentes. Se identificó hipoacusia neurosensorial en 68%, ptosis y/o limitación de la mirada en 64% y piramidalismo en el 46%. Por el contrario, se identificaron en menor medida fasciculaciones lingüales, en orbiculares oculi y miembros (25%). Tres pacientes desarrollaron distonía cervical y 2 distonía en miembros superiores. En 3 casos se detectaron signos de parkinsonismo (bradicinesia y temblor de reposo). La denervación dopaminérgica se confirmó mediante DaTSCAN® y análisis DaTQUANT. Los portadores asintomáticos eran más jóvenes que los portadores pre-atáxicos (SARA <3). Dos pacientes pre-atáxicos referían leve inestabilidad y uno de ellos hipoacusia neurosensorial y mioquimias orbiculares persistentes. Se realizó análisis

de haplotipos que demostró la existencia de un haplotipo compartido de 0.65 Mb en todas las familias excepto en una familia originaria de la ciudad de Valencia.

Subtipo de ataxia	Casos índice (%)
SCA3	32 (10.8)
Friedreich ataxia	24 (8.1)
SCA36	16 (5.4)
<i>SPG7</i>	15 (5.1)
SCA2	14 (4.7)
SCA8	14 (4.7)
SCA6	8 (2.7)
<i>SETX</i>	6 (2.1)
<i>CACNA1A</i>	5 (1.7)
CANVAS	5 (1.7)
<i>POLR3A</i>	4 (1.3)
FXTAS	4 (1.3)
<i>SYNE1</i>	3 (1)
SCA7	3 (1)
SCA17	2 (0.7)
<i>KCND3</i>	2 (0.7)
<i>KIF1C</i>	2 (0.7)
<i>CYP27A1A</i>	2 (0.7)
DRPLA	2 (0.7)
<i>AFG3L2</i>	1 (0.3)
<i>ANO1</i>	1 (0.3)
<i>CAPN1</i>	1 (0.3)
<i>CWF19L1</i>	1 (0.3)
<i>ITPR1</i>	1 (0.3)
<i>KCNA1</i>	1 (0.3)
<i>OPA1</i>	1 (0.3)
<i>PNPLA6</i>	1 (0.3)
<i>SPG11</i>	1 (0.3)
<i>SPTBN2</i>	1 (0.3)
<i>TPP1</i>	1 (0.3)
Undiagnosed	123 (41.4)
TOTAL	297

**Tabla 8.** Frecuencia global de las distintas formas de ataxia hereditaria identificadas en nuestra población.



## **Trabajo 1:**

*Diagnostic efficacy of genetic studies in a series of hereditary cerebellar ataxias in Eastern Spain.*

Baviera-Muñoz R, Carretero-Vilarroig L, Vázquez-Costa JF, Morata C, Campins-Romeu M, Muelas N, Sastre-Bataller I, Martínez-Torres I, Pérez-García J, Sivera R, Sevilla T, Vilchez JJ, Jaijo T, Espinós C, Millán JM, Bataller L, Aller E. Neurol Genet Dec 2022, 8(6) e200038; doi: 10.1212/NXG.0000000000200038



# Diagnostic Efficacy of Genetic Studies in a Series of Hereditary Cerebellar Ataxias in Eastern Spain

Raquel Baviera-Muñoz, MD, Lidón Carretero-Vilarroig, MSc, Juan Francisco Vázquez-Costa, MD, Carlos Morata-Martínez, MD, Marina Campins-Romeu, MD, Nuria Muelas, MD, Isabel Sastre-Bataller, MD, Irene Martínez-Torres, MD, Julia Pérez-García, BSN, Rafael Sivera, MD, Teresa Sevilla, MD, Juan J. Vilchez, MD, Teresa Jaijo, PhD, Carmen Espinós, PhD, Jose M. Millán, PhD, Luis Bataller, MD, and Elena Aller, PhD

**Correspondence**  
Dr. Bataller  
l\_bataller@yahoo.com

*Neurol Genet* 2022;8:e200038. doi:10.1212/NXG.000000000200038

## Abstract

### Background and Objectives

To determine the diagnostic efficacy of clinical exome-targeted sequencing (CES) and spinocerebellar atrophy 36 (SCA36) screening in a real-life cohort of patients with cerebellar ataxia (CA) from Eastern Spain.

### Methods

A total of 130 unrelated patients with CA, negative for common trinucleotide repeat expansions (SCA1, SCA2, SCA3, SCA6, SCA7, SCA8, SCA12, SCA17, dentatorubral pallidoluysian atrophy [DRPLA], and Friedreich ataxia), were studied with CES. Bioinformatic and genotype-phenotype analyses were performed to assess the pathogenicity of the variants encountered. Copy number variants were analyzed when appropriate. In undiagnosed dominant and sporadic cases, repeat primed PCR was used to screen for the presence of a repeat expansion in the *NOP56* gene.

### Results

CES identified pathogenic or likely pathogenic variants in 50 families (39%), including 23 novel variants. Overall, there was a high genetic heterogeneity, and the most frequent genetic diagnosis was *SPG7* ( $n = 15$ ), followed by *SETX* ( $n = 6$ ), *CACNA1A* ( $n = 5$ ), *POLR3A* ( $n = 4$ ), and *SYNE1* ( $n = 3$ ). In addition, 17 families displayed likely pathogenic/pathogenic variants in 14 different genes: *KCND3* ( $n = 2$ ), *KIF1C* ( $n = 2$ ), *CYP27A1A* ( $n = 2$ ), *AFG3L2* ( $n = 1$ ), *ANO10* ( $n = 1$ ), *CAPN1* ( $n = 1$ ), *CWF19L1* ( $n = 1$ ), *ITPR1* ( $n = 1$ ), *KCNA1* ( $n = 1$ ), *OPA1* ( $n = 1$ ), *PNPLA6* ( $n = 1$ ), *SPG11* ( $n = 1$ ), *SPTBN2* ( $n = 1$ ), and *TPP1* ( $n = 1$ ). Twenty-two novel variants were characterized. SCA36 was diagnosed in 11 families, all with autosomal dominant (AD) presentation. SCA36 screening increased the total diagnostic rate to 47% ( $n = 61/130$ ). Ultimately, undiagnosed patients showed delayed age at onset ( $p < 0.05$ ) and were more frequently sporadic.

### Discussion

Our study provides insight into the genetic landscape of CA in Eastern Spain. Although CES was an effective approach to capture genetic heterogeneity, most patients remained undiagnosed. SCA36 was found to be a relatively frequent form and, therefore, should be tested prior to CES in familial AD presentations in particular geographical regions.

From the Neuromuscular Diseases Unit (R.B.-M., J.F.V.-C., C.M.-M., M.C.-R., N.M., I.S.-B., I.M.-T., J.P.-G., R.S., T.S., L.B.), Neurology Department, Hospital Universitari i Politècnic La Fe and Neuromuscular Reference Centre, ERN-EURO-NMD; Neuromuscular and Ataxias Research Group, Instituto de Investigación Sanitaria La Fe (R.B.-M., L.C.-V., J.F.V.-C., N.M., R.S., T.S., J.J.V., L.B.); Rare Diseases Joint Unit (R.B.-M., L.C.-V., J.F.V.-C., N.M., I.S.-B., I.M.-T., T.S., J.J.V., T.J., C.E., J.M.M., L.B., E.A.), CIPF-IIS La Fe; Cell Biology Department (L.C.-V.), University of Valencia; Department of Medicine (J.F.V.-C., N.M., T.S., L.B.), University of Valencia; Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras (CIBERER) (J.F.V.-C., N.M., R.S., T.S., J.J.V., T.J., J.M.M., L.B., E.A.); Department of Medicine (R.S.), University CEU Cardenal Herrera; Department of Genetics (T.J., E.A.), Hospital Universitari i Politècnic La Fe; Celular (T.J., J.M.M., E.A.), Molecular and Genomics Biomedicine Group, Instituto de Investigación Sanitaria La Fe; and Laboratory of Rare Neurodegenerative Diseases (C.E.), Centro de Investigación Príncipe Felipe (CIPF), Valencia, Spain.

Go to [Neurology.org/NG](https://www.neurology.org) for full disclosures. Funding information is provided at the end of the article.

The Article Processing Charge was funded by University of Valencia.

This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivatives License 4.0 (CC BY-NC-ND), which permits downloading and sharing the work provided it is properly cited. The work cannot be changed in any way or used commercially without permission from the journal.

## Glossary

aCGH = arrayCGH; AD = autosomal dominant; AOA2 = ataxia with oculomotor apraxia type 2; AR = autosomal recessive; CA = cerebellar ataxia; CES = clinical exome-targeted sequencing; CNV = copy number variant; MLPA = multiple ligation-dependent probe amplification analysis; NGS = next-generation sequencing; RP-PCR = repeat primed PCR; SCA = spinocerebellar ataxia.

Hereditary cerebellar ataxias (CAs) are highly heterogeneous disorders frequently associated with additional neurologic and extraneurologic manifestations.<sup>1,2</sup> The genetic diagnosis in the clinical practice is challenging. Nearly 200 causal genes have been associated with ataxia,<sup>3,5</sup> and different technologies are needed to cover the full mutational spectrum: dynamic expansions, point mutations, and small and large duplications, insertions, or deletions. Sanger sequencing of candidate genes has been superseded in recent years by next-generation sequencing (NGS) techniques.<sup>6,7</sup> However, conventional NGS is not technically capable of detecting tandem repeat expansions, the most common sequence variant type in adult-onset CA.<sup>1</sup> Furthermore, ethnic and geographical background should be considered in diagnostic algorithms because some SCA subtypes are more common in certain populations.<sup>8,9</sup> Accordingly, spinocerebellar ataxia 36 (SCA36) was reported as the most frequent hereditary CA in the northwest regions of Spain.<sup>10</sup>

In this study, the authors aimed to analyze the diagnostic yield of clinical exome-targeted sequencing (CES) in our cohort of patients with CA. In addition, the authors screened for SCA36 in undiagnosed dominant and sporadic cases. This study may help clarify the most appropriate diagnostic algorithm in our population.

## Methods

This is a retrospective descriptive study which includes clinical and genetic data collected from January 2012 to October 2021 at Hospital Universitari i Politècnic La Fe, Valencia (Spain), a national referral center for Hereditary Cerebellar Ataxia and Spastic Paraparesis. This work describes the experience of a Spanish Ataxia Unit and is influenced by local standards of care.

### Standard Protocol Approvals, Registrations, and Patient Consents

This study was approved by the institutional ethics committee at Health Research Institute Hospital La Fe (PI18/00147; PI2022-388-1). Informed consent was obtained before the genetic analysis. Genetic counseling was offered prior to and after the genetic results.

### Patient Recruitment

Between January 2012 and October 2021, a total of 234 index cases with familial or sporadic noncongenital CA were recruited from the Neurology and Genetics Department at Hospital Universitari I Politècnic La Fe. All included patients had familial or sporadic noncongenital CA,<sup>11</sup> with onset after 2 years. In all cases, acquired etiologies were fully excluded.

Common trinucleotide dynamic expansions in ATXN1 (SCA1), ATXN2 (SCA2), ATXN3 (SCA3), CACNA1A (SCA6), ATXN7 (SCA7), ATXN8 (SCA8), PPP2R2B (SCA12), TBP (SCA17), ATN1 (DRPLA), and FXN (Friedreich ataxia) were previously ruled out in all patients by PCR, followed by capillary electrophoresis. In addition, mutations in specific genes (*FMR1* and *RFC1*) were studied in patients with a highly suggestive phenotype. A total of 31 SCA3, 23 Friedreich ataxia, 14 SCA2, 14 SCA8, 7 SCA6, 3 SCA7, 2 SCA17, 1 DRPLA, 5 cerebellar ataxia neuropathy and vestibular areflexia syndrome, and 4 fragile X-associated tremor/ataxia syndrome families were identified and excluded from further analysis. A total of 172 patients from 130 unrelated families were ultimately selected to determine the diagnostic efficacy of CES and SCA36 screening in a real-life CA cohort.

### Clinical Assessments

All patients were examined by consultant neurologists (J.J.V., L.B., N.M., and R.B.-M.) in clinical settings during their follow-up visits. Demographic, familial, age at onset, and phenotypic information was systematically collected in a prospective database. Dominant transmission was considered if vertical inheritance.<sup>12</sup> Recessive inheritance was assumed if consanguinity or family history of at least 2 affected siblings, with no cases in other generations. In all, a biological workup including albumin, immunoglobulin, cholesterol, triglycerides,  $\alpha$ -fetoprotein, and vitamin E was routinely carried out. Additional metabolic testing (lactate, cholestanol, very long chain fatty acids, enzymatic activity assays, plasma amino acids, or urine organic acids) were performed based on clinical presumption. Brain MRI, nerve conduction studies, EMG, vestibular function testing, and muscle biopsy were performed and reviewed whenever needed.

### Genetic Procedures

Genomic DNA was extracted from peripheral blood samples following standard procedures. A total of 130 probands from unrelated families were studied with a singleton Targeted-Exome Sequencing Panel (Agilent Technologies, Santa Clara, CA) for Illumina (San Diego, CA), in which 184 genes involved in CA and related forms were studied (additional data are provided in eAppendix 1, [links.lww.com/NXG/A554](https://links.lww.com/NXG/A554)). Family ATX-1 and ATX-27 were studied with the MovDisord-498 panel previously reported.<sup>13</sup> Genes related to episodic ataxia were initially studied in cases with prominent and recurrent spells of ataxia and mild CA at interictal examination. If negative, all genes involved in CA were analyzed.

The library preparation was carried out according to the Bravo NGS SureSelectQXT Automated Target Enrichment protocol

(Agilent Technologies) for Illumina Multiplexed Sequencing. The captured libraries were sequenced on NextSeq500 (Illumina) in a paired-end mode to generate a minimum median raw target coverage of 100 $\times$ . The obtained sequences were aligned against the genome reference sequence (GRCh37/hg19) to perform the calling of variants with the Alissa Clinical Informatics Platform (Agilent Technologies). The annotated variants were initially filtered according to a minor allele frequency value  $\leq 0.02$ , but only variants with a MAF  $\leq 0.01$  were considered. The frequency of the variants was explored in the Exome Aggregation Consortium database/gnomAD ([gnomad.broadinstitute.org/](http://gnomad.broadinstitute.org/)) and 1,000 genomes ([internationalgenome.org/](http://internationalgenome.org/)). Filtered DNA variants were classified according to the American College of Medical Genetics guidelines.<sup>14</sup> To classify the variants, the authors consulted their annotation in the single nucleotide polymorphism database (dbSNP, [ncbi.nlm.nih.gov/SNP/](http://ncbi.nlm.nih.gov/SNP/)) and their description in ClinVar ([ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/](http://ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/)), varsome ([varsome.com/](http://varsome.com/)), Human Gene Mutation Database ([hgmd.cf.ac.uk](http://hgmd.cf.ac.uk)), and Leiden Open Variation Database ([lovd.nl/](http://lovd.nl/)). In addition, base conservation was assessed with Genomic Evolutionary Rate Profiling,<sup>15</sup> and in silico analysis were performed with the predictive tools: Protein Variation Effect Analyzer,<sup>16</sup> Sorting Intolerant from Tolerant,<sup>17</sup> Polyphen,<sup>18</sup> and MutationTaster.<sup>19</sup> All the likely pathogenic/pathogenic point mutations detected were confirmed by Sanger sequencing and segregation of the variant in available family members was done when possible. Matching of phenotypic presentation to molecular diagnoses was evaluated in all cases. The presence of copy number variants (CNVs) was investigated by multiple ligation-dependent probe amplification analysis (MLPA; MRC Holland, Amsterdam, the Netherlands) and arrayCGH (aCGH) when appropriate. In all episodic ataxia cases undiagnosed after CES, CACNA1A CNVs were analyzed using SALSA P279. Furthermore, in the context of a compatible phenotype, CNVs in autosomal-recessive (AR) genes were analyzed if a single heterozygous pathogenic variant was detected by CES. Whenever MLPA commercial kit was not available for a gene, cytogenomic microarray (CytoScan XON array, ThermoFisher, Waltham, MA) was performed. Coffalyser software and Chromosome Analysis Suite were used to analyze MLPA and aCGH results, respectively.

#### **SCA36 Screening**

NOP56 GGCCTG hexanucleotide repeat expansion was firstly studied by conventional PCR following standard procedures [sequence forward primer: TTTCGGCCCTGCGTTCGGG (fluorescently labeled) and reverse: AGCCGACCGCGTGTCAA; annealing temperature: 60°C]. Then, repeat-primed PCR (RP-PCR) was carried out as previously described.<sup>20</sup> PCR products were separated on an ABI Prism 3,130 Analyzer (Applied Biosystems, Vernon Hills, IL), and data were examined using GeneMapper software (Applied Biosystems, Vernon Hills, IL). A positive result was defined by the combination of a single peak in the conventional PCR electropherogram plus the typical sawtooth pattern in the RP-PCR.

#### **Statistical Methods**

Descriptive analysis of clinical and paraclinical data was performed. In addition, differences in clinical features between

diagnosed and undiagnosed patients were studied. Statistical analysis was performed using IBM SPSS Statistics for Mac version 27.0.1. Distribution of continuous variables was assessed with the Kolmogorov-Smirnov test (\* $p < 0.05$ ), and subsequently, nonparametric tests were used for comparisons between groups. In all analysis,  $p < 0.05$  was considered statistically significant.

#### **Data Availability**

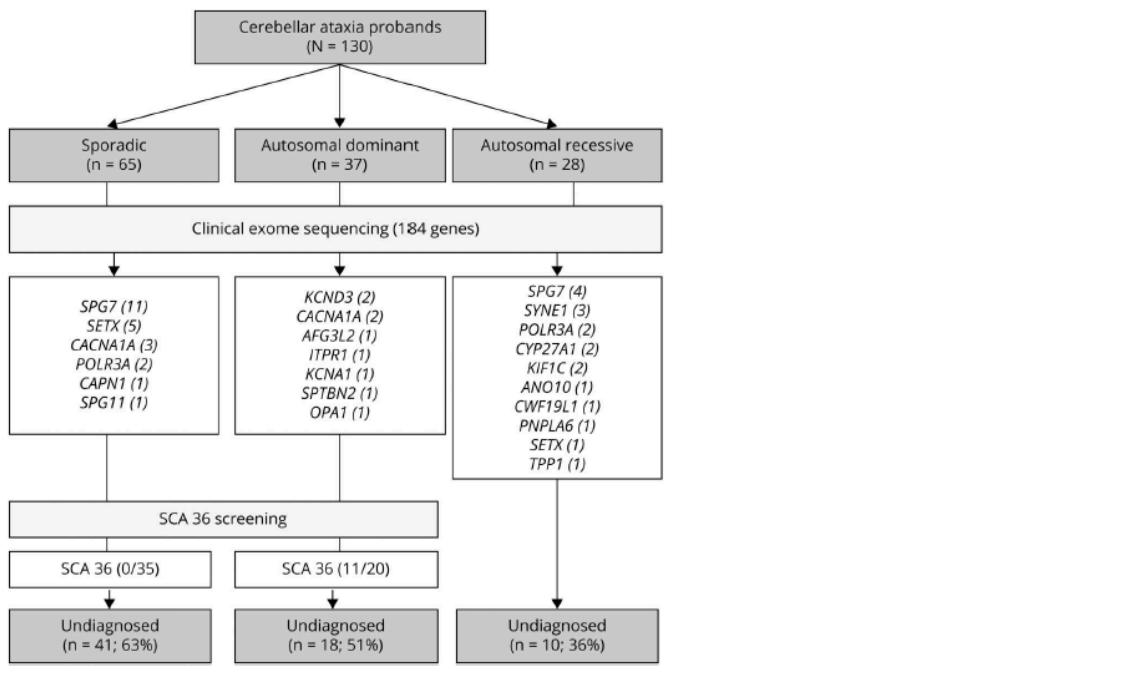
Anonymized data not published within this article will be made available by request from any qualified investigator.

## **Results**

Overall, 172 individuals from 130 unrelated families were studied by CES. Screening of NOP56 expansion was done in all undiagnosed families with a possible dominant disease and sporadic cases with a suggestive phenotype of hereditary CA (Figure 1 and eFigure 1, [links.lww.com/NXG/A555](http://links.lww.com/NXG/A555)). The mean age at onset was 39 years (range 2–83, SD  $\pm 19.5$ ). Ninety-four patients (55%) were male. Ethnicity was predominantly Caucasian ( $n = 125$ , 96%). Four families had Romani ancestry and one African. The pattern of disease presentation was autosomal dominant (AD) in 37 (29%), AR in 28 (21%), and sporadic (S) in 65 (50%). First-degree consanguinity was present in 16 families (12%), Table 1.

CES reached very probable or definite diagnoses in 50 families (39%). Clinical and genetic features of these patients are displayed in Table 2. Diagnosis yield was higher for AR presentation (18/28, 64%) than sporadic (23/65, 35%) or AD (9/37, 24%). Overall, the most frequently mutated gene was SPG7 in 15 of 130 families (12%), followed by SETX in 6 (5%), CACNA1A in 5 (4%), POLR3A in 4 (3%), and SYNE1 in 3 (2%). Sporadic cases harbored more frequently AR-associated genes (11 SPG7, 5 SETX, 2 POLR3A, 1 CAPN, and 1 SPG11) than AD genes (3 CACNA1A). Our population showed a high degree of genetic heterogeneity. Only 2 recurrent variants were identified: the SPG7 change c.1529C > T; p.(Ala510Val)<sup>21</sup> was found in 19 alleles and the POLR3A variant c.1909 + 22G > A<sup>22</sup> in 4 alleles. Seventeen families displayed likely pathogenic/pathogenic variants in 14 different genes: KCND3 ( $n = 2$ ), KIF1C ( $n = 2$ ), CYP27A1 ( $n = 2$ ), AFG3L2 ( $n = 1$ ), ANO10 ( $n = 1$ ), CAPN1 ( $n = 1$ ), CWF19L1 ( $n = 1$ ), ITPR1 ( $n = 1$ ), KCNA1 ( $n = 1$ ), OPA1 ( $n = 1$ ), PNPLA6 ( $n = 1$ ), SPG11 ( $n = 1$ ), SPTBN2 ( $n = 1$ ), and TPP1 ( $n = 1$ ). Twenty-two novel likely pathogenic/pathogenic variants were detected. Pathogenicity assessments are provided in Supplementary material, eTable 1 ([links.lww.com/NXG/A556](http://links.lww.com/NXG/A556)). Any gene with X-linked dominant or recessive transmission was identified. Copy number variations (CNVs) were studied by MLPA in CACNA1A, SALSA P279 ( $n = 7$ ); SPG7, SALSA P213 ( $n = 5$ ); ATM, SALSA P041, and P042 ( $n = 1$ ); SACS, SALSA P441 ( $n = 1$ ); and SETX, SALSA P316 ( $n = 1$ ), but any CNVs were identified. aCGH was performed only in family ATX-5, which carried a heterozygous pathogenic variant in POLR3A.

**Figure 1** Diagnostic Flowchart and Genetic Results of the Studied Patients



Clinical features were generally highly concordant with the genetic diagnosis. Spastic ataxia was the most frequent *SPG7* phenotype, but rarer clinical features such as progressive external ophthalmoplegia or dystonia were also identified.<sup>23</sup> Alpha-fetoprotein was elevated in 8 patients, and molecular analysis later confirmed that 7 of them harbored *SETX* (ataxia with oculomotor apraxia type 2, AOA2) biallelic pathogenic variants. AOA2 was a frequent cause of early-onset ataxia (mean age at onset 12.6 years, range 3–17). Patients displayed a phenotype consistent of ataxia, oculomotor apraxia, sensorimotor neuropathy, and elevated alpha-fetoprotein. All patients with

*POLR3A*-related ataxia were compound heterozygotes carriers of the intronic variant c.1909 + 22G > A.<sup>24</sup> Three novel pathogenic/likely pathogenic *POLR3A* variants were identified: c.685C > T; p.(Arg229Ter), c.1628A > C; p.(Gln542Pro) and c.3688G > A; p.(Asp1230Asn). Phenotypes were rather homogeneous across different families. All 6 cases displayed short stature and central sensory tracts impairment with normal nerve conduction studies. Dystonia and dystonic tremor were prominent features in 4/6. Abnormal dentition (5/6) and mild MRI white matter hyperintensities (5/6) were also characteristic hallmarks. In 2 monozygotic twin siblings (ATX-5) with a highly suggestive phenotype, Figure 2, a cytogenic microarray (Cyto-Scan XON array, ThermoFisher, Waltham, MA) detected a formerly reported deletion (arr[GRCh37] 10q22.3(79781064\_79782608) x 1) including exons 6, 7, and 8.<sup>25</sup> Recessive ataxia due to *SYNE1* was relatively common in our population (2%); the authors detected 2 novel pathogenic variants: c.368T > C; p.(Leu123Pro) and c.11253 + 2\_11253+4dupTAG in 2 families a pure CA. Two siblings who carried a known pathogenic variant c.21148C > T; p.(Arg7050Ter)<sup>26</sup> presented with early-onset ataxia and upper motor neuron involvement. The most severely affected brother had a history of congenital cataracts.

Channelopathies were the most frequent AD ataxia detected by NGS (9/13). *CACNA1A* was the channel gene most commonly mutated. Patients with episodic ataxia, belonging to the families ATX-39, ATX-41, ATX-42, and ATX-43, had loss of function variants while the family ATX-40's patients

**Table 1** Demographic Characteristics of the Cohort

Total no. of CA patients/families	172/130
Male/female	55%/45%
Caucasian	96%
Mean age at onset (y)	39 (range 2–83)
Consanguinity	12%
AD inheritance pattern	29% (37/130)
AR inheritance pattern	21% (28/130)
Sporadic	50% (65/130)

Abbreviations: AD = autosomal dominant; AR = autosomal recessive; CA = cerebellar ataxia.

**Table 2** Clinical and Genetic Characteristics of the Cases With a Genetically Confirmed Diagnosis

Family	ID	Family history	Gene	Variants	Age onset, y	Age examination, y	SARA scale	UMN	Nerve§	Extrapyramidal	Others
ATX-1	1	AR	<i>KIF1C</i>	NM_006612.5: hom c.608+1G>A; p.(?)	18	55	30	+++	+	Cervical and UL dystonia	Eyelid opening and oculomotor apraxia
ATX-1	2	AR	<i>KIF1C</i>	NM_006612.5: hom c.608+1G>A; p.(?)	15	56	35	+++	+	Cervical and UL dystonia	Eyelid opening and oculomotor apraxia
ATX-2	3	AR (C)	<i>KIF1C</i>	NM_006612.5: hom c.455A>G; p.(Glu152Gly)	15	67	29	+++	+	Head tremor	—
ATX-3	4	AR, (C)	<i>TPP1</i>	NM_000391.3: hom c.887-10A>G; p.(?) <sup>51</sup>	29	53	29	+++	—	Rest tremor	Late-onset seizures
ATX-4	5	S	<i>POLR3A</i>	NM_007055.4: c.1909+22G>A <sup>22</sup> , c.685C>T; p.(Arg229Ter)	11	61	23.5	+	—	Cervical and UL dystonia	Short stature, normal dentition.
											Spine atrophy, abnormal SEP
ATX-5	6	AR	<i>POLR3A</i>	NM_007055.4: c.1909+22G>A, arr[GRCh37] 10q22.3(79781064_79782608)x1 <sup>25</sup>	13	34	20	+	—	Generalized dystonia	Short stature, abnormal dentition, brain WMH, spine atrophy, delayed SEP<!--Para Run-on-->
ATX-5	7	AR	<i>POLR3A</i>	NM_007055.4: c.1909+22G>A, arr[GRCh37] 10q22.3(79781064_79782608)x1	13	34	18	+	—	Cervical and UL dystonia	Short stature, abnormal dentition
											Brain WMH, absent SEP
ATX-6	8	AR	<i>POLR3A</i>	NM_007055.4: c.1909+22G>A, c.1628A>C; p.(Gln543Pro)	23	60	16.5	+	—	—	Short stature, abnormal dentition
											Eyelid myokymia; delayed SEP
ATX-6	9	AR	<i>POLR3A</i>	NM_007055.4: c.1909+22G>A, c.1628A>C; p.(Gln543Pro)	13	68	5	—	—	Right UL dystonic tremor	Short stature, abnormal dentition
ATX-7	10	S	<i>POLR3A</i>	NM_007055.4: c.1909+22G>A, c.3688G>A; p.(Asp1230Asn)	20	34	13	++	—	—	Scoliosis, normal dentition.
ATX-8	11	AR, (C)	<i>ANO10</i>	NM_001204831.1: hom c.1009T>G; p.(Phe337Val) <sup>52</sup>	23	70	24	—	—	—	Laryngeal stridor
ATX-9	12	AR, (C)	<i>SYNE1</i>	NM_182961.4: hom c.368T>C; p.(Leu123Pro)	25	46	15	—	—	—	—
ATX-9	13	AR, (C)	<i>SYNE1</i>	NM_182961.4: hom c.368T>C; p.(Leu123Pro)	23	37	NA	—	—	—	—
ATX-10	14	AR, (C)	<i>SYNE1</i>	NM_182961.4: hom c.11253+2_11253+4dupTAG	40	44	NA	—	—	—	—
ATX-11	15	AR	<i>SYNE1</i>	NM_182961.4: hom c.21148C>T; p.(Arg7050Ter) <sup>26</sup>	18	33	21	++	—	—	—
ATX-11	16	AR	<i>SYNE1</i>	NM_182961.4: hom c.21148C>T; p.(Arg7050Ter)	8	24	10.5	++	—	—	Congenital cataracts
ATX-12	17*	AR, (C)	<i>SPG7</i>	NM_003119.3: hom c.233T>A; p.(Leu78Ter) <sup>53</sup>	20	50	NA	++	—	—	—
ATX-12	18*	AR, (C)	<i>SPG7</i>	NM_003119.3: hom c.233T>A; p.(Leu78Ter)	20	52	NA	+	—	—	—

