

CARACTERIZACIÓN CLÍNICA Y GENÉTICA DE LAS ATAXIAS HEREDITARIAS
EN UNA MUESTRA DE PACIENTES

MARILUZ GÓMEZ RODRÍGUEZ

TRABAJO DE GRADO

Presentado como requisito parcial

Para optar el título de

MAESTRÍA EN BIOLOGÍA

PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA

FACULTAD DE CIENCIAS

POST GRADO

Bogotá D.C.

2001

Artículo 23 de la Resolución N° 13 de Julio de 1946:
“La Universidad no se hace responsable por los conceptos emitidos por sus
alumnos en sus tesis de grado”.

CARACTERIZACIÓN CLÍNICA Y GENÉTICA DE LAS ATAXIAS HEREDITARIAS
EN UNA MUESTRA DE PACIENTES

MARILUZ GÓMEZ RODRÍGUEZ

Juan Carlos Prieto MD., MSc.
Director

Olga Lucía Pedraza MD., MSc.
Co-directora

Diana Álvarez MSc.
Jurado

Erick Sánchez MD.
Jurado

Ignacio Zarante MD., MSc.
Jurado

Dr. Carlos Corredor
Decano Académico

Dr. Luis Alejandro Barrera
Director de Post Grado

Dedicatoria

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a los doctores Juan Carlos Prieto, Olga Lucía Pedraza y Clemencia Durán por haber permitido mi vinculación al grupo de investigación y así llevar a cabo este trabajo, y brindarme su confianza. Resaltando su gran y valiosa generosidad al promover un espacio de conocimiento sin restricciones de ideas y pensamientos, sin olvidar nuestro contexto de seres humanos.

De manera muy especial al Dr. Prieto por su dirección, guía, colaboración, apoyo ; así como a la Dra. Pedraza por su espíritu humano dado por su preocupación acerca del bienestar de los pacientes con ataxia, y Clemencia Durán por su especial colaboración y paciencia.

A Colciencias y el Instituto de Genética Humana de la Pontificia Universidad Javeriana que de una u otra forma colaboraron en la realización de éste proyecto. Sin olvidar la participación y contribución muy especial de todos los pacientes que forman parte del estudio de las ataxias.

TABLA DE CONTENIDO

	Pág.
RESUMEN	11
ABSTRACT	12
1. INTRODUCCIÓN	13
2. MARCO TEÓRICO	15
2.1. LAS ATAXIAS HEREDITARIAS	15
2.1.1. Anticipación	19
2.1.2. Ataxia de Friedreich	22
2.1.2.1. Aspectos Clínicos	22
2.1.2.2. Aspectos Genéticos	25
2.1.2.3. Patogénesis	30
2.1.3. Ataxia Espinocerebelar tipo 1 (SCA1)	31
2.1.4. Ataxia Espinocerebelar Tipo 2 (SCA2)	32
2.1.5. Ataxia Espinocerebelar Tipo 3 (SCA3)	34
2.1.6. Ataxia Espinocerebelar Tipo 4 (SCA4)	35
2.1.7. Ataxia Espinocerebelar Tipo 6 (SCA6)	36
2.1.8. Ataxia Espinocerebelar Tipo 7 (SCA7)	38
2.1.9. Ataxia Espinocerebelar Tipo 8 (SCA8)	39
2.1.10. Ataxia Espinocerebelar Tipo 10 (SCA10)	40
2.1.11. Ataxia Espinocerebelar Tipo 12 (SCA12)	41
2.1. 12. Ataxia Espinocerebelar Tipo 13 (SCA13)	41
2.2. NEUROIMÁGENES	42
2.3. NEUROPSICOLOGÍA	44
2.4. ESTUDIOS POBLACIONALES	46
3. JUSTIFICACIÓN	47
4. OBJETIVOS	49
5. MATERIALES Y MÉTODOS	51
5.1. POBLACIÓN	51
5.2. ANÁLISIS GENÉTICO	51

5.2.1. Expansión de Trinucleótidos en SCA1, SCA2, SCA3, SCA6, SCA7, SCA8	51
5.2.2. Expansión del Trinucleótido GAA en FRDA	53
5.2.3. Marcador FAD1	53
5.2.4. Marcadores FR1 y FR8	54
5.3. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	54
6. RESULTADOS	55
6.1. Ataxia de Friedreich	55
6.1.1. Expansión GAA	55
6.1.2. Marcador FAD1	63
6.1.3. Haplotipos en Individuos con FRDA	64
6.2. SCA1	82
6.3. SCA2	84
6.4. SCA3	85
6.5. SCA6	86
6.6. SCA7	87
6.7. SCA8	88
7. DISCUSIÓN	90
8. CONCLUSIONES	108
BIBLIOGRAFÍA	111

INDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Clasificación de las Ataxias Cerebelosas Autosómicas Dominantes	18
Tabla 2. Enfermedades causadas por expansión de trinucleótidos.	22
Tabla 3. Criterios diagnósticos para la Ataxia de Friedreich	24
Tabla 4. Mutaciones puntuales encontradas en FRDA	28
Tabla 5. Frecuencias de SCAs en diferentes poblaciones	46
Tabla 6. Frecuencia (%) de los signos clínicos en pacientes FRDA	56
Tabla 7. Frecuencia (%) de los signos clínicos en los pacientes homocigotos para la expansión GAA y en pacientes estudiados por otros autores.	56
Tabla 8. Distribución de la expansión GAA en pacientes con FRDA clásico y variante FARR.	57
Tabla 9. Índice radiológico y N° de expansiones GAA en pacientes con FRDA	61
Tabla 10. Pruebas neuropsicológicas y N° de expansiones GAA en Pacientes con FRDA	62
Tabla 11. Tiempos de Reacción y Movimiento y número de expansiones GAA en pacientes con FRDA	63
Tabla 12. Comparaciones entre las frecuencias esperadas y observadas entre el grupo control y los pacientes FRDA para el marcador FAD1.	64
Tabla 13. Haplotipos identificados en los individuos con expansión GAA para FRDA	65
Tabla 14. Distribución de los alelos, las frecuencias alélicas y porcentaje de heterocigocidad para los loci FRDA, SCA1, 2, 3, 6, 7 y 8	83

INDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Anticipación genética en enfermedades con mutación dinámica	20
Figura 2. Representación esquemática del gen CACNA1A	37
Figura 3. Índices Neuroradiológicos	44
Figura 4. Gel de agarosa 0.8% , Expansión GAA para FRDA	58
Figura 5. Distribución de la Expansión GAA en controles y pacientes	57
Figura 6. Número de expansiones en FRDA y FARR	59
Figura 7. Edad de inicio en FRDA y FARR	59
Figura 8. Grado de severidad en FRDA y FARR	59
Figura 9. Edad de inicio y N° de expansiones en pacientes con FRDA	60
Figura 10. Severidad y N° de expansiones en pacientes con FRDA	60
Figura 11. Familias de los individuos con FRDA	66
Figura 12. Distribución de SCA1 en controles y pacientes	82
Figura 13. Distribución de SCA2 en controles y pacientes	84
Figura 14. Distribución de SCA3 en controles y pacientes	85
Figura 15. Distribución de SCA6 en controles y pacientes	86
Figura 16. Distribución de SCA7 en controles y pacientes	87
Figura 17. Distribución de SCA8 en controles y pacientes	88
Figura 18. Gel de Poliacrilamida 6% denaturante, Expansión CTG en SCA8	89

INDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Escala Clínica de Ataxia

Anexo 2. Pruebas Neuropsicológicas y Tiempos de Reacción y Movimiento

Anexo 3. Índices Neuroradiológicos.

RESUMEN

Las Ataxias Hereditarias son un grupo heterogéneo de desórdenes neurodegenerativos caracterizados por su gran variabilidad y heterogeneidad. Su clasificación se ha facilitado por la identificación de algunos de los genes responsables de las mismas, haciendo de las herramientas de genética molecular un elemento necesario en su identificación y diagnóstico. La prevalencia de éstas enfermedades varía de 1 a 23 en 100.000, siendo la Ataxia de Friedreich (FRDA) la forma más frecuente seguida por las Ataxias Espinocerebelares (SCA). El análisis de expansión de trinucleótidos en los loci SCA1, 2, 3, 6, 7, 8 y FRDA permitió encontrar que en la población colombiana el 1.2% de los casos correspondió a SCA8, el 28.9% a FRDA de acuerdo a la Escala Clínica de Ataxia; del cual el 87.5% tiene la expansión de la tripleta GAA la cual presentó correlación con el inicio de la sintomatología, la severidad, queja subjetiva de memoria, razonamiento abstracto no verbal y tiempos de reacción. El 69.9% de los casos no presentaron mutación en los loci estudiados, lo cual sugiere que pueden corresponder a los loci SCA4, 5, 10, 12 o no identificados. El número de familias autosómicas dominantes fueron 4 y autosómicas recesivas 16 de 70 grupos familiares; además el patrón dominante descrito para las SCAs no se observó en la población.

ABSTRACT

The Hereditary Ataxias are a heterogeneous group of neurodegenerative disorders characterized by clinical variability and heterogeneity. The classification has facilitated by the identification of some genes responsible for them, making the molecular genetic a necessary element for its identification and diagnosis. The prevalence of these diseases ranges from 1 to 13 in 100000, being the Friedreich's Ataxia (FRDA) the most frequent form followed by the Spinocerebellar Ataxia (SCA). The analysis of expansion of trinucleotides in the loci SCA1,2,3,6,7,8, and FRDA permitted to determine that in the Colombian population, 1,2% of the cases corresponded to the SCA8%, 28.9% to FRDA according to Ataxia's Clinical Scale from which a 87.5% correspond to FRDA with expansion of the triplet GAA. This correlates with the beginning of symptoms, its severity, deficit of subjective memory, nonverbal abstract reasoning and reaction times. 69.9% of the cases didn't present mutation in the loci studied, therefore suggesting that they could correspond to the loci SCA4,5,10,12 or not identified. Out of 70 family group the number of dominant autosomal families were 4 and 16 recessive autosomal, furthermore the dominant model described the SCAs weren't observed in the population.

1. INTRODUCCIÓN

Las Ataxias Hereditarias son un grupo complejo de enfermedades degenerativas del Sistema Nervioso Central. Su frecuencia varía de 1 a 23 en 100.000 en diferentes países aunque los estudios epidemiológicos son confusos. Caracterizadas por variabilidad clínica y la presencia de heterogeneidad genética.

Las Ataxias Espinocerebelosas (SCA) son un grupo de enfermedades autosómicas dominantes caracterizadas por la pérdida temprana de neuronas del cerebelo, asociadas a compromiso de otras estructuras como la médula espinal, los ganglios basales y el nervio óptico. Los individuos presentan ataxia progresiva, neuropatía periférica, síntomas y signos extrapiramidales, oftalmoplejía externa, sordera y degeneración de la retina. La edad de inicio y las manifestaciones clínicas varían entre una familia y otra, aún así, entre el mismo grupo familiar se puede presentar un cuadro diferente. En varias familias se ha observado el fenómeno de anticipación donde la severidad del fenotipo se presenta en las últimas generaciones. En los últimos años los estudios han permitido confirmar la heterogeneidad genética en este grupo de patologías, así como la identificación de los genes responsables para algunas de éstas formas.

La ataxia de Friedreich es una enfermedad autosómica recesiva de degeneración multisistémica que afecta principalmente la médula espinal, los nervios periféricos y el corazón, con una edad de inicio antes de los 10 años.

En Colombia existe un solo estudio que describe 38 casos de Ataxia Hereditaria y las diferentes formas clínicas encontradas (Pedraza *et al.*, 1996). En este estudio sugieren varios flujogramas para el orientar los exámenes en éstas entidades, teniendo en cuenta la evolución de las mismas y sus antecedentes familiares.

Como consecuencia de la dificultad clínica en la clasificación de las Ataxias Hereditarias los estudios moleculares han ayudado a clarificar y permitir una mejor clasificación. Es así como los estudios moleculares han permitido determinar, que ataxias con cuadros clínicos similares y modos de herencia iguales son genéticamente diferentes.

Recientemente mediante la clonación posicional y el ligamiento genético se han determinado los genes implicados en SCA1, SCA2, SCA3, SCA6, SCA7, SCA8, SCA10, SCA12, Ataxia de Friedreich (FRDA), Ataxia Telangiectasia y Ataxia por deficiencia de vitamina E.

2. MARCO TEÓRICO

2.1. LAS ATAXIAS HEREDITARIAS

Las ataxias hereditarias comprenden un espectro amplio y complejo de enfermedades con diferentes características clínicas y heterogeneidad neuropatológica y genética. Estas enfermedades se caracterizan por una degeneración progresiva del sistema nervioso central (SNC) afectando la función del cerebelo o de sus vías aferentes y eferentes, y eventual compromiso de otras estructuras como corteza, tallo cerebral, médula espinal, nervios periféricos y retina.

Luego de que Nicholaus Friedreich entre 1863 y 1876 publicara la descripción de casos de ataxia familiar, Menzel en 1891 enfatizó las diferencias entre su caso y los pacientes de Friedreich sin reconocer el modo de herencia, definiendo lo que en 1900 Déjerine y Thomas introdujeron con el término Olivopontocerebeloso para describir dos casos de un síndrome cerebeloso que aparece en la edad adulta. Marie (1893), realizó una comparación sistemática de los aspectos clínicos, hereditarios y anatomopatológicos de la Ataxia de Friedreich y otras formas de ataxia hereditaria, concluyendo que las ataxias hereditarias cerebelares y la Ataxia de Friedreich son entidades diferentes; el término Ataxia de Marie fue usado por décadas para hacer la distinción entre las formas autosómicas recesivas (Ataxia de Friedreich) y dominantes. En 1907, Holmes propuso que solo el estudio de la neuropatología de las ataxias hereditarias daría una firme clasificación de un grupo de desórdenes, los cuales clínicamente son muy heterogéneos. Sus expectativas no se cumplieron, debido a que el examen macro y microscópico del cerebro, médula espinal, raíz del ganglio dorsal y nervios periféricos resultó con mayor heterogeneidad (Koeppen *et al.*, 1998, Wells y Warren, 1998).

Greenfield en 1954, propuso una clasificación para las degeneraciones olivopontocerebelosas (DOPC) teniendo en cuenta su modo de heredarse, más adelante Konigsmark y Weiner en 1970, incluyeron en la clasificación de las DOPC aspectos heredo-clínicos y patológicos proponiendo cinco tipos:

DOPC dominante tipo I (tipo Menzel)

DOPC recesiva tipo II (tipo Fickler-Winkler)

DOPC dominante tipo III (con degeneración retiniana)

DOPC tipo IV (tipo Shut-Haymaker)

DOPC dominante tipo V (demencia, ofatlmoplejía y signos extrapiramidales).

Con la descripción de Wadia y Swami en 1971 de la forma de DOPC con sacadas oculares lentas y la descripción de Plaitakis en 1980 de las formas de DOPC con déficit de glutamato deshidrogenasa , surge una nueva propuesta de clasificación de las DOPC por Huang y Plaitakis, que tiene en cuenta criterios heredo-clínicos y bioquímicos (Prieto, 1994):

DOPC recesiva con déficit de glutamato deshidrogenasa

DOPC esporádica con hipotensión ortostática

DOPC dominante (familia S)

DOPC dominante (familia W, forma espinopónica)

DOPC dominante con sacadas oculares lentas.

Harding en 1983, propone una caracterización y clasificación de las ataxias hereditarias: (1) las ataxias congénitas frecuentemente genéticas y asociadas con un débil desarrollo del cerebelo y sus conexiones que por definición no son progresivas; y ataxias subyacentes a una causa metabólica, y (2) ataxias hereditarias de origen desconocido con inicio antes o después de los 20 años ; en donde la mayoría de los desórdenes de inicio temprano son autosómicos recesivos y los de inicio tardío autosómicos dominantes. Esta clasificación actualizada y revisada por el grupo de investigación en ataxias hereditarias de la Federación Mundial de Neurología es la siguiente (Prieto *et al.*, 1994) :

Ataxias Congénitas

Ataxia con retardo mental con o sin espasticidad (recesiva, dominante o ligada a X).

Ataxia congénita con episodios de hiperpnea, movimientos oculares anormales y retardo mental (S. Joubert, recesiva).

Ataxia congénita con retardo mental y anhidria parcial (S. Gillespie).

Síndrome de desequilibrio (recesiva).

Ataxias hereditarias con trastorno metabólico

Ataxias Intermitentes

Con hiperamonemia (déficit de arginosuccinasa).

Con aminoacidurias (hamup, acidemia isovalérica, cetoaciduria de cadena ramificada).

Con alteración de piruvatos y lactatos.

Ataxias progresivas

Déficit de hexosaminidasa.

Desórdenes del depósito de esfingomielina.

Cholesteatosis.

Leucodistrofias.

Encefalomiopatías mitocondriales.

Abeta e hipolipoproteinemia.

Déficit de vitamina E.

Enfermedad de Wilson.

Déficit de hipoxantina-guanina-fosforibosiltransferasa.

Lipofuscinosis ceroide.

Sialidosis.

Ataxia ligada a X.

Desórdenes ligados con déficit en la reparación del DNA

Ataxia Telangiectasia.

Xeroderma pigmentosum.

S. de Cockaine.

Ataxias con etiología desconocida

Inicio antes de los 20 años:

Ataxia de Friedreich.

Ataxia de inicio temprano

Con reflejos conservados.

Con hipogonadismo.

Con mioclonías (Ramsay-Hunt).

Sordera en la infancia.

Sordera congénita.

Atrofia óptica y retardo mental (S. Behr).

Catarata y Retardo Mental (S. Marinesco-Sjögren).

Retinopatía pigmentaria.

Ataxia recesiva espinocerebelosa ligada a X.

Inicio luego de los 20 años:

Ataxia Cerebelosa autosómica dominante con:

I Oftalmoplejía, atrofia óptica, demencia y signos extrapiramidales (incluye Enfermedad de Machado-Joseph).

II Retinopatía pigmentaria, oftalmoplejía, signos extrapiramidales.

III Ataxia cerebelosa pura autosómica dominante de inicio tardío (mayor de los 50 años).

La clasificación de las Ataxias Hereditarias de acuerdo a su fenotipo clínico y neuropatológico es difícil por su excesiva heterogeneidad. El modo de transmisión proporciona un método relativamente simple de clasificación, ataxias autosómicas recesivas como la Ataxia de Friedreich (FRDA) y las Ataxias Cerebelosas Autosómicas Dominantes (ADCA) termino que ha sido reemplazado por Ataxia Espinocerebelar (SCA) para denotar lo progresivo de las ADCAs. Estudios moleculares recientes han demostrado la heterogeneidad genética entre familias afectadas por SCAs. Actualmente se han asignado 12 loci para genes que causan SCA (Tabla 1) (Wells y Warren 1998, Dürr *et al.*, 2000).

Tabla 1. Clasificación de Ataxias Cerebelosas Autosómicas Dominantes

Tipo	Signos Clínicos Asociados con Ataxia	Locus/Gen	Localización
I	Variable(oftalmoplejía, atrofia óptica, demencia, signos extrapiramidales, amiotrofia.	SCA1	6p
		SCA2	12q
		SCA3	14q
		SCA4	16q
		SCA12	5
II	Retinitis Pigmentosa.	SCA7	3p
III	Ataxia cerebelar pura.	SCA5	11cen.
		SCA6/CACNA1A	19p
		SCA8	13q
		SCA11	15q
Otros	Epilepsia Retardo Mental	SCA10	22q
		SCA13	19q

(Adaptado de Dürr *et al.* 2000).