Continued

**Table 2** Clinical and Genetic Characteristics of the Cases With a Genetically Confirmed Diagnosis (continued)

Family	ID	Family history	Gene	Variants	Age onset, y	Age examination, y	SARA scale	UMN	Nerve§	Extrapyramidal	Others
ATX-30	39	S	SETX	NM_015046.7: c.7163C>T; p.(Thr2388Met) [rs765418950], c.5895_5903delTGGAACAGG; p.(Gly1966_Gly1968del)	3	38	16.5	-	+	Cervical and upper limbs dystonia	Oculomotor apraxia, high AFP
ATX-31	40	S	SETX	NM_015046.7: c.6843-2A>G; p.(?), c.6133C>T; p.(Arg2045Ter) <sup>56</sup>	20	47	NA	-	+	Postural tremor	Oculomotor apraxia, high AFP
ATX-32	41	S	SETX	NM_015046.7: c.7385T>A; p.(Ile2462Asn), c.5224_5227delGATTinsAATC; p.(Asp1742_Tyr1743delinsAsnHis) <sup>57</sup>	5	29	NA	+	+	-	Oculomotor apraxia, high AFP
ATX-33	42	AR, (C)	CWF19L1	NM_018294.6: hom c.24-1G>C; p.(?)	25	51	NA	-	-	-	-
ATX-33	43	AR, (C)	CWF19L1	NM_018294.6: hom c.24-1G>C; p.(?)	35	54	NA	-	-	-	-
ATX-33	44	AR, (C)	CWF19L1	NM_018294.6: hom c.24-1G>C; p.(?)	30	59	NA	-	-	-	-
ATX-34	45	S	SPG11	NM_025137.3: c.6100C>T; p.(Arg2034Ter), c.1440delG; p.(Cys481AlafsTer4)	10	41	NA	++	+	Generalized dystonia	Oculomotor apraxia
ATX-35	46	AR, (C)	PNPLA6	NM_001166.111.1: hom c.3373G>A; p.(Asp1125Asn) [rs372763461]	27	32	8.5	-	-	-	-
ATX-36	47	AR, (C)	CYP27A1	NM_000784.4: hom c.1016C>T; p.(Thr339Met) <sup>58</sup>	23	27	NA	+	-	-	Aquilles tendon xanthomas
ATX-37	48	AR, (C)	CYP27A1	NM_000784.4: hom c.1016C>T; p.(Thr339Met)	19	35	19	+	-	Right foot dystonia	Xanthomas in auricular pavilion, aquilles tendon, cataracts, cognitive impairment
ATX-38	49	S	CAPN1	NM_001198868.1: c.618_619delAG; p.(Gly208GlnfsTer7), <sup>59</sup> c.1605+5G>A <sup>60</sup>	44	65	-	++	-	-	Hand and feet interosseous amyotrophy
ATX-39	50	AD	CACNA1A	NM_023035.2: c.2042_2043delAG; p.(Gln681ArgfsTer103) <sup>61</sup>	10	42	5.5	-	-	-	EA
ATX-39	51	AD	CACNA1A	NM_023035.2: c.2042_2043delAG; p.(Gln681ArgfsTer103)	10	14	6	-	-	-	EA, attention deficit hyperactivity disorder
ATX-40	52	AD	CACNA1A	NM_023035.2: c.1748G>A; p.(Arg583Gln) <sup>27</sup>	2	63	19	+	-	Multifocal dystonia	Axial weakness, migraine with aura, dementia
ATX-40	53	AD	CACNA1A	NM_023035.2: c.1748G>A; p.(Arg583Gln)	40	56	9.5	-	-	-	Axial weakness, migraine with aura
ATX-40	54	AD	CACNA1A	NM_023035.2: c.1748G>A; p.(Arg583Gln)	26	29	2	-	-	-	-
ATX-41	55	S	CACNA1A	NM_023035.2: c.4045C>T; p.(Arg1349Ter) <sup>62</sup>	15	62	4	-	-	-	EA
ATX-42	56	S	CACNA1A	NM_023035.2: c.4600G>T; p.(Glu1534Ter)	30	50	NA	-	-	-	EA
ATX-43	57	S	CACNA1A	NM_023035.2: c.3704+1G>A; p.(?) <sup>63</sup>	12	71	NA	-	-	-	EA

Continued

**Table 2** Clinical and Genetic Characteristics of the Cases With a Genetically Confirmed Diagnosis (continued)

Family	ID	Family history	Gene	Variants	Age onset, y	Age examination, y	SARA scale	UMN	Nerve§	Extrapyramidal	Others
ATX-44	58	AD	KCND3	NM_004980.4: c.1117A>G; p.(Met373Val)	65	72	14	-	-	-	Paroxysmal exacerbations ACZ responsive
ATX-44	59	AD	KCND3	NM_004980.4:c.1117A>G; p.(Met373Val)	40	58	13	-	-	-	-
ATX-45	60	AD	KCND3	NM_004980.4: c.680_682delCT, p.(Phe227del) <sup>28</sup>	29	40	10	-	-	-	Migraine, paroxysmal ataxic exacerbations
ATX-46	61	AD	KCNA1	NM_000217.2: c.904A>C; p.(Ile302Leu)	5	52	NA	-	-	-	EA, seizures
ATX-47	62	AD	SPTBN2	NM_006946.2: c.482A>G; p.(Gln161Arg)	8	8	15	+	-	-	Mild intellectual delay
ATX-47	63	AD	SPTBN2	NM_006946.2: c.482A>G; p.(Gln161Arg)	3	18	2.5	+	-	-	Mild psychomotor delay, oculomotor apraxia
ATX-48	64	AD	OPA1	NM_015560.2: c.1940G>T; p.(Gly647Val)	44	71	NA	-	-	-	-
ATX-48	65	AD	OPA1	NM_015560.2: c.1940G>T; p.(Gly647Val)	49	64	14.5	-	-	-	-
ATX-49	66	AD	ITPR1	NM_001168272.1: c.3601C>T; p.(Arg1201Trp)	62	66	NA	-	-	-	EA
ATX-49	67	AD	ITPR1	NM_001168272.1: c.3601C>T; p.(Arg1201Trp)	74	78	NA	-	-	-	-
ATX-50	68	AD	AFG3L2	NM_006796.2: c.2021_2023del; p.(Ser674del)	18	35	7.5	-	-	-	PEO, migraine with aura
ATX-50	69	AD	AFG3L2	NM_006796.2: c.2021_2023del; p.(Ser674del)	14	63	16.5	-	-	Dystonia	PEO, migraine with aura

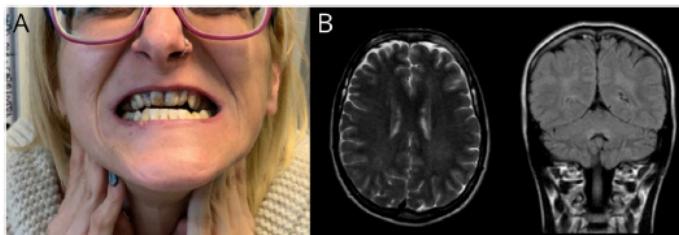
Abbreviations: AD = autosomal dominant; AFP = alphafetoprotein; AR = autosomal recessive; ATX = cerebellar ataxia family identification code; C = consanguinity; hom = homozygous; ID = patient identification; S = sporadic; UL = upper limbs; UMN = upper motor neuron signs; WMH = white matter hyperintensity; +++ = severe; ++ = moderate; + = mild.

\*EA = episodic ataxia; PEO = progressive external ophthalmoplegia.

These SPG7 patients were included in a previously published work.<sup>23</sup>

§Neuropathy is assumed if clinical and/or electroneurographic findings are present. Novel variants are indicated in bold characters, and dbSNP references are indicated between brackets.

**Figure 2** Family ATX-5, 2 Female Monozygotic Twins With Spastic Ataxia Had Compound Heterozygous Variants in *POLR3A* c.1909 + 22G > A and arr[GRCh37] 10q22.3(79781064\_79782608)x1



(A) Both patients had typically abnormal dentition; (B) T2-weighted brain MRI (left) and fluid attenuated recovery (FLAIR) brain MRI (right) showing characteristic mild supratentorial and infratentorial white matter hyperintensities.

with the missense change c.1748G > A; p.(Arg583Gln)<sup>27</sup> displayed a complex phenotype. Both siblings in family ATX-40 showed marked axial weakness on examination, but EMG, including repetitive nerve stimulation and single fiber jitter, studies showed no abnormalities. Two novel changes in *KCNA1* c.904A > C; p.(Ile302Leu) and *KCND3* c.117A > G; p.(Met373Val) were identified. Patient 60, with the novel pathogenic variant *KCND3* c.117A > G; p.(Met373Val), had frequent paroxysmal ataxic exacerbations responsive to acetazolamide. Patient 50, with the previously reported *KCND3* c.680\_682delTCT; p.(Phe227del),<sup>28</sup> displayed occasional ataxic exacerbations triggered by emotional stress.

Very rare genetic etiologies were identified by CES. A novel homozygous pathogenic splicing variant in *CWF19L1* (c.24-1G > C) was identified in 3 affected siblings with late-onset pure CA. In addition, a homozygous likely pathogenic variants in *PNPLA6* c.3373G > A; p.(Asp112Asn) was detected in a Romaní proband with adult-onset pure CA.

### Spinocerebellar Ataxia 36 Screening

*NOP56* hexanucleotide repeat expansion (GGCCTG) was screened in all undiagnosed families with an AD presentation (n = 20) and sporadic cases with a phenotype of late-onset (older than 20 years) progressive CA (n = 35). SCA36 was diagnosed in 31 patients of 11 families, all with AD presentation, and in none sporadic. Patients displayed a phenotype of pure or spastic CA. Sensorineural hearing loss was frequent (15/31, 48%), but facial and lingual myokymia were identified only in 3/31. Progressive external ophthalmoplegia and mild parkinsonism were present in 13/31 and 4/31 cases, respectively. *NOP56* hexanucleotide expansion represented the most common dominant variants in this study, which accounted for 30% (11/37) of cases with AD, increasing the overall diagnostic rate to 47% (61/130). Of interest most of the SCA36 apparently unrelated families lived in the geographical areas of *La Costera* and *La Vall d'Albaida*, pointing to a founder effect, as reported in other SCA36 series.<sup>7</sup>

Sixty-nine families (53%) were not genetically diagnosed despite CES and SCA36 screening. Undiagnosed patients showed a significantly delayed age at onset (n = 81, 47, SD ± 17.2

years) compared with diagnosed cases (n = 86, 32, SD ± 18.5 years),  $p < 0.05$ , but without differences in sex distribution. Negative cases were more frequently sporadic (n = 39/69, 49%), followed by AD (n = 18/69, 30%) and AR (n = 10/69, 21%).

### Discussion

In this study, CES was performed in a series of 130 probands with CA, leading to an overall diagnostic yield of 39%. Although common classic repeat expansions were excluded, the *NOP56* hexanucleotide repeat expansion was further analyzed, which allowed us to diagnose 11 additional AD cases with SCA36. Several practical conclusions can be established from our study: (1) Diagnostic efficacy of CES applied to hereditary CA remains unsatisfactory because it missed the genetic diagnosis in more than 60% of cases in our series. This is concordant with other adult-onset CA cohorts, which reported a yield between 12.1% and 52%.<sup>6,29-32</sup> (2) There is an enormous genetic heterogeneity underlying CA phenotypes, and the routine clinical use of CES allows the diagnosis of very rare genetic etiologies. Most genes mutated were detected in individual families, and diverse novel pathogenic/likely pathogenic variants were identified. (3) Because SCA36 is a common form of AD CA in Eastern Spain,<sup>10</sup> the diagnostic workup of HCA in our geographical region should consider SCA36 testing in advance to NGS, especially if AD presentation. (4) The diagnostic efficacy was slightly higher in patients with a positive family history of dominant or, more frequently, recessive disease. The lowest diagnostic efficacy was found in sporadic and elderly cases. In this particular group, care should be taken to exclude neurodegenerative nonmendelian forms of CA such as multiple system atrophy. Future studies are also needed to ascertain if the so-called "idiopathic late-onset cerebellar ataxia" represents a distinct neurodegenerative disease entity.<sup>33-36</sup>

The correct interpretation of the countless number of detected DNA variants is the main challenge in NGS-based studies. Despite this, this study's CES allowed the identification of unexpected etiologies and expanded the clinical spectrum of known genes. A pathogenic variant in *CWF19L1* (c.24-1G > C)

was detected in 3 siblings with adult-onset pure CA. *CWF19L1* is a very rare gene associated with congenital or early-onset CA and mental retardation. Only 3 families have been described to date.<sup>37-39</sup> Thus, the clinical findings reported here contribute to broaden *CWF19L1* phenotypic spectrum. Similarly, *PNPLA6*, a gene traditionally related with complex congenital or childhood disorders, was recently associated with adult-onset CA presentations.<sup>40</sup> The novel *PNPLA6* c.3373G > A; p.(Asp1125Asn), substitution described here, reinforces previously reported observations.

The availability of updated genome variant databases (e.g., ExAc/gnomAD or ClinVar) is critical in the diagnostic workup of diseases with variable expressivity or incomplete penetrance and, also, in late-onset diseases where segregation studies are often difficult. Familial trio (proband and parents) whole-exome or genome sequencing approaches can further improve diagnostic efficacy by identifying new ataxia-related genes and mutations.

NGS studies across different populations have contributed to identify underdiagnosed mutations in commonly mutated genes. In keeping with other CA cohorts, few genes harbored most pathogenic variants in our series. *SPG7* (12%) and *SETX* (5%) were the most common AR genes detected,<sup>6</sup> and channelopathies were the most frequent AD ataxias.<sup>41</sup> Originally involved in 4H-leukodystrophy (hypomyelination and hypodontia), *POLR3A* is increasingly found in adult CA/hereditary spastic paraplegia cohorts (3.1%).<sup>22,24</sup> Concordantly, in this study, *POLR3A* represented 3% of the studied population. All cases carried the recurrent intronic variant c.1909 + 22G > A in compound heterozygosity and displayed a uniform phenotype of ataxia, spasticity, central sensory tract impairment, and dystonia. *SYNE1* mutations, initially described in Quebec, have also been reported as a frequent cause of ataxia outside French-Canadian population, with an estimated frequency of 5.3%.<sup>26</sup> Herein, homozygous *SYNE1* mutations were identified in 2% of cases. The authors reported 2 novel deleterious variants and described a family with ataxia, spasticity, and congenital cataracts.

The main limitations of this work are the retrospective nature of this study and the influence of local standards of care. Extensive metabolic testing was not systematically performed. Specific biochemical tests were carried out solely based on clinical presumption. Although CES is increasingly available and shall ultimately identify mutations in inherited metabolic disorders genes, metabolic screening should be done prior to molecular testing.<sup>42</sup> Many adult-onset forms of inherited metabolic disorders can present either with complex or isolated ataxia phenotypes<sup>43,44</sup> and some benefit from specific treatments that improve prognosis or prevent early death.<sup>45</sup> Therefore, our approach could have missed the diagnosis of some patients or led to a delay in the identification of treatable conditions.

Because CES does not detect dynamic expansions and SCA36 was a common cause of AD ataxia in Spain, the authors

systematically studied *NOP56* hexanucleotide repeat expansion in AD and sporadic cases. SCA36 was a common cause of AD ataxia in this study, increasing the diagnostic yield from 39 to 47%. Studies in other populations showed that SCA36 has a worldwide distribution with reduced prevalence (France 1.9%, Japan 1.5%, and the United States 0.7%).<sup>46,47</sup> These findings support that SCA36 should be tested prior to CES in Spanish families with AD presentations. New AD repeat expansion disorders are continuously being discovered. For instance, SCA37, caused by the intronic ATTTC repeat expansion in *DAB1*, was recently identified in families from Portugal and Spain.<sup>48-50</sup> Screening of newly recognized repeat disorders should be carefully incorporated to genetic diagnostic algorithms.

In recent decades, advances in high-throughput sequencing technologies have enabled impressive achievements in the molecular diagnosis of mendelian diseases. However, an unsatisfactorily high proportion of patients remain undiagnosed among different CA series. Implementation of advanced sequencing strategies such as whole-genome sequencing together with collaborative international networks focused on ataxia are necessary steps toward reducing this diagnostic gap.

### Study Funding

This work was supported by the Instituto de Salud Carlos III (ISCIII)-Subdirección General de Evaluación y Fomento de la Investigación [PI18/00147; PI21/00103] and by the Generalitat Valenciana [PROMETEO/2018/135; PROMETEO/2019/075], within the framework of the National R + D + I Plan co-funded with ERDF funds. JFVC is funded by the ISCIII (JR19/00030). Part of the equipment employed in this work has been funded by Generalitat Valenciana and co-financed with ERDF funds (OP ERDF of Comunitat Valenciana 2014–2020).

### Disclosure

The authors report no conflict of interest. Go to Neurology.org/NG for full disclosure.

### Publication History

Received by *Neurology: Genetics* April 29, 2022. Accepted in final form September 1, 2022. Submitted and externally peer reviewed. The handling editor was Stefan M. Pulst, MD, Dr med, FAAN.

### Appendix Authors

Name	Location	Contribution
Raquel Bavieras Muñoz, MD	Neuromuscular Diseases Unit, Neurology Department, Hospital Universitari i Politècnic La Fe; Neuromuscular Reference Centre, ERN-EURO-NMD; Neuromuscular and Ataxias Research Group, Instituto de Investigación Sanitaria La Fe; Rare Diseases Joint Unit, CIPF-IIS La Fe, Valencia, Spain	Drafting/revision of the manuscript for content, including medical writing for content; major role in the acquisition of data; study concept or design; analysis or interpretation of data

**Appendix** (continued)

Name	Location	Contribution
<b>Lidón Carretero-Vilarroig, MSc</b>	Neuromuscular and Ataxias Research Group, Instituto de Investigación Sanitaria La Fe; Rare Diseases Joint Unit, CIPF-IIS La Fe; Cell Biology Department, University of Valencia, Spain	Drafting/revision of the manuscript for content, including medical writing for content; major role in the acquisition of data
<b>Juan Francisco Vázquez-Costa, MD</b>	Neuromuscular Diseases Unit, Neurology Department, Hospital Universitari i Politècnic La Fe; Neuromuscular Reference Centre, ERN-EURO-NMD; Neuromuscular and Ataxias Research Group, Instituto de Investigación Sanitaria La Fe; Rare Diseases Joint Unit, CIPF-IIS La Fe, Valencia, Spain; Department of Medicine, University of Valencia, Valencia; Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras (CIBERER), Spain	Drafting/revision of the manuscript for content, including medical writing for content; analysis or interpretation of data
<b>Carlos Morata-Martínez, MD</b>	Neuromuscular Diseases Unit, Neurology Department, Hospital Universitari i Politècnic La Fe, Valencia, Spain and Neuromuscular Reference Centre, ERN-EURO-NMD	Drafting/revision of the manuscript for content, including medical writing for content
<b>Marina Campins-Romeu, MD</b>	Neuromuscular Diseases Unit, Neurology Department, Hospital Universitari i Politècnic La Fe, Valencia, Spain and Neuromuscular Reference Centre, ERN-EURO-NMD	Drafting/revision of the manuscript for content, including medical writing for content
<b>Nuria Muelas, MD</b>	Neuromuscular Diseases Unit, Neurology Department, Hospital Universitari i Politècnic La Fe; Neuromuscular Reference Centre, ERN-EURO-NMD; Neuromuscular and Ataxias Research Group, Instituto de Investigación Sanitaria La Fe; Rare Diseases Joint Unit, CIPF-IIS La Fe, Valencia, Spain; Department of Medicine, University of Valencia, Valencia; Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras (CIBERER), Spain	Drafting/revision of the manuscript for content, including medical writing for content
<b>Isabel Sastre-Bataller, MD</b>	Neuromuscular Diseases Unit, Neurology Department, Hospital Universitari i Politècnic La Fe, Valencia, Spain and Neuromuscular Reference Centre, ERN-EURO-NMD; Rare Diseases Joint Unit, CIPF-IIS La Fe, Valencia, Spain	Drafting/revision of the manuscript for content, including medical writing for content; major role in the acquisition of data

**Appendix** (continued)

Name	Location	Contribution
<b>Irene Martínez-Torres, MD</b>	Neuromuscular Diseases Unit, Neurology Department, Hospital Universitari i Politècnic La Fe, Valencia, Spain and Neuromuscular Reference Centre, ERN-EURO-NMD; Rare Diseases Joint Unit, CIPF-IIS La Fe, Valencia, Spain	Drafting/revision of the manuscript for content, including medical writing for content Julia Pérez-García: Major role in the acquisition of data
<b>Julia Pérez-García, BSN</b>	Neuromuscular Diseases Unit, Neurology Department, Hospital Universitari i Politècnic La Fe, Valencia, Spain and Neuromuscular Reference Centre, ERN-EURO-NMD	Major role in the acquisition of data
<b>Rafael Sivera, MD</b>	Neuromuscular Diseases Unit, Neurology Department, Hospital Universitari i Politècnic La Fe; Neuromuscular Reference Centre, ERN-EURO-NMD; Neuromuscular and Ataxias Research Group, Instituto de Investigación Sanitaria La Fe, Valencia, Spain	Drafting/revision of the manuscript for content, including medical writing for content
<b>Teresa Sevilla, MD</b>	Neuromuscular Diseases Unit, Neurology Department, Hospital Universitari i Politècnic La Fe; Neuromuscular Reference Centre, ERN-EURO-NMD; Neuromuscular and Ataxias Research Group, Instituto de Investigación Sanitaria La Fe; Rare Diseases Joint Unit, CIPF-IIS La Fe, Valencia, Spain; Department of Medicine, University of Valencia, Valencia; Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras (CIBERER), Spain	Drafting/revision of the manuscript for content, including medical writing for content
<b>Juan J. Vilchez, MD</b>	Neuromuscular and Ataxias Research Group, Instituto de Investigación Sanitaria La Fe; Rare Diseases Joint Unit, CIPF-IIS La Fe, Valencia; Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras (CIBERER), Spain	Drafting/revision of the manuscript for content, including medical writing for content
<b>Teresa Jaijo, PhD</b>	Rare Diseases Joint Unit, CIPF-IIS La Fe, Valencia; Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras (CIBERER); Department of Genetics, Hospital Universitari i Politècnic La Fe; Cellular, molecular and genomics biomedicine Group, Instituto de Investigación Sanitaria La Fe, Valencia, Spain	Drafting/revision of the manuscript for content, including medical writing for content; major role in the acquisition of data

Continued

## Appendix (continued)

Name	Location	Contribution
<b>Carmen Espinós, PhD</b>	Rare Diseases Joint Unit, CIPF-IIS La Fe; Laboratory of Rare Neurodegenerative Diseases, Centro de Investigación Príncipe Felipe (CIPF), Valencia, Spain	Drafting/revision of the manuscript for content, including medical writing for content; major role in the acquisition of data; analysis or interpretation of data
<b>Jose M. Millán, PhD</b>	Rare Diseases Joint Unit, CIPF-IIS La Fe, Valencia; Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras (CIBERER); Cellular, molecular and genomics biomedicine Group, Instituto de Investigación Sanitaria La Fe, Valencia, Spain	Drafting/revision of the manuscript for content, including medical writing for content
<b>Luis Bataller, MD</b>	Neuromuscular Diseases Unit, Neurology Department, Hospital Universitari i Politècnic La Fe; Neuromuscular Reference Centre, ERN-EURO-NMD; Neuromuscular and Ataxias Research Group, Instituto de Investigación Sanitaria La Fe; Rare Diseases Joint Unit, CIPF-IIS La Fe, Valencia, Spain; Department of Medicine, University of Valencia, Valencia; Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras (CIBERER), Spain	Drafting/revision of the manuscript for content, including medical writing for content; major role in the acquisition of data; study concept or design; analysis or interpretation of data
<b>Elena Aller, PhD</b>	Rare Diseases Joint Unit, CIPF-IIS La Fe, Valencia; Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras (CIBERER); Department of Genetics, Hospital Universitari i Politècnic La Fe; Cellular, molecular and genomics biomedicine Group, Instituto de Investigación Sanitaria La Fe, Valencia, Spain	Drafting/revision of the manuscript for content, including medical writing for content; major role in the acquisition of data; study concept or design; analysis or interpretation of data

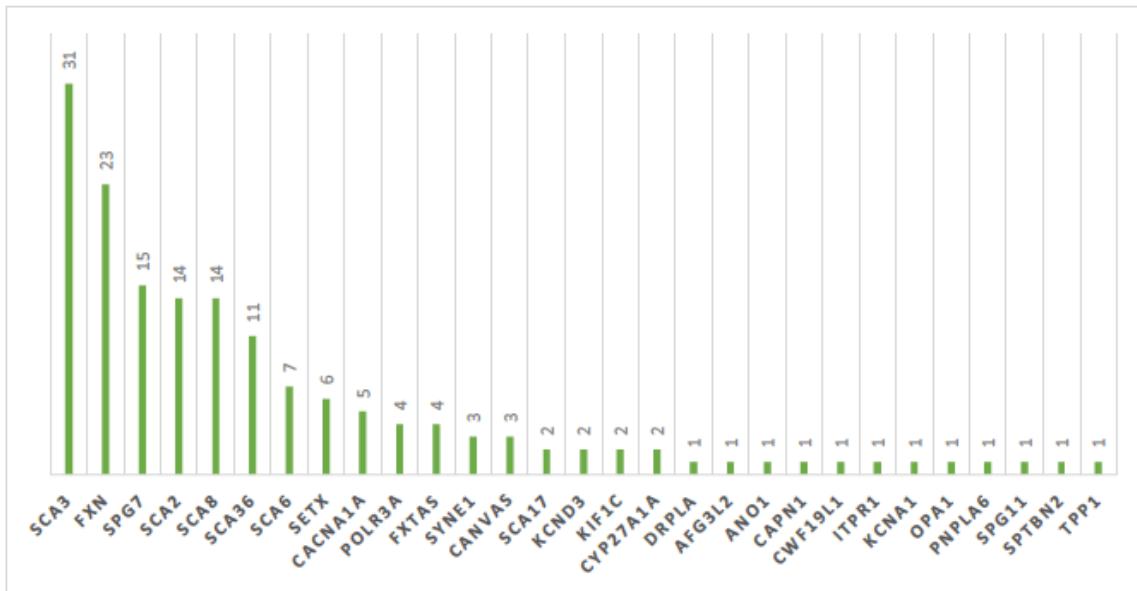
## References

- Klockgether T, Mariotti C, Paulson HL. Spinocerebellar ataxia. *Nat Rev Dis Primers*. 2019;5(1):24-21.
- Durr A. Autosomal dominant cerebellar ataxias: polyglutamine expansions and beyond. *Lancet Neurol*. 2010;9(9):885-894.
- Synofzik M, Schüle R. Overcoming the divide between ataxias and spastic paraplegias: shared phenotypes, genes, and pathways. *Mov Disord*. 2017;32(3):332-345.
- Beaudin M, Klein CJ, Rouleau GA, Dupré N. Systematic review of autosomal recessive ataxias and proposal for a classification. *Cerebellum Ataxias*. 2017;4(1):3.
- Coutelier M, Stevanin G, Brice A. Genetic landscape remodelling in spinocerebellar ataxias: the influence of next-generation sequencing. *J Neurol*. 2015;262(10):2382-2395.
- Coutelier M, Hammer MB, Stevanin G, et al. Efficacy of exome-targeted capture sequencing to detect mutations in known cerebellar ataxia genes. *JAMA Neurol*. 2018;75(5):591-599.
- Pyle A, Smertenko T, Bargiela D, et al. Exome sequencing in undiagnosed inherited and sporadic ataxias. *Brain*. 2015;138(2):276-283.
- Ruano L, Melo C, Silva MC, Coutinho P. The global epidemiology of hereditary ataxia and spastic paraparesis: a systematic review of prevalence studies. *Neuroepidemiology*. 2014;42(3):174-183.
- Obayashi M, Stevanin G, Synofzik M, et al. Spinocerebellar ataxia type 36 exists in diverse populations and can be caused by a short hexanucleotide GGCCTG repeat expansion. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2015;86(9):986-995.
- García-Murias M, Quintáns B, Arias M, et al. "Costa da Morte" ataxia is spinocerebellar ataxia 36: clinical and genetic characterization. *Brain*. 2012;135(5):1423-1435.
- Valence S, Cochet E, Rougeot C, et al. Exome sequencing in congenital ataxia identifies two new candidate genes and highlights a pathophysiological link between some congenital ataxias and early infantile epileptic encephalopathies. *Genet Med*. 2019;21(3):553-563.
- Hilton-Jones D, Turner MR. *Oxford Textbook of Neuromuscular Disorders*. Vol 1. First. In: Hilton-Jones D, Turner MR, eds. Oxford University Press; 2014.
- Correa-Vela M, Lupo V, Montpéyó M, et al. Impaired proteasome activity and neurodegeneration with brain iron accumulation in FBXO7 defect. *Ann Clin Translational Neurol*. 2020;7(8):1436-1442.
- Richards S, Aziz N, Bale S, et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the association for molecular pathology. *Genet Med*. 2015;17(5):405-424.
- Davydov Ev, Goode DL, Sirota M, Cooper GM, Sidow A, Batzoglou S. Identifying a high fraction of the human genome to be under selective constraint using GERP++. *PLoS Comput Biol*. 2010;6(12):e1001025.
- Choi Y, Sims GE, Murphy S, Miller JR, Chan AP. Predicting the functional effect of amino acid substitutions and indels. *PLoS One*. 2012;7(10):e46688.
- Vaser R, Adusumalli S, Leng SN, Sikic M, Ng PC. SIFT missense predictions for genomes. *Nat Protoc*. 2016;11(1):1-9.
- Adzhubei IA, Schmidt S, Peshkin L, et al. A method and server for predicting damaging missense mutations. *Nat Methods*. 2010;7(4):248-249.
- Schwarz JM, Cooper DN, Schuelke M, Seelow D. MutationTaster2: mutation prediction for the deep-sequencing age. *Nat Methods*. 2014;11(4):361-362.
- 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(1):121-130.
- Brugman F, Scheffer H, Wokke JHJ, et al. Paraplegin mutations in sporadic adult-onset upper motor neuron syndromes. *Neurology*. 2008;71(19):1500-1505.
- la Piana R, Cayami FK, Tran LT, et al. Diffuse hypomyelination is not obligate for POLR3-related disorders. *Neurology*. 2016;86(17):1622-1626.
- Baviera-Muñoz R, Campins-Romeu M, Carretero-Vilarroig L, et al. Clinical and genetic characteristics of 21 Spanish patients with biallelic pathogenic SPG7 mutations. *J Neurol Sci*. 2021;429(August):118062.
- Minnerop M, Kurzweyl D, Wagner H, et al. Hypomorphic mutations in POLR3A are a frequent cause of sporadic and recessive spastic ataxia. *Brain*. 2017;140(6):1561-1578.
- Infante J, Serrano-Cárdenas KM, Corral-Juan M, et al. POLR3A-related spastic ataxia: new mutations and a look into the phenotype. *J Neurol*. 2020;267(2):324-330.
- Synofzik M, Smets K, Mallaret M, et al. SYNE1 ataxia is a common recessive ataxia with major non-cerebellar features: a large multi-centre study. *Brain*. 2016;139(S):1378-1393.
- Battistini S, Stenirri S, Piatti M, et al. A new CACNA1A gene mutation in acetazolamide-responsive familial hemiplegic migraine and ataxia. *Neurology*. 1999;53(1):38-43.
- Lee YC, Durr A, Majcenko K, et al. Mutations in KCND3 cause spinocerebellar ataxia type 22. *Ann Neurol*. 2012;72(6):859-869.
- Pyle A, Smertenko T, Bargiela D, et al. Exome sequencing in undiagnosed inherited and sporadic ataxias. *Brain*. 2015;138(2):276-283.
- Fogel BL, Lee H, Deignan JL, et al. Exome sequencing in the clinical diagnosis of sporadic or familial cerebellar ataxia. *JAMA Neurol*. 2014;71(10):1237-1246.
- Ngo KJ, Rexach JE, Lee H, et al. A diagnostic ceiling for exome sequencing in cerebellar ataxia and related neurological disorders. *Hum Mutat*. 2020;41(2):487-501.
- Sun M, Johnson AK, Nelakuditi V, et al. Targeted exome analysis identifies the genetic basis of disease in over 50% of patients with a wide range of ataxia-related phenotypes. *Genet Med*. 2019;21(1):195-206.
- Giordano I, Harmuth F, Jacobi H, et al. Clinical and genetic characteristics of sporadic adult-onset degenerative ataxia. *Neurology*. 2017;89(10):1043-1049.
- Abele M, Bürk K, Schöls L, et al. The aetiology of sporadic adult-onset ataxia. *Brain*. 2002;125(S):961-968.
- Lin DJ, Hermann KL, Schmahmann JD. Multiple system atrophy of the cerebellar type: clinical state of the art. *Mov Disord*. 2014;29(3):294-304.
- Harding AE. "Idiopathic" late onset cerebellar ataxia. *J Neurol Sci*. 1981;51(2):259-271.
- Burns R, Majcenko K, Xu J, et al. Homozygous splice mutation in CWF19L1 in a Turkish family with recessive ataxia syndrome. *Neurology*. 2014;83(23):2175-2182.
- Evers C, Kaufmann L, Seitz A, et al. Exome sequencing reveals a novel CWF19L1 mutation associated with intellectual disability and cerebellar atrophy. *Am J Med Genet A*. 2016;170(6):1502-1509.
- Nguyen M, Boesten I, Hellebrekers DMEI, et al. Pathogenic CWF19L1 variants as a novel cause of autosomal recessive cerebellar ataxia and atrophy. *Eur J Hum Genet*. 2016;24(4):619-622.
- Wiethoff S, Bettencourt C, Paudel R, et al. Pure cerebellar ataxia with homozygous mutations in the PNPLA6 gene. *Cerebellum*. 2017;16(1):262-267.
- Coutelier M, Coarelli G, Monin MI, et al. A panel study on patients with dominant cerebellar ataxia highlights the frequency of channelopathies. *Brain*. 2017;140(6):1579-1594.
- de Silva R, Greenfield J, Cook A, et al. Guidelines on the diagnosis and management of the progressive ataxias. *Orphanet J Rare Dis*. 2019;14(1):51.
- Masingue M, Dufour L, Lenglet T, et al. Natural history of adult patients with GM2 gangliosidosis. *Ann Neurol*. 2020;87(4):609-617.
- Sévin M, Lesca G, Baumann N, et al. The adult form of Niemann-Pick disease type C. *Brain*. 2006;130(1):120-133.

45. Silver G, Mercimek-Andrews S. Inherited metabolic disorders presenting with ataxia. *Int J Mol Sci.* 2020;21(15):S519-5618.
46. Valera JM, Diaz T, Petty LE, et al. Prevalence of spinocerebellar ataxia 36 in a US population. *Neurol Genet.* 2017;3(4):e174.
47. Obayashi M, Stevanin G, Synofzik M, et al. Spinocerebellar ataxia type 36 exists in diverse populations and can be caused by a short hexanucleotide GGCCTG repeat expansion. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2015;86(9):986-995.
48. Comal-Juan M, Serrano-Munera C, Rabano A, et al. Clinical, genetic and neuropathological characterization of spinocerebellar ataxia type 37. *Brain.* 2018;141(7):1981-1997.
49. Loureiro JR, Oliveira CL, Mota C, et al. Mutational mechanism for DAB1 (ATTTTC)n insertion in SCA37: ATTTT repeat lengthening and nucleotide substitution. *Hum Mutat.* 2019;40(4):404-412.
50. Seixas AI, Loureiro JR, Costa C, et al. A pentanucleotide ATTTC repeat insertion in the non-coding region of DAB1, mapping to SCA37, causes spinocerebellar ataxia. *Am J Hum Genet.* 2017;101(1):87-103.
51. Bessa C, Teixeira CA, Dias A, et al. CLN2/TPP1 deficiency: the novel mutation IVS7-10A>G causes intron retention and is associated with a mild disease phenotype. *Mol Genet Metab.* 2008;93(1):66-73.
52. Renaud M, Anheim M, Kamsteeg EJ, et al. Autosomal recessive cerebellar ataxia type 3 due to ANO10 mutations: delineation and genotype-phenotype correlation study. *JAMA Neurol.* 2014;71(10):1305-1310.
53. Arnoldi A, Tonelli A, Crippa F, et al. A clinical, genetic, and biochemical characterization of SPG7 mutations in a large cohort of patients with hereditary spastic paraparesis. *Hum Mutat.* 2008;29(4):522-531.
54. Moreira MC, Klur S, Watanabe M, et al. Senataxin, the ortholog of a yeast RNA helicase, is mutant in ataxia-ocular apraxia 2. *Nat Genet.* 2004;36(3):225-227.
55. Anheim M, Monga B, Fleury M, et al. Ataxia with oculomotor apraxia type 2: clinical, biological and genotype/phenotype correlation study of a cohort of 90 patients. *Brain.* 2009;132(10):2688-2698.
56. Pera J, Lechner S, Biskup S, Strach M, Grodzicki T, Slowik A. Two novel mutations of the SETX gene and ataxia with oculomotor apraxia type 2. *Clin Neurol Neurosurg.* 2015;128:44-46.
57. Stevanin G, Santorelli FM, Azzedin H, et al. Mutations in SPG11, encoding spatacins, are a major cause of spastic paraparesis with thin corpus callosum. *Nat Genet.* 2007;39(3):366-372.
58. Guyant-Maréchal L, Verrips A, Girard C, et al. Unusual cerebrotendinous xanthomatosis with fronto-temporal dementia phenotype. *Am J Med Genet A.* 2005;139A(2):114-117.
59. Melo US, Freua F, Lynch DS, et al. Clinical aspects of hereditary spastic paraparesis 76 and novel CAPN1 mutations. *Clin Genet.* 2018;94(5):482-483.
60. Gan-Or Z, Bouslam N, Birouk N, et al. Mutations in CAPN1 cause autosomal-recessive hereditary spastic paraparesis. *Am J Hum Genet.* 2016;98(5):1038-1046.
61. Denier C, Ducros A, Vahedi K, et al. High prevalence of CACNA1A truncations and broader clinical spectrum in episodic ataxia type 2. *Neurology.* 1999;52(9):1816-1821.
62. Yugrakh MS, Levy OA. Clinical reasoning: a middle-aged man with episodes of gait imbalance and a newly found genetic mutation. *Neurology.* 2012;79(16):e135, e139.
63. Eunson LH, Graves TD, Hanna MG. New calcium channel mutations predict aberrant RNA splicing in episodic ataxia. *Neurology.* 2005;65(2):308-310.

## eAppendix1

ABCB7	CWF19L1	HSD17B4	PEX7	SLC6A19
ABCD1	CYP27A1	ITPR1	PHYH	SLC6A9
ABHD12	CYP7B1	KCNA1	PIK3R5	SLC9A1
ACO2	DAB1	KCNA2	PLA2G6	SLC9A6
AFG3L2	DARS2	KCNC3	PLD3	SNX14
AHI1	DNAJC19	KCND3	PLEKHG4	SPG11
ANO10	DNAJC3	KCND3	PLP1	SPG7
APTX	DNMT1	KCNJ10	PMM2	SPR
ARL13B	EEF2	KIF1A	PMPCA	SPTBN2
ARSA	EIF2B1	KIF1C	PNKP	STUB1
ASPA	EIF2B2	KIF26B	PNPLA6	SYNE1
ATCAY	EIF2B3	L2HGDH	POLG	SYT14
ATG5	EIF2B4	LAMA1	POLR3A	TBP
ATM	EIF2B5	MARS2	POLR3B	TDP1
ATP13A2	ELOVL4	MECP2	PRDX3	TDP2
ATP1A2	ELOVL5	MLC1	PRKCG	TGM6
ATP1A3	EPM2A	MMADHC	PRNP	THG1L
ATP2B3	EXOSC3	MME	PSAP	TMEM240
ATP8A2	FA2H	MRE11A	PSEN1	TPP1
AUH	FAT2	MTPAP	PTF1A	TSFM
C10orf2	FGF12	MTPAP	RNF168	TTBK2
CA8	FGF14	MTTP	RNF216	TTC19
CACNA1A	FLVCR1	NHLRC1	RUBCN	TTPA
CACNA1G	FMR1	NPC1	SACS	TUBB4A
CACNB4	FXN	NPC1	SCN1A	TXN2
CACNB4	GALC	NPC2	SCN2A	UBA5
CAPN1	GAN	NPC2	SCN8A	UCHL1
CASK	GBA2	OPA1	SCYL1	UFM1
CC2D2A	GFAP	OPA3	SDHA	VAMP1
CCDC88C	GJC2	OPHN1	SETX	VLDLR
CLCN2	GLB1	PCNA	SIL1	VWA3B
CLN5	GLRX5	PDHX	SLC17A5	WDR73
CLN6	GOSR2	PDYN	SLC1A3	WDR81
COL18A1	GRID2	PEX10	SLC25A15	WFS1
COQ8A	GRM1	PEX16	SLC25A46	WWOX
COX20	HEXA	PEX2	SLC2A1	ZFYVE26
CP	HEXB	PEX6	SLC52A2	



**eFigure 1:** Frequency of genetically confirmed hereditary ataxias in our series in the study period (January 2012-October 2021).

eTable 1

FAM	GENE	REF SEQUENCE	VARIANT	TYPE VARIANT	PATHO PREDICTION =>3	GERP	PhyloP100way	SEGREGATION	PHENOTYPE MATCHING
ATX-1	KIF1C	NM_006612.5	c.608+1G>A; (p?)	Splicing	YES	4.4	9.83	YES	YES
ATX-2	KIF1C	NM_006612.5	c.455A>G; p.Glu152Gly	Missense	YES	5.4	9.28	YES	YES
ATX-4	POLR3A	NM_007055.4	c.685C>T; p.Arg229Ter	Nonsense	YES	2.9	1.49	NA	YES
ATX-6	POLR3A	NM_007055.4	c.1628A>C; p.Gln543Pro	Missense	YES	5.7	7.2	YES	YES
ATX-7	POLR3A	NM_007055.4	c.3688G>A; p.Asp1230Asn	Missense	YES	5.9	7.24	YES	YES
ATX-9	SYNE1	NM_182961.4	c.368T>C; p.Leu123Pro	Missense	YES	5.7	9.14	YES	YES
ATX-10	SYNE1	NM_182961.4	c.11253+2_11253+4dupTAG	Nonsense	YES (1)	5.5	8.92	NA	YES
ATX-17	SPG7	NM_003119.4	c.2164del; p.Leu722TrpfsTer16	Frameshift deletion	NA	3.9	2.78	NA	YES
ATX-19	SPG7	NM_003119.4	c.758+2T>C; (p?)	Splicing	YES	5.3	7.46	NA	YES
ATX-23	SPG7	NM_003119.4	c.1562T>C; p.Ile521Thr	Missense	YES	5.5	7.89	NA	YES
ATX-29	SETX	NM_015046.7	c.6843-2A>G; (?)	Splicing	YES	6.2	5.94	YES	YES
ATX-30	SETX	NM_015046.7	c.5895_5903delTGGAACAGG	In-frame deletion	YES (1)	5.5	5.67	NA	YES
ATX-32	SETX	NM_015046.7	c.7385T>A; p.Ile2462Asn	Missense	YES	4.8	4.72	NA	YES
ATX-33	CWF19L1	NM_018294.6	c.24-1G>C (p?)	Splicing	YES	5.3	6.58	YES	YES
ATX-34	SPG11	NM_025137.4	c.1440del p.Cys481AlafsTer4	Nonsense	NA	neg	neg	NA	YES
ATX-42	CACNA1A	NM_023035.3	c.4600G>T; p.Glu1534Ter	Nonsense	YES	4.8	7.76	NA	YES
ATX-44	KCND3	NM_004980.5	c.1117A>G; p.Met373Val	Missense	YES	4.8	8.04	YES	YES
ATX-46	KCNA1	NM_000217.3	c.904A>C; p.Ile302Leu	Missense	YES	5.1	9.02	NA	YES
ATX-47	SPTBN2	NM_006946.4	c.482A>G; p.Gln161Arg	Missense	YES	4.5	7.82	YES	YES
ATX-48	OPA1	NM_015560.2	c.1940G>T (p.Gly647Val)	Missense	YES	5.7	9.87	YES	YES
ATX-49	ITPR1	NM_001168272.2	c.3601C>T; p.Arg1201Trp	Missense	YES	1.1	1.28	YES	YES
ATX-50	AFG3L2	NM_006796.3	c.2021_2023del; p.Ser674del	In-frame deletion	YES	4.8	9.38	YES	YES

NA      *not applicable*



**Trabajo 2:**

*Clinical and genetic characteristics of 21 Spanish patients with biallelic pathogenic SPG7 mutations.*

Baviera-Muñoz R, Campins-Romeu M, Carretero-Vilarroig L, Sastre-Bataller I, Martínez-Torres I, Vázquez-Costa JF, Muelas N, Sevilla T, Vílchez JJ, Aller E, Jaijo T, Bataller L, Espinós C. J Neurol Sci 2021; 15;429:118062. doi: 10.1016/j.jns.2021.118062.





## Clinical and genetic characteristics of 21 Spanish patients with biallelic pathogenic *SPG7* mutations

Raquel Bavier-Muñoz <sup>a,b,c</sup>, Marina Campins-Romeu <sup>a,c</sup>, Lidón Carretero-Vilarroig <sup>b,c,d</sup>,  
Isabel Sastre-Bataller <sup>a,c</sup>, Irene Martínez-Torres <sup>a,c</sup>, Juan F. Vázquez-Costa <sup>a,b,c,e</sup>,  
Nuria Muelas <sup>a,b,c</sup>, Teresa Sevilla <sup>a,b,c,e,f</sup>, Juan J. Vilchez <sup>b,c,f</sup>, Elena Aller <sup>c,f,g</sup>, Teresa Jaijo <sup>c,f,g</sup>,  
Luis Bataller <sup>a,b,c,e,f,\*</sup>, Carmen Espinós <sup>c,f,h</sup>

<sup>a</sup> Department of Neurology, Hospital Universitari i Politècnic La Fe, Valencia, Spain

<sup>b</sup> Neuromuscular and Ataxias Research Group, Instituto de Investigación Sanitaria La Fe, Valencia, Spain

<sup>c</sup> Rare Diseases Joint Unit, CIPF-IIS La Fe, Valencia, Spain

<sup>d</sup> Cell Biology Department, University of Valencia, Valencia, Spain

<sup>e</sup> Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras (CIBERER), Spain

<sup>f</sup> Department of Medicine, University of Valencia, Valencia, Spain

<sup>g</sup> Department of Genetics, Hospital Universitari i Politècnic La Fe, Valencia, Spain

<sup>h</sup> Laboratory of Rare Neurodegenerative Diseases, Centro de Investigación Príncipe Felipe (CIPF), Valencia, Spain

### ARTICLE INFO

**Keywords:**  
Neurogenetics  
Cerebellar ataxia  
Spastic paraparesis  
Rare diseases

### ABSTRACT

Spastic paraparesis type 7 (*SPG7*) is one of the most common hereditary spastic paraparesias. *SPG7* mutations most often lead to spastic paraparesis (HSP) and/or hereditary cerebellar ataxia (HCA), frequently with mixed phenotypes. We sought to clinically and genetically characterize a Spanish cohort of *SPG7* patients. Patients were recruited from our HCA and HSP cohorts. We identified twenty-one patients with biallelic pathogenic *SPG7* mutations. Mean age at onset was 37.4 years ( $SD \pm 14.3$ ). The most frequent phenotype was spastic ataxia (57%), followed by pure spastic paraparesis (19%) and complex phenotypes (19%). Isolated patients presented with focal or multifocal dystonia, subclinical myopathy or ophthalmoplegia. p.Ala510Val was the most frequent pathogenic variant encountered. Compound heterozygous for p.Ala510Val displayed younger onset ( $p < 0.05$ ) and more complex phenotypes ( $p < 0.05$ ) than p.Ala510Val homozygotes. Two novel variants were found: p.Lys559Argfs\*33 and p.Ala312Glu. In conclusion, spastic ataxia is the most common phenotype found in Spanish patients. Nonetheless, *SPG7* analysis should also be considered in patients with less frequent clinical findings such as dystonia or ophthalmoplegia especially when these symptoms are associated with mild spastic ataxia.

### 1. Introduction

Hereditary spastic paraparesias (HSPs) and hereditary cerebellar ataxias (HCAs) are heterogeneous disorders with significant clinical and genetic overlap. Mutations in *SPG7* were first found in patients with autosomal recessive (AR) hereditary spastic paraparesia [1,2]. However, in the last few years, *SPG7* has been recognized as a frequent cause of unexplained cerebellar ataxia in mid-adult life [3–6] and represents even the most common *SPG7* phenotype in some cohorts [7]. Hence, it is usually included in the differential diagnosis of spastic ataxia in the routine clinical practice.

*SPG7* gene encodes paraplegin, which assembles with *AFG3L2* to

form an ATP-dependent metalloprotease located in the inner mitochondrial membrane and involved in mitochondrial protein processing and mtDNA maintenance [8–10]. *AFG3L2* mutations cause autosomal dominant (AD) spinocerebellar atrophy 28 (SCA28), AR spastic ataxia type 5 and AD optic atrophy. It is noteworthy that coincidental heterozygous variants in *SPG7* and *AFG3L2* have deleterious effects with distinctive underlying pathogenic mechanisms [11]. Complex *SPG7* phenotypes may display clinical features of dystonia, parkinsonism, or mitochondrial diseases such as optic atrophy, progressive external ophthalmoplegia, or myoclonus [9–14]. Phenotype is however not explained by quantitative variations in mtDNA [10]. Genotype-phenotype correlations have yet to be fully ascertained.

\* Corresponding author at: Department of Neurology, Hospital Universitari i Politècnic La Fe, Av. Fernando Abril Martorell 106, 46026 Valencia, Spain.

E-mail address: [bataller\\_lui@gva.es](mailto:bataller_lui@gva.es) (L. Bataller).

The aim of this study is to describe the clinical and genetic characteristics of a cohort of SPG7 patients in a tertiary hospital. To date, this is the second largest Spanish cohort published [10,15]. In addition, two novel variants are described: c.1676del (p.Lys559Argfs\*33) and c.935C > A (p.Ala312Glu).

## 2. Materials and methods

### 2.1. Patient recruitment

We studied all cases positive for biallelic pathogenic or likely pathogenic *SPG7* mutations in our HCA and HSP cohorts. HSP cases had a phenotype mainly characterized by progressive lower limb spasticity, frequently accompanied by urinary urgency and mild impairment of deep sensory modalities. HCA patients presented with progressive incoordination of gait, hands and speech and cerebellar eye movements abnormalities. Familial and sporadic cases were considered. Acquired diseases (nutritional, metabolic, toxic, and immune) were ruled out appropriately.

### 2.2. Clinical assessments

Patients were examined in clinical settings during their usual follow-up visits. Data about demographic, clinical and genetic information were collected systematically. Disability was assessed during the last visit with the following categorical scale [16]: 0 = no gait difficulties; 1 = disease onset as defined by onset of gait difficulties; 2 = loss of independent gait, as defined by permanent use of a walking aid or reliance on a supporting arm; 3 = confinement to wheelchair; 4 = death. Whenever available, ancillary tests were retrospectively reviewed: brain Magnetic Resonance Imaging (MRI), nerve conduction studies, electromyography and muscle biopsy.

### 2.3. Genetic analysis

Informed consent was obtained before the genetic analysis. Genomic DNA was extracted from peripheral blood samples following standard procedures.

In all subjects with a HCA phenotype, abnormal dynamic expansions

**Table 1**  
Summary of clinical and genetic characteristics of the SPG7 cohort.

	Pt	Fam.	Presentation	Sex	Age at onset (years)	Phenotype	Disease duration (years)	Disability at last visit <sup>1</sup>	Allele 1	Allele 2
p.Ala510Val Homozygotes	1	A	Sporadic	M	32	Pure paraplegia	9	1	c.1529C > T (p. Ala510Val)	c.1529C > T (p. Ala510Val)
	2	B	Familial	M	35	Pure cerebellar ataxia	11	1	c.1529C > T (p. Ala510Val)	c.1529C > T (p. Ala510Val)
	3	B	Familial	M	43	Spastic ataxia	15	1	c.1529C > T (p. Ala510Val)	c.1529C > T (p. Ala510Val)
	4	C	Sporadic	M	43	Spastic ataxia	9	1	c.1529C > T (p. Ala510Val)	c.1529C > T (p. Ala510Val)
	5	D	Sporadic	M	47	Spastic ataxia	8	1	c.1529C > T (p. Ala510Val)	c.1529C > T (p. Ala510Val)
	6	E	Sporadic	M	49	Spastic ataxia	17	2	c.1529C > T (p. Ala510Val)	c.1529C > T (p. Ala510Val)
	7	F	Sporadic	M	50	Spastic ataxia	29	2	c.1529C > T (p. Ala510Val)	c.1529C > T (p. Ala510Val)
	8	G	Familial	M	50	Pure paraplegia	18	2	c.1529C > T (p. Ala510Val)	c.1529C > T (p. Ala510Val)
	9	H	Sporadic	F	64	Spastic ataxia	8	2	c.1529C > T (p. Ala510Val)	c.1529C > T (p. Ala510Val)
	10	I	Familial	M	15	Complex: ataxia, pes cavus, myopathy	30	1	c.1529C > T (p. Ala510Val)	c.1676delA (p. Lys559Argfs*33) <sup>†</sup>
	11	I	Familial	M	15	Complex: ataxia, dystonic hand posturing, myopathy	28	1	c.1529C > T (p. Ala510Val)	c.1676delA (p. Lys559Argfs*33) <sup>†</sup>
	12	J	Sporadic	M	17	Complex: multifocal dystonia with ataxia and pyramidalism.	19	1	c.1529C > T (p. Ala510Val)	c.1715C > T (p. Ala572Val)
Compound heterozygotes	13	K	Sporadic	M	20	Complex: Spastic ataxia, PEO	35	2	c.1529C > T (p. Ala510Val)	c.1729G > C (p. Gly577Arg)
	14	L	Sporadic	M	34	Spastic ataxia	14	2	c.1529C > T (p. Ala510Val)	c.2164delC (p. Leu722Trpfs*16)
	15	M	Familial	M	36	Spastic ataxia	33	2	c.1529C > T (p. Ala510Val)	del17 (p.?)
	16	N	Sporadic	M	41	Pure paraplegia	6	1	c.1529C > T (p. Ala510Val)	c.935C > A (p. Ala312Glu) <sup>†</sup>
	17	O	Sporadic	M	42	Spastic ataxia	11	1	c.1529C > T (p. Ala510Val)	c.1948G > A (p. Asp650Asn)
	18	P	Sporadic	M	53	Spastic ataxia	5	1	c.1529C > T (p. Ala510Val)	c.806G > A (p. Trp269*)
	19	Q	Familial	M	20	Spastic ataxia	33	2	c.233T > A (p. Leu78*)	c.233T > A (p. Leu78*)
Other	20	Q	Familial	M	25	Spastic ataxia	27	2	c.233T > A (p. Leu78*)	c.233T > A (p. Leu78*)
	21	R	Familial	F	54	Pure paraplegia	18	2	c.806G > A (p. Trp269*)	c.806G > A (p. Trp269*)

Abbreviations: AR: autosomal recessive, M: male, F: female. PEO: Progressive External Ophthalmoplegia.

<sup>1</sup> Disability scale [16]: 0 = no gait difficulties; 1 = disease onset as defined by onset of gait difficulties; 2 = loss of independent gait, as defined by permanent use of a walking aid or reliance on a supporting arm; 3 = confinement to wheelchair; 4 = death.

<sup>†</sup> Novel variant.

in *ATXN1* (SCA1), *ATXN2* (SCA2), *ATXN3* (SCA3), *CACNA1A* (SCA6), *ATXN7* (SCA7), *ATXN8* (SCA8), *PPP2R2B* (SCA12), *TBP* (SCA17), *ATN1* (DRPLA) and *FXN* (Friedreich ataxia) were previously excluded by Sanger sequencing.

Next-Generation Sequencing (NGS): *SPG7* was analyzed using a SureSelect Custom Constitutional Panel 17 Mb (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) for Illumina (San Diego, CA, USA), in which 237 genes involved in HCA, HSP and related forms were studied (See Supplementary Material). The obtained sequences were aligned against the genome reference sequence (GRCh37/hg19) to perform the calling of variants with the Alissa Clinical Informatics Platform, and identified variants were analyzed using VarSome. To investigate the novelty of the identified variants, several databases were consulted: 1000G, ESP6500, gnomAD, and ClinVAR. Patient 6, affected by generalized dystonia (Table 1), was studied with the custom gene panel MovDisord-498 previously described [17]. DNA variants were classified according to the American College of Medical Genetics (ACMG) guidelines [18].

Multiplex Ligation-Dependent Probe Amplification Analysis (MLPA): In patients carrying only one heterozygous *SPG7* mutation, large deletions and duplications were analyzed by MLPA using the SALSA MLPA P213-HSP (MRC-Holland, Amsterdam, Netherlands).

#### 2.4. Statistical analysis

Statistical analysis was performed using IBM SPSS Statistics for Mac Version 27.0.1.0. Descriptive analysis of clinical and paraclinical data was performed. Pearson's chi-squared or Fisher's exact test were used to compare categorical variables when appropriate. Normal distribution of continuous variables (age at onset, disease duration) was verified with the Shapiro-Wilk test ( $p > 0.05$ ) and the Student's t-test was used to assess differences between groups. In all analysis  $p < 0.05$  was considered statistically significant.

### 3. Results

#### 3.1. Demographic and phenotypic characterization

Twenty-one patients from 18 different families had biallelic mutations in *SPG7* (Table 1 and Supplementary Material Table S1). All families were Spanish Caucasian, except family Q of Roma ancestry. Nineteen patients were male (90.5%) and two were female (9.5%). The overall mean age at onset was 37.4 years ( $SD \pm 14.3$ , median age 41, range 15–64). Five patients (24%) from four different families had early onset cerebellar ataxia (BOCA, <25 years of age) [19].

The most frequent phenotype at last visit was spastic ataxia in 12 (57%), followed by spastic paraparesis ( $n = 4$ , 19%) and complex phenotypes ( $n = 4$ , 19%). Only one patient had a pure cerebellar ataxia phenotype without development of pyramidal signs after 11 years of follow-up. The majority of patients presented with gait unsteadiness (95.2%). Only one patient recalled dysarthric speech as his first symptom (4.8%). Subject 12, previously reported [20], presented with early onset multifocal dystonia with severe crano-cervical involvement and mild cerebellar atrophy on brain MRI. Because follow-up examinations also showed mild cerebellar ataxia and spasticity, HSP and HCA genes were analyzed, leading to *SPG7* diagnosis.

We found mitochondrial features in some subjects. Subject 10 showed cerebellar ataxia, *pes cavus* and persistent hyper-CKemia 3xULN. Electroneurography/electromyography studies were normal. His sibling (subject 11) had cerebellar ataxia and dystonic hand posturing. Muscle biopsies from both subjects showed mild myopathic changes and peripheral clusters of mitochondria in myofibers on succinate dehydrogenase (SDH) staining. Patient 13 (p.Ala510Val/p.Gly577Arg) exhibited spastic ataxia and abnormal eye movements indicative of progressive external ophthalmoplegia (Fig. 1). These patients with complex phenotypes (patients 10–13, Table 1) had an earlier age at onset (complex phenotypes 16.75 years,  $SD \pm 2.3$  vs non-complex 42.24,  $SD \pm 11.1$ ,



Fig. 1. *SPG7* patient with progressive external ophthalmoplegia.

Student's t-test,  $p < 0.05$ .

The mean disease duration at the last evaluation was 18.2 years ( $SD \pm 9.9$ , median 17, range 5–35). Independent gait was preserved in 11 (52.4%) while permanent gait support was required in 10 (47.6%). No patient was wheelchair bound at the end of follow-up. We found no differences in functional outcome among different phenotypes as defined in Table 1 (Chi-square test,  $p > 0.05$ ). MRI was available in 17 patients. Cerebellar atrophy was noted in 15 (88.2%), mostly generalized. We did not encounter hyperintense dentate nucleus as reported by other authors [5].

#### 3.2. Genetic characterization

Twelve cases were sporadic (57.1%) and nine had family history (42.9%) consistent with autosomal recessive inheritance, with two or more siblings affected. Twelve patients (57.1%) were homozygous, while nine were compound heterozygous (42.9%). History of consanguinity was only present in three families (16.6%), including the one of Roma ancestry. The most frequent variant was p.Ala510Val (27 out of 42 alleles, 64.3%). It was found in homozygosity in nine patients and in all the compound heterozygous cases. Two consanguineous cases were homozygous for c.233 T > A (p.Leu78\*) and one for c.806G > A (p.Trp269\*). A single copy number variation was detected after MLPA in patient 15 (exon 17 deletion).

We identified two novel probably damaging variants: c.1676delA (p.Lys559Argfs\*) and c.935C > A (p.Ala312Glu). Both of them are predicted as deleterious changes by *in silico* applied tools and are not annotated in the consulted databases. According to the ACMG criteria p.Lys559Argfs\* is classified as pathogenic and p.Ala312Glu as a likely pathogenic variant. Both mutations were identified in compound heterozygosity with p.Ala510Val: p.Lys559Argfs\*33 in the siblings 10 and 11 with a complicated phenotype, and p.Ala312Glu in the patient 16 with a pure paraparesis (Table 1).