2.1.1. Anticipación

Antes de la década de los años noventa la Genética Humana consideraba que el material genético era estable durante la transmisión y el evento mutacional como

variante nueva se heredaba en si misma de manera estable. De hecho en observaciones clínicas esta afirmación no era del todo correcta, investigadores clínicos tenían la sospecha de que algo estaba errado cuando cuidadosamente examinaron en familias con Distrofia Miotónica dominante, en las cuales los hijos de los individuos afectados con frecuencia tenían una forma más severa de la enfermedad. Este aumento progresivo en la expresividad de una misma mutación sobre un número de generaciones fue denominado anticipación, concepto que no tuvo acogida en los principios biológicos de la Genética de esa época. Años después, el reconocimiento del incremento de la penetrancia a través de varias generaciones en el Síndrome de X frágil, subsecuentemente se conoció como la paradoja de Sherman, evocando una semejanza a la anticipación genética de la Distrofia Miotónica; tuvo mayor aceptación pero no fue fácilmente explicada a nivel molecular (Wells y Warren, 1998).

En 1991, los genes responsables para el Síndrome de X frágil y Atrofia Muscular Espinobulbar fueron localizados y secuenciados, conteniendo expansiones inestables de trinucleótidos repetidos. Al año siguiente, la Distrofia Miotónica fue también encontrada a ser el resultado de la expansión de la repetición de un trinucleótido. Estos hallazgos fueron seguidos por un notable número de enfermedades neurológicas. El comportamiento de éstas repeticiones en familias afectadas claramente reveló un patrón, en donde el incremento de la penetrancia (paradoja de Sherman) o expresión (anticipación) a través de varias generaciones correlacionó con la expansión en la longitud de las tripletas repetidas (Figura 1) (Wells y Warren, 1998, Rosenberg *et al.*, 1996).

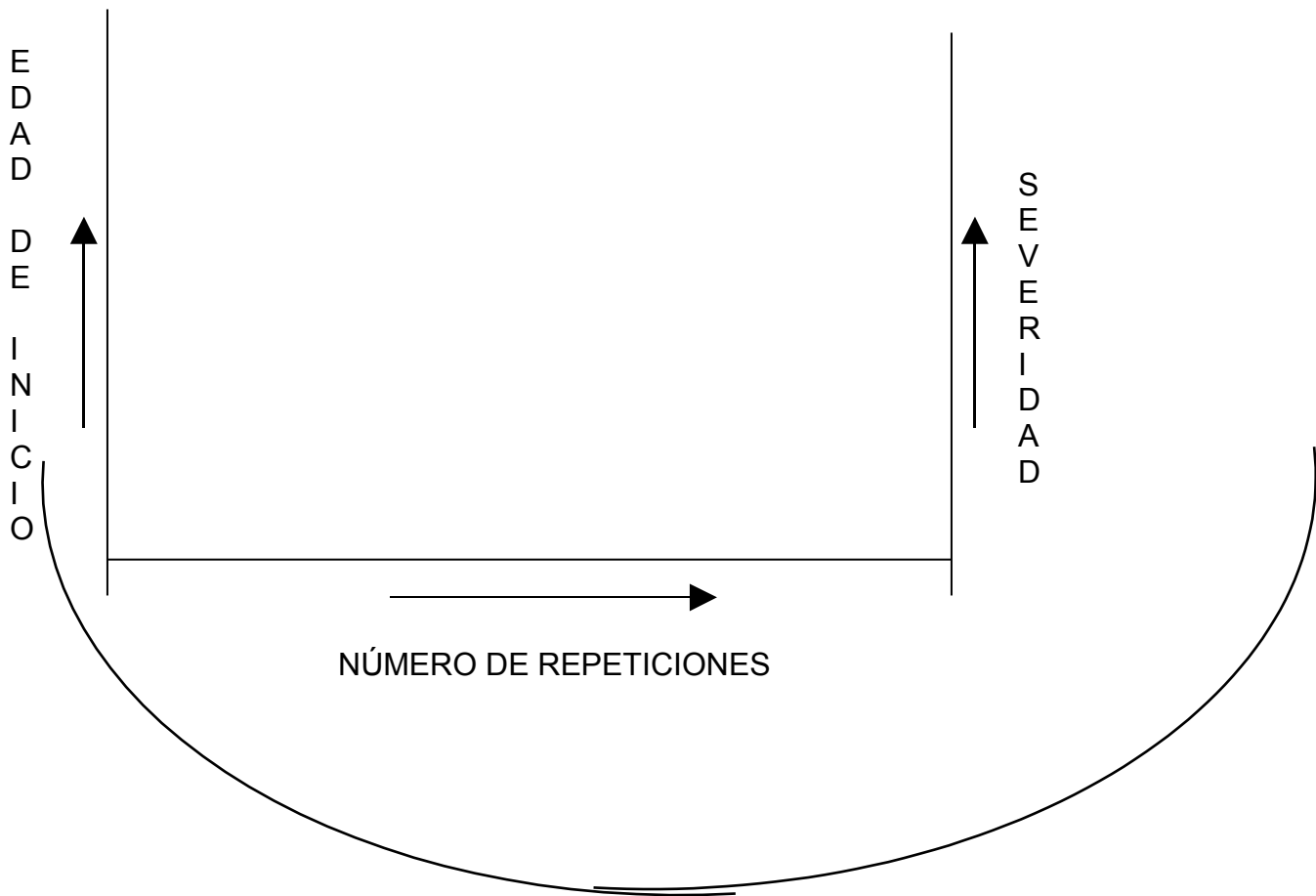


Figura 1. Anticipación genética en enfermedades con mutación dinámica. (Adaptado de Wells y Warren,., 1998).

En los últimos años varias consistencias han surgido para esta clase de mutación permitiendo clasificar las enfermedades de expansión de trinucleótidos de acuerdo a la localización de la repetición en el gen (Tabla 2). Las enfermedades de tripletas repetidas en regiones no codificantes se caracterizan porque la expansión es grande, las secuencias de la tripleta pueden ser: CGG, GCC, GAA, CTG y

CAG, de acuerdo a cada enfermedad, así como el mecanismo patogénico dependiendo de las consecuencias de la pérdida de función de la respectiva proteína o en algunos casos de la ganancia de función de un transcrito tóxico. Las expansiones grandes son frecuentemente transmitidas a partir de un pequeño grupo de expansiones de tamaño intermedio clínicamente silenciosas denominadas premutaciones. El otro grupo son las enfermedades que se caracterizan por repeticiones (CAG)_n exónicas que codifican para un tracto de poliglutaminas cuyas expansiones son más pequeñas. Los desórdenes por poliglutaminas se caracterizan por una disfunción neuronal progresiva que resulta en una severa neurodegeneración. A pesar de la expresión ubiquitinada de los genes, sólo un cierto grupo de neuronas son vulnerables a la degeneración. Estudios en cultivos celulares, modelos animales y tejidos de pacientes que muestran agregados de proteínas mutadas de poliglutaminas, sugieren que la expansión de glutamina desestabiliza la conformación natural de las proteínas mutadas. Además, agregados proteicos con estructura similar a las inclusiones nucleares (NIs) han sido reportadas en ratones transgénicos y pacientes con enfermedad de Huntington (HD), Ataxia Espinocerebelar tipo 1 (SCA1), tipo 2 (SCA2), tipo 3 (SCA3) y tipo 7 (SCA7); sugiriendo que los agregados causan interacciones aberrantes proteína-proteína afectando la arquitectura y función nuclear y/o la función de interacción de las proteínas como mecanismo patogénico común. Hallazgos recientes, sin embargo, indican que NIs no son necesarias para iniciar la enfermedad, porque (1) la distribución de NIs en tejido no siempre corresponde a la patología selectiva, y (2) en modelos animales se encuentran grandes cantidades de NIs en células que no presentan signos de degeneración. Una característica general de los desórdenes por repetición de tripletas es que la inestabilidad y la enfermedad frecuentemente son asociadas con la formación única del tracto de tripletas repetidas a partir de uno que contiene interrupciones en la secuencia repetida del trinucleótido dada por una tripleta no repetida (Cummings *et al.*, 2000, Sinden *et al.*, 1999).

Tabla 2. Enfermedades causadas por expansión de trinucleótidos.

ENFERMEDAD	GEN	LOCUS	PROTEÍNA
NO CODIFICANTES			
Síndrome de X Frágil	FMR1 (FRAXA)	Xq27.3	Proteína FMR-1
Síndrome de XE Frágil	FMR2 (FRAXE)	Xq28	Proteína FMR-2
Ataxia de Friedreich	FRDA	9q13-21.1	Frataxina
Distrofia Miotónica	DMPK	19q13	Protein kinasa DM
Ataxia Espinocerebelar tipo 8	SCA8	13q21	-----
Ataxia Espinocerebelar tipo 12	SCA12	5q31-33	PP2A-PR55 β
CODIFICANTES			
Atrofia Muscular Espinobulbar	AR	Xq13-21	Receptor de Andrógeno
Enfermedad de Kennedy			
Enfermedad de Huntington	HD	4p16.3	Huntingtina
Atrofia dentatorubro-palidoluysiana	DRPLA	12p13.31	Atrofina-1
Ataxia Espinocerebelar Tipo 1	SCA1	6p23	Ataxina-1
Ataxia Espinocerebelar Tipo 2	SCA2	12q24.1	Ataxina-2
Ataxia Espinocerebelar Tipo 3	SCA3/MJD1	14q32.1	Ataxina-3
Enfermedad de Machado-Joseph			
Ataxia Espinocerebelar Tipo 6	SCA6	19p13	Subunidad α 1A-canal Ca ⁺⁺
Ataxia Espinocerebelar Tipo 7	SCA7	13P12-13	Ataxina-7

(Adaptado de Cummings *et al.*, 2000)

2.1.2. Ataxia de Friedreich

2.1.2.1. Aspectos Clínicos

La Ataxia de Friedreich (FRDA) es la ataxia hereditaria más común, su prevalencia es de alrededor de 2 en 50000, en casi todas las poblaciones estudiadas y una frecuencia de portadores de 1 en 120 en la población europea. La gran variabilidad clínica que tiene ha dificultado su identificación a partir de otras ataxias, el primero en describirla fue el alemán Nicholas Friedreich en 1863 como “una atrofia degenerativa de la columna posterior de la médula espinal” causando una ataxia progresiva, pérdida sensorial y debilidad muscular, frecuentemente asociada con escoliosis, deformidad de los pies y cardiomiopatía (Pandolfo *et al.*, 1999).