Additionally we identified five cases single heterozygous for the deleterious variant p.Ala510Val, and importantly, none of them harbored *AFG3L2* mutations or other pathogenic/likely pathogenic variants in HCA/HSP related genes included in our panel.

#### 3.3. Genotype-phenotype correlations

The effect of the commonest *SPG7* variant c.1529C > T (p.Ala510Val) was analyzed (Table 2). p.Ala510Val carriers in compound

**Table 2**

Genotype-phenotype correlation findings among p.Ala510Val homozygotes vs compound heterozygous for p.Ala510Val.

	Homozygotes	Compound heterozygotes	p value	
n	9	9	–	
Male	8	9	>0.05	
Mean age at onset (years)	45.9	30.3	<0.05	
Phenotype	Non-complex <sup>a</sup>	9	4	<0.05
	Complex	0	5	
Disability scale <sup>1</sup>	1	5	3	>0.05
	2	4	6	

Abbreviations: \* Spastic ataxia, pure paraparesis, pure cerebellar ataxia. <sup>1</sup>Ataxia disability scale: 1 = disease onset as defined by onset of gait difficulties; 2 = loss of independent gait, as defined by permanent use of a walking aid or reliance on a supporting arm.

heterozygosity were younger at onset than p.Ala510Val homozygotes (30.3 years SD ± 13.9 vs 45.9 years SD ± 9.4, Student's *t*-test, *p* < 0.05). Compound heterozygous patients more often displayed complex phenotypes (44%) compared to p.Ala510Val homozygous cases (Fisher test, *p* < 0.05). p.Ala510Val homozygotes showed no additional features other than spastic ataxia. Differences in disease progression were not found between different p.Ala510Val genotypes (Fisher test, *p* > 0.05). Patients with loss-of-function mutations did not differ in age at onset (31.5 years SD ± 15.6 vs 41 years SD ± 12.7, Student's *t*-test >0.05) or phenotype (Fisher test, *p* > 0.05) from patients with missense variants.

#### 4. Discussion

##### 4.1. Phenotypic spectrum of SPG7

Here we report 21 patients from a single center with mutations in *SPG7*, the second largest Spanish cohort published to date [10]. This study confirmed in our population the main clinical and genetic characteristics associated with *SPG7* mutations: male predominance, mid-age at onset, and spastic ataxia as the main phenotype. Ambulation was preserved in most patients (52%), despite a mean disease duration of 18 years, and it was unrelated to either the phenotype or genotype. This reflects slow progression and the overall good functional prognosis of *SPG7* patients compared to other HSP and HCA [21,22].

Clinical features beyond spastic ataxia matched previously published works [3,4]. The complex phenotypes seen in our *SPG7* patients included neuromuscular symptoms, such as PEO and/or the presence of hyper-CKemia and myopathic changes in the muscle biopsy. These findings are consistent with the subcellular mitochondrial function of *SPG7*. Different mitochondrial disease-like phenotypes have been reported in *SPG7* patients [9] (Table 3). Optic atrophy is usually mild and frequently subclinical [14], although severe infantile-onset optic atrophy has also been described [23]. Ophthalmoplegia tends to appear late in the evolution of the disease and is often associated with proximal myopathy with evidence of mitochondrial pathology upon muscle biopsy [9].

One of our patients displayed multifocal dystonia with prominent crano-cervical involvement [20], expanding the extrapyramidal manifestations of this disease. The presence of mild cerebellar and pyramidal signs at follow up examinations, and cerebellar atrophy on MRI, helped us to reach the diagnosis.

Extrapyramidal manifestations in *SPG7* patients are increasingly being reported, even as the main clinical presentation [11–13,24]. In fact, parkinsonism was found in one fifth of the *SPG7* patients in a Spanish cohort [10]. However, dystonia seems a rarer manifestation and has been reported mainly in the form of focal dystonia [7,25] or spasmodic dysphonia [12]. Given the increasing recognition of *SPG7* in patients with movement disorders, the inclusion of *SPG7* in the genetic

**Table 3**

*SPG7* extended clinical spectrum.

Clinical manifestation <sup>a</sup>	No. patients [Reference]	Total patients
Progressive external ophthalmoplegia	1 [5], 3 [7], 5 [8], 8 [9], 9 [10], 48 [26], 8 [27], 1 [37]	83
Proximal myopathy/waddling gait	7 [3], 5 [9], 24 [5], 1 [32]	37
Optic neuropathy	1 [3], 1 [5], 3 [7], 2 [9], 1 [11], 10 [14], 1 [23], 44 [26], 1 [27], 1 [34]	65
Cognitive impairment	5 [5], 1 [7], 4 [8], 1 [9], 2 [10], 1 [14], 22 [26], 4 [27], 6 [28], 1 [29], 3 [30], 2 [34]	52
Parkinsonism	1 [7], 7 [10], 1 [11], 1 [24], 13 [26]	23
Dystonia	2 [7], 1 [10], 1 [12], 1 [20], 1 [25], 8 [26]	14
Isolated Pisa syndrome	1 [10]	1
Myoclonus	1 [13], 1 [10]	2
Primary lateral sclerosis	5 [31]	5
Peripheral neuropathy	1 [30], 1 [33], 15 [34]	6
Hypoacusia	1 [5], 2 [8], 1 [34]	4
Retinopathy	2 [8]	2
Epilepsy	1 [29], 1 [34]	2

<sup>a</sup> Solely patients with biallelic variants have been included.

differential diagnosis of dystonia-ataxia and complex parkinsonism syndromes should be considered, especially when pyramidal or cerebellar signs are also present [20]. Other clinical features, such as cerebellar cognitive-affective syndrome or impairment in executive and verbal tasks as found by Lupo et al [28], were not specifically addressed in our study. Cerebellar atrophy was a consistent finding in our cohort (88.2%). Further studies should evaluate the quantitative degree of cerebellar atrophy and its possible correlation with disease duration.

#### 5. Genetic background in *SPG7*

p.Ala510Val was the most frequent variant identified in both homozygosity and heterozygosity [22,24]. The genotype-phenotype analysis showed that patients harboring compound heterozygous mutations for p.Ala510Val were younger at onset and more often presented a complex phenotype compared to homozygous for p.Ala510Val as reported by other authors [6,10]. Nevertheless, no differences in functional outcome were found. We discovered two novel variants: the frameshift mutation p.Lys559Argfs\*33 in family D (siblings 4 and 5), and the missense p.Ala312Glu variant in patient 14, a sporadic case with a predominant HSP phenotype.

History of consanguinity was not common (16%), which reflects the high frequency of p.Ala510Val carriers in the healthy Spanish population. p.Ala510Val mutation is present at a carrier frequency of approximately 1% in Spain [15] and consequently, may represent a source of considerable disease burden. Although *SPG7* is currently considered an autosomal recessive disease, this mode of inheritance has been questioned. For instance, some studies postulated dominant transmission [34,35], but this was disputed after the recognition of deep intronic mutations in *SPG7* heterozygotes [36]. Besides, in a Canadian cohort heterozygous *SPG7* pathogenic variants were more frequently found among HSP patients than in controls [37]. Of interest, single heterozygous *SPG7* patients more frequently had additional pathogenic/likely pathogenic variants in other known HSP genes, suggesting the possibility of non-Mendelian inheritance. In our cohort we did not find any kindred with dominant transmission of *SPG7*. In addition, pathogenic/likely pathogenic variants in other HCA/HSP related genes were not found in *SPG7* single heterozygotes. Because exome sequencing approach might miss mutations in deep intronic regions, further studies with new diagnostic tools like Whole Genome Sequencing are needed to unravel *SPG7* molecular pathogenesis.

In conclusion, spastic ataxia is the main phenotype in patients with *SPG7*. Nevertheless, searching for mutations in *SPG7* gene should also be considered in patients with less frequent clinical findings, such as dystonia or ophthalmoplegia, especially when these symptoms are

associated with spastic ataxia.

#### Informed consent statement

Written informed consent was obtained from all subjects involved in the study. Patients also provided written informed consent for photographs use for academic purposes.

#### Authors contributions

all authors listed contributed substantially in patients assessments, writing, editing and reviewing of the manuscript.

#### Funding

This research was funded by the project PI18-00147 supported by the Instituto de Salud Carlos III (ISCIII) to C.E., and the grants PROMETEO/2018/135 to C.E. and PROMETEO/2019/075 to N.M.G and L.B.A from Generalitat Valenciana. R.B.M received a grant from the Instituto de Investigación Sanitaria La Fe (2020-617-1), within the framework of the National Research and Development Plan co-funded with European Regional Development Funds. Part of the equipment employed in this study was funded by the Valencian Government and Co-financed with European Regional Development Funds (OP ERDF of Valencian Community 2014-2020).

#### Declaration of Competing Interest

The authors declare no conflict of interest. The funders had no role in the design of the study; in the collection, analyses, or interpretation of data; in the writing of the manuscript, or in the decision to publish the results.

#### Acknowledgments

We thank all patients and families for their participation in this study.

#### Appendix A. Supplementary data

Supplementary data to this article can be found online at <https://doi.org/10.1016/j.jns.2021.118062>.

#### References

- [1] G. De Michele, M. De Fusco, F. Cavalcanti, A. Filla, R. Marconi, G. Volpe, et al., A new locus for autosomal recessive hereditary spastic paraparesis maps to chromosome 16q24.3, *Am. J. Hum. Genet.* 63 (1) (1998) 135–139, <https://doi.org/10.1086/301930>.
- [2] G. Casari, M. De Fusco, S. Giarmatori, M. Zeviani, M. Mora, P. Fernandez, et al., Spastic paraparesis and OXPHOS impairment caused by mutations in paraplegin, a nuclear-encoded mitochondrial metalloprotease, *Cell* 93 (6) (1998) 973–983, [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(00\)81203-9](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(00)81203-9).
- [3] K. Choquet, M. Tétreault, S. Yang, R. La Piana, M.J. Dicaire, M.R. Vanstone, et al., SPG7 mutations explain a significant proportion of French Canadian spastic ataxia cases, *Eur. J. Hum. Genet.* 24 (7) (2016) 1016–1021, <https://doi.org/10.1038/ejhg.2015.240>.
- [4] G. Pfeffer, A. Pyle, H. Griffin, V. Wilson, L. Turnbull, K. Fawcett, et al., SPG7 mutations are a common cause of undiagnosed ataxia, *Neurology* 84 (2015) 1174–1177, <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000001369>.
- [5] G.A. Hewamadduma, N. Hoggard, R. O’Malley, M.K. Robinson, N.J. Beauchamp, R. Segamogai, et al., Novel genotype-phenotype and MRI correlations in a large cohort of patients with SPG7 mutations, *Neurol. Genet.* 4 (6) (2018), <https://doi.org/10.1212/NXG.0000000000000279>.
- [6] C. Mancini, E. Giorgio, A. Rubegni, L. Pradotto, S. Bagnoli, E. Rubino, et al., Prevalence and phenotype of the c.1529C>T SPG7 variant in adult-onset cerebellar ataxia in Italy, *Eur. J. Neurol.* 26 (1) (2019) 80–86, <https://doi.org/10.1111/ene.13768>.
- [7] K.L.I. Van Gassen, C.D.C.C. Van Der Heijden, S.T. De Bot, W.F.A. Den Dunnen, L. H. Van Den Berg, C.C. Verschuur-Bemelmans, et al., Genotype-phenotype correlations in spastic paraparesis type 7: a study in a large Dutch cohort, *Brain* 135 (10) (2012) 2994–3004, <https://doi.org/10.1093/brain/aws224>.
- [8] I.M. Wedding, J. Koht, G.T. Tran, D. Misceo, K.K. Selmer, A. Holmgren, et al., Spastic paraparesis type 7 is associated with multiple mitochondrial DNA deletions, *PLoS One* 9 (1) (2014) 3–10, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0086340>.
- [9] G. Pfeffer, G.S. Gorman, H. Griffin, M. Kurzawa-Akanbi, E.L. Blakely, I. Wilson, et al., Mutations in the SPG7 gene cause chronic progressive external ophthalmoplegia through disordered mitochondrial DNA maintenance, *Brain* 137 (5) (2014) 1323–1336, <https://doi.org/10.1093/brain/awu060>.
- [10] B. De la Casa-Fages, G. Fernández-Eulate, J. Gamez, R. Barahona-Hernando, G. Moris, M. García-Barcina, et al., Parkinsonism and spastic paraparesis type 7: expanding the spectrum of mitochondrial parkinsonism, *Mov. Disord.* 34 (10) (2019) 1547–1561, <https://doi.org/10.1002/mds.27812>.
- [11] S. Magri, V. Fracasso, M. Plumari, E. Alfei, D. Ghezzi, C. Gellera, et al., Concurrent AFG3L2 and SPG7 mutations associated with syndromic parkinsonism and optic atrophy with aberrant OPAL processing and mitochondrial network fragmentation, in: *Human Mutation* 39, 2018, pp. 2060–2071, <https://doi.org/10.1002/humu.23658>.
- [12] D. Hall, N. Stong, N. Lippa, M.J. Pitman, S.L. Pullman, O.A. Levy, Spasmodic dysphonia in hereditary spastic paraparesis type 7, *Mov. Disord. Clin. Pract.* 5 (2) (2018) 221–222, <https://doi.org/10.1002/mdc3.12580>.
- [13] G. Primiano, G. Zanni, M. Nardella, S. Servidei, Teaching video NeuroImage: palatal tremor associated with SPG7 variants, *Neurology* 94 (19) (2020) e2074–e2075, <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000009409>.
- [14] S. Klebe, C. Depienne, S. Gerber, G. Challe, M. Anheim, P. Charles, et al., Spastic paraparesis gene 7 in patients with spasticity and/or optic neuropathy, *Brain* 135 (12) (2012) 2990–2993, <https://doi.org/10.1093/brain/awz240>.
- [15] E. Sánchez-Ferrero, E. Coto, C. Beetz, J. Gámez, A. Gorao, M. Díaz, et al., SPG7 mutational screening in spastic paraparesis patients supports a dominant effect for some mutations and a pathogenic role for p.A510V, *Clin. Genet.* 83 (3) (2013) 257–262, <https://doi.org/10.1111/j.1399-0004.2012.01896.x>.
- [16] M. Abele, K. Bürk, L. Schöls, S. Schwartz, I. Besenthal, J. Dichgans, et al., The aetiology of sporadic adult-onset ataxia, *Brain* 125 (5) (2002) 961–968, <https://doi.org/10.1093/brain/awf107>.
- [17] M. Correa-Vela, V. Lupo, M. Montpéoy, P. Sancho, A. Marcé-Grau, J. Hernández-Vara, et al., Impaired proteasome activity and neurodegeneration with brain iron accumulation in FBXO7 defect, *Ann. Clin. Transl. Neurol.* 7 (6) (2020) 1436–1442, <https://doi.org/10.1002/acn3.51095>.
- [18] S. Richards, N. Aziz, S. Bale, D. Bick, S. Das, J. Gastier-Foster, et al., Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology, *Genet. Med.* 17 (5) (2015) 405–424, <https://doi.org/10.1038/gim.2015.30>.
- [19] T. Klockgether, D. Petersen, W. Grodd, et al., Early onset cerebellar ataxia with retained tendon reflexes: clinical, electrophysiological and MRI observations in comparison with Friedreich’s Ataxia, *Brain* 114 (4) (1991) 1559–1573, <https://doi.org/10.1093/brain/114.4.1559>.
- [20] M. Campins-Romeu, R. Bavier-Muñoz, I. Sastre-Bataller, et al., Hereditary spastic paraparesis 7 presenting as multifocal dystonia with prominent crano-cervical involvement, *Mov. Disord. Clin. Pract.* (2021), <https://doi.org/10.1002/mdc3.13257>.
- [21] H. Jacobi, S.T. du Montcel, P. Bauer, P. Giunti, A. Cook, R. Labrum, et al., Long-term disease progression in spinocerebellar ataxias types 1, 2, 3, and 6: a longitudinal cohort study, *Lancet Neurol.* 14 (11) (2015) 1101–1108, [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(15\)00202-1](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(15)00202-1).
- [22] H. Jacobi, S.T. du Montcel, P. Bauer, P. Giunti, A. Cook, R. Labrum, et al., Long-term evolution of patient-reported outcome measures in spinocerebellar ataxias, *J. Neurol.* 265 (9) (2018) 2040–2051, <https://doi.org/10.1007/s00415-018-0954-0>.
- [23] C. Marcotulli, L. Leonardi, A. Tessa, A.M. De Negris, R. Cornia, A. Pierallini, et al., Early-onset optic neuropathy as initial clinical presentation in SPG7, *J. Neurol.* 261 (9) (2014) 1820–1821, <https://doi.org/10.1007/s00415-014-7432-6>.
- [24] J.L. Pedroso, T.C. Vale, F.L. Bueno, V.H.R. Marusci, Amaral LLF do, França MC, et al., SPG7 with parkinsonism responsive to levodopa and dopa-aminergic deficit, *Parkinsonism Relat. Disord.* 47 (2018) 88–90, <https://doi.org/10.1016/j.parkreldis.2017.12.004>.
- [25] S.M. Schaefer, A.M. Szekely, J.J. Moeller, S. Tinaz, Hereditary spastic paraparesia presenting as limb dystonia with a rare spg7 mutation, *Neurol. Clin. Pract.* 8 (6) (2018) E49–E50, <https://doi.org/10.1212/CPJ.0000000000000552>.
- [26] G. Coarelli, R. Schulz, B.P.C. Van De Warrenburg, P. De Jonghe, C. Ewenczyk, A. Martinuzzi, et al., Loss of paraplegin drives spasticity rather than ataxia in a cohort of 241 patients with SPG7, *Neurology* 92 (23) (2019), <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000007606>.
- [27] S.L. Rydning, I.M. Wedding, J. Koht, M. Chawla, A.M. Øye, Y. Sheng, et al., A founder mutation p.H701P identified as a major cause of SPG7 in Norway, *Eur. J. Neurol.* 23 (4) (2016) 763–771, <https://doi.org/10.1111/ene.12937>.
- [28] M. Lupo, G. Olivito, S. Clausi, L. Siciliano, V. Riso, M. Bozzali, et al., Cerebellocortical alterations linked to cognitive and social problems in patients with spastic paraparesis type 7: a preliminary study, *Front. Neurol.* 11 (2020) 82, <https://doi.org/10.3389/fneur.2020.00082>.
- [29] J.M. Ringman, Y. Qiao, A. Garbin, B.E. Fisher, B. Fogel, K. Watari Knoell, et al., Emotional detachment, gait ataxia, and cerebellar dysconnectivity associated with compound heterozygous mutations in the SPG7 gene, *Neurocase*, 26 (5) (2020) 299–304, <https://doi.org/10.1080/13554794.2020.1817493>.
- [30] A. Arnoldi, A. Tonelli, F. Crippa, et al., A clinical and genetic and biochemical characterization of SPG7 mutations in a large cohort of patients with hereditary spastic paraparesis, *Hum. Mutat.* 29 (4) (2008) 522–531, <https://doi.org/10.1002/humu.20682>.

- [31] Y. Yang, L. Zhang, D.R. Lynch, T. Lukas, K. Ahmeti, P.M.A. Sleiman, et al., Compound heterozygote mutations in SPG7 in a family with adult-onset primary lateral sclerosis, *Neurol. Genet.* 2 (2) (2016) 1–6, <https://doi.org/10.1212/NXG.0000000000000060>.
- [32] C.J. McDermott, R. Dayaratne, J. Tomkins, et al., Paraplegin gene analysis in hereditary spastic paraparesis (HSP) pedigrees in Northeast England, *Neurology* 56 (4) (2001) 467–471.
- [33] R.H. Roxburgh, R. Marquis-Nicholson, F. Ashton, A.M. George, R.A. Lea, D. Eccles, et al., The p.Ala510Val mutation in the SPG7 (paraplegin) gene is the most common mutation causing adult onset neurogenetic disease in patients of British ancestry, *J. Neurol.* 260 (5) (2013) 1286–1294, <https://doi.org/10.1007/s00415-012-6792-z>.
- [34] M. Charif, A. Chevrollier, N. Gueguen, et al., Mutations in the m-AAA proteases AFG3L2 and SPG7 are causing isolated dominant optic atrophy, *Neurol. Genet.* 6 (2020), e428, <https://doi.org/10.1212/NXG.0000000000000428>.
- [35] Y. Liu, J. Xu, W. Tao, et al., Exome sequencing identifies a mutation (Y740C) in spastic paraplegia 7 gene associated with adult-onset primary lateral sclerosis in a Chinese family, *Eur. Neurol.* 81 (1–2) (2019) 87–93.
- [36] E. Verdura, A. Schlüter, G. Fernández-Eulate, et al., A deep intronic splice variant advises reexamination of presumably dominant SPG7 cases, *Ann. Clin. Transl. Neurol.* 7 (1) (2020) 105–111, <https://doi.org/10.1002/acn3.50967>.
- [37] M.A. Estiar, E. Yu, I.H. Salem, et al., Evidence of non-mendelian inheritance in spastic paraplegia 7, *Mov. Disord.* (2021), <https://doi.org/10.1002/mds.28520>, Feb 17.

**Genes included in SureSelect Custom Constitutional Panel 17 Mb (237 HCA and HSP genes)**

*ABCB7, ABCD1, ABHD12, ACO2, ADAR, ADCK3, AFG3L2, AH11, ALDH18A1, ALS2, AMPD2, ANO10, AP4B1, AP4E1, AP4M1, AP4S1, AP5Z1, APTX, ARL13B, ARL6IP1, ARSA, ARSI, ASPA, ATCAY, ATG5, ATL1, ATM, ATP13A2, ATP1A3, ATP2B3, ATP8A2, AUH, B4GALNT1, BICD2, BSCL2, C10orf2, C12orf65, C19orf12, C48, CACNA1A, CACNA1G, CACNB4, CAPN1, CASK, CC2D2A, CCDC88C, CCT5, CLCN2, CLN5, CLN6, COL18A1, COX20, CP, CPT1C, CWF19L1, CYP27A1, CYP2U1, CYP7B1, DARS2, DCTN1, DDHD1, DDHD2, DNAJC19, DNAJC3, DNM2, DNMT1, EEF2, EIF2B1, EIF2B2, EIF2B3, EIF2B4, EIF2B5, ELOVL4, ELOVL5, ENTPD1, EPM2A, ERLIN1, ERLIN2, EXOSC3, FA2H, FAM134B, FARS2, FGF12, FGF14, FLTR1, FLVCR1, FMRI, FXN, GAD1, GALC, GAN, GBA2, GFAP, GJC2, GLB1, GLRX5, GOSR2, GRID2, GRM1, HEXA, HEXB, HSD17B4, HSPD1, IBA57, IFIH1, ITPRI, KCNA1, KCNA2, KCNC3, KCND3, KCNJ10, KIAA0196, KIAA0226, KIF1A, KIF1C, KIF5A, KLC2, L1CAM, L2HGDH, LAMA1, LYST, MAG, MARS, MARS2, MECP2, MLC1, MMADHC, MME, MRE11A, MTAP, MTTP, NHLRC1, NIPA1, NPC1, NPC2, NT5C2, OPA1, OPA3, OPHN1, PCNA, PDHX, PDYN, PEX10, PEX16, PEX2, PEX6, PEX7, PGAPI, PHYH, PIK3R5, PLA2G6, PLD3, PLEKHG4, PLP1, PMCA4, PMM2, PMPCA, PNKP, PNPLA6, POLG, POLR3A, POLR3B, PRKCG, PRNP, PSAP, PSEN1, PTF1A, RAB3GAP2, REEP1, REEP2, RNASEH2B, RNE168, RNF216, RTN2, SACS, SCN2A, SCN8A, SCYL1, SDHA, SETX, SIL1, SLC16A2, SLC17A5, SLC1A3, SLC25A15, SLC25A46, SLC2A1, SLC33A1, SLC52A2, SLC6A19, SLC6A9, SLC9A1, SLC9A6, SNX14, SPAST, SPG11, SPG20, SPG21, SPG7, SPR, SPTBN2, STUB1, SYNE1, SYT14, TBP, TDP1, TDP2, TECPR2, TFG, TGM6, THG1L, TMEM240, TPP1, TRPC3, TSFM, TTBK2, TTC19, TTPA, TUBB4A, TXN2, UBA5, UBQLN2, UCHL1, USP8, VAMP1, VCP, VLDR, VPS37A, VWA3B, WDR48, WDR73, WDR81, WFS1, WWOX, ZFR, ZFYVE26, ZFYVE27*

Pt	Fam	Sex	Symptom at onset	Age at diagnosis (years)	Ocular	Dysarthria	Ataxia	Spasticity	Hyperreflexia	EPR	Extrapyramidal	Bladder disturbances	Other	Skeletal
1	A	M	Gait disorder	41	-	-	-	+	3+	+	-	U	-	-
2	B	M	Gait disorder	45	Sac	C	G	-	3+	-	-	-	-	-
3	B	M	Gait disorder	56	Nys, Sac	C	G/L	+	3+	+	-	-	-	-
4	C	M	Dysarthria	50	Nys, Sac	C	G/L	+	4+	+	-	-	-	-
5	D	M	Gait disorder	53	Nys, Sac	-	G/L	+	4+	-	-	U	-	Scoliosis
6	E	M	Gait disorder	65	Nys, Sac	S/C	G/L	+	4+	+	-	U	-	-
7	F	M	Gait disorder	77	Sac	C	G/L	+	2+	+	-	-	-	-
8	G	M	Gait disorder	66	Sac	S	-	+	4+	+	-	-	-	-
9	H	F	Gait disorder	72	Sac	-	G	+	3+	+	-	U/I	-	-
10	I	M	Gait disorder	43	Sac	C	G/L	-	3+	-	-	-	Myopathy	Pes cavus
11	I	M	Gait disorder	41	Sac	C	G/L	+	3+	-	Mild dystonia	-	Myopathy	-
12	J	M	Gait disorder	34	Nys, Sac	C/D	G/L	+	4+	+	Multifocal dystonia	-	-	-
13	K	M	Gait disorder	53	Nys, Sac,	C	G/L	+	3+	+	-	U	PEO	-
14	L	M	Gait disorder	46	Sac	C	G/L	+	4+	+	-	U/I	-	-
15	M	M	Gait disorder	67	Nys, Sac	C	G/L	+	4+	+	-	U	-	-
14	N	M	Gait disorder	45	-	-	-	+	4+	+	-	-	-	-
17	O	M	Gait disorder	51	Sac	C	G/L	+	4+	-	-	-	-	-
18	P	M	Gait disorder	58	Sac	-	G	+	4+	+	-	U	-	Pes cavus
19	Q	M	Gait disorder	50	Nys, Sac	C	G/L	+	4+	+	-	-	-	-
20	Q	M	Gait disorder	51	Nys, Sac	C	G/L	+	3+	-	-	U	-	-
21	R	F	Gait disorder	71	Sac	-	-	+	3+	+	-	U	-	-

Table S1: Abbreviations: EPR: Extensor Plantar Response, Nys: Nystagmus, Sac: slow saccades, C: Cerebellar dysarthria, S: spastic dysarthria, G: Gait ataxia, L: Limbs dysmetria, U: Urgency, I: Incontinency, - : absent, + : present, PEO: Progressive External Ophthalmoplegia.

**Trabajo 3:**

*Hereditary Spastic Paraplegia 7 presenting as multifocal dystonia with prominent crano-cervical involvement.*

Campins-Romeu M, Baviera-Muñoz R, Sastre-Bataller I, Bataller L, Jaijo T, Martinez-Torres I. Mov Disord Clin Pract. 2021; 8(6):966-968, doi: 10.1002/mdc3.13257.



# Hereditary Spastic Paraplegia 7 Presenting as Multifocal Dystonia with Prominent Cranio-Cervical Involvement

Marina Campins-Romeu, MD,<sup>1</sup> Raquel Baviera-Muñoz, MD,<sup>1</sup> Isabel Sastre-Bataller, MD,<sup>1</sup> Luis Bataller, MD, PhD,<sup>1</sup> Teresa Jaijo, PhD,<sup>2</sup> and Irene Martínez-Torres, MD, PhD<sup>1,\*</sup>

Hereditary spastic paraplegias (HSP) are neurodegenerative disorders with significant clinical and genetic heterogeneity. To date, more than 80 causative loci of HSP have been identified, comprising autosomal dominant, autosomal recessive, X-linked and mitochondrial inheritance patterns.<sup>1</sup>

Spastic paraplegia type 7 (SPG7) is one of the most common autosomal recessive forms. SPG7 gene encodes paraplegin a mitochondrial metalloprotease involved in mitochondrial membrane trafficking, regulation of cell components and protein metabolism.<sup>2</sup> SPG7 mutations have been widely referred as a frequent cause of mid-age onset hereditary cerebellar ataxia.<sup>3</sup> Mitochondrial clinical features like optic neuropathy, progressive external ophthalmoplegia or parkinsonism are being increasingly recognized.<sup>4,5</sup> We report a SPG7 case presenting with multifocal dystonia with prominent crano-cervical involvement.

A 28-year-old Caucasian male with gait and speech problems was referred to our Movement Disorders clinic for further diagnostic and therapeutic assessments.

He was born from healthy non-consanguineous parents. Family history was unremarkable and no relevant past medical history was reported. His neurological problems started at the age of 17 with clumsiness when playing football. One year later he suffered a quite sudden aphonia that 1 month later evolved to dysarthric speech and chewing difficulties without swallowing impairment. Cervical dystonia was especially triggered when speaking or chewing. At the age of 20, he developed clumsiness with manipulation and abnormal posturing of hands when writing. He did not recognize fluctuations throughout the day. Gait difficulties slowly worsened and at 31-years-old he was unable to run indefinitely.

On initial examination oromandibular and cervical dystonia, mainly antero-caput, were prominent. He showed dystonic posturing and dystonic tremor in both hands. Dystonic postures in feet emerged when walking. Tandem gait was slightly unstable

although he was able to perform it without aid. Deep-tendon reflexes were increased in lower limbs with no other pyramidal signs. Extraocular movements, smooth pursuit and saccades were normal.

Levodopa trial for 4 months, tetrabenazine and trihexyphenidyl treatments reported no benefits. Botulinum toxin injections on sternocleidomastoids, digastric and genioglossus muscles achieved slight relief of speech, chewing and cervical dystonia.

Acquired causes were extensively excluded. Serum copper, ceruloplasmin and 24-hour urinary copper were normal. Brain MRI demonstrated mild cerebellar atrophy and T2-weighted hyperintensities of the cerebral peduncles (Fig. 1). Corpus callosum thickness was normal. Kayser-Fleischer ring was absent and funduscopic exam was normal. A focused dystonia gene panel was negative. Neurodegeneration with brain iron accumulation disorders (PANK2 and PLA2G6) and Niemann-Pick disease were also ruled out. Informed consent was obtained before genetic analysis.