La enfermedad se manifiesta antes de la adolescencia y se caracteriza por movimientos incoordinados de los miembros, disartria, nistagmus, disminución o ausencia de los reflejos osteotendinosos, signo de Babinski, deterioro de las sensaciones de posición y vibratorias, escoliosis y pie cavo. El criterio

diagnóstico para FRDA ha sido desarrollado por Geoffrey *et al.*, en 1976 y luego en 1981 por Harding (Tabla 3) (Harding, 1993, Schöls *et al.*, 1997).

Las alteraciones patológicas en la Ataxia de Friedreich comprometen principalmente la médula espinal con degeneración de la columna posterior y el área espinocerebelar, principalmente en la región cervical; además de una gran pérdida de células en la raíz del ganglio dorsal, y degeneración del tracto piramidal de forma más marcada en la región lumbar. El tallo cerebral, cerebelo y el cerebro relativamente no son comprometidos. Hay pérdida de grandes axones mielinizados en nervios periféricos, especialmente en pacientes muy jóvenes, que aumenta con la edad y duración de la enfermedad; la pérdida neuronal es acompañada por proliferación de células satélites y abundancia de nódulos residuales. La corteza cerebral es afectada generalmente hacia el final de la enfermedad durante su curso progresivo, con pérdida de algunas células de Purkinje, pero el núcleo dentado es severamente atrofiado (Harding, 1993, Koeppen *et al.*, 1998).

La Ataxia de Friedreich frecuentemente esta asociada con cardiomiopatía hipertrófica, este compromiso en la mayoría de los casos es la causa de la muerte. Ecocardiografías han mostrado que el ventrículo izquierdo presenta una hipertrofia asimétrica dada por el adelgazamiento de la pared ventricular con función sistólica normal. Aunque la mayoría de los síntomas en FRDA son secundarios a la degeneración neuronal, el corazón es considerado un sitio independiente de degeneración primaria (Casazza *et al.*, 1996, Isnard *et al.*, 1997).

La incidencia de Diabetes mellitus en pacientes con FRDA es alta, cerca del 10% de ellos la tienen y otro 20% presentan intolerancia a los carbohidratos. Finochiaro *et al.*, en 1988 realizaron un estudio para caracterizar las anomalías del metabolismo de glucosa en individuos con FRDA, sus resultados indicaron una asociación con resistencia a la insulina, deficiencia de células beta y diabetes tipo I, concluyendo que éstas alteraciones podrían estar

dadas por un defecto genético primario en la Ataxia de Friedreich. La diabetes usualmente aparece después de los síntomas neurológicos y puede empeorar el cuadro neurológico por adición de complicaciones neuropáticas diabéticas como la pérdida sensorial distal (Wells y Warren, 1998).

En la Ataxia de Friedreich la médula espinal es la estructura más afectada, aparece mucho más comprometida que cualquier otra parte del sistema nervioso central, incluyendo el cerebelo, al observar en imágenes de resonancia magnética cerebral (MR); (Wells y Warren, 1998) estructuras intracraneales incluyendo tallo cerebral, cerebelo y cerebro son menos afectadas pero no completamente comprometidas; tomografías computarizadas (CT) indican que hemisferios cerebrales, tallo cerebral y cerebelo son pequeños al ser comparados con controles, y el grado de esta atrofia difusa correlaciona con la severidad clínica.

Tabla 3. Criterios Diagnósticos para Ataxia de Friedreich

Criterios obligatorios
Ataxia progresiva en la marcha y los miembros. Ausencia de reflejos en las piernas. Inicio antes de los 20 años. (Geoffrey) o antes de los 25 años (Harding). Disartria, disminución de la sensación en la posición y/o vibración en los miembros inferiores, debilidad muscular. Herencia autosómica recesiva. Velocidad de la conducción de nervios motores de 40m/s, con reducción o ausencia del potencial de acción de los nervios sensoriales. Hallazgos adicionales descritos por Harding Signos presentes después de 5 años de inicio: disartria, arreflexia, debilidad piramidal de las piernas, respuesta plantar extensora y pérdida distal de la posición de las articulaciones. Signos frecuentes: escoliosis, pie cavo, cardiomiopatía de tipo hipertrófico no obstructivo, atrofia óptica, sordera, intolerancia a la glucosa o diabetes.

(Adaptado de Harding 1993, Wells y Warren, 1998).

En 1993 Klockgether *et al.*, en un estudio en el que correlacionaron los hallazgos clínicos con MR cerebral en 46 individuos hallaron, 28 de ellos con FRDA revelaron atrofia de la médula espinal, 4 con FRDA de inicio tardío presentaron el mismo patrón en MR cerebral que los individuos con FRDA típica, y 14 con FRDA con reflejos conservados en su mayoría presentó atrofia cerebelar cortical, 3 atrofia espinal y 2 atrofia olivopontocerebelar.

2.1.2.2. Aspectos Genéticos

La Ataxia de Friedreich se caracteriza por heredarse de forma autosómica recesiva, sin embargo muestra variabilidad clínica especialmente en los criterios de edad de inicio y progresión. El grupo colaborativo de Québec describió una ataxia incompleta y una atrofia atípica sugiriendo heterogeneidad. Sólo después de ser localizado el locus FRDA sobre el cromosoma 9, fue demostrado por análisis de ligamiento la homogeneidad del locus en variantes clínicas como Ataxia de Friedreich con inicio tardío (LOFA), Ataxia de Friedreich con reflejos conservados (FARR), y Acadiana.

La edad de inicio de FRDA ocurre durante o antes de la pubertad según describió Friedreich en sus nueve pacientes estudiados, sin embargo se han descrito casos de pacientes con inicio tardío; Potts reportó un rango de aparición entre los 27 y 36 años en tres generaciones. En 1976 el criterio diagnóstico definido por Geoffrey *et al.*, establece que inicia antes de finalizar la pubertad y antes de los 20 años. Harding en 1981 consideró la edad de aparición antes de los 25 años un criterio especial. De Michele *et al.*, en 1989 reportaron nueve pacientes con fenotipo de Friedreich pero con edad de inicio entre los 21 a 29 años, sugiriendo a LOFA como una entidad genética distinta; después de que en 1989 no se evidenció heterogeneidad genética, el mismo grupo en 1994 reportó un estudio clínico y de análisis genético molecular en el cual once de los 114 pacientes desarrollaron la enfermedad después de los 25 años y dos después de los 30 años; confirmó la ausencia de heterogeneidad genética y definió a LOFA como una variante de FRDA de menor severidad no sólo por el inicio tardío sino por su progresión lenta y menos anomalías esqueléticas (De Michele *et al.*, 1994).

Friedreich reportó ausencia de reflejos osteotendinosos en 4 de sus pacientes, así mismo la ausencia de mioclonías en rodillas y tobillos fue incluida como criterio esencial de diagnóstico de FRDA por Geoffrey *et al.*, y Harding. Sin embargo, en

los últimos años, casos con FRDA pero con reflejos conservados o hiperreflexia han sido reportados y un pequeño porcentaje de pacientes FRDA conservan sacudidas en las rodillas. Palau *et al.*, en 1995 realizaron análisis de ligamiento para el locus FRDA en 11 pacientes de 6 familias con fenotipo FRDA pero con reflejos conservados, en el cual concluyeron que FARR es una variante de FRDA.

En 1984 Barbeau *et al.*, estudiaron 31 casos en poblaciones Acadianas evidenciando que la edad de aparición es tardía al igual que el compromiso gradual de la columna posterior que en FRDA clásica, como resultado pie cavo y escoliosis son menos marcados; el curso progresivo es más lento y la prevalencia de cardiomiopatía es menor. Se considera que la enfermedad fue introducida en ésta población por colonizadores provenientes del Norte de Francia durante el siglo XVII. Chamberlain *et al.*(1988), demostraron la heterogeneidad del locus entre FRDA clásica y FRDA Acadiana por análisis de ligamiento. Un subtipo de FRDA Acadiana describieron Richter *et al.*(1992), en pacientes de familias de New Brunswick, ellos tienen ataxia progresiva menos severa que FRDA clásica, reflejos conservados y espasticidad, denominándola Ataxia Espástica de Tipo Acadiano (SPA-Acadiana).

Chamberlain *et al.*, localizaron el gen de FRDA sobre el cromosoma 9 en 1988. Por identificación de eventos de recombinación, la región candidata fue sucesivamente reducida de 450 a 300 y finalmente a 150Kb (Chamberlain *et al.*, 1993, Duclos *et al.*, 1994, Rodius *et al.*, 1994, Montermini *et al.*,1995). En 1996 Campuzano *et al.*, identificaron el gen X25 que posee 7 exones distribuidos sobre 95Kb, el primer exón tiene un sitio de inicio de transcripción precedido por varios codones de parada y una isla CpG no metilada. La mayoría de transcritos van del exón 1 al 5 a que codifica 210 aminoácidos para la proteína frataxina. Isoformas menos abundantes tienen el exón 5b en lugar de 5 a, también tiene un codón de parada de modo que el transcrito alternativo codifica una proteína corta de 171 aminoácidos cuyos 11 residuos COOH-terminal difieren de la isoforma principal;

además dependiendo sobre el uso alterno del sitio de splice donador 3' el transcrito termina en el exón 5b o incluye el exón 6 no codificante, su significado funcional aún es incierto.

En tejidos de humanos adultos, el RNAm se encuentra de forma abundante en el corazón, hígado, músculo esquelético y páncreas. En SNC es altamente expresado en la médula espinal, a bajos niveles en el cerebelo y a muy bajo nivel en la corteza cerebral. Jiralerspong *et al.*, (1997) investigaron el desarrollo de la expresión del gen en el ratón, detectando débil expresión a partir del día 10.5 del embrión en el neuroepitelio y más claramente el día 12.5 en el desarrollo del SNC. El día 14.5 frataxina fue expresada a niveles muy altos y se mantuvo constante dentro del período post natal. La máxima expresión fue observada en la médula espinal, particularmente a nivel toracolumbar, y en la raíz del ganglio dorsal. Niveles significativos del transcrito detectaron en células proliferativas en la zona periventricular, en la lámina cortical, en el corazón, en el esqueleto axial y en algunos tejidos epiteliales y mesenquimales. Además sugirieron que frataxina es una proteína cuya expresión es celuloespecífica y reguladora del desarrollo.

La mutación más común en FRDA es una expansión del trinucleótido GAA en el intrón 1 de 12 Kb y la tripleta repetida esta cerca de 14 Kb después del exón 1 en medio de una secuencia repetitiva de la familia Alu-Sx, el 98% de los cromosomas FRDA la poseen. Análisis de PCR en controles normales mostraron que la tripleta GAA es un polimorfismo cuya longitud varía entre 7 y 40 repeticiones, en donde los alelos pequeños son los más prevalentes. Mientras que los individuos con FRDA tienen aproximadamente de 100 a 1700 tripletas. Expansiones entre 40 y 100 repeticiones han sido descritas como premutación y puede expandirse en una generación y ser una mutación o puede ser transmitida como una premutación (Montermini *et al.*, 1997, Cossée *et al.*, 1997, Delatycki *et al.*, 1998).

Las mutaciones puntuales en el gen de frataxina son una causa rara de FRDA, solo cerca del 2% de los cromosomas FRDA llevan cambios en su secuencia dando como resultado una proteína truncada, o un cambio de aminoácido probablemente con significancia funcional; cinco mutaciones puntuales han sido completamente caracterizadas hasta ahora, en todos los casos los individuos afectados son heterocigotos para la mutación puntual con una secuencia codificante de frataxina normal sobre el homólogo del cromosoma 9 pero tienen la expansión del trinucleótido GAA. La mutación missense L106S en el exón 3 actúa a nivel post-transcripcional generando una proteína parcialmente funcional, al igual que la mutación missense G130V sobre el exón 4; al no estar localizadas en los motivos altamente conservados de la estructura secundaria de la proteína, produciendo un fenotipo sin llevar todos los criterios clínicos de FRDA. Por el contrario la mutación nonssense L106X en el exón 3 genera una deficiencia de frataxina, junto con la mutación I145F en el motivo I conservado, están asociadas con una expresión severa de la enfermedad (Tabla 4)(Bartolo *et al.*, 1998).

Tabla 4. Mutaciones Puntuales encontradas en FRDA.

Nucleótido Cambiado	Efecto sobre la secuencia codificante	Origen Geográfico
3G ---T	M1I (iniciación incorrecta)	Alemania
316T --- G	L106X (proteína truncada)	Francia
385-2A --- G	Splice	España
389G --- T	G130V	Estados Unidos
460A --- T	I154F	Italia

(Adaptado de Wells y Warren 1998).

En el estudio de la expansión del trinucleótido en una familia es común ver cambios en el tamaño cuando es transmitido de los padres a los hijos. La transmisión paterna esta frecuentemente acompañada por una contracción de la repetición; por consiguiente en hombres portadores repeticiones pequeñas son encontradas en esperma más que en leucocitos. La transmisión materna puede resultar tanto en expansión como en contracción, casi en igual probabilidad (Pianese *et al.*, 1997, Monrós *et al.*, 1997). La expresión de GAA también

presenta diferencias de tamaño en distintos tipos de células o tejidos; cultivos de fibroblastos y corteza cerebral muestran muy poca heterogeneidad en el tamaño de la expansión, además Montermini *et al.*, (1997) observaron heterogeneidad del tamaño de la repetición en diferentes regiones del SNC indicativo de una gran inestabilidad mitótica. Muestras de distintas partes del SNC contenían una mezcla similar de alelos, sugiriendo que el patrón del mosaicismo del tamaño de la expansión refleja la historia del desarrollo de cada muestra.

La expansión GAA inhibe la expresión del gen de frataxina. La reducción fue observada tanto a nivel de RNA como de la proteína. El segmento de la repetición de GAA*TTC es una secuencia de polipurinas y polipirimidinas, que puede adoptar una estructura de hélice triple en condiciones de superenrollamiento, inhibiendo así la transcripción de la cadena rica en purinas (Bidichandani *et al.*, 1998, Oshima *et al.*, 1998).

Los alelos normales están distribuidos en un grupo pequeño con 6 a 10 tripletas GAA y un grupo grande con más de 13 tripletas. Datos de desequilibrio de ligamiento indican que la asociación enfermedad-expansión surge a partir del grupo de alelos normales grandes. Alelos normales grandes contienen secuencias interrumpidas mayores de 34 GAA han sido observadas a llevar a hiperexpansiones de tripletas en una sola generación. Alelos normales estables con más de 34 GAA han sido identificados, pero son interrumpidos por un hexanucleótido (CAGGAA), el cual probablemente tiene un papel estabilizador. FRDA asociada a expansiones GAA parecen provenir de reservorios de alelos de altos riesgo, como lo propuesto para Distrofia Miotónica asociada con expansiones CTG (Pandolfo *et al.*, 1999).

La frataxina es una proteína mitocondrial con identidad secuencial altamente significativa a proteínas de función desconocida en *Caenorhabditis elegans* y *Sacharomyces cerevisiae* (49% y 31% respectivamente), y en menor grado en bacterias Gram negativas (Koutnikova *et al.*, 1997). La proteína presenta un llamativo grado de conservación evolutiva, particularmente a lo largo de los 27

aminoácidos por lo exones 4 y 5 a. Predicciones de la estructura secundaria sugieren una estructura alfa-hélice para los 30 aminoácidos de la región NH₂-terminal, y las regiones entre los residuos 90 a 110 y 185 a 195 con posibles hojas beta distribuidas alrededor de las regiones de los residuos 125 a 145 y 175 a 180; sin identificación de dominio transmembranal (Campuzano *et al.*, 1996).

2.1.2.3. Patogénesis

La función de la frataxina es desconocida, pero la caracterización de un gen en *S. cerevisiae* cuya predicción de su producto tienen una elevada similitud en la secuencia en comparación con la frataxina humana, el gen levaduriforme homólogo de frataxina (YFH1), ha dado algunos indicios de cual puede ser su función. Knock outs de YFH1 presentan un crecimiento reducido en fuentes de energía fermentables, disminución en los niveles del DNA mitocondrial (DNAMt), acumulación de hierro en la mitocondria y una elevada susceptibilidad a especies de oxígeno reactivas (ROS) (Babcock *et al.*, 1997). Esta combinación de factores sugiere que frataxina puede jugar un papel en la regulación de los niveles de hierro mitocondrial, la síntesis o ensamblaje de proteínas hierro-sulfuradas, regulación del DNAMt o la defensa antioxidante de la mitocondria.

Otros indicios para la patogénesis de FRDA provienen de una enfermedad recesiva neurodegenerativa causada por mutaciones en la proteína que transfiere alfa-tocoferol asociada con deficiencia de vitamina E, la cual produce una condición clínica similar a FRDA. Vitamina E es un importante lípido soluble antioxidante y lleva a elevar la peroxidación de lípidos. Las similitudes clínicas entre la deficiencia de vitamina E y FRDA sugieren que la peroxidación de lípidos puede estar involucrada en FRDA (Bradley *et al.*, 2000).

Si los hallazgos en levadura son relevantes a la patogénesis de FRDA, frataxina es un elemento clave del sistema controlador del metabolismo del hierro y generación de radicales libres en la mitocondria. La participación del hierro en la

patogénesis de FRDA fue previamente sugerida por el hallazgo de depósitos de este metal en células de miocardio de pacientes con FRDA. Recientes MR cerebral indican que el hierro también se acumula en una de las estructuras del SNC afectadas, el núcleo dentado. El compromiso funcional de la mitocondria es compatible con las características clinicopatológicas de la enfermedad, varias anomalías mitocondriales fueron propuestas como el defecto primario en FRDA, incluyendo deficiencia en lipoamida deshidrogenasa, piruvato carboxilasa y deficiencias en la cadena respiratoria. Recientemente, Rotig *et al.*, (1998) demostraron un déficit en la cadena respiratoria reproducible en el corazón involucrando los complejos I, II y III, y aconitasa citosólica y mitocondrial, que contienen grupos Fe-S en sus sitios activos y marcadamente sensibles a los radicales libres. (Pandolfo, 1999). Luego en 1999 Lodi *et al.*, evaluaron la presencia de disfunción mitocondrial en músculo esquelético de 12 pacientes con FRDA encontrando un déficit del índice máximo de producción de ATP, además todos los pacientes presentaron una marcada correlación negativa (aumento de GAAs y disminución de ATP) entre la síntesis de ATP mitocondrial y el número de repeticiones GAA en el alelo pequeño, indicando que FRDA es un desorden mitocondrial codificado en el núcleo que afecta la fosforilación oxidativa.

2.1.3. Ataxia Espinocerebelar Tipo 1 (SCA1)

Ataxia Espinocerebelar tipo 1 (SCA1), es una enfermedad neurodegenerativa progresiva autosómica dominante que se caracteriza por ataxia, disartria, disfunción motora progresiva, disfagia, oftalmoparesis, hiperreflexia; nistagmus en el 50% de los casos pero tiende a ser más común en el inicio, mientras que signos extrapiramidales ocurren al final, con postura distónica y movimientos coreiformes. Las edades de inicio reportadas se encuentran entre los 6 y 74 años, con una variación del promedio de 26 a los 43 años. En SCA1 hay una degeneración selectiva de las células cerebelares de Purkinje, neuronas del núcleo del nervio craneal y la oliva inferior. Estudios de imágenes muestran atrofia del vermis

cerebelar, hemisferios así como del pedúnculo cerebelar medio (Kolckgether *et al.*, 1993, Koeppen *et al.*, 1998).