Three years later, examination revealed mild abnormal extraocular movements with saccadic pursuit, hypometric saccades and horizontal gaze nystagmus. Speech was dysarthric with a mixed spastic/dystonic and cerebellar quality. Finger-nose and knee-toe maneuvers showed mild dysmetria. Generalized hyperreflexia and ankle clonus were easily elicited. Right cutaneous-plantar response was flexor and left was equivocal (Video 1 and Video 2).

As pyramidal and cerebellar signs became evident, we decided to perform further genetic testing. We followed a stepwise approach and initially dynamic repeat expansion mutations (SCA1, SCA2, SCA3, SCA6, SCA7, SCA8, SCA10, SCA12, SCA17, DRPLA, FXN) were excluded. Subsequently HSP and hereditary cerebellar ataxia genes were analyzed using a custom gene panel.<sup>6</sup> Two previously reported<sup>4</sup> SPG7 pathogenic variants were found: c.1529C > T(p.Ala510Val) and c.1715C > T(p.

<sup>1</sup>Movement Disorders Unit, Department of Neurology, Hospital Universitari i Politècnic La Fe, Valencia, Spain; <sup>2</sup>Department of Genetics, Hospital Universitari i Politècnic La Fe, Valencia, Spain

\*Correspondence to: Dr. Irene Martínez Torres, Neurologist, Head of Movement Disorders Unit, Department of Neurology, Hospital Universitari i Politècnic La Fe, Avenida Fernando Abril Martorell 106, 46026 Valencia, Spain; E-mail: martinez\_ire@gva.es

Keywords: hereditary paraplegia, multifocal dystonia, SPG7.

Received 2 March 2021; revised 8 April 2021; accepted 4 May 2021.

Published online 22 June 2021 in Wiley Online Library (wileyonlinelibrary.com). DOI: 10.1002/mdc.3.13257



**Video 1.** The patient displays marked cervical and oromandibular dystonia with almost unintelligible speech. Smooth pursuit is impaired and saccades are hypometric, particularly in the vertical plane.  
Video content can be viewed at <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/mdc3.13257>



**Video 2.** Mild dysmetria is evident in finger-nose and knee-toe maneuvers. Tendon reflexes are brisk in lower limbs, with left ankle clonus.  
Gait is unsteady and slightly wide-based, although tandem is possible.  
Video content can be viewed at <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/mdc3.13257>

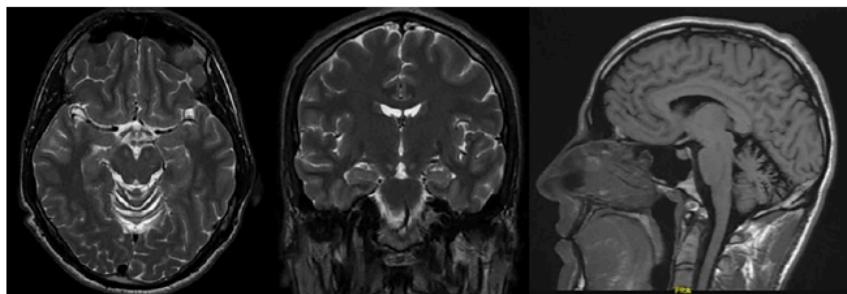
Ala572Val). Segregation analysis demonstrated that variants affected both alleles (*trans* configuration).

Herein we describe a genetically confirmed *SPG7* case presenting with multifocal dystonia with prominent bulbar and cervical involvement. Emergence of cerebellar and pyramidal signs helped us to reach diagnosis. Patient's follow up was 8 years later. At present he is 36, and ambulatory gait is still preserved. Speech and chewing impairment are the most important symptoms.

Dystonia in *SPG7* is uncommon. Solely cases of focal dystonia have been reported. Cervical dystonia was present in two

patients from the Dutch cohort.<sup>7</sup> Spasmodic dysphonia was described in a patient of Pakistani origin<sup>8</sup> and recently focal limb dystonia was added to *SPG7* phenotypes.<sup>9</sup>

Cerebellar atrophy is the most frequent radiological abnormality in all hereditary ataxias. It was present at initial evaluation in our patient, reflecting that clinical or radiological signs of cerebellum involvement should guide genetic testing approach in dystonia-ataxia syndromes. The finding of bilateral cerebral peduncle T2 hyperintensities should also be observed as it has never been described before.



**FIG 1.** Axial and coronal brain MRI demonstrates punctiform hyperintensities on cerebral peduncle in T2-weighted images. Sagittal T1-weighted image shows cerebellar atrophy.

Different studies have demonstrated that dystonia is a network disorder. Lesions not only in the basal ganglia but also in the cerebellum or in sensorimotor cortex may lead to the development of dystonia. Additionally, dystonia can be the presenting symptom in inherited cerebellar diseases and cerebellar atrophy can be found both in patients with idiopathic or familial dystonia.<sup>10</sup> Recognition of new disease phenotypes will contribute to delineate the shared genetic background of dystonia-ataxia syndromes and also improve the yield of genetic testing.

This case widens SPG7 phenotype with multifocal dystonia and shows that SPG7 should be included in the differential diagnosis of combined dystonia, especially when clinical and/or radiological pyramidal and cerebellar signs are present.

## Author Roles

1. Research Project: A. Conception, B. Organization, C. Execution; 2 Statistical Analysis A. Design, B. Execution, C Review and Critique; 3. Manuscript Preparation: A. Writing the first draft, B: Review and Critique.

MCR: 1A, 1B, 1C, 2A, 2B, 3A

RBM: 1A, 1B, 1C, 2A, 2B, 3A

ISB: 2C, 3B

LB: 2C, 3B

TJ: 2C, 3B

IMT: 2C, 3B

## Acknowledgments

We thank the patient and his family for their patience and cooperation.

We thank Dr Carmen Espinós and her team at the Unit of Rare Neurodegenerative Disease in Centro de Investigación Príncipe Felipe (CIPF) for performing further genetic analysis in our patient and providing comprehensive assessment of the technical methods and results.

## Disclosures

**Ethical Compliance Statement:** The authors confirm that the approval of an institutional review board was not required for this work. Patient provided written informed consent for clinical information and video material use for academic purposes. We confirm that we have read the Journal's position on issues involved in ethical publication and affirm that this work is consistent with those guidelines.

**Funding Sources and Conflicts of Interest:** The authors report no sources of funding and no conflicts of interest.

**Financial Disclosures for the previous 12 months:** The authors report no sources of funding and no conflicts of interest. ■

## References

- Shribman S, Reid E, Crosby AH, Houlden H, Warner TT. Hereditary spastic paraparesia: From diagnosis to emerging therapeutic approaches. *Lancet Neurol* 2019;18:1136–1146.
- Coarelli G, Schule R, van de Warrenburg BPC, et al. Loss of paraplegin drives spasticity rather than ataxia in a cohort of 241 patients with SPG7. *Neurology* 2019;92(23):e1–e12.
- Hewamadduma CA, Hoggard N, O'Malley R, et al. Novel genotype-phenotype and MRI correlations in a large cohort of patients with SPG7 mutations. *Neurol Genet* 2018;4:e279.
- Pfeffer G, Gorman GS, Griffin H, et al. Mutations in SPG7 gene cause chronic progressive external ophthalmoplegia through disordered DNA maintenance. *Brain* 2014;137:1323–1336.
- De la Casa-Fages B, Fernández-Eulate G, Gamez J, et al. Parkinsonism and spastic paraparesia type 7: Expanding the spectrum of mitochondrial parkinsonism. *Mov Disord* 2019;14(10):1546–1560.
- Corma-Vela M, Lupo V, Montpéyó M, et al. Impaired proteasome activity and neurodegeneration with brain iron accumulation in FBXO7 defect. *Ann Clin Transl Neurol* 2020;7:1436–1442. <https://doi.org/10.1002/acn3.51095>.
- van Gassen KLI, Van Der Heijden CDCC, De Bot ST, et al. Genotype – Phenotype correlations in spastic paraparesia type 7: a study in a large Dutch cohort. *Brain* 2012;135:2994–3004.
- Hall D, Stong N, Lippa N, Pitman MJ, Pullman SL, Levy OA. Spastic dysphonia in hereditary spastic paraparesia type 7. *Mov Disord Clin Pract* 2018;5(2):221–222.
- Schaefer SM, Szekely AM, Moeller JJ, et al. Hereditary spastic paraparesia presenting as limb dystonia with a rare SPG7 mutation. *Neurol Clin Pract* 2018;8(2):1–2.
- Bologna M, Berardelli A. Cerebellum: an explanation for dystonia? *Cerebellum Ataxias* 2017;4:6.

**Video 1 and 2:**

<https://movementdisorders.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/mdc3.13257>

**Trabajo 4:**

***Spinocerebellar ataxia 36 is a frequent cause of hereditary ataxia in Eastern Spain.***

Baviera-Muñoz R, Carretero-Vilarroig L, Muelas N, Sivera R, Sopena-Novales P, Martínez-Sanchis B, Sastre-Bataller I, Campins-Romeu M, Martínez-Torres I, García-Verdugo JM, Millán JM, Jaijo T, Aller E, Bataller L. Mov Disord Clin Pract. 2023; 10(6):992-997, doi: 10.1002/mdc3.13740.



## Spinocerebellar Ataxia 36 is a Frequent Cause of Hereditary Ataxia in Eastern Spain

Raquel Baviera-Muñoz, MD,<sup>1,2,3,4</sup> Lidón Carretero-Vilarroig, MSc,<sup>2,3,5</sup> Nuria Muelas, MD, PhD,<sup>1,2,3,6,7</sup> Rafael Sivera, MD, PhD,<sup>1,2,7,8</sup> Pablo Sopena-Novales, MD, PhD,<sup>9</sup> Begoña Martínez-Sanchis, MD,<sup>9</sup> Isabel Sastre-Bataller, MD,<sup>1,3</sup> Marina Campins-Romeu, MD,<sup>1</sup> Irene Martínez-Torres, MD, PhD,<sup>1,3</sup> Jose Manuel García-Verdugo, MSc, PhD,<sup>5</sup> Jose M. Millán, MSc, PhD,<sup>3,4,7</sup> Teresa Jaijo, MSc, PhD,<sup>3,4,7,10</sup> Elena Aller, MSc, PhD,<sup>3,4,7,10</sup> and Luis Bataller, MD, PhD<sup>1,2,3,6,7,\*</sup>

**Abstract:** Background: Autosomal dominant spinocerebellar ataxia 36 (SCA36) is caused by hexanucleotide repeat expansion in the *NOP56* gene.

Objectives: To assess frequency, clinical and genetic features of SCA36 in Eastern Spain.

Methods: *NOP56* expansion was tested in a cohort of undiagnosed cerebellar ataxia families ( $n = 84$ ). Clinical characterization and haplotype studies were performed.

Results: SCA36 was identified in 37 individuals from 16 unrelated families. It represented 5.4% of hereditary ataxia patients. The majority were originally from the same region and displayed a shared haplotype. Mean age at onset was 52.5 years. Non-ataxic features included: hypoacusis (67.9%), pyramidal signs (46.4%), lingual fasciculations/atrophy (25%), dystonia (17.8%), and parkinsonism with evidence of dopaminergic denervation (10.7%).

Conclusions: SCA36 is a frequent cause of hereditary ataxia in Eastern Spain, and is associated with a strong founder effect. SCA36 analysis should be considered prior to other studies, especially in AD presentations. Parkinsonism reported here broadens SCA36 clinical spectrum.

SCA36 is caused by a large GGCCTG hexanucleotide non-coding repeat in the nucleolar protein 56 (*NOP56*) gene. It was initially described in Western Japan (3.6% of all SCA)<sup>1</sup> and in the Costa da Morte region of Spain (6.3%).<sup>2</sup> Patients usually exhibit late-onset progressive cerebellar ataxia, characteristically associated with upper and lower motor neuron involvement in the form of lingual and/or skeletal muscle atrophy and fasciculations, and sensorineural hearing loss.<sup>2,3</sup> In recent years, additional features were added to SCA36 phenotypes such as dystonia<sup>4–6</sup> and cognitive-affective cerebellar syndrome (CCAS).<sup>7</sup>

In this study, we investigated the frequency and clinical characteristics of SCA36 in Eastern Spain. Haplotype analysis was conducted to ascertain a founder effect in our population.

## Methods

Patients were enrolled from the Ataxia Clinic at Hospital Universitari i Politècnic La Fe, a national referral center for Hereditary Cerebellar Ataxia and Spastic Paraparesia. The inclusion criteria were: (1) patients with a progressive cerebellar ataxia with negative studies for acquired etiologies; (2) sporadic or AD presentation; and (3) negative genetic studies including analysis of trinucleotide repeat expansion ataxias (SCA1, SCA2, SCA3, SCA6, SCA7, SCA8, SCA12, SCA17, DRPLA and Friedreich ataxia) and/or clinical exome sequencing.<sup>8</sup> Ultimately, SCA36 was screened in 84 index patients from 297 pedigrees. Written informed consent was obtained before the genetic analysis.

<sup>1</sup>Neurology Department, Hospital Universitari I Politècnic La Fe, Valencia, Spain; <sup>2</sup>Neuromuscular and Ataxias Research Group, Instituto de Investigación Sanitaria La Fe, Valencia, Spain; <sup>3</sup>Rare Diseases Joint Unit, CIPF-IIS La Fe, Valencia, Spain; <sup>4</sup>Cellular, Molecular and Genomics Biomedicine Group, Instituto de Investigación Sanitaria La Fe, Valencia, Spain; <sup>5</sup>Cavanilles Institute of Biodiversity and Evolutionary, University of Valencia, Valencia, Spain; <sup>6</sup>Department of Medicine, University of Valencia, Valencia, Spain; <sup>7</sup>Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras U755, U763, (CIBERER), Madrid, Spain; <sup>8</sup>Department of Medicine, University CEU Cardenal Herrera, Valencia, Spain; <sup>9</sup>Nuclear Medicine Department, Hospital Universitari I Politècnic La Fe, Valencia, Spain; <sup>10</sup>Department of Genetics, Hospital Universitari I Politècnic La Fe, Valencia, Spain

\*Correspondence to: Dr Luis Bataller, Department of Neurology, Hospital Universitari i Politècnic La Fe. Av. Fernando Abril Martorell 106, 46026 Valencia, Spain; E-mail: luis.bataller@uv.es

Keywords: spinocerebellar ataxia, genetics, haplotype.

Raquel Baviera-Muñoz and Lidón Carretero-Vilarroig contributed equally to the manuscript.

This is an open access article under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivs License, which permits use and distribution in any medium, provided the original work is properly cited, the use is non-commercial and no modifications or adaptations are made.

Received 28 December 2022; revised 9 March 2023; accepted 29 March 2023.

Published online 5 May 2023 in Wiley Online Library (wileyonlinelibrary.com). DOI: 10.1002/mdc3.13740

## Clinical Assessments

Symptomatic subjects and family members at risk were clinically assessed. Demographic, familial and clinical data, including the Scale for Assessment and Rating of Ataxia (SARA) were collected. Preclinical stage was considered if the SARA score was <3 while carriers free of symptoms and signs were considered asymptomatic.<sup>9</sup> Cognitive assessment was based on patient, caregiver and clinician impression. Disability was assessed at last visit with the ataxia disability scale.<sup>10</sup> I-123-Iofluopane presynaptic nigrostriatal imaging (DaTSCAN®) was performed if parkinsonian signs (bradykinesia, rigidity and/or tremor) were identified. The DaTQUANT version 2.000 Software application (GE Healthcare, Little Chalfont, UK) was used to perform semi-quantitative analysis. The volumes of interest were semi-automatically placed over the right and left putamen and caudate nucleus in the transaxial slice showing most intense tracer uptake. To calculate the striatum to background ratios (SBR), tracer uptake was compared with a reference region placed in the occipital cortex. In addition, SBR scores were compared to an age-matched healthy controls database.

## Genetic Analysis

Screening of the hexanucleotide repeat was ruled out with both conventional PCR and Repeat-Primed PCR (RP-PCR) as previously described.<sup>1,8</sup> The number of repeats in non-expanded alleles was calculated according to an amplicon of 174pb with a static region of 132 pb.

**Haplotype analysis:** D20S113 (chr20:2,035,488) and D20S842 (chr20:2,686,204) microsatellite markers flanking the *NOP56* gene were studied through PCR-fragment analysis. D20S113 was amplified using primers FOR:5'-TAACAGTGTTGAGCTCTCAGAGG-3' and REV:5'-AAGAGGTGCTGTCACAT-ATTTATTC-3', while D20S842 using FOR:5'-ACAGCCTTCATCGACTTCGT-3' and REV:5'-GTCCACCCCTTCTCTAAACC-3'. Forward primers were labeled with 6-FAM at the 5'-end. The annealing temperature was 60°C. Capillary electrophoresis was conducted on ABI PRISM 3130XL. Fragment analysis was performed using Gene Mapper software (Thermo Fisher).

## Statistical Methods

Chi-squared or Fisher's test were used to compare categorical variables. Distribution of continuous variables was assessed with Kolmogorov-Smirnov test and subsequently non-parametric tests were used. In all analysis  $P < 0.05$  was considered statistically significant.

## Results

*NOP56* expansion was identified in 37 individuals from 16 apparently unrelated families. Of these, 28 were clinically affected, three were in the preataxic stage (SARA <3) and six were

asymptomatic. All were Caucasian and most of them were originally from the same geographical area of *La Costera*, except pedigrees F4 and F13 that were originally from the city of Valencia and Murcia respectively. All kindreds showed AD transmission, except F6 that was sporadic, Figure 1.

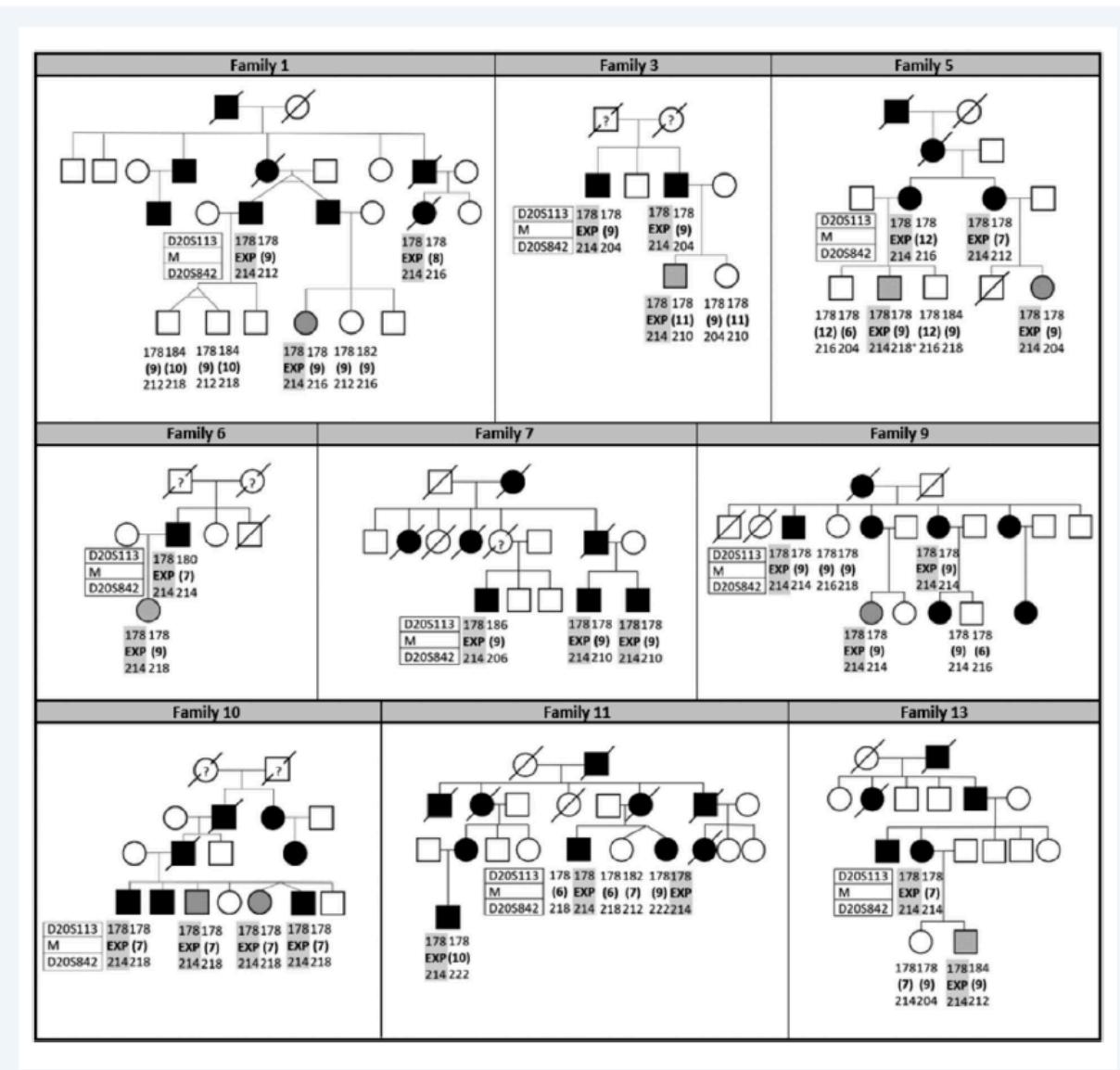
## Clinical Characteristics

The main clinical characteristics of the 28 affected subjects are summarized in Table S1.. Mean age at onset was 52.5 (range: 44–67) and mean age at exam was 63.7 (range: 49–77). All cases displayed a phenotype of progressive cerebellar ataxia. At onset, most patients presented with unsteady gait ( $n = 23$ ) and rarely with other symptoms such as hearing loss ( $n = 2$ ), loss of hand dexterity ( $n = 1$ ), dysarthria ( $n = 1$ ) or muscle cramps ( $n = 1$ ). The average SARA score was  $19 \pm 8.3$  (mean  $\pm$  SD). Gait ataxia was the most prominent feature followed by lower limb ataxia and dysarthria. Mild eye movement saccadic abnormalities were common but only 11 (39.3%) patients showed horizontal nystagmus. A majority of patients (64%) exhibited ptosis and/or gaze limitation, Figure 2, with no significant association with longer disease duration or SARA scores.

Hypoacusis was the most distinguishable non-cerebellar feature (67.9%). Audiometry studies were available in four cases, and showed bilateral sensorineural hearing loss with a drop of approximately 40 dB at high frequencies. The presence of hearing loss was not correlated with SARA scores. Mild pyramidal signs were present in 46.4%. Lingual fasciculations and atrophy were seen in five cases and orbicularis oculi myokymia in two. Lower limb fasciculations were only identified in a patient with axonal sensory-motor neuropathy. Few cases showed extra-pyramidal features. Cervical dystonia was detected in three and asymmetric upper limb dystonic posturing and tremor in two, Figure 2. In three patients signs of parkinsonism (bradykinesia, rest tremor) were identified. Rigidity was not observed. DaTSCAN® and DaTQUANT analysis confirmed dopaminergic denervation in these three cases compared to age-matching healthy controls, Figure 2. Levodopa was administered only to one patient without clinical improvement. The majority of patients did not report cognitive impairment. Six patients referred mild cognitive difficulties and three developed severe dementia. In some cases, CCAS features such as disinhibition or pseudobulbar affect were identified in usual clinical interviews.

Asymptomatic carriers were younger than preataxic cases (mean age at exam 38 vs. 47.7 years). Age at exam of preataxic carriers was 40, 35 and 54. Two referred mild gait imbalance and one had been diagnosed with bilateral sensorineural hypoacusis at 32 years and had orbicularis oculi myokymia.

Brain MRI was available for review in 15 ataxic patients, 2 asymptomatic and 1 preataxic subject. Cerebellar atrophy was evident in all symptomatic patients. Mild cerebellar atrophy was noted in the preataxic case and in one asymptomatic 50 year-old subject. After a mean disease duration of  $11.3 \pm 6.6$  years (mean  $\pm$  SD; range: 2–27) independent gait was preserved in 9 (33.3%), permanent gait support was required in 8 (29.6%) and 9 were wheelchair-bound (33.3%). Mean disease duration was



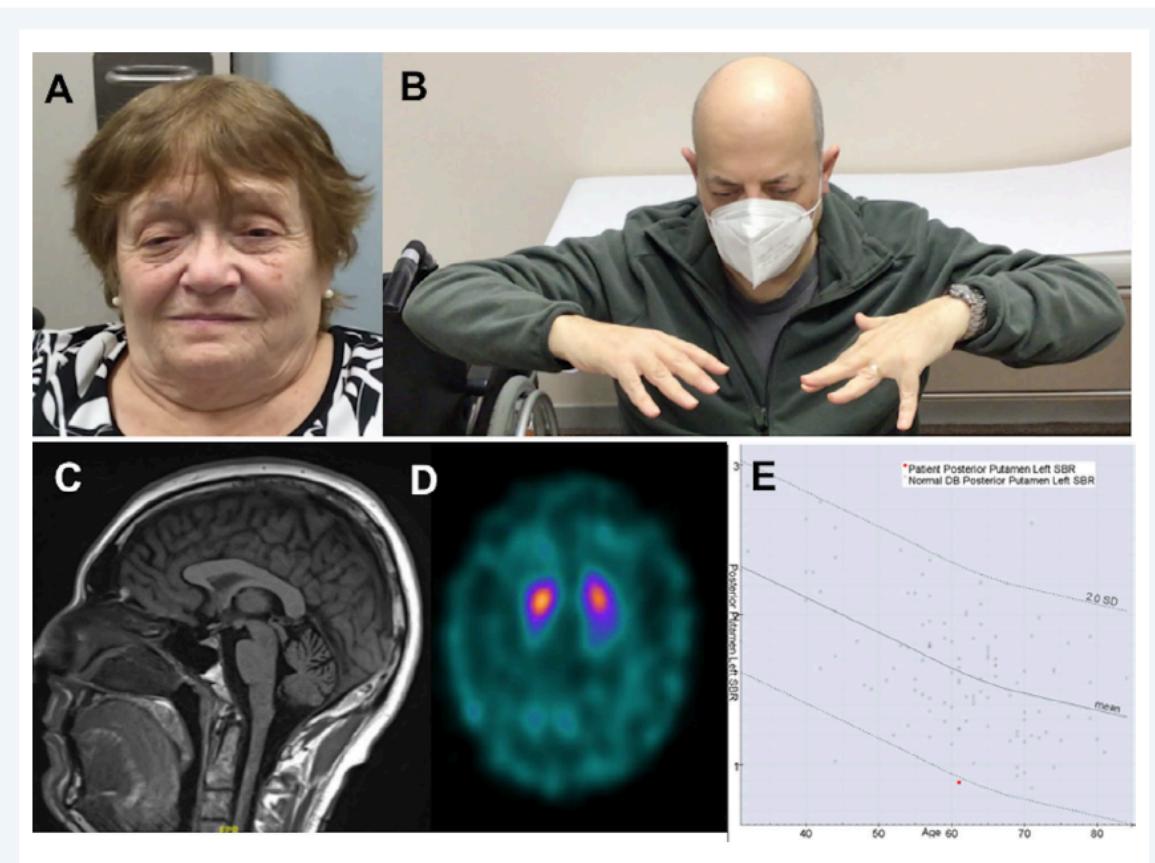
**FIG 1.** Pedigrees and haplotype analyses of nine Spanish SCA36 families. The common haplotype shared by all families is shaded in gray. Squares represent males and circles females. A slash indicates a deceased individual. Black-filled symbol: symptomatic individual; gray-filled symbol: asymptomatic carriers and preataxic individuals. (?) indicates no reliable phenotypic data. Asterisk on family 5 indicates a probable recombination event on paternal chromosome.

higher in wheelchair-bound patients than in ambulant cases (mean disease duration  $17.6 \pm 4.5$  vs  $8.3 \pm 4.9$  years,  $P < 0.05$ ).

## Genetic Analysis

A total of 15 autosomal dominant SCA36 families and one sporadic case were identified. The majority of non-expanded alleles carried between six and nine repeats, with the nine repeats-allele being the most common (43%). The study of Short Tandem Repeats (STRs) markers was performed in 37 individuals from nine families (25 affected and 12 unaffected), Figure 1. Haplotype construction revealed a common haplotype composed of an

amplicon of 178pb for the D20S113 marker and 214pb for the D20S842, thus spanning 0.65 Mb. The STR marker D20S113 showed a low heterozygosity rate. This common allele was present in all individuals tested. Contrarily, the D20S842 marker was more polymorphic, with the 214pb allele being tightly linked to the NOP56 expansion. STRs were also studied in isolated affected patients from F4, F8, F12, F15 and F16 pedigrees. Subjects from F8, F12, F15 and F16 harbored the common alleles, although their phase could not be inferred due to the lack of DNA sample from relatives. The individual from F4, originally from a different geographical area, did not carry the common allele for D20S842.



**FIG 2.** Clinical and radiological findings in SCA36. (A) Bilateral ptosis in a patient that also displayed ophthalmoplegia; (B) Left-hand dystonic postures in a SCA36 patient with dystonic tremor. (C) Sagittal T-1 weighted MRI imaging showing cerebellar atrophy. (D) 123-Ioflupane reveals bilateral asymmetrical denervation with right striate reduced uptake. (E) Semiquantitative analysis with DaTQUANT™ for left posterior putamen confirms a decline (red spot) in tracer uptake compared to mean tracer uptake for age-matching healthy controls.

## Discussion

This is the second SCA36 Spanish series reported demonstrating a high frequency of SCA36 in the Spanish population. NOP56 expansion was found in 37 individuals from 16 different families. In a retrospective analysis of our total cohort of 297 index cases, SCA36 represented 5.4% ( $n = 16$ ), (Figure S1.). It was the second most frequent AD ataxia after SCA3. SCA36 frequency was similar to that observed in northwestern regions of Spain.<sup>2</sup> Therefore, SCA36 testing should be implemented and performed in our regional population prior to other genetic tests. Similar to other studies, we found a strong founder effect.<sup>2,6,11</sup>

Comparable to other series, all affected patients presented with a late-onset cerebellar syndrome with slow progression.<sup>2,3</sup> Unlike previous reports, isolated facial or lingual fasciculations and tongue atrophy were scarce in our series (25%).<sup>1,2,4,5</sup> Hearing loss was present in two-thirds of our patients. Although hypoacusis is a distinctive clinical feature of SCA36,<sup>12</sup> it might be encountered

in diverse types of hereditary ataxia,<sup>13,14</sup> especially mitochondrial disorders.<sup>14,15</sup> Ptosis and gaze limitation were also common. Therefore, it should be noted that in a given patient with ataxia, ophthalmoparesis, and hearing impairment that might suggest a mitochondrial disease phenotype, SCA36 testing should be considered.