El gen SCA1 ubicado sobre el brazo corto del cromosoma 6, codifica un RNAm de 10Kb, el cual contiene el trinucleótido CAG repetido expandiéndose en individuos afectados. Alelos normales contienen 6 a 44 repeticiones, mientras que los alelos expandidos contienen 40 o más repeticiones. Alelos con 21 o más repeticiones son interrumpidos por 1 a 3 tripleteas CAT que codifica histidina. Las expansiones no interrumpidas de repeticiones en pacientes con SCA1 son inestables con tendencia a promover la expansión durante la meiosis particularmente durante la espermatogénesis. Este mecanismo conduce a una gran expansión en los hijos de los hombres afectados. También hay inestabilidad mitótica de la repetición expandida generando longitudes variables de la repetición en distintos tejidos, tal vez dado por las frecuentes divisiones celulares (Klocgether *et al.*, 1998).

La longitud del tracto de poliglutamina en la proteína ataxina-1, correlaciona de manera inversa con la edad de inicio y directamente con la severidad de la enfermedad; no posee homología con otra proteína y no contiene algún motivo que de algún indicio acerca de su función; codifica entre los aminoácidos 792 a 829 dependiendo del número de glutaminas, no tiene región hidrofóbica y es probable que sea soluble (Dürr *et al.*, 1995, Orr *et al.*, 1993, Hammans, 1996).

2.1.4. Ataxia Espinocerebelar Tipo 2 (SCA2)

La Ataxia Espinocerebelar tipo 2 (SCA2) fue descrita clínicamente primero como una entidad étnica distinta en una gran población homogénea de pacientes con ataxia cerebelar de herencia dominante de la provincia de Holguín en Cuba, con una prevalencia de 41 en 100000, llevando a presumir que la alta incidencia estuviese relacionada a un efecto fundador. De los 81 pacientes de 20 árboles genealógicos examinados, clínicamente diferentes la mayoría eran de ancestros Caucásicos o Españoles. Además de la ataxia en la marcha y los hallazgos

cerebelares, varios pacientes tenían movimientos sacádicos lentos , los cuales progresaban hasta resultar en oftalmoparesis. La edad de inicio tiene un rango de 2 a los 65 años de edad. Aunque presenta un solapamiento fenotípico significativo con otras SCAs y gran variabilidad intrafamiliar, Orozco *et al.*, (1989), notaron movimientos sacádicos lentos de los ojos en la mayoría de los individuos, característica que se ha observado en estudios siguientes (Babovic *et al.*, 1998, Geschwind *et al.*, 1997).

En el brazo largo del cromosoma 12 se encuentra el gen SCA2 ampliamente expresado, pues su transcrito de 4.5Kb se ha encontrado en cerebro, corazón, placenta, músculo esquelético y páncreas. En 1993, tres grupos independientes identificaron el gen, el cual contiene una expansión de la repetición de CAG, y codifica una proteína de 1312 aminoácidos de función desconocida. La repetición del trinucleótido CAG en SCA2 no es altamente polimórfica y tiene un rango entre 15 a 32 , los alelos normales generalmente presentan 1 o 2 interrupciones CAA que a diferencia de SCA1 no interrumpen el tracto de glutamina a nivel de la proteína; y los alelos enfermos están entre 36 a 59 repeticiones CAG (Cancel *et al.*, 1997, Sanpei *et al.*, 1996, Imbert *et al.*, 1996, Pulst *et al.*, 1996).

Entre los hallazgos neuropatológicos en SCA2 más frecuentes esta la acentuada reducción de las células de Purkinje, la pérdida neuronal en el tallo cerebral , en la oliva inferior y el núcleo pontocerebelar; en la médula espinal hay desmielinización en la columna posterior y en menor grado en el tracto espinocerebelar (Koeppen *et al.*, 1998, Wells y Warren, 1998).

2.1.5. Ataxia Espinocerebelar Tipo 3 (SCA3/MJD)

La enfermedad de Machado-Joseph (MJD) fue reportada inicialmente en personas de las islas Azores y descendientes Portugueses y ha provocado un vigoroso debate respecto a su clasificación. Mientras la ataxia es usualmente el signo

predominante , se mantiene que MJD puede ser distinguida clínicamente por fasciculaciones linguofaciales, latencia del movimiento ocular y distonia. La reunión de varias familias bajo el título de ADCA I permitió a Harding incluir MJD en este grupo por las características similares de MJD con otras familias ADCA I (Hammans. 1996, Genis *et al.*, 1997).

El locus para el gen MJD fue localizado en el cromosoma 14 en familias japonesas y portuguesas; así mismo el locus SCA3 fue ligado a la misma región en 3 familias francesas con ADCA I, sin considerar bajo fundamentos clínicos que tuviesen MJD. La mutación subyacente, común en los pacientes con MJD o SCA3, es una expansión de la repetición de CAG; la cual fue identificada en pacientes japoneses y luego en otros grupos raciales. Con el conocimiento de que SCA3 y MJD están definidas por una mutación, es conveniente y lógico considerar SCA3/MJD como una enfermedad con manifestaciones variables (Hammans. 1996, Giunti *et al.*, 1995).

Pacientes con SCA3/MJD frecuentemente tienen signos extrapiramidales prominentes al inicio de la enfermedad y en ocasiones presentan poca ataxia. Otros signos que pueden observarse con frecuencia o tempranamente son nistagmus, parálisis en la mirada y anormalidades de los reflejos vestibulo-oculares. Pacientes con inicio tardío pueden tener una severa polineuropatía caracterizada por arreflexia generalizada y amiotrofia. Morfométricamente los pacientes con SCA3/MJD no se pueden diferenciar de SCA1 (Wells y Warren, 1998).

SCA3/MJD es causada por la expansión de poliglutamina en el producto del gen MJD1 llamado MJD1p o ataxina-3, la expansión se encuentra cerca de la región COOH-terminal en donde la longitud normal esta entre 14-40 repeticiones y en la enfermedad es expandida entre 55 y 80 repeticiones.

La inestabilidad meiótica y el mosaicismo somático son comúnmente observados en las enfermedades por expansiones de tripletas, Lopes-Cendes *et al.*, (1996) demostraron que el número de CAG de MJD1 fue indistinguible en varias regiones del SNC excepto para el cerebelo en donde el número de tripletas es más pequeño. Takujama *et al.*, (1998) además de confirmar la inestabilidad en la segregación meiótica del trinucleótido CAG, analizaron el polimorfismo CGG/GGG en el extremo terminal 3' de la repetición de CAG en el DNA de leucocitos y espermatozoides de padres e hijos, encontraron que el genotipo [expansión(CAG)_n-CGG]/[normal(CAG)_n-GGG] presenta una inestabilidad altamente significativa de CAG que en los genotipos [expansión(CAG)_n-CGG]/[normal(CAG)_n-CGG] o [expansión(CAG)_n-GGG]/[normal(CAG)_n-GGG]; sugiriendo que una interacción alélica está involucrada en la inestabilidad de la repetición CAG en MJD1.

Las funciones de ataxina-3 son aún desconocidas y no se conocen similitudes significativas en las secuencias de los dominios estructurales con proteínas de funciones conocidas. Evert *et al.*, (1998) observaron inclusiones intranucleares y muerte celular espontánea en una línea celular neuronal derivada de células mesencefálicas que expresan ataxina-3 de manera estable, dentro del núcleo ataxina-3 fue asociada con la matriz nuclear.

2.1.6. Ataxia Espinocerebelar Tipo 4 (SCA4)

En 1996 Flanigan *et al.*, reportaron una familia de 5 generaciones con ataxia cerebelar de inicio tardío autosómica dominante con características clínicas distintivas asociadas como neuropatía axonal sensorial y ausencia de reflejos aquilianos, en la cual reportaron ligamiento en el cromosoma 16q22.1 para el gen SCA4 que se encuentra ligado al marcador D16S397.

Nagaoka *et al.*, en 2000, realizaron análisis de ligamiento en 6 familias japonesas con ADCA III luego de excluir molecularmente SCA1, SCA2, SCA3, SCA5, SCA6, SCA7, SCA8 y SCA10, en el cromosoma 16 encontraron ligamiento en un intervalo de 10.9-cM entre los marcadores D16S3089 y D16S515; el desequilibrio del ligamiento se presentó con el marcador D16S3107 ubicado en este intervalo y el candidato para SCA4; y sugieren que SCA4 y la forma de ADCA III son desórdenes alélicos con características clínicas diferentes.

2.1.7. Ataxia Espinocerebelar Tipo 6 (SCA6)

Entre los genes para canales iónicos involucrados en la enfermedad cerebelar está CACNA1A el cual codifica la subunidad $\alpha 1A$ voltaje dependiente de canales calcio tipo P y Q en células de Purkinje y neuronas granulares respectivamente, esta subunidad es ampliamente expresada en el SNC especialmente en el cerebelo; una serie de fenotipos están asociados con mutaciones de CACNA1A. En el dominio transmembranal y las regiones que dan forma al poro han sido encontradas 4 mutaciones missense, afectando su función, en Migraña Hemipléjica Familiar (FMH). Algunas familias con FMH desarrollan atrofia cerebelar y sufren ataxia intermitente media. Familias con Ataxia Episódica tipo 2 (EA2) se les ha encontrado mutaciones que truncan la subunidad $\alpha 1A$ del canal de calcio; al ser comparadas con Ataxia Episódica tipo 1 (EA1) que resulta de mutaciones missense en el gen del canal de potasio en el cerebro KCNA1; es de inicio tardío, larga duración y provocada por stress emocional, ejercicio y no por sobresaltos como en EA1. Algunos individuos que pueden o no sufrir ataxia episódica tienen ataxia progresiva y atrofia cerebelar, para este fenotipo se ha encontrado la expansión de la tripleta CAG en la región 3' del gen CACNA1A, denominándosele SCA6. El rango de la longitud de la expansión en alelos SCA6 asociados a la enfermedad es de 21 a 27 repeticiones, siendo el más pequeño de las enfermedades por expansiones (Ikeuchi *et al.*, 1997, Matsumura *et al.*, 1997, Klocgether *et al.*, 1998) (Figura 2).