Extrapyramidal features such as oromandibular or cervical dystonia<sup>4,5</sup> have occasionally been reported in SCA36. In our cohort, two siblings developed laterocaput and anterocaput respectively, and one patient displayed asymmetric dystonic posturing and tremor in the upper limbs. Dysfunction of the cerebello-thalamo-cortical pathway is believed to be involved in the pathophysiology of dystonia-ataxia syndromes.<sup>16,17</sup> Bradykinesia and resting tremor with evidence of dopaminergic denervation was encountered in three patients (10.7%). An additional case reported REM sleep behavior disorder, a marker of dopaminergic deficiency.<sup>18</sup> Postural tremor was identified in SCA36 series (7–29%),<sup>2,6,11</sup> but parkinsonism has not been reported to date.

We tested two STR markers included in previous SCA36 haplotype studies. A common haplotype spanning 0.65 Mb was identified in all the SCA36 families except in one subject originally from a different geographical area. This may be due to a different founder effect or to the occurrence of recombination events. Similarly to Japanese<sup>1</sup> and northwestern Spanish families,<sup>2</sup> D20S842 showed a conserved allele in our cohort. A common allele for the D20S113 marker has also been reported,<sup>2,3</sup> but it also showed a high frequency in the control group.<sup>3</sup> Nevertheless, the lack of a universal nomenclature makes it difficult to perform comparisons with previously reported data.

In conclusion, SCA36 was the second most frequent AD ataxia in our series. Thus, in our geographical area, NOP56 expansion analysis should be prioritized to other genetic testing in probands whether with an AD or sporadic presentation. Although most patients display a predominant progressive cerebellar ataxia phenotype, less frequent clinical features such as hearing loss, ophthalmoparesis, or extrapyramidal features might assist the clinician to focus the genetic diagnosis. ■

## Author Roles

(1) Research project: A. Conception, B. Organization, C. Execution; (2) Statistical Analysis: A. Design, B. Execution, C. Review and Critique; (3) Manuscript Preparation: A. Writing of the first draft, B. Review and Critique.

R.B.M.: 1A, 1B, 1C, 2A, 2B, 3A  
 L.C.V.: 1A, 1B, 1C, 2A, 2B, 3A  
 N.M.: 1C, 2C, 3B  
 R.S.: 1C, 2C, 3B  
 P.S.N.: 1C, 2C, 3B  
 B.M.S.: 1C, 2C, 3B  
 I.S.B.: 2C, 3B  
 M.C.R.: 2C, 3B  
 I.M.T.: 2C, 3B  
 J.M.G.V.: 2C, 3B  
 J.M.M.: 1C, 2C, 3B  
 T.J.: 1C, 2C, 3B  
 E.A.: 1B, 1C, 2C, 3B  
 L.B.: 1B, 1C, 2C, 3B

## Disclosures

**Ethical Compliance Statement:** This study was approved by the Research Ethics Committee from Hospital Universitari I Politènic La Fe (2021-435-1). The authors affirm that additional written informed consent was obtained for the publication of patient identifiable images in Fig. 2. We confirm that we have read the Journal's position on issues involved in ethical publication and affirm that this work is consistent with those guidelines. **Funding Sources and Conflicts of Interest:** This work was supported by the Instituto de Salud Carlos III (ISCIII)-Subdirección General de Evaluación y Fomento de la Investigación

[PI18/00147; PI21/00103] and by the Generalitat Valenciana [PROMETEO/2018/135; PROMETEO/2019/075], within the framework of the National R + D + I Plan co-funded with ERDF funds. Part of the equipment employed in this work has been funded by Generalitat Valenciana and co-financed with ERDF funds (OP ERDF of Comunitat Valenciana 2014–2020). The authors have no competing interests to declare that are relevant to the content of this article.

**Financial Disclosures for the Previous 12 Months:** The authors declare that there are no additional disclosures to report. ■

## References

- Kobayashi H, Abe K, Matsura 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(1):121–130. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2011.05.015>.
- García-Murias M, Quintáns B, Arias M, et al. "Costa da Morte" ataxia is spinocerebellar ataxia 36: clinical and genetic characterization. *Brain* 2012;135(5):1423–1435. <https://doi.org/10.1093/brain/aws069>.
- Ikeda Y, Ohta Y, Kobayashi H, et al. Clinical features of sca36: a novel spinocerebellar ataxia with motor neuron involvement (asidan). *Neurology* 2012;79(4):333–341. <https://doi.org/10.1212/WNL.0b013e318260436f>.
- Nakazato Y, Mochizuki H, Ishii N, et al. Spinocerebellar ataxia 36 accompanied by cervical dystonia. *J Neurol Sci* 2015;357(1–2):304–306. <https://doi.org/10.1016/j.jns.2015.07.012>.
- Miyashiro A, Sugihara K, Kawarai T, et al. Oromandibular dystonia associated with SCA36. *Mov Disord* 2013;28(4):558–559. <https://doi.org/10.1002/mds.25304>.
- Obayashi M, Stevanin G, Synožík M, et al. Spinocerebellar ataxia type 36 exists in diverse populations and can be caused by a short hexanucleotide GGCCTG repeat expansion. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2015;86(9):986–995. <https://doi.org/10.1136/jnnp-2014-309153>.
- Martínez-Regueiro R, Arias M, Cruz R, et al. Cerebellar cognitive affective syndrome in Costa da Morte ataxia (SCA36). *Cerebellum* 2020;19(4):501–509. <https://doi.org/10.1007/s12311-020-01110-0>.
- Baviera-Muñoz R, Carretero-Vilarroig I, Francisco Vázquez-Costa J, et al. Diagnostic efficacy of genetic studies in a series of hereditary cerebellar ataxias in eastern Spain. Published online. 2022;8:e200038. <https://doi.org/10.1212/WNL.000000000000200038>.
- Maas RPPW, van Gaalen J, Klockgether T, van de Warrenburg BPC. The preclinical stage of spinocerebellar ataxias. *Neurology* 2015;85(1):96–103. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000001711>.
- Abela M, Bürk K, Schöls L, et al. The aetiology of sporadic adult-onset ataxia. *Brain* 2002;125(5):961–968. <https://doi.org/10.1093/brain/awf107>.
- Lee YC, Tsai PC, Guo YC, Hsiao CT, Liu GT, Liao YC, Soong BW. Spinocerebellar ataxia type 36 in the Han Chinese. *Neurol Genet* 2016;2(3):1–10. <https://doi.org/10.1212/NXG.0000000000000068>.
- Ikeda Y, Ohta Y, Kurata T, Shiro Y, Takao Y, Abe K. Acoustic impairment is a distinguishable clinical feature of Asidan/SCA36. *J Neurol Sci* 2013;324(1–2):109–112, 112. <https://doi.org/10.1016/j.jns.2012.10.013>.
- Guissart C, Drouot N, Oncel I, et al. Genes for spinocerebellar ataxia with blindness and deafness (SCABD/SCAR3, MIM# 271250 and SCABD2). *Eur J Hum Genet* 2015;24(8):1154–1159. <https://doi.org/10.1038/ejhg.2015.259>.
- Winkelmann J, Lin L, Schormair B, et al. Mutations in DNMT1 cause autosomal dominant cerebellar ataxia, deafness and narcolepsy. *Hum Mol Genet* 2012;21(10):2205–2210. <https://doi.org/10.1093/HMG/DDS035>.
- Chinnery PF, Elliott C, Green GR, Rees A, Coulthard A, Turnbull DM, Griffiths TD. The spectrum of hearing loss due to mitochondrial DNA defects. *Brain* 2000;123(1):82–92. <https://doi.org/10.1093/brain/123.1.82>.
- Bologna M, Berardelli A. Cerebellum: an explanation for dystonia? *Cerebellum Ataxias* 2017;4(1):1–9. <https://doi.org/10.1186/s40673-017-0064-8>.

17. Kaji R, Bhatia K, Graybiel AM. Pathogenesis of dystonia: is it of cerebellar or basal ganglia origin? *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2018;89(5):488–492. <https://doi.org/10.1136/jnnp-2017-316250>.
18. Wasserman D, Bindman D, Nesbitt AD, et al. Striatal dopaminergic deficit and sleep in idiopathic rapid eye movement behaviour disorder: an explorative study. *Nat Sci Sleep* 2021;13:1–9. <https://doi.org/10.2147/NSS.S267037>.

## Supporting Information

Supporting information may be found in the online version of this article.

**Table S1.** Clinical characteristics of SCA36 symptomatic patients. M, male; F, female; y, years; –, absent; +, present; Pyramidalism, + mild, ++ moderate, +++ severe; GI, Gait

instability; H, Hypoacusia; ScP, saccadic pursuit; ↓Sc, slow saccades; HpS, hypo/hypermetric saccades; LVG, limitation of vertical gaze; LHG, limitation of horizontal gaze; P, ptosis; Fasc., fasciculations; mk, myokymias; Tr, tremor; Br, bradykinesia; NA, not available; MCI, mild cognitive impairment; Disability scale, 0 = no gait difficulties; 1 = disease onset as defined by onset of gait difficulties; 2 = loss of independent gait, as defined by permanent use of a walking aid or reliance on a supporting arm; 3 = confinement to wheelchair; 4 = death; S-M, sensory-motor neuropathy.

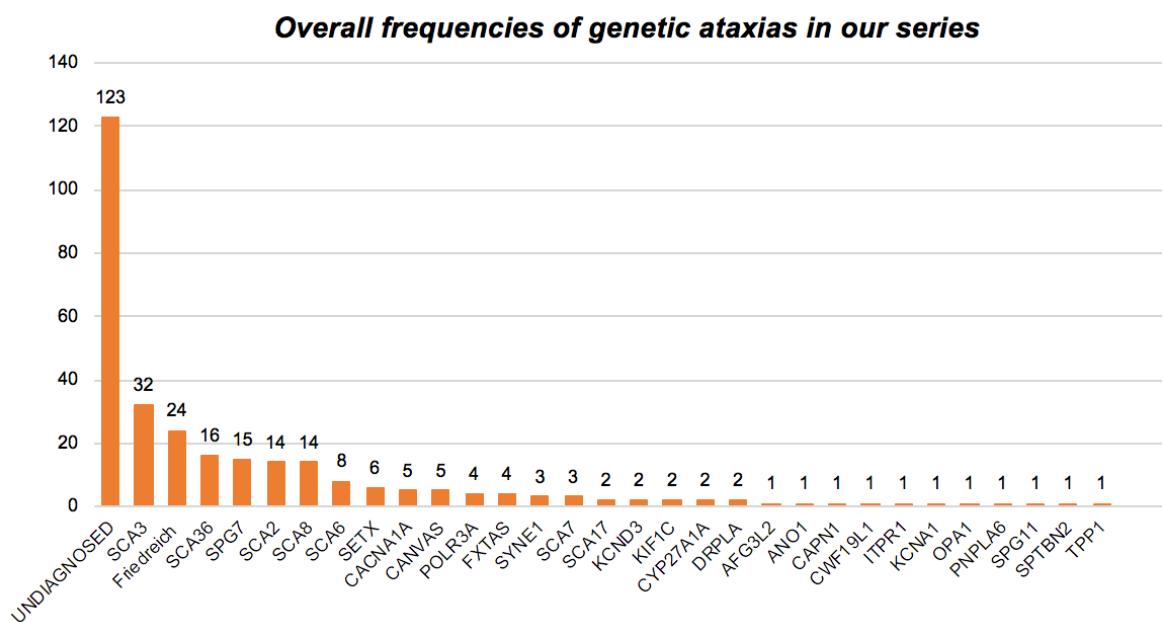
**Figure S1.** Overall frequencies of different Genetic subtypes of ataxia in our cohort of index cases. CANVAS: Cerebellar Ataxia with Neuropathy and Vestibular Areflexia Syndrome; FXTAS, Fragile-X Tremor Ataxia Syndrome.

**Supplementary Table 1.** Clinical characteristics of SCA36 symptomatic patients.

Fami ly	ID	Sex	Onset age, y	Age at exam, y	First symptom	SARA	Ocular findings	Pyramidalism	Hypoacusia	2 <sup>nd</sup> moto-neuron	Extra-pyramidal	Dysphagia	Disease duration, y	Disability scale	Other
F1	1	F	53	63	Dysmetria	12.5	ScP, ↓Sc, HpS, hN, LVG	-	+	-	-	-	10	2	-
F1	2	M	54	67	GI	22	ScP, ↓Sc, HpS	-	+	-	-	+	13	2	Bulging eyes
F1	3	M	55	68	H	17	P, LVG, LHG	-	+	Lingual atrophy	-	-	13	2	MCI
F2	4	M	45	64	GI	26	LVG, LHG	+	+	-	Dystonic Tr Br	+	19	3	Bulging eyes, cramps
F3	5	M	49	60	GI	12	ScP, hN, LVG	-	+	-	-	-	12	1	-
F3	6	M	50	53	GI	10	ScP, hN, LVG	-	+	-	-	-	3	1	-
F4	7	M	45	60	GI	28	ScP, ↓Sc, HpS, LVG, LHG	+++	+	-	Br	-	15	3	Dementia, pseudobulbar
F5	8	F	61	73	Dysarthria	32	P, LVG, LHG	+++	+	Lingual fasc.	Laterocollis	-	12	3	MCI, pseudobulbar
F5	9	F	65	70	GI	14.5	P, LVG	+	-	-	-	-	5	1	-
F6	10	M	44	64	GI	28	ScP, hN	-	-	-	-	+	20	3	Achilles areflexia, RBD
F7	11	M	49	56	GI	11.5	ScP, HpS, hN	++	+	-	-	-	7	1	MCI
F7	12	M	50	52	GI	4	ScP	-	-	-	-	-	2	1	-
F7	13	M	55	57	GI	8.5	ScP, HpS, hN	+	+	-	-	-	2	1	-
F8	14	F	50	55	GI	17.5	ScP, ↓Sc, hN, LVG	-	-	O.Oculi mk, lingual fasc.	-	-	5	1	Prodromal vertigo
F9	15	M	53	70	GI	26	P, LVG, LHG	+++	+	-	-	+	17	3	MCI
F9	16	F	52	67	GI	34.5	ScP, hN, P, LVG	++	+	O.Oculi mk,, lingual fasc.	-	-	15	3	Dementia sensory neuropathy
F9	17	F	59	62	GI	NA	ScP, HpS, hN	-	-	-	-	-	3	1	-
F10	18	M	44	49	GI	16	P, LVG, LHG	-	+	-	-	-	5	2	-
F10	19	M	50	57	GI	11	ScP, hN	+	-	-	-	-	7	1	Impulsivity
F11	20	M	47	63	GI	26.5	ScP, LHG, LVG	+++	-	-	-	+	16	3	-
F11	21	F	49	76	GI	34	P, LHG, LVG	+++	+	-	Laterocaput, head Tr	+	27	3	MCI
F11	22	F	63	77	H	26	LHG, LVG	++	+	-	Anterocaput, Tr, Br	+	14	3	MCI, pseudobulbar S-M neuropathy
F12	23	M	60	72	GI	16.5	ScP, hN, P, LVG, LHG	+++	-	-	Dystonic hand Tr	-	12	1	-
F12	24	M	48	62	Cramps	18	ScP, hN, LVG, LHG	++	+	Lower limbs fasc.	-	-	14	2	S-M neuropathy
F13	25	F	45	65	GI	17	ScP	-	+	-	-	+	20	3	MCI
F14	26	F	53	71	GI	NA	ScP	-	-	-	Dystonic hand	-	18	3	Dementia
F15	27	M	56	58	GI	13	ScP, HpS, hN	-	-	-	-	+	2	1	-
F16	28	F	67	71	H	14.5	P, ScP, LHG	-	+	Lingual fasc.	-	+	4	2	-

M, male; F, female; y, years; –, absent; +, present; Pyramidalism, + mild, ++ moderate, +++ severe; GI, Gait instability; H, Hypoacusia; ScP, saccadic pursuit; ↓Sc, slow saccades; HpS, hypo/hypermetric saccades; LVG, limitation of vertical gaze; LHG, limitation of horizontal gaze; P, ptosis; Fasc., fasciculations; mk, myokymias; Tr, tremor; Br, bradykinesia; NA, not available; MCI, mild cognitive impairment; Disability scale, 0 = no gait difficulties; 1 = disease onset as defined by onset of gait difficulties; 2 = loss of independent gait, as defined by permanent use of a walking aid or reliance on a supporting arm; 3 = confinement to wheelchair; 4 = death; S-M, sensory-motor neuropathy.

## Supplementary Figure 1



CANVAS: Cerebellar Ataxia with Neuropathy and Vestibular Areflexia Syndrome;  
FXTAS, Fragile-X Tremor Ataxia Syndrome.



## **DISCUSIÓN**

---



## **9. DISCUSIÓN**

---

La realización de este trabajo ha permitido una mejor caracterización clínica y genética de los pacientes con ataxia cerebelosa hereditaria de la Comunidad Valenciana y consecuentemente perfeccionar los algoritmos diagnósticos en nuestra población<sup>125</sup>. Las ataxias cerebelosas hereditarias son enfermedades con una gran heterogeneidad clínica y genética. Comparativamente con otros trastornos del movimiento como la enfermedad de Parkinson<sup>126</sup>, la distonía<sup>125,127</sup> o la corea<sup>71</sup> el número de genes causales y el espectro mutacional (expansiones dinámicas, mutaciones puntuales, variaciones en el número de copias o alteraciones estructurales) es mucho más diverso. Se han descrito más de 300 genes implicados en el desarrollo de ataxia cerebelosa bien como manifestación primaria o secundaria dentro de síndromes neurológicos complejos<sup>25,128–130</sup>. No obstante, se desconocen los fundamentos biológicos de la heterogeneidad molecular de las ataxias hereditarias. Distintos genes pueden manifestarse con un fenotipo muy similar. Por otra parte, es frecuente el pleiotropismo fenotípico, fenómeno por el cual mutaciones en un mismo gen pueden manifestar cuadros clínicos muy dispares. Por tanto, es imprescindible trazar una estrategia costo-efectiva para la evaluación clínica óptima de estos pacientes en la práctica clínica habitual.

### **9.1 Análisis global de la serie de pacientes con ataxia del hospital La Fe.**

En nuestra serie global el 33.3% de los pacientes fueron diagnosticados de ataxias por expansiones trinucleotídicas. Estos datos corresponden a nuevos diagnósticos realizados en la Unidad de Genética del Hospital Universitari i Politècnic La Fe, a pacientes valorados en el ámbito de la Comunidad Valenciana durante el período 2012-2021. Al igual que en otras series internacionales<sup>131</sup> y nacionales<sup>76</sup> la SCA3 o

enfermedad de Machado-Joseph fue la ataxia más frecuente (10.8%), seguida de la ataxia de Friedreich (8.1%). No se identificó ningún paciente con SCA1 o SCA12, siendo esta última una entidad más prevalente en el continente asiático, especialmente en el norte de India<sup>132</sup>. La DRPLA, una de las ataxias más frecuentes en Japón, fue identificada en dos familias con ataxia (0.2%), encontrándose por tanto una frecuencia similar a la reportada en otras series europeas<sup>133,134</sup>.

En casos seleccionados con fenotipo compatible se estudiaron las expansiones dinámicas causales del síndrome de CANVAS (expansión intrónica bialélica AAGGG en *RFC1*) y FXTAS (expansión CGG en rango 55-200 en *FMR1*)<sup>135</sup>, identificándose 5 (1.7%) y 4 (1.3%) casos respectivamente. No obstante, es probable el cribado sistemático de la expansión causal de CANVAS permitiese identificar un número mayor de casos en nuestra serie. Se ha estimado que la frecuencia de portadores sanos de la expansión es de 0.7% en la población europea<sup>136</sup>, similar a la frecuencia de portador de la expansión de ataxia de Friedreich<sup>137</sup>. Estudios recientes han encontrado que la frecuencia de la expansión recesiva en *RFC1* en pacientes con ataxia de inicio tardío es de entre 10-22%<sup>136,138,139</sup>. Aunque la presencia de neuropatía sensitiva es prácticamente universal en todos los casos reportados, en algunos casos aislados con ataxia sin afectación sensitiva también se identificó la expansión<sup>140</sup>. Por el contrario, el cribado sistemático de la premutación en *FMR1* ha mostrado que es una causa rara de ataxia del adulto, con una frecuencia estimada similar en población europea a la encontrada en nuestra serie<sup>141,142</sup>. Por tanto, el estudio dirigido en casos con fenotipo compatible es una aproximación diagnóstica adecuada en FXTAS.

El estudio mediante exoma clínico de 130 probandos de familias no relacionados ha proporcionado el diagnóstico en 50 casos (39%), lo que representa el 16.8% de la serie global (50/297). El rendimiento diagnóstico obtenido en nuestra serie es por tanto similar al reportado en otros trabajos que también aplican exoma en pacientes sin diagnóstico en los que se han excluido previamente ataxias trinucleotídicas<sup>98,101–103,105,107,143</sup>. En nuestra población se alcanzó el diagnóstico con mayor frecuencia en casos con presentación AR (64%) que en dominantes (24%) o esporádicos (35%). El gen más frecuentemente mutado fue *SPG7* tanto en casos recesivos como esporádicos (15/130, 12%), demostrándose en también nuestra población que es una de las etiologías más frecuentes de ataxia cerebelosa hereditaria. Por otra parte, la tecnología NGS permitió desentrañar la gran heterogeneidad genética y clínica de las ataxias cerebelosas. La gran mayoría de genes mutados afectaban solo a 1 ó 2 familias: *KCND3* (n=2), *KIF1C* (n=2), *CYP27A1A* (n=2), *AFG3L2* (n=1), *ANO10* (n=1), *CAPN1* (n=1), *CWF19L1* (n=1), *ITPR1* (n=1), *KCNA1* (n=1), *OPA1* (n=1), *PNPLA6* (n=1), *SPG11* (n=1), *SPTBN2* (n=1) and *TPP1* (n=1). Solo se detectaron dos variantes recurrentes, previamente descritas: el cambio en *SPG7* c.1529C>T; p.(Ala510Val) en 19 alelos y el cambio c.1909+22G>A en *POLR3A* en 4. Se identificaron 22 variantes patogénicas/probablemente patogénicas novedosas, que fueron convenientemente analizadas según los criterios de la ACGM. Estos resultados demuestran por tanto que es imprescindible la realización de estudios NGS en la práctica clínica habitual, independientemente de la presentación familiar o esporádica o de la edad de inicio de los síntomas, ya que se alcanzó el diagnóstico genético en casos con edad de inicio de hasta 74 años (ATX49-67, *ITPR1*)

El menor rendimiento diagnóstico de las técnicas NGS en formas dominantes se ha atribuido a que las mutaciones más frecuentes en las SCAs son las expansiones de dinámicas<sup>98</sup>, mientras que las mutaciones convencionales representarían solo un 10% de los casos<sup>48</sup>, correspondiendo en su mayoría a mutaciones en genes relacionados con canalopatías<sup>98</sup>. En este sentido, las canalopatías también fueron la causa más frecuente de ataxia detectada por exoma en nuestro estudio, identificándose mutaciones causales en un total de 8 familias (5 CACNA1A, 2 KCND3 y 1 KCNA). En 4 probandos se identificaron mutaciones causales en otros genes dominantes (1 AFG3L2, 1 SPTBN2, 1 OPA1, 1 ITPR1).

La incorporación del cribado sistemático de la expansión causal de SCA36 en casos con presentación AD y esporádica ha mejorado la eficacia diagnóstica en ataxias dominantes. Se han identificado 16 familias adicionales, lo que implica que SCA36 es la segunda ataxia AD más frecuente en nuestra área geográfica tras la SCA3, con una frecuencia similar (5.4%) a la reportada en el noroeste de España (6.3%)<sup>77</sup>. Si bien la mayor parte de casos en nuestra área geográfica eran originales de la comarca de la Costera y regiones adyacentes, también se identificaron casos en localizaciones más distantes. La realización de estudios de haplotipo permitió confirmar la probable existencia de efecto fundador, al compartir todos menos un caso el mismo haplotipo de 0.65 Mb.

Los casos sin diagnóstico tras estudio genético completo fueron con más frecuencia esporádicos y mostraron edad de inicio más tardía (n = 81, 47, DE ± 17.2 años) que aquellos con diagnóstico genético confirmado (n = 86, 32, DE ±18.5 años), p<0.05. Esta tendencia también se ha observado en estudios similares. Este hecho

probablemente está relacionado bien con la inclusión en este grupo de pacientes que acaban evolucionando a atrofia multisistema o bien con la existencia de una entidad neurodegenerativa distintiva denominada “ataxia esporádica de inicio tardío”, que actualmente es un diagnóstico de exclusión<sup>43,144</sup>. Asimismo, es posible que formas de herencia compleja no mendeliana puedan explicar parte de los casos no diagnosticados.

## **9.2 Análisis fenotípico de la serie.**

Se ha analizado el espectro fenotípico y mutacional de todos los pacientes con diagnóstico de *SPG7*, tanto con presentación clínica inicial de ataxia como paraparesia<sup>123</sup>. El fenotipo más frecuentemente encontrado fue de ataxia espástica (57%), seguido de paraparesia (19%) y fenotipos complejos (19%). Solo un caso presentaba fenotipo de ataxia cerebelosa pura. El gen *SPG7* codifica la proteína paraplegina, la cual se une al producto del gen *AFG3L2* para formar una metaloproteasa ATP-dependiente en la membrana interna mitocondrial. En los últimos años, especialmente gracias a la aplicación de las técnicas NGS se ha ampliado notablemente el espectro fenotípico de *SPG7*. No solo es una causa frecuente de ataxia cerebelosa, sino que también puede ocasionar fenotipos complejos con manifestaciones clásicamente consideradas mitocondriales como la atrofia óptica, la oftalmoplejía externa progresiva o el parkinsonismo<sup>145–148</sup>. En nuestra serie se observaron rasgos fenotípicos mitocondriales en algunos casos. Dos hermanos presentaban miopatía proximal, con cambios miopáticos y agregados de mitocondrias evidentes con la tinción succinato deshidrogenasa. Un caso mostraba oftalmoplejía externa progresiva y otro caso se presentó inicialmente con distonía multifocal, asociando con la evolución ataxia y piramidalismo<sup>124</sup>. En la RM este caso mostraba

además de atrofia cerebelosa, hiperintensidades bilaterales en pedúnculos cerebrales, un hallazgo no descrito previamente en otros casos con SPG7. De acuerdo con lo reportado por otros autores, los fenotipos complejos presentaron una edad de inicio más precoz y fueron con más frecuencia heterocigotos compuestos. Dado que se han descrito casos de herencia compleja o digénica *SPG7/AFG3L2*, en todos los heterocigotos simples se analizó la co-existencia de mutaciones patológicas o probablemente patológicas en *AFG3L2* sin encontrarse ningún cambio significativo<sup>149</sup>.

En varios genes el fenotipo de los pacientes fue altamente sugestivo del diagnóstico, pero en cualquier caso se realizó exoma clínico por ser una aproximación más costoeficiente. Todos los pacientes con mutaciones en *SETX* (ataxia con apraxia oculomotora tipo 2) presentaron un fenotipo de ataxia, apraxia oculomotora, polineuropatía sensitiva y elevación de alfa-fetoproteína. Asimismo, los pacientes con mutaciones en heterocigosis compuesta en *POLR3A*, un gen originalmente relacionado con la leucodistrofia de inicio en la infancia precoz, compartían un fenotipo caracterizado por talla baja, ataxia y afectación central de sensibilidad profunda. Otros rasgos distintivos fueron la distonía (n=4/6), alteración de la dentición (n=5/6) e hiperintensidades tenues en sustancia blanca (n=5/6). Todos los casos en nuestra serie compartían la variante c.1909+22G>A<sup>150</sup>, la cual se ha observado que es más prevalente en las presentaciones de inicio más tardío y clínica menos severa. En dos hermanas monocigotas con la mutación c.1909+22G> A y un fenotipo compatible, el estudio de CNV con CytoScan Xon microarray permitió identificar la delección de los exones 6, 7 y 8, descrita previamente<sup>151</sup>. Este caso, por tanto, demuestra la importancia de los estudios de correlación fenotipo-genotipo, dada la incapacidad de las técnicas NGS de identificar todo el espectro mutacional.

Por otra parte, algunos casos ampliaron el espectro clínico de determinados genes. Se identificó una familia con ataxia de inicio tardío por mutaciones en *CWF19L1*, el cual se había descrito hasta el momento solo en casos de ataxia de inicio congénito o infantil con retraso mental<sup>152–154</sup>. Todos los pacientes con ataxia por SCA36 presentaban un fenotipo de ataxia progresiva de inicio tardío y hallazgos clínicos característicos de esta entidad, también reportados en otras cohortes: hipoacusia neurosensorial (67.9%), piramidalismo (46.4%) y signos de motoneurona inferior (25%). Adicionalmente en nuestra serie se observaron manifestaciones extrapiramidales, como distonía y parkinsonismo en 3 y 4 casos respectivamente. Si bien, se habían reportado algunos casos de distonía en SCA36<sup>155,156</sup>, la identificación de parkinsonismo amplia el espectro fenotípico de esta entidad. En los pacientes con signos de parkinsonismo (temblor, rigidez y/o bradicinesia) se realizó DatScan y análisis semi-cuantitativo posterior con DatQuant, que demostró denervación dopaminérgica. La presencia de parkinsonismo, incluso con respuesta a levodopa, se ha descrito en distintas formas de ataxia espinocerebelosa, como SCA3 o SCA2<sup>86,87,157</sup>, fundamentalmente en relación con la neurodegeneración de la sustancia negra<sup>158</sup>. En otras entidades como SPG7 el desarrollo de parkinsonismo se ha relacionado con la depleción de ADN mitocondrial<sup>145,159</sup>. La proteína NOP56 es una proteína nucleolar, que participa en la formación de la subunidad 60S del ribosoma y en la conservación de telómeros<sup>160,161</sup>. Los estudios anatopatológicos realizados hasta el momento en pacientes con SCA36 han demostrado expresión de *NOP56* en cerebro, oliva inferior y núcleo hipogloso, pero no en ganglios basales o subtálamo<sup>162,163</sup>. Estudios clínicos y anatopatológicos adicionales en pacientes con SCA36 y parkinsonismo son necesarios para una mejor caracterización de la disfunción dopaminérgica en esta entidad.

### **9.3 Limitaciones del estudio. Perspectivas de futuro.**

Este trabajo ha permitido conocer la frecuencia de cada subtipo de ataxia cerebelosa hereditaria en nuestra área geográfica. La elevada frecuencia encontrada de casos con SCA36, apoya el análisis de esta expansión antes del estudio de exoma, especialmente en formas dominantes y esporádicas de inicio tardío. El exoma ha resultado fundamental para descifrar la gran heterogeneidad genética de las ataxias, realizándose fenotipado inverso a la luz de las variantes encontradas. Ha sido posible diagnosticar etiologías genéticas raras y ampliar el espectro fenotípico de determinados genes. Pese a ello, el rendimiento diagnóstico ha sido del 39%, en línea con lo reportado por otros grupos<sup>101–103,107,143</sup>, lo que probablemente se justifica en parte por las limitaciones diagnósticas intrínsecas de la técnica. Este es el primer trabajo de estas características realizado en el territorio español, y que permite por tanto realizar inferencias sobre la prevalencia de cada una de las formas genéticas de ataxia.

Las principales limitaciones de este trabajo son la recogida retrospectiva de los datos clínicos y las limitaciones derivadas de la disponibilidad local de medios diagnósticos. El análisis de la expansión causal del CANVAS se ha realizado solo en casos seleccionados. La frecuencia encontrada en nuestra serie es mucho inferior a la reportada por otros autores por tanto es probable que esté infra-estimada<sup>95,136,164</sup>. Asimismo, el estudio de otras expansiones dinámicas AD como SCA37 de la que se han reportado casos en nuestro país<sup>79,80</sup> o la recientemente descrita SCA27B no se ha realizado. Por otra parte, la aplicación de otras técnicas NGS no disponibles en nuestra práctica clínica habitual quizás hubiese proporcionado mayor eficacia diagnóstica. La realización de exoma completo hubiese permitido identificar etiologías

genéticas insospechadas, así como el descubrimiento de nuevos genes no relacionados con enfermedad hasta el momento. En cualquier caso, el exoma representa solo el 1-2% del total de material genético. La secuenciación del genoma completo y la tecnología de lectura larga es probable que contribuyan a resolver la gran proporción de casos que actualmente quedan sin diagnóstico. No obstante, el elevado coste, la gran cantidad de variantes generadas y su compleja interpretación y manejo bioinformático son los principales condicionantes para la utilización generalizada de esta técnica. En este sentido, resulta fundamental el desarrollo de proyectos colaborativos internacionales como *EuroGentest* o la iniciativa *Solve-RD - solving the unsolved rare diseases* promovidos por la Comisión Europea y que tienen como objetivo descifrar las bases moleculares de la totalidad de enfermedades raras no diagnosticadas<sup>165</sup>. Asimismo, la participación en plataformas o consorcios de investigación internacionales como *Ataxia Global Initiative* es esencial para mejorar la atención clínica, homogeneizar los esfuerzos investigadores y acceder a iniciativas diagnósticas de las que se beneficien nuestros pacientes.



## **CONCLUSIONES**

---



## **10. CONCLUSIONES**

---

De la presente tesis doctoral se pueden obtener las siguientes conclusiones:

1. El exoma clínico es una herramienta útil, aunque insuficiente, para conseguir el diagnóstico de la causa genética en pacientes afectos de ataxia hereditaria. En concordancia con otros trabajos publicados, en nuestra serie solamente resolvió el diagnóstico en el 40% de los casos estudiados.
2. Existe una gran heterogeneidad genética mutacional que explica los fenotipos de los pacientes con ataxia hereditaria, y el uso del exoma clínico permite el diagnóstico de causas genéticas muy infrecuentes. Así, la mayoría de las mutaciones encontradas en nuestro trabajo se detectaron en familias aisladas y se identificaron una gran variedad de mutaciones patogénicas.
3. El rendimiento diagnóstico del exoma clínico es algo mayor en pacientes afectos de ataxia con una historia familiar positiva y modo de transmisión recesivo y en menor medida dominante. La eficacia diagnóstica más baja ocurre en casos esporádicos y en aquellos de inicio más tardío. En estos pacientes es necesario realizar un cuidadoso diagnóstico diferencial con formas neurodegenerativas no mendelianas como la atrofia multisistémica.
4. Consideradas globalmente, las formas más frecuentes de ataxia genéticamente determinada en nuestra área geográfica son: 1) SCA3; 2) ataxia de Friedreich; 3)SCA36; 4)SPG7; y 5) SCA2.
5. La ataxia por mutación de SPG7 es la segunda forma más frecuente de ataxia autosómico recesiva tras la enfermedad de Friedreich. El fenotipo más frecuente en nuestra población es la ataxia espástica. Los casos heterocigotos compuestos para p.Ala510Val presentan edad de inicio más precoz y mayor

frecuencia de fenotipos complejos que los homocigotos. Las manifestaciones extrapiramidales como la distonía pueden ser la forma de presentación de esta entidad. En estos pacientes, la aparición de signos clínicos o radiológicos de afectación cerebelosa permite orientar el diagnóstico.

6. La SCA36 es una causa frecuente de ataxia hereditaria en nuestra área geográfica, siendo la segunda causa más frecuente de ataxia autosómico dominante tras la SCA3. Se ha identificado la existencia de un haplotipo compartido por la mayoría de las familias diagnosticadas, lo que apoya la existencia de efecto fundador en nuestra población. Los pacientes presentan un fenotipo de ataxia cerebelosa progresiva de inicio tardío con manifestaciones extracerebelosas frecuentes. En nuestra serie hemos observado que los casos con SCA36 raramente pueden asociar parkinsonismo con evidencia de denervación dopaminérgica en DatScan.
7. En los pacientes con ataxia de herencia autosómico dominante de nuestra área geográfica es conveniente el análisis de SCA36 con anterioridad a los estudios de secuenciación genética masiva.

## **BIBLIOGRAFÍA**

---



## **11. BIBLIOGRAFÍA**

---

1. Vanderah T, Gould D. *Nolte's the Human Brain : An Introduction to Its Functional Anatomy.* Vol 53.; 2015.
2. Schünke M, Schulte E, Schumacher U, Voll M, Wesker K. *Prometheus. Texto y Atlas de Anatomía. Tomo 3. Cabeza y Neuroanatomía.* Vol 3. 1a ed. Editorial Médica Panamericana S.A; 2008.
3. Nieuwenhuys R, Voogd J, Van Huijzen C. *The Human Central Nervous System.;* 2008. doi:10.1007/978-3-540-34686-9
4. Schmahmann JD, Sherman JC. The cerebellar cognitive affective syndrome. *Brain.* 1998;121(4):561-579. doi:10.1093/brain/121.4.561
5. Ropper AH, Samuels MA, Klein JP. *Adams y Victor. Principios de Neurología. .* 10th ed. Mc Graw-Hill Education; 2017.
6. Zaranz JJ. *Neurología Sexta Edición.* Vol 43.; 2019.
7. Kandel E, Schwartz J, Jessell T, Siegelbaum S, Hudspeth A. *Principle of Neural Science, 5th Edition.;* 2012.
8. Klockgether T, Mariotti C, Paulson HL. Spinocerebellar ataxia. *Nat Rev Dis Primers.* 2019;5(1):1-21. doi:10.1038/s41572-019-0074-3
9. Barboi AC. Cerebellar Ataxia. *Arch Neurol.* 2000;57(10):1525-1527. doi:10.1001/ARCHNEUR.57.10.1525
10. Fine EJ, Ionita CC, Lohr L. The history of the development of the cerebellar examination. *Semin Neurol.* 2002;22(4):375-384. doi:10.1055/S-2002-36759
11. Manni E, Petrosini L. Luciani's work on the cerebellum a century later. *Trends Neurosci.* 1997;20(3):112-116. doi:10.1016/S0166-2236(96)10077-1
12. Recherches expérimentales sur les propriétés et les fonctions du système nerveux dans les animaux vertébrés : Flourens, P. (Pierre), 1794-1867

13. Voogd J, de Zeeuw CI. Cerebellum: What is in a Name? Historical Origins and First Use of This Anatomical Term. *Cerebellum*. 2020;19(4):550. doi:10.1007/S12311-020-01133-7
14. Hammond WA, Hammond G. *A Treatise on the Diseases of the Nervous System*. 9th ed. D. Appleton and Company; 1892.
15. Campbell WW. *DeJong's The Neurologic Examination, 6th Edition.*; 2012.
16. Biller Jose, Gruener Gregory BPaul. *DeMyer's The Neurologic Examination: A Programmed Text.*; 2017.
17. Leigh RJ, Zee DS. *The Neurology of Eye Movements.*; 2015. doi:10.1093/med/9780199969289.001.0001
18. Fabozzi F, Margoni S, Andreozzi B, et al. Cerebellar mutism syndrome: From pathophysiology to rehabilitation. *Front Cell Dev Biol.* 2022;10:2372. doi:10.3389/FCELL.2022.1082947/BIBTEX
19. Leiner HC, Leiner AL, Dow RS. Cognitive and language functions of the human cerebellum. *Trends Neurosci.* 1993;16(11):444-447. doi:10.1016/0166-2236(93)90072-T
20. Vella A, Mascalchi M. Nuclear medicine of the cerebellum. *Handb Clin Neurol.* 2018;154:251-266. doi:10.1016/B978-0-444-63956-1.00015-1
21. Petersen SE, Fiez JA. The processing of single words studied with positron emission tomography. *Annu Rev Neurosci.* 1993;16:509-530. doi:10.1146/ANNUREV.NE.16.030193.002453
22. Ryding E, Decety J, Sjöholm H, Stenberg G, Ingvar DH. Motor imagery activates the cerebellum regionally. A SPECT rCBF study with 99mTc-HMPAO. *Brain Res Cogn Brain Res.* 1993;1(2):94-99. doi:10.1016/0926-6410(93)90015-W

23. Brusse E, Brusse-Keizer MGJ, Duivenvoorden HJ, van Swieten JC. Fatigue in spinocerebellar ataxia: Patient self-assessment of an early and disabling symptom. *Neurology*. 2011;76(11):953. doi:10.1212/WNL.0B013E31821043A4
24. Lazzarotto A, Margoni M, Franciotta S, et al. Selective Cerebellar Atrophy Associates with Depression and Fatigue in the Early Phases of Relapse-Onset Multiple Sclerosis. *Cerebellum*. 2020;19(2):192-200. doi:10.1007/S12311-019-01096-4/METRICS
25. Synofzik M, Schüle R. Overcoming the divide between ataxias and spastic paraplegias: Shared phenotypes, genes, and pathways. *Movement Disorders*. 2017;32(3):332-345. doi:10.1002/mds.26944
26. Yahikozawa H, Yoshida K, Sato S, et al. Predominant cerebellar phenotype in spastic paraplegia 7 (SPG7). *Hum Genome Var*. 2015;2(1):2014-2016. doi:10.1038/hgv.2015.12
27. Bhatia KP, Brown P, Gregory R, et al. Progressive myoclonic ataxia associated with coeliac disease: The myoclonus is of cortical origin, but the pathology is in the cerebellum. *Brain*. 1995;118(5):1087-1093. doi:10.1093/brain/118.5.1087
28. Dubot P, Rafiq M, Curat J, et al. A diagnosis of progressive myoclonic ataxia guided by blood biomarkers. *Parkinsonism Relat Disord*. 2022;94:124-126. doi:10.1016/j.parkreldis.2021.06.027
29. Rossi M, Balint B, Millar Vernetti P, Bhatia KP, Merello M. Genetic Dystonia-ataxia Syndromes: Clinical Spectrum, Diagnostic Approach, and Treatment Options. *Mov Disord Clin Pract*. 2018;5(4):373-382. doi:10.1002/mdc3.12635
30. Schmitz-Hübsch 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(11):1717-1720. doi:10.1212/01.WNL.0000219042.60538.92

31. Schmahmann JD, Gardner R, MacMore J, Vangel MG. Development of a brief ataxia rating scale (BARS) based on a modified form of the ICARS. *Movement Disorders*. 2009;24(12):1820-1828. doi:10.1002/mds.22681
32. Subramony SH, May W, Lynch D, et al. Measuring Friedreich ataxia: Interrater reliability of a neurologic rating scale. *Neurology*. 2005;64(7):1261-1262. doi:10.1212/01.WNL.0000156802.15466.79
33. Wenning GK, Tison F, Seppi K, et al. Development and validation of the Unified Multiple System Atrophy Rating Scale (UMSARS). *Movement Disorders*. 2004;19(12):1391-1402. doi:10.1002/mds.20255
34. Schmitz-Hübsch T, Coudert M, Bauer P, et al. Spinocerebellar ataxia types 1, 2, 3, and 6: disease severity and nonataxia symptoms. *Neurology*. 2008;71(13):982-989. doi:10.1212/01.WNL.0000325057.33666.72
35. Hoche F, Guell X, Vangel MG, Sherman JC, Schmahmann JD. The cerebellar cognitive affective/Schmahmann syndrome scale. *Brain*. 2018;141(1):248-270. doi:10.1093/brain/awx317
36. Diallo A, Jacobi H, Tezenas du Montcel S, Klockgether T. Natural history of most common spinocerebellar ataxia: a systematic review and meta-analysis. *J Neurol*. 2021;268(8):2749-2756. doi:10.1007/S00415-020-09815-2
37. Rummey C, Harding IH, Delatycki MB, Tai G, Rezende T, Corben LA. Harmonizing results of ataxia rating scales: mFARS, SARA, and ICARS. *Ann Clin Transl Neurol*. 2022;9(12):2041-2046. doi:10.1002/acn3.51686
38. Maas RPPWM, van Gaalen J, Klockgether T, van de Warrenburg BPC. The preclinical stage of spinocerebellar ataxias. *Neurology*. 2015;85(1):96-103. doi:10.1212/WNL.0000000000001711

39. Li QF, Dong Y, Yang L, et al. Neurofilament light chain is a promising serum biomarker in spinocerebellar ataxia type 3. *Mol Neurodegener*. 2019;14(1). doi:10.1186/s13024-019-0338-0
40. Peng L, Wang S, Chen Z, et al. Blood Neurofilament Light Chain in Genetic Ataxia: A Meta-Analysis. *Movement Disorders*. 2022;37(1):171-181. doi:10.1002/mds.28783
41. Schmitz-Hübsch T, Giunti P, Stephenson DA, et al. SCA Functional Index: a useful compound performance measure for spinocerebellar ataxia. *Neurology*. 2008;71(7):486-492. doi:10.1212/01.WNL.0000324863.76290.19
42. du Montcel ST, Charles P, Ribai P, et al. Composite cerebellar functional severity score: validation of a quantitative score of cerebellar impairment. *Brain*. 2008;131(Pt 5):1352-1361. doi:10.1093/brain/AWN059
43. Abele M, Bürk K, Schöls L, et al. The aetiology of sporadic adult-onset ataxia. *Brain*. 2002;125(5):961-968. doi:10.1093/brain/awf107
44. Kuo SH. Ataxia. *CONTINUUM Lifelong Learning in Neurology*. 2019;25(4):1036-1054. doi:10.1212/CON.0000000000000753
45. Wenning GK, Stankovic I, Vignatelli L, et al. The Movement Disorder Society Criteria for the Diagnosis of Multiple System Atrophy. *Mov Disord*. Published online April 21, 2022. doi:10.1002/mds.29005
46. Klockgether T, Schroth G, Diener HC, Dichgans J, Germany W. Idiopathic cerebellar ataxia of late onset: natural history and MRI morphology. *Neurosurgery, and Psychiatry*. 1990;53:297-305. doi:10.1136/jnnp.53.4.297
47. Baviero-Muñoz, Tarruella-Hernández D, Bataller L. Síndromes atáxicos. Ataxias heredodegenerativas. *Medicine - Programa de Formación Médica Continuada Acreditado*. 2023;13(76):4516-4524. doi:10.1016/J.MED.2023.03.022

48. Durr A. Autosomal dominant cerebellar ataxias: Polyglutamine expansions and beyond. *Lancet Neurol.* 2010;9(9):885-894. doi:10.1016/S1474-4422(10)70183-6
49. Ohiò A, Orsi L, Mortara P, Schiffer D. Early onset cerebellar ataxia with retained tendon reflexes: prevalence and gene frequency in an Italian population. *Clin Genet.* 1993;43(4):207-211. doi:10.1111/j.1399-0004.1993.tb04450.x
50. Filla A, de Michele G, Cavalcanti F, et al. Clinical and genetic heterogeneity in early onset cerebellar ataxia with retained tendon reflexes. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 1990;53(8):667-670. doi:10.1136/JNNP.53.8.667
51. Valence S, Cochet E, Rougeot C, et al. Exome sequencing in congenital ataxia identifies two new candidate genes and highlights a pathophysiological link between some congenital ataxias and early infantile epileptic encephalopathies. *Genetics in Medicine.* 2019;21(3):553-563. doi:10.1038/s41436-018-0089-2
52. Friedreich N. Ueber degenerative Atrophie der spinalen Hinterstränge. *Archiv für Pathologische Anatomie und Physiologie und für Klinische Medicin.* 1863;26(3-4):391-419. doi:10.1007/BF01930976
53. Schulz JB, Pandolfo M. 150 years of Friedreich Ataxia: from its discovery to therapy. *J Neurochem.* 2013;126(SUPPL.1):1-3. doi:10.1111/JNC.12327
54. Historia de las ataxias hereditarias y comentario sobre el legado de Hans Joachim Scherer. Accessed January 24, 2023. <https://nah.sen.es/es/numeros/numeros-anteriores-v2/163-revistas/volumen-6/numero-3/406-historia-de-las-ataxias-hereditarias-y-comentario-sobre-el-legado-de-hans-joachim-scherer>

55. Holmes G. AN ATTEMPT TO CLASSIFY CEREBELLAR DISEASE, WITH A NOTE ON MARIE'S HEREDITARY CEREBELLAR ATAXIA. *Brain*. 1908;30(4):545-567. doi:10.1093/BRAIN/30.4.545
56. Klockgether T, Paulson H. Milestones in ataxia. *Movement Disorders*. 2011;26(6):1134-1141. doi:10.1002/MDS.23559
57. Harding AE. CLASSIFICATION OF THE HEREDITARY ATAXIAS AND PARAPLEGIAS. *The Lancet*. 1983;321(8334):1151-1155. doi:10.1016/S0140-6736(83)92879-9
58. Berciano J, Boesch S, Pérez-Ramos JM, Wenning GK. Olivopontocerebellar atrophy: toward a better nosological definition. *Mov Disord*. 2006;21(10):1607-1613. doi:10.1002/MDS.21052
59. Harding AE. "Idiopathic" late onset cerebellar ataxia. A clinical and genetic study of 36 cases. *J Neurol Sci*. 1981;51(2):259-271. doi:10.1016/0022-510X(81)90104-0
60. Harding AE. Early onset cerebellar ataxia with retained tendon reflexes: A clinical and genetic study of a disorder distinct from Friedreich's ataxia. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1981;44(6):503-508. doi:10.1136/jnnp.44.6.503
61. Orr HT, Chung M yi, Banfi S, et al. Expansion of an unstable trinucleotide CAG repeat in spinocerebellar ataxia type 1. *Nat Genet*. 1993;4(3):221-226. doi:10.1038/NG0793-221
62. Campuzano V, Montermini L, Moltò MD, et al. Friedreich's ataxia: Autosomal recessive disease caused by an intronic GAA triplet repeat expansion. *Science* (1979). 1996;271(5254):1423-1427. doi:10.1126/science.271.5254.1423
63. Zeitlberger A, Ging H, Nethisinghe S, Giunti P. Advances in the understanding of hereditary ataxia – implications for future patients.

[https://doi.org/101080/2167870720181444477.](https://doi.org/101080/2167870720181444477)

2018;6(3):203-217.

doi:10.1080/21678707.2018.1444477

64. Paulson H. Repeat expansion diseases. *Handb Clin Neurol.* 2018;147:105-123.  
doi:10.1016/B978-0-444-63233-3.00009-9
65. Rafehi H, Read J, Szmulewicz DJ, et al. An intronic GAA repeat expansion in FGF14 causes the autosomal-dominant adult-onset ataxia SCA27B/ATX-FGF14 Graphical abstract Authors An intronic GAA repeat expansion in FGF14 causes the autosomal-dominant adult-onset ataxia SCA27B/ATX-FGF14. *The American Journal of Human Genetics.* 2023;110:105-119. doi:10.1016/j.ajhg.2022.11.015
66. Pellerin D, Danzi MC, Wilke C, et al. Deep Intronic FGF14 GAA Repeat Expansion in Late-Onset Cerebellar Ataxia. *N Engl J Med.* 2023;388(2):128-141.  
doi:10.1056/NEJMoa2207406
67. Wilke C, Pellerin D, Mengel D, et al. GAA- FGF14 ataxia (SCA27B): phenotypic profile, natural history progression and 4-aminopyridine treatment response . *Brain.* Published online May 11, 2023. doi:10.1093/brain/awad157
68. Synofzik M, Puccio H, Mochel F, Schöls L. Autosomal Recessive Cerebellar Ataxias: Paving the Way toward Targeted Molecular Therapies. *Neuron.* 2019;101(4):560-583. doi:10.1016/J.NEURON.2019.01.049
69. Beaudin M, Matilla-Dueñas A, Soong BW, et al. The Classification of Autosomal Recessive Cerebellar Ataxias: a Consensus Statement from the Society for Research on the Cerebellum and Ataxias Task Force. *Cerebellum.* 2019;18(6):1098-1125. doi:10.1007/S12311-019-01052-2
70. Rossi M, Anheim M, Durr A, et al. The genetic nomenclature of recessive cerebellar ataxias. *Movement Disorders.* 2018;33(7):1056-1076.  
doi:10.1002/MDS.27415

71. Marras C, Lang A, van de Warrenburg BP, et al. Nomenclature of genetic movement disorders: Recommendations of the international Parkinson and movement disorder society task force. *Movement Disorders*. 2016;31(4):436-457. doi:10.1002/mds.26527
72. Zanni G, Bertini E. X-linked ataxias. *Handb Clin Neurol*. 2018;155:175-189. doi:10.1016/B978-0-444-64189-2.00011-1
73. Chen YH, Lee YC, Tsai YS, et al. Unmasking adrenoleukodystrophy in a cohort of cerebellar ataxia. *PLoS One*. 2017;12(5). doi:10.1371/journal.pone.0177296
74. Kusaka H, Imai T. Ataxic variant of adrenoleukodystrophy: MRI and CT findings. *J Neurol*. 1992;239(6):307-310. doi:10.1007/BF00867585
75. Chinnery PF, Elliott C, Green GR, et al. The spectrum of hearing loss due to mitochondrial DNA defects. *Brain*. 2000;123(1):82-92. doi:10.1093/BRAIN/123.1.82
76. Ortega Suero G, Abenza Abildúa MJ, Serrano Munuera C, et al. Epidemiology of ataxia and hereditary spastic paraparesis in Spain: a cross-sectional study. *Neurologia*. Published online March 25, 2021. doi:10.1016/j.nrl.2021.01.006
77. García-Murias M, Quintáns B, Arias M, et al. “Costa da Morte” ataxia is spinocerebellar atrophy 36: Clinical and genetic characterization. *Brain*. 2012;135(5):1423-1435. doi:10.1093/brain/aws069
78. 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(1):121-130. doi:10.1016/j.ajhg.2011.05.015

79. Loureiro JR, Oliveira CL, Mota C, et al. Mutational mechanism for DAB1 (ATTTC) n insertion in SCA37: ATTTT repeat lengthening and nucleotide substitution. *Hum Mutat.* 2019;40(4):404-412. doi:10.1002/humu.23704
80. Seixas AI, Loureiro JR, Costa C, et al. A Pentanucleotide ATTTC Repeat Insertion in the Non-coding Region of DAB1, Mapping to SCA37, Causes Spinocerebellar Ataxia. *Am J Hum Genet.* 2017;101(1):87-103. doi:10.1016/j.ajhg.2017.06.007
81. Arias M. Claves para afrontar el reto diagnóstico de las heredoataxias recesivas. *Neurología.* 2019;34(4):248-258. doi:10.1016/J.NRL.2016.06.006
82. Schulze TG, McMahon FJ. Defining the phenotype in human genetic studies: forward genetics and reverse phenotyping. *Hum Hered.* 2004;58(3-4):131-138. doi:10.1159/000083539
83. Renaud M, Tranchant C, Koenig M, Anheim M. Autosomal Recessive Cerebellar Ataxias With Elevated Alpha-Fetoprotein: Uncommon Diseases, Common Biomarker. *Mov Disord.* 2020;35(12):2139-2149. doi:10.1002/MDS.28307
84. Engelen M, Barbier M, Dijkstra IME, et al. X-linked adrenoleukodystrophy in women: a cross-sectional cohort study. *Brain.* 2014;137(Pt 3):693-706. doi:10.1093/BRAIN/AWT361
85. Cocozza S, Pontillo G, de Michele G, et al. Conventional MRI findings in hereditary degenerative ataxias: a pictorial review. *Neuroradiology.* 2021;63(7):983-999. doi:10.1007/S00234-021-02682-2
86. Svetel M, Djarmati A, Dragašević N, et al. SCA2 and SCA3 mutations in young-onset dopa-responsive parkinsonism. *Eur J Neurol.* 2003;10(5):597. doi:10.1046/j.1468-1331.2003.00671.x

87. Horimoto Y, Hayashi E, Ito Y, et al. Dopaminergic function in spinocerebellar ataxia type 6 patients with and without parkinsonism. *J Neurol*. 2020;267(9):2692-2696. doi:10.1007/s00415-020-09908-y
88. Martínez-Regueiro R, Arias M, Cruz R, et al. Cerebellar Cognitive Affective Syndrome in Costa da Morte Ataxia (SCA36). *Cerebellum*. 2020;19(4):501-509. doi:10.1007/S12311-020-01110-0
89. Klockgether T, Mariotti C, Paulson HL. Spinocerebellar ataxia. *Nat Rev Dis Primers*. 2019;5(1). doi:10.1038/s41572-019-0074-3
90. Ibañez K, Polke J, Hagelstrom RT, et al. Whole genome sequencing for the diagnosis of neurological repeat expansion disorders in the UK: a retrospective diagnostic accuracy and prospective clinical validation study. *Lancet Neurol*. 2022;21(3):234-245. doi:10.1016/S1474-4422(21)00462-2
91. Mantere T, Kersten S, Hoischen A. Long-read sequencing emerging in medical genetics. *Front Genet*. 2019;10(MAY):426. doi:10.3389/FGENE.2019.00426/BIBTEX
92. Richards S, Aziz N, Bale S, et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: A joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genetics in Medicine*. 2015;17(5):405-424. doi:10.1038/gim.2015.30
93. Gorcenco S, Ilinca A, Almasoudi W, Kafantari E, Lindgren AG, Puschmann A. New generation genetic testing entering the clinic. *Parkinsonism Relat Disord*. 2020;73:72-84. doi:10.1016/j.parkreldis.2020.02.015
94. Ibañez K, Polke J, Hagelstrom RT, et al. Whole genome sequencing for the diagnosis of neurological repeat expansion disorders in the UK: a retrospective

- diagnostic accuracy and prospective clinical validation study. *Lancet Neurol.* 2022;21(3):234-245. doi:10.1016/S1474-4422(21)00462-2
95. Nakamura H, Doi H, Mitsuhashi S, et al. Long-read sequencing identifies the pathogenic nucleotide repeat expansion in RFC1 in a Japanese case of CANVAS. *J Hum Genet.* 2020;65(5):475-480. doi:10.1038/s10038-020-0733-y
  96. Su Y, Fan L, Shi C, et al. Deciphering Neurodegenerative Diseases Using Long-Read Sequencing. *Neurology.* 2021;97(9):423-433. doi:10.1212/WNL.0000000000012466
  97. Amarasinghe SL, Su S, Dong X, Zappia L, Ritchie ME, Gouil Q. Opportunities and challenges in long-read sequencing data analysis. *Genome Biology* 2020 21:1. 2020;21(1):1-16. doi:10.1186/S13059-020-1935-5
  98. Coutelier M, Coarelli G, Monin ML, et al. A panel study on patients with dominant cerebellar ataxia highlights the frequency of channelopathies. *Brain.* 2017;140(6):1579-1594. doi:10.1093/brain/awx081
  99. Hadjivassiliou M, Martindale J, Shanmugarajah P, et al. Causes of progressive cerebellar ataxia: Prospective evaluation of 1500 patients. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2017;88(4). doi:10.1136/jnnp-2016-314863
  100. Iqbal Z, Rydning SL, Wedding IM, et al. Targeted high throughput sequencing in hereditary ataxia and spastic paraplegia. *PLoS One.* 2017;12(3):1-19. doi:10.1371/journal.pone.0174667
  101. Fogel BL, Lee H, Deignan JL, et al. Exome sequencing in the clinical diagnosis of sporadic or familial cerebellar ataxia. *JAMA Neurol.* 2014;71(10):1237-1246. doi:10.1001/jamaneurol.2014.1944

102. Ngo KJ, Rexach JE, Lee H, et al. A diagnostic ceiling for exome sequencing in cerebellar ataxia and related neurological disorders. *Hum Mutat*. 2020;41(2):487-501. doi:10.1002/humu.23946
103. Coutelier M, Hammer MB, Stevanin G, et al. Efficacy of exome-targeted capture sequencing to detect mutations in known cerebellar ataxia genes. *JAMA Neurol*. 2018;75(5):591-599. doi:10.1001/jamaneurol.2017.5121
104. Kang C, Liang C, Ahmad KE, et al. High Degree of Genetic Heterogeneity for Hereditary Cerebellar Ataxias in Australia. *Cerebellum*. 2019;18(1). doi:10.1007/s12311-018-0969-7
105. Sun M, Johnson AK, Nelakuditi V, et al. Targeted exome analysis identifies the genetic basis of disease in over 50% of patients with a wide range of ataxia-related phenotypes. *Genetics in Medicine*. 2019;21(1):195-206. doi:10.1038/s41436-018-0007-7
106. Kim A, Kumar KR, Davis RL, et al. Increased Diagnostic Yield of Spastic Paraplegia with or Without Cerebellar Ataxia Through Whole-Genome Sequencing. *Cerebellum*. 2019;18(4). doi:10.1007/s12311-019-01038-0
107. da Graça FF, Peluzzo TM, Bonadia LC, et al. Diagnostic Yield of Whole Exome Sequencing for Adults with Ataxia: a Brazilian Perspective. *Cerebellum*. 2022;21(1). doi:10.1007/s12311-021-01268-1
108. Corcia P, Vourch P, Guennoc AM, et al. Pure cerebellar ataxia linked to large C9orf72 repeat expansion. *Amyotroph Lateral Scler Frontotemporal Degener*. 2016;17(3-4). doi:10.3109/21678421.2015.1113298
109. Fogel BL, Pribadi M, Pi S, Perlman SL, Geschwind DH, Coppola G. C9ORF72 expansion is not a significant cause of sporadic spinocerebellar ataxia. *Movement Disorders*. 2012;27(14). doi:10.1002/mds.25245