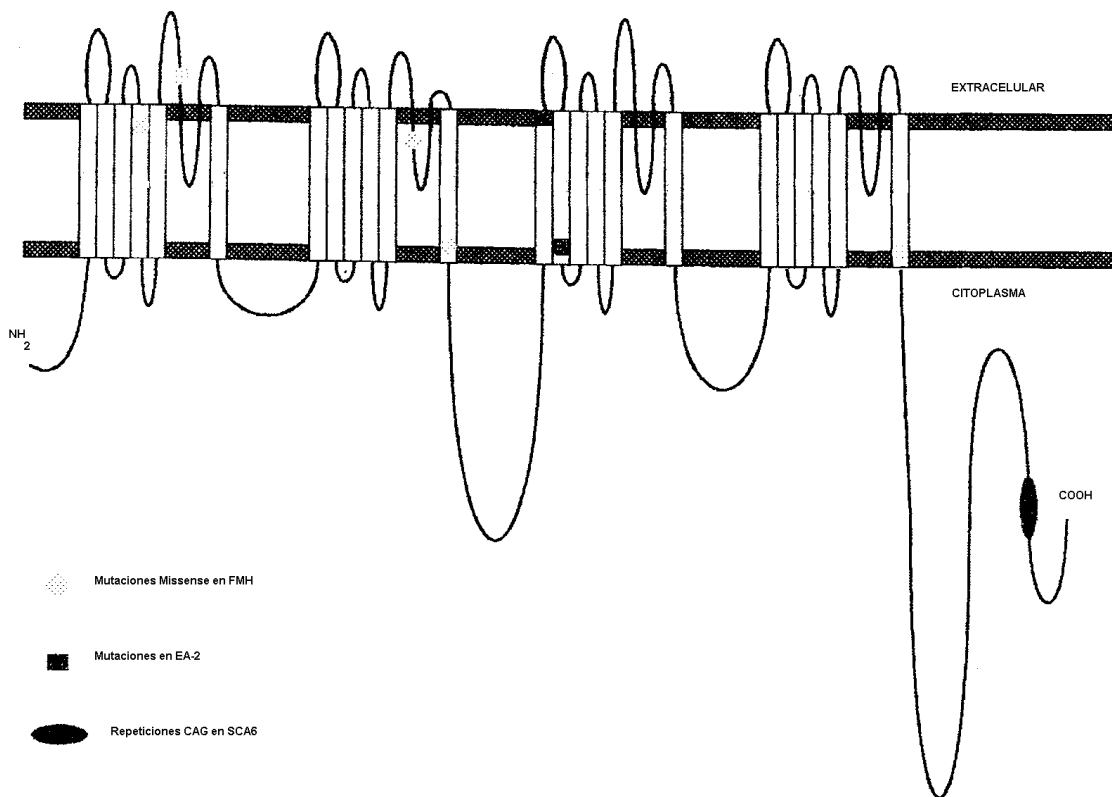


Figura 2. Representación esquemática del gen CACNA1A. (Adaptado de Kolckgether *et al.*, 1998).

El fenotipo de pacientes con SCA6 se caracteriza por una predominante ataxia en la marcha y miembros, y disartria. Varios pacientes tienen nistagmus horizontales y limitación en la extrema supravisión ocular. Estudios de imágenes revelan atrofia cerebelar sin compromiso del tallo cerebral. Aunque estos hallazgos tienden a distinguir SCA6 de SCA1, SCA2 y SCA3, SCA6 es predominantemente un síndrome cerebelar puro (Zoghbi *et al.*, 1997).

La identificación del gen para SCA6, FMH y EA2 claramente indica que estos tres desórdenes son alélicos. La formación de proteínas truncadas en EA2 es de suponer que promueve un número reducido de canales funcionales de calcio,

resultando en disfunción intermitente de neuronas centrales. La pequeña expansión de poliglutaminas en isoformas CACNA1A en SCA6 puede inducir una estructura de la proteína alterada y resultar en la formación de un número reducido de canales funcionales y así inducir la ataxia episódica. El hecho de que los tipos de mutaciones conocidas en CACNA1A generan atrofia cerebelar y ataxia persistente sugiere que la degeneración cerebelar es debido a disfunción de canales de calcio probablemente por la excesiva entrada de calcio a las neuronas. Alternativamente, la neurodegeneración en SCA6 puede ser causada por mecanismos similares a las enfermedades por expansiones CAG, justificado por la relación inversa entre la edad de inicio y la longitud de la expansión, aunque sea pequeña esta longitud esta expansión en comparación con otras SCAs no se debe excluir el mecanismo de ganancia de función por la toxicidad de la poliglutamina ya que puede no solo depender de la longitud de la repetición sino también del contexto de la proteína (Klocgether *et al.*, 1998).

2.1.8. Ataxia Espinocerebelar Tipo 7 (SCA7)

La asociación de ataxia cerebelar y distrofia macular progresiva, con herencia autosómica dominante representa una forma distinta de ADCA clasificada como tipo II según Harding. La edad de inicio tiene un rango de 1 a 60 años pero la edad promedio es de 29 años. Más de 30 años pueden pasar entre la aparición de los síntomas cerebelares y las alteraciones visuales, en adultos con inicio sobre los 30 años, la ataxia es el signo usualmente presente; mientras que en los pacientes con inicio antes de los 30 años la disminución de la agudeza visual es el síntoma inicial solo o acompañado de la ataxia; en ambos grupos la ataxia esta asociada con disartria. La mayoría de los pacientes presentan síndrome piramidal, disminución de la sensación de vibración, disfagia y anormalidades oculomotoras. Análisis de imágenes muestran una marcada atrofia en el cerebelo, particularmente en el vermis y en el tallo cerebral, que puede estar asociada con atrofia moderada de la corteza cerebral. La retina en exámenes patológicos presenta degeneración temprana de los fotorreceptores y de las células bipolar y

granular, particularmente en las regiones foveal y parafoveal. Finalmente, las capas internas de la retina son afectadas con pérdida irregular de células epiteliales del pigmento y penetración de células pigmentadas en las capas de la retina (Wells y Warren, 1998, Klocgether *et al.*, 1993, David *et al.*, 1998).

El gen para ADCA II (SCA7) fue localizado en el brazo corto del cromosoma 3, y confirmado en familias de distinto origen geográfico, sugiriendo que ADCA II es un subtipo de ADCA genéticamente homogéneo. El gen en la región 5' traducida contiene la repetición de la tripleta CAG que es expandida en pacientes con SCA7, siendo la octava enfermedad luego de Atrofia Muscular Espinal y Bulbar (SBMA), Atrofia Dentorubrol-palidolusiana (DRPLA), Huntington (HD), SCA1, SCA2, SCA3 y SCA6, causada por la expansión (CAG)_n en la región codificante del gen responsable. El gen SCA7 codifica una proteína nuclear de función desconocida que contiene 892 aminoácidos, y al igual que en SCA1, SCA2, SCA3 y HD forman inclusiones intranucleares en neuronas de regiones afectadas por estas enfermedades (Homera *et al.*, 1998, David *et al.*, 1997, David *et al.*, 1998). La tripleta CAG en los alelos normales se encuentra en un rango de 7 a 35 y en los alelos afectados de 37 a 200 repeticiones.

2.1.9. Ataxia Espinocerebelar Tipo 8 (SCA8)

Koob *et al.*, en 1999 reportaron una nueva forma de ataxia espinocerebelar (SCA8), causada por la expansión del trinucleótidos CTG no codificante en el cromosoma 13q21, siendo la primera SCA no causada por expansión (CAG)_n que codifica para glutamina. Silveira *et al.*(1999), en el mismo año describieron que la edad de inicio esta entre los 20 y 31 años, los síntomas clínicos iniciales incluyen disartria y diplopía, además de la ataxia en la marcha y en los miembros; dos pacientes presentaron alteración en la memoria. Una niña con ataxia congénita tuvo un alelo con expansión para SCA8, tenía signos cerebelares severos desde el primer año de vida, camino hasta los 5 años, presentó epilepsia mioclónica

desde los 3 años y retardo mental; no le encontraron malformaciones en SNC en MR, siendo el primer caso reportado de ataxia congénita que puede ser debido a una mutación para SCA.

La repetición CTG de SCA8 es precedida por el segmento polimórfico CTA estable, con la configuración $(CTA)_{1-21} (CTG)_n$, la porción CTG es elongada en alelos patógenos, los cuales cambian en tamaño cuando son transmitidos de generación en generación. Contrario a otras enfermedades por tripletas, alelos expandidos en individuos SCA8 pueden tener un tracto CTG ininterrumpido o un alelo con uno o más interrupciones CCG, CTA, CTC, CCA, o CTT. Moseley *et al.*, en 2000, encontraron 6 configuraciones diferentes de la repetición CTG sobre los alelos expandidos en una familia de 7 generaciones, y evaluaron la inestabilidad de SCA8 en espermatozoides de individuos afectados, hallando contracciones de la repetición CTG asociada con una penetrancia reducida.

2.1.10. Ataxia Espinocerebelar Tipo 10 (SCA10)

Zu *et al.*, en 1999, identificaron un pedigree México-americano que segrega una nueva forma de ataxia clínicamente caracterizada por ataxia en la marcha y en miembros, disartria y nistagmus, y epilepsia en dos individuos. Luego de excluir los loci conocidos para SCAs identificaron ligamiento a una región de 15-cM en el cromosoma 22q13. A esta forma de ataxia la denominaron SCA10 en la que también hallaron el fenómeno de anticipación. Resultados similares enunciaron Matsuura *et al.*, ese mismo año en otra familia Mexicana.

En 2000 Matsuura *et al.*, localizaron el gen SCA10 en un intervalo de 3.8-cM sobre el cromosoma 22q13, encontraron la expansión del pentanucleótido ATTCT en el intrón 9 de SCA10, en todos los pacientes de 5 familias mexicanas con SCA10, con correlación inversa entre el tamaño de la expansión y la edad de inicio. El

análisis de 562 cromosomas de individuos normales de varios orígenes étnicos mostró un rango de 10 a 22 repeticiones ATTCT.

2.1.11. Ataxia Espinocerebelar Tipo12 (SCA12)

En 1999 Holmes *et al.*, en una familia alemana describieron otra forma de ADCA Ataxia Espinocerebelar Tipo 12, en la cual la mayoría de los individuos afectados en la cuarta década presentan temblores en los miembros superiores, ataxia en la marcha y en el progreso de la enfermedad disimetría, hiperreflexia, movimientos anormales de los ojos y en los pacientes ancianos demencia. La edad de inicio en esta familia esta comprendida entre los 8 y 55 años. Imágenes de MRI o CT de 5 pacientes mostraron atrofia cortical y cerebelar. Demostraron ligamiento con la expansión de la repetición de CAG en la región 5' no traducida del gen que codifica para una subunidad reguladora de la fosfatasa cerebral PP2A (PP2A-PR55 β). En los alelos normales el rango de repeticiones es de 7 a 28 CAG y en los alelos expandidos de 66 a 78 repeticiones. La función de la subunidad PP2A-PR55 β en PP2A no se conoce pero la holoenzima trimérica PP2A ha sido implicada en número de funciones celulares incluyendo modulación de la progresión del ciclo celular, fosforilación y apoptosis. Es posible que la expansión influya en la transcripción del gen PP2A-PR55 β .

2.1.12. Ataxia Espinocerebelar Tipo 13 (SCA13)

En una familia francesa con ADCA luego de excluir los genes y loci identificados para SCAs, Herman-Bert *et al.*(2000), describieron un nuevo fenotipo de ADCA con retardo mental y designaron como SCA13. La familia tiene un amplio espectro de características clínicas asociadas con ADCA, pero no corresponde a ninguno de los 3 tipos de ADCA descritos por Harding. Encontraron ligamiento al cromosoma 19q13.3-q13.4 en un intervalo de 8-cM entre los marcadores D19S219 y D19S553. Varios genes han sido identificados en ésta región, incluyendo Bcl-2

asociado a proteína X (BAX), fosfolipasa A2 (PLA2G4C) y calmodulina (CALM3), los cuales son candidatos potenciales. Sin embargo, el curso clínico del desorden, en el cual son observados retardo en el desarrollo motor y mental antes del inicio de la ataxia progresiva, sugiere que el gen responsable puede estar involucrado en el desarrollo y sostenimiento y/o sobrevivencia de poblaciones de neuronas específicas.

2.2. NEUROIMÁGENES

La introducción de modernas técnicas de imágenes ha mejorado la capacidad diagnóstica de la neurología clínica. En particular, la imagen de resonancia magnética cerebral (MR) permite mostrar un plano de las características anatómicas del cerebelo, tallo cerebral y médula cervical con alta resolución y sin artefactos que la alteren. MR cerebral ofrece la posibilidad de estudiar aspectos macroscópicos *in vivo* de la patología infratentorial y de la médula espinal en las Ataxias Hereditarias para correlacionar los hallazgos con las observaciones clínicas (Klockgether *et al.*, 1993).

Klockgether *et al.* (1993), evaluaron RM cerebral cuantitativamente usando un software planimétricamente diseñado en individuos con FRDA y ADCA. Midieron las siguientes distancias y áreas: (1) área del vermis cerebelar en el plano mediosagital, (2) área superior del vermis cerebelar en el plano mediosagital, (3) área del cuarto ventrículo en el plano mediosagital, (4) área de la parte de las olivas en el plano mediosagital, (5) tamaño del pedúnculo cerebelar medio en un plano horizontal, (6) área de la médula oblongata en un plano horizontal a nivel de la oliva inferior, (7) área superior cervical de la médula espinal en plano horizontal a nivel de dens; para tomar las variaciones intraindividuales del tamaño de la cabeza la suma de todas las medidas fueron relacionadas con el área de la fosa posterior. Encontraron en todos los individuos con FRDA atrofia de la médula espinal cervical mientras que en los parámetros cerebelares no fueron patológicos.

En 13 pacientes con ADCA I los hallazgos morfológicos mostraron varias combinaciones de atrofia cerebelar, médula espinal y tallo cerebral, mientras que en 6 pacientes con ADCA III la morfología fue más uniforme, todos tuvieron atrofia cerebelar pura.

Son pocos los estudios que se refieren a los hallazgos en Tomografía Computarizada cerebral (CT) en individuos con Ataxias Hereditarias. La evaluación radiológica de la atrofia es difícil por las variaciones individuales en el tamaño de las estructuras del cerebro y por la distorsión de las imágenes dada por el plano de inclinación en el estudio tomográfico. Pedraza *et al.* (1994), con el uso de índices radiológicos corrigen estas variables, y miden los índices radiológicos del tallo en CT cerebral en pacientes con ADCA y FRDA (Figura 3). En el grupo de pacientes con FRDA encontraron atrofia en el mesencéfalo y una tendencia a la dilatación del IV ventrículo en relación con los controles. Los pacientes con ADCA mostraron en todos sus índices de la fosa posterior diferencias significativas con el grupo control.

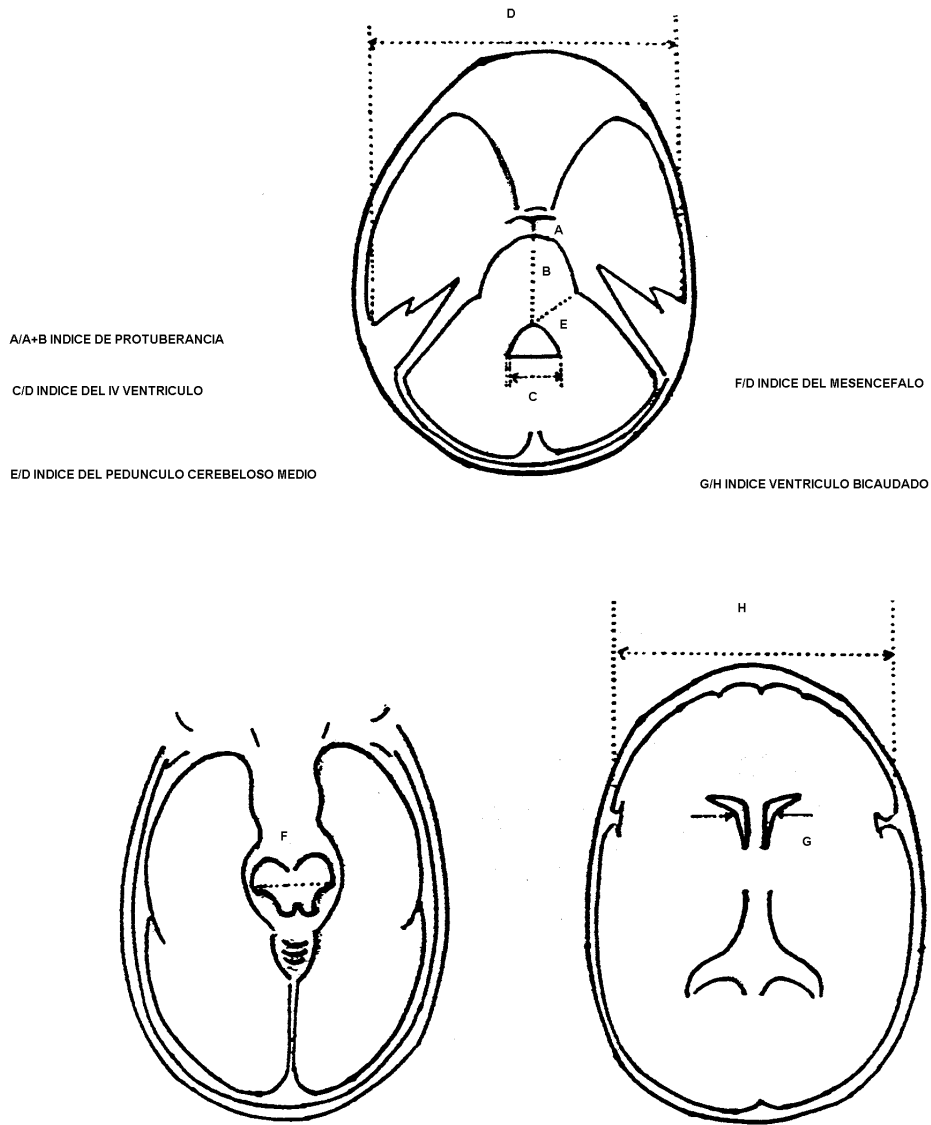


Figura 3. Indices Neuroradiológicos.
(Adaptado de Pedraza *et al.*, 1994).

2.3. NEUROSICOLOGÍA

Las anomalías psicológicas o del comportamiento generalmente no son consideradas importantes dentro de los criterios clínicos de ADCA y FRDA. Sin embargo, Harding observó una significativa disfunción cognoscitiva en más del

25% de los pacientes con ADCA. Varios estudios se han preguntado si los pacientes con ADCA u otras atrofas cerebelares tienen disfunción cognoscitiva o si sus aparentes deficiencias cognoscitivas son secundarios a la disfunción motora; pero hasta ahora no ha sido posible considerarla como una variable genotípica (Geschwind, 2000).

Las ADCA no son un grupo homogéneo de desórdenes