110. Jen JC, Wan J. Episodic ataxias. *Handb Clin Neurol.* 2018;148:521-529. doi:10.1016/B978-0-444-64076-5.00033-8
111. Zesiewicz TA, Wilmot G, Han Kuo S, et al. Comprehensive systematic review summary: Treatment of cerebellar motor dysfunction and ataxia. *Neurology.* 2018;90(10):464-471. doi:10.1212/WNL.0000000000005055
112. Chang A, Ruiz-Lopez M, Slow E, Tarnopolsky M, Lang AE, Munhoz RP. ADCK3-related Coenzyme Q10 Deficiency: A Potentially Treatable Genetic Disease. *Mov Disord Clin Pract.* 2018;5(6):635-639. doi:10.1002/mdc3.12667
113. Gabsi S, Gouider-Khouja N, Belal S, et al. Effect of vitamin E supplementation in patients with ataxia with vitamin E deficiency. *Eur J Neurol.* 2001;8(5):477-481. doi:10.1046/J.1468-1331.2001.00273.X
114. Bertini E, Zanni G, Boltshauser E. Nonprogressive congenital ataxias. *Handb Clin Neurol.* 2018;155:91-103. doi:10.1016/B978-0-444-64189-2.00006-8
115. Nachbauer W, Eigentler A, Boesch S. Acquired ataxias: the clinical spectrum, diagnosis and management. *J Neurol.* 2015;262(5):1385-1393. doi:10.1007/S00415-015-7685-8
116. Hilton-Jones D, Turner MR. *Oxford Textbook of Neuromuscular Disorders.* Vol 1. First. (Hilton-Jones D, Turner MR, eds.). Oxford University Press; 2014. doi:10.1093/med/9780199698073.001.0001
117. Correa-Vela M, Lupo V, Montpeyó M, et al. Impaired proteasome activity and neurodegeneration with brain iron accumulation in FBXO7 defect. *Ann Clin Transl Neurol.* 2020;7(8):1436-1442. doi:10.1002/acn3.51095
118. Davydov E v., Goode DL, Sirota M, Cooper GM, Sidow A, Batzoglou S. Identifying a high fraction of the human genome to be under selective constraint

using GERP++. *PLoS Comput Biol.* 2010;6(12).

doi:10.1371/JOURNAL.PCBI.1001025

119. Choi Y, Sims GE, Murphy S, Miller JR, Chan AP. Predicting the functional effect of amino acid substitutions and indels. *PLoS One.* 2012;7(10). doi:10.1371/JOURNAL.PONE.0046688
120. Vaser R, Adusumalli S, Leng SN, Sikic M, Ng PC. SIFT missense predictions for genomes. *Nat Protoc.* 2016;11(1):1-9. doi:10.1038/nprot.2015.123
121. Adzhubei IA, Schmidt S, Peshkin L, et al. A method and server for predicting damaging missense mutations. *Nat Methods.* 2010;7(4):248-249. doi:10.1038/NMETH0410-248
122. Schwarz JM, Cooper DN, Schuelke M, Seelow D. MutationTaster2: mutation prediction for the deep-sequencing age. *Nat Methods.* 2014;11(4):361-362. doi:10.1038/NMETH.2890
123. Baviera-Muñoz R, Campins-Romeu M, Carretero-Vilarroig L, et al. Clinical and genetic characteristics of 21 Spanish patients with biallelic pathogenic SPG7 mutations. *J Neurol Sci.* 2021;429(August). doi:10.1016/j.jns.2021.118062
124. Campins-Romeu M, Baviera-Muñoz R, Sastre-Bataller I, Bataller L, Jaijo T, Martínez-Torres I. Hereditary Spastic Paraparesis 7 Presenting as Multifocal Dystonia with Prominent Cranio-Cervical Involvement. *Mov Disord Clin Pract.* 2021;8(6):966-968. doi:10.1002/mdc3.13257
125. Baviera-Muñoz R, Carretero-Vilarroig L, Francisco Vázquez-Costa J, et al. Diagnostic Efficacy of Genetic Studies in a Series of Hereditary Cerebellar Ataxias in Eastern Spain. Published online 2022. doi:10.1212/NXG.00000000000200038

126. Deng H, Wang P, Jankovic J. The genetics of Parkinson disease. *Ageing Res Rev.* 2018;42:72-85. doi:10.1016/J.ARR.2017.12.007
127. Balint B, Mencacci NE, Valente EM, et al. Dystonia. *Nat Rev Dis Primers.* 2018;4(1). doi:10.1038/S41572-018-0023-6
128. Beaudin M, Klein CJ, Rouleau GA, Dupré N. Systematic review of autosomal recessive ataxias and proposal for a classification. *Cerebellum Ataxias.* 2017;4(1). doi:10.1186/s40673-017-0061-y
129. Coutelier M, Stevanin G, Brice A. Genetic landscape remodelling in spinocerebellar ataxias: the influence of next-generation sequencing. *J Neurol.* 2015;262(10). doi:10.1007/s00415-015-7725-4
130. Eidhof I, van de Warrenburg BP, Schenck A. Integrative network and brain expression analysis reveals mechanistic modules in ataxia. *J Med Genet.* 2019;56(5):283-292. doi:10.1136/JMEDGENET-2018-105703
131. Ruano L, Melo C, Silva MC, Coutinho P. The Global Epidemiology of Hereditary Ataxia and Spastic Paraplegia: A Systematic Review of Prevalence Studies. *Neuroepidemiology.* 2014;42(3):174-183. doi:10.1159/000358801
132. van Prooije T, Ibrahim M, Azmin S, van de Warrenburg B. Spinocerebellar ataxias in Asia: Prevalence, phenotypes and management. *Parkinsonism Relat Disord.* 2021;92:112-118. doi:10.1016/j.parkreldis.2021.10.023
133. Chaudhry A, Anthanasiou-Fragkouli A, Houlden H. DRPLA: understanding the natural history and developing biomarkers to accelerate therapeutic trials in a globally rare repeat expansion disorder. *Journal of Neurology* 2020 268:8. 2020;268(8):3031-3041. doi:10.1007/S00415-020-10218-6
134. le Ber I, Camuzat A, Castelnovo G, et al. Prevalence of Dentatorubral-Pallidoluysian Atrophy in a Large Series of White Patients With Cerebellar

Ataxia. *Arch Neurol.* 2003;60(8):1097-1099.

doi:10.1001/ARCHNEUR.60.8.1097

135. Leehey MA, Berry-Kravis E, Goetz CG, et al. FMR1 CGG repeat length predicts motor dysfunction in premutation carriers. *Neurology*. 2008;70(16 Pt 2):1397. doi:10.1212/01.WNL.0000281692.98200.F5
136. Cortese A, Simone R, Sullivan R, et al. Biallelic expansion of an intronic repeat in RFC1 is a common cause of late-onset ataxia. *Nat Genet*. 2019;51(4):649. doi:10.1038/S41588-019-0372-4
137. Lynch DR, Farmer JM, Balcer LJ, Wilson RB. Friedreich Ataxia: Effects of Genetic Understanding on Clinical Evaluation and Therapy. *Arch Neurol*. 2002;59(5):743-747. doi:10.1001/ARCHNEUR.59.5.743
138. Montaut S, Diedhiou N, Fahrer P, et al. Biallelic RFC1-expansion in a French multicentric sporadic ataxia cohort. *J Neurol*. 2021;268(9):3337-3343. doi:10.1007/s00415-021-10499-5
139. Tsuchiya M, Nan H, Koh K, et al. RFC1 repeat expansion in Japanese patients with late-onset cerebellar ataxia. *J Hum Genet*. 2020;65(12):1143-1147. doi:10.1038/S10038-020-0807-X
140. Sullivan R, Yau WY, Chelban V, et al. RFC1 -related ataxia is a mimic of early multiple system atrophy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2021;92(4):444-446. doi:10.1136/jnnp-2020-325092
141. Adams SA, Steenblock KJ, Thibodeau SN, Lindor NM. Premutations in the FMR1 gene are uncommon in men undergoing genetic testing for spinocerebellar ataxia. *J Neurogenet*. 2008;22(1):77-92. doi:10.1080/01677060701686242

142. Higuchi Y, Ando M, Yoshimura A, et al. Prevalence of Fragile X-Associated Tremor/Ataxia Syndrome in Patients with Cerebellar Ataxia in Japan. *Cerebellum*. 2022;21(5):851-860. doi:10.1007/S12311-021-01323-X
143. Pyle A, Smertenko T, Bargiela D, et al. Exome sequencing in undiagnosed inherited and sporadic ataxias. *Brain*. 2015;138(Pt 2):276-283. doi:10.1093/BRAIN/AWU348
144. Klockgether T. Sporadic adult-onset ataxia. *Handb Clin Neurol*. 2018;155:217-225. doi:10.1016/B978-0-444-64189-2.00014-7
145. Pedroso JL, Vale TC, Bueno FL, et al. SPG7 with parkinsonism responsive to levodopa and dopaminergic deficit. *Parkinsonism Relat Disord*. 2018;47:88-90. doi:10.1016/j.parkreldis.2017.12.004
146. Primiano G, Zanni G, Nardella M, Servidei S. Teaching Video NeuroImages: Palatal tremor associated with SPG7 variants. *Neurology*. 2020;94(19):e2074-e2075. doi:10.1212/WNL.0000000000009409
147. Marcotulli C, Leonardi L, Tessa A, et al. Early-onset optic neuropathy as initial clinical presentation in SPG7. *J Neurol*. 2014;261(9):1820-1821. doi:10.1007/s00415-014-7432-6
148. Pfeffer G, Gorman GS, Griffin H, et al. Mutations in the SPG7 gene cause chronic progressive external ophthalmoplegia through disordered mitochondrial DNA maintenance. *Brain*. 2014;137(5):1323-1336. doi:10.1093/brain/awu060
149. Magri S, Fracasso V, Plumari M, et al. *Concurrent AFG3L2 and SPG7 Mutations Associated with Syndromic Parkinsonism and Optic Atrophy with Aberrant OPA1 Processing and Mitochondrial Network Fragmentation*. Vol 39.; 2018. doi:10.1002/humu.23658

150. Minnerop M, Kurzwelly D, Wagner H, et al. Hypomorphic mutations in POLR3A are a frequent cause of sporadic and recessive spastic ataxia. *Brain*. 2017;140(6):1561-1578. doi:10.1093/brain/awx095
151. Infante J, Serrano-Cárdenas KM, Corral-Juan M, et al. POLR3A-related spastic ataxia: new mutations and a look into the phenotype. *J Neurol*. 2020;267(2):324-330. doi:10.1007/s00415-019-09574-9
152. Burns R, Majczenko K, Xu J, et al. Homozygous splice mutation in CWF19L1 in a turkish family with recessive ataxia syndrome. *Neurology*. 2014;83(23):2175-2182. doi:10.1212/WNL.0000000000001053
153. Evers C, Kaufmann L, Seitz A, et al. Exome sequencing reveals a novel CWF19L1 mutation associated with intellectual disability and cerebellar atrophy. *Am J Med Genet A*. 2016;170(6):1502-1509. doi:10.1002/ajmg.a.37632
154. Nguyen M, Boesten I, Hellebrekers DMEI, et al. Pathogenic CWF19L1 variants as a novel cause of autosomal recessive cerebellar ataxia and atrophy. *European Journal of Human Genetics*. 2016;24(4):619-622. doi:10.1038/ejhg.2015.158
155. Miyashiro A, Sugihara K, Kawarai T, et al. Oromandibular dystonia associated with SCA36. *Movement Disorders*. 2013;28(4):558-559. doi:10.1002/mds.25304
156. Nakazato Y, Mochizuki H, Ishii N, et al. Spinocerebellar ataxia 36 accompanied by cervical dystonia. *J Neurol Sci*. 2015;357(1-2):304-306. doi:10.1016/j.jns.2015.07.012
157. Lu CS, Chou YHW, Kuo PC, Chang HC, Weng YH. The Parkinsonian Phenotype of Spinocerebellar Ataxia Type 2. *Arch Neurol*. 2004;61(1):35-38. doi:10.1001/ARCHNEUR.61.1.35

158. Klockgether T. Does degeneration of the subthalamic nucleus prevent parkinsonism in spinocerebellar ataxia type 2 and type 3? *Brain*. 2015;138(11):3139-3140. doi:10.1093/BRAIN/AWV253
159. de la Casa-Fages B, Fernández-Eulate G, Gamez J, et al. Parkinsonism and spastic paraplegia type 7: Expanding the spectrum of mitochondrial Parkinsonism. *Movement Disorders*. 2019;34(10):1547-1561. doi:10.1002/mds.27812
160. Quelle-Regaldie A, Folgueira M, Yáñez J, et al. A nops56 Zebrafish Loss-of-Function Model Exhibits a Severe Neurodegenerative Phenotype. *Biomedicines*. 2022;10(8). doi:10.3390/BIOMEDICINES10081814
161. Button L, Rogers B, Thomas E, et al. Telomere and Telomerase-Associated Proteins in Endometrial Carcinogenesis and Cancer-Associated Survival. *Int J Mol Sci*. 2022;23(2):626. doi:10.3390/IJMS23020626/S1
162. Obayashi M, Stevanin G, Synofzik M, et al. Spinocerebellar ataxia type 36 exists in diverse populations and can be caused by a short hexanucleotide GCCCTG repeat expansion. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2015;86(9):986-995. doi:10.1136/jnnp-2014-309153
163. Ikeda Y, Ohta Y, Kobayashi H, et al. Clinical features of sca36: A novel spinocerebellar ataxia with motor neuron involvement (asidan). *Neurology*. 2012;79(4):333-341. doi:10.1212/WNL.0b013e318260436f
164. Cortese A, Tozza S, Yau WY, et al. Cerebellar ataxia, neuropathy, vestibular areflexia syndrome due to RFC1 repeat expansion. *Brain*. 2020;143(2):489-490. doi:10.1093/BRAIN/AWZ418

165. Souche E, Beltran S, Brosens E, et al. Recommendations for whole genome sequencing in diagnostics for rare diseases. *European Journal of Human Genetics* 2022;30(9). 2022;30(9):1017-1021. doi:10.1038/s41431-022-01113-x



## **APÉNDICE**

---



## HOJA DE INFORMACIÓN AL PACIENTE ADULTO

Versión: 1.0	Fecha de la versión: 12/04/2022
Investigador Principal: Raquel Baviera Muñoz Servicio de Neurología. Hospital Universitari i Politècnic La Fe. Correo electrónico: raquel_baviera@iislafe.es	
CENTRO: HOSPITAL UNIVERSITARI I POLITÈCNIC LA FE. CENTRO DE INVESTIGACIÓN PRÍNCIPE FELIPE.	
Título del proyecto de investigación: ESPECTRO CLÍNICO Y GENÉTICO DE LAS ATAXIAS CEREBELOSAS HEREDITARIAS EN LA COMUNIDAD VALENCIANA	

### 1. INTRODUCCIÓN:

Nos dirigimos a usted para informarle sobre un estudio en el que se le invita a participar. El estudio ha sido aprobado por el Comité de Ética de la Investigación con medicamentos del Hospital Universitario y Politécnico La Fe (CEIm La Fe).

Nuestra intención es tan sólo que usted reciba la información correcta y suficiente para que pueda evaluar y juzgar si quiere o no participar en este estudio. Para ello lea esta hoja informativa con atención y nosotros le aclararemos las dudas que le puedan surgir después de la explicación. Además, puede consultar con las personas que considere oportunas.

### 2. PARTICIPACIÓN VOLUNTARIA:

Debe saber que su participación en este estudio es voluntaria y que puede decidir no participar y retirar el consentimiento en cualquier momento, sin que por ello se altere la relación con su médico ni se produzca perjuicio alguno en su tratamiento.

### 3. DESCRIPCIÓN GENERAL DEL ESTUDIO:

#### ¿Cuál es el propósito del estudio?

En los últimos años el gran desarrollo de las herramientas de diagnóstico genético han ampliado el conocimiento de enfermedades raras como las ataxias hereditarias. Así mismo, se han desarrollado tratamientos efectivos dirigidos contra dianas moleculares en pacientes afectos de enfermedades genéticas similares.

El propósito de este estudio es caracterizar clínica y genéticamente a pacientes afectos de ataxias hereditarias y portadores asintomáticos. Buscamos obtener el diagnóstico certero de pacientes con ataxias familiares de causa desconocida. Conocer el curso evolutivo de estas enfermedades e identificar marcadores específicos de progresión es fundamental para definir medidas de eficacia de las nuevas dianas terapéuticas.

#### ¿En qué consistirá mi participación en el proyecto?

Los pacientes que participen en este estudio serán evaluados clínicamente con una periodicidad semestral. Se analizarán también las exploraciones complementarias realizadas dentro de la práctica clínica habitual. El estudio genético de los pacientes se realizará en la Unidad de Genética del hospital La Fe, dentro de la práctica clínica habitual, previo consentimiento informado para ello. En los casos que no se alcance el diagnóstico mediante las herramientas disponibles en la Unidad de Genética del hospital La Fe, se podrán realizar estudios genéticos avanzados en el marco de proyectos de investigación con el Laboratorio de Enfermedades raras neurodegenerativas del Centro de Investigación Príncipe Felipe (CIPF). La información clínica y genética obtenida se incluirá en bases de datos anonimizadas.

Se obtendrán muestras biológicas (sangre) de pacientes afectos, portadores asintomáticos y personas sanas para su almacenamiento en el Biobanco. La finalidad del Biobanco es recoger y almacenar muestras biológicas humanas para realizar proyectos de investigación biomédica. Los resultados de dichos proyectos de investigación pueden derivar en el descubrimiento de nuevos métodos para mejorar el diagnóstico o desarrollar potenciales tratamientos. Estas muestras serán anonimizadas, esto es, que no podrán vincularse a su persona por quedar irreversiblemente disociadas de sus datos personales y no se transmitirán al investigador. Los investigadores de centros de investigación reconocidos de cualquier parte del mundo podrán solicitar la utilización de muestras para la investigación biomédica, pero las muestras sólo serán enviadas a los investigadores después de una cuidadosa evaluación independiente del valor de la investigación que tengan previsto llevar a cabo. Cualquier muestra sobrante de la investigación será destruida al finalizar dicha investigación.

#### **4. BENEFICIOS Y RIESGOS DERIVADOS DE SU PARTICIPACIÓN EN EL ESTUDIO:**

Es posible que usted no obtenga un beneficio inmediato por el mero hecho de participar en este proyecto. Sin embargo, la información que se obtenga de este estudio ayudará identificar nuevos genes responsables de ataxias hereditarias, a entender mejor los mecanismos que las producen y/o mejorar el tratamiento de las personas que sufren dichas enfermedades.

##### **¿Cuáles son los posibles riesgos de participar en este estudio?**

No existe ningún riesgo adicional para usted por participar en este proyecto. Tomando muestras de sangre podría causar algo de sangrado, hematomas o molestias. Si usted tiene alguna preocupación acerca de cualquier aspecto de este estudio, debe hablar con los investigadores que harán todo lo posible para responder a sus preguntas (datos de contacto se pueden encontrar esta hoja de información).

#### **5. N° DE URGENCIA PARA PROBLEMAS DEL ESTUDIO:**

En caso de que desee formular preguntas acerca del estudio o daños relacionados con el mismo, puede contactar con el médico del estudio, el Dr. Raquel Baviera Muñoz, preferentemente a través del correo electrónico [raquel\\_baviera@iislafe.es](mailto:raquel_baviera@iislafe.es) o bien en el número de teléfono 961240000 (extensión 440845)

#### **6. CONFIDENCIALIDAD:**

El tratamiento, la comunicación y la cesión de los datos de carácter personal de todos los sujetos participantes se ajustará a lo dispuesto en la Ley Orgánica 3/2018, de 5 de diciembre de protección de datos y garantía de los derechos digitales y en el Reglamento (UE) 2016/679 del Parlamento europeo y del Consejo de 27 de abril de 2016 de Protección de Datos (RGPD). De acuerdo a lo que establece la legislación mencionada, usted puede ejercer los derechos de acceso, modificación, oposición, cancelación de datos, limitar el tratamiento de datos que sean incorrectos y solicitar una copia o que se trasladen a un tercero (portabilidad) para lo

cual deberá dirigirse al investigador principal del estudio o al/a la Delegado/a de Protección de Datos de la Institución, con quién podrá comunicarse a través del teléfono y/o dirección de correo electrónico: [raquel\\_baviera@iislafe.es](mailto:raquel_baviera@iislafe.es).

Le recordamos que los datos no se pueden eliminar, aunque deje de participar en el estudio, para garantizar la validez de la investigación y cumplir con los deberes legales. Así mismo tiene derecho a dirigirse a la Agencia de Protección de Datos si no quedara satisfecho.

Tanto el Centro como el Promotor son responsables respectivamente del tratamiento de sus datos y se comprometen a cumplir con la normativa de protección de datos en vigor. Los datos recogidos para el estudio estarán identificados mediante un código, de manera que no se incluya información que pueda identificarle, y sólo su médico del estudio/colaboradores podrá relacionar dichos datos con usted y con su historia clínica. Por lo tanto, su identidad no será revelada a ninguna otra persona salvo a las autoridades sanitarias, cuando así lo requieran o en casos de urgencia médica. Los Comités de Ética de la Investigación con medicamentos, los representantes de la Autoridad Sanitaria en materia de inspección y el personal autorizado por el Promotor, únicamente podrán acceder para comprobar los datos personales, los procedimientos del estudio clínico y el cumplimiento de las normas de buena práctica clínica (siempre manteniendo la confidencialidad de la información).

El Investigador y el Promotor están obligados a conservar los datos recogidos para el estudio al menos hasta 25 años tras su finalización. Posteriormente, su información personal solo se conservará por el centro para el cuidado de su salud y por el promotor para otros fines de investigación científica si usted hubiera otorgado su consentimiento para ello, y si así lo permite la ley y requisitos éticos aplicables.

Sólo se tramitarán a terceros y a otros países los datos recogidos para el estudio, que en ningún caso contendrán información que le pueda identificar directamente, como nombre y apellidos, iniciales, dirección, nº de la seguridad social, etc... En el caso de que se produzca esta cesión, será para los mismos fines del estudio descrito y garantizando la confidencialidad como mínimo con el nivel de protección de la legislación vigente en nuestro país.

Si realizáramos transferencia de sus datos codificados fuera de la UE a las entidades de nuestro grupo, a prestadores de servicios o a investigadores científicos que colaboren con nosotros, los datos del participante quedarán protegidos con salvaguardas tales como contratos u otros mecanismos por las autoridades de protección de datos. Si el participante quiere saber más al respecto, puede contactar con el Delegado de Protección de Datos del promotor [[dirección/link](#)].

## **7. COMPENSACIÓN ECONÓMICA:**

Debe saber que la participación es voluntaria y se realiza de forma altruista, sin ningún tipo de compensación económica ni otros beneficios materiales. Sin embargo, si las investigaciones que se realicen tuvieran éxito, podrán ayudar en el futuro a pacientes que tienen su misma enfermedad o padecen otras enfermedades similares.

## **8. OTRA INFORMACIÓN RELEVANTE:**

Cualquier nueva información que se descubra durante su participación y que pueda afectar a su disposición para participar en el estudio, le será comunicada por su médico lo antes posible.

Si usted decide retirar el consentimiento para participar en este estudio, no se añadirá ningún dato nuevo a la base de datos y, en caso de que se hubieran recogido muestras, puede exigir la destrucción de todas las muestras identificables, previamente obtenidas, para evitar la realización de nuevos análisis.

También debe saber que puede ser excluido del estudio si el promotor o los investigadores del mismo lo consideran oportuno, ya sea por motivos de seguridad o porque consideren que usted no está cumpliendo con los procedimientos establecidos. En cualquiera de los casos, usted recibirá una explicación adecuada del motivo por el que se ha decidido su retirada del estudio.

El promotor podrá suspender el estudio siempre y cuando sea por alguno de los supuestos contemplados en la legislación vigente.

Al firmar la hoja de consentimiento adjunta, se compromete a cumplir con los procedimientos del estudio que se le han expuesto. Cuando acabe su participación recibirá el mejor tratamiento disponible y que su médico considere el más adecuado para su enfermedad.

## **9. OBTENCIÓN Y UTILIZACIÓN DE MUESTRAS BIOLÓGICAS:**

Su participación en este estudio conlleva la obtención y utilización de muestras biológicas con fines de investigación, para lo que se observará la Ley 14/2007 de investigación biomédica y el Real Decreto 1716/2011, normativas que garantizan el respeto a los derechos que le asisten.

Al firmar este documento, revisado y evaluado favorablemente por el Comité de Ética de la Investigación con medicamentos que ha aprobado este estudio, usted acepta que se utilicen sus muestras para las finalidades del presente estudio.

Las muestras biológicas se custodiarán en el Biobanco del Instituto de Investigación La Fe hasta la finalización de este estudio, pudiendo usted revocar el consentimiento para su almacenamiento.

## CONSENTIMIENTO POR ESCRITO

Título del estudio:

Yo,

(nombre y apellidos).

- He leído la hoja de información que se me ha entregado.
- He podido hacer preguntas sobre el estudio.
- He recibido suficiente información sobre el estudio.
- He hablado con: \_\_\_\_\_ (nombre del Investigador)
- Comprendo que mi participación es voluntaria.
- Recibiré una copia firmada y fechada de este documento de consentimiento informado.

Comprendo que puedo retirarme del estudio:

- 1º Cuando quiera
- 2º Sin tener que dar explicaciones.
- 3º Sin que esto repercuta en mis cuidados médicos.

Presto libremente mi conformidad para participar en el estudio.

**Firma del Participante**

Nombre: \_\_\_\_\_

Fecha: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

**Firma del Investigador**

Nombre: \_\_\_\_\_

Fecha: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

Deseo que me comuniquen la información derivada de la investigación que pueda ser relevante para mí salud:  Sí  No

Firma del representante \_\_\_\_\_ Fecha: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_ (Nombre, firma y fecha de puño y letra del representante legal)

Firma del investigador: \_\_\_\_\_ Fecha: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

Deseo que me comuniquen la información derivada de las pruebas genéticas realizadas (únicamente para aquellos estudios que incluyan este tipo de pruebas, siempre que estén validadas y que puedan tener relevancia para la salud del paciente):  Sí  No

Firma del representante \_\_\_\_\_ Fecha: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_ (Nombre, firma y fecha de puño y letra del representante legal)

Firma del investigador: \_\_\_\_\_ Fecha: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

## CONSENTIMIENTO ORAL ANTE TESTIGOS

Título del estudio: \_\_\_\_\_

Yo, \_\_\_\_\_ (*nombre y apellido*),

- He recibido la hoja de información sobre el estudio.
- He podido hacer preguntas sobre el estudio.
- He recibido suficiente información sobre el estudio.
- He sido informado por: \_\_\_\_\_ (*nombre del investigador*)
- Recibiré una copia firmada y fechada de este documento de consentimiento informado.

Declaro bajo mi responsabilidad que: \_\_\_\_\_ (*nombre del participante del estudio*)

- Comprende que su participación es voluntaria.
- Comprende que puede retirarse del estudio:
  - 1º Cuando quiera
  - 2º Sin tener que dar explicaciones.
  - 3º Sin que esto repercuta en sus cuidados médicos.
- Y ha expresado libremente su conformidad para participar en el estudio.

*Firma del testigo (Nombre, firma y fecha de puño y letra)*

Nombre: \_\_\_\_\_

Fecha: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

*Firma del Investigador:*

Nombre: \_\_\_\_\_

Fecha: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

**El paciente desea que le comuniquen la información derivada de la investigación que pueda ser relevante para su salud (si procede):  Sí  No**

*Firma del testigo (Nombre, firma y fecha de puño y letra)*

Nombre: \_\_\_\_\_

Fecha: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

*Firma del Investigador:*

Nombre: \_\_\_\_\_

Fecha: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

**El paciente desea que le comuniquen la información derivada de las pruebas genéticas realizadas (únicamente para aquellos estudios que incluyan este tipo de pruebas, siempre que estén validadas y que puedan tener relevancia para la salud del paciente):  Sí  No**

*Firma del testigo (Nombre, firma y fecha de puño y letra)*

Nombre: \_\_\_\_\_

Fecha: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

*Firma del Investigador:*

Nombre: \_\_\_\_\_

Fecha: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

## CONSENTIMIENTO DEL REPRESENTANTE LEGAL

Título del estudio:

Yo, \_\_\_\_\_ (*nombre y apellido*)

- He leído la hoja de información que se me ha entregado.
- He podido hacer preguntas sobre el estudio.
- He recibido suficiente información sobre el estudio.

He hablado con: \_\_\_\_\_ (*nombre del Investigador*)

Comprendo que la participación de \_\_\_\_\_ (*nombre del participante*) es voluntaria.

Comprendo que \_\_\_\_\_ (*nombre del participante*) puede retirarse del estudio:

- 1º Cuando quiera
- 2º Sin tener que dar explicaciones.
- 3º Sin que esto repercuta en sus cuidados médicos.

En mi presencia se ha dado a \_\_\_\_\_ (*nombre del participante*), toda la información pertinente adaptada a su nivel de entendimiento y está de acuerdo en participar.

Recibiré una copia firmada y fechada de este documento de consentimiento informado.

Y presto mi conformidad con que \_\_\_\_\_ (*nombre del participante*) participe en el estudio.

***Firma del Representante***

***Firma del Investigador***

**Nombre:** \_\_\_\_\_  
**Fecha:** \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

**Nombre:** \_\_\_\_\_  
**Fecha:** \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

Deseo que me comuniquen la información derivada de la investigación que pueda ser relevante para mí salud:  **Sí**  **No**

Firma del representante \_\_\_\_\_ Fecha: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_ (*Nombre, firma y fecha de puño y letra del representante legal*)

Firma del investigador: \_\_\_\_\_ Fecha: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

Deseo que me comuniquen la información derivada de las pruebas genéticas realizadas (únicamente para aquellos estudios que incluyan este tipo de pruebas, siempre que estén validadas y que puedan tener relevancia para la salud del paciente):  **Sí**  **No**

Firma del representante \_\_\_\_\_ Fecha: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_ (*Nombre, firma y fecha de puño y letra del representante legal*)

Firma del investigador: \_\_\_\_\_ Fecha: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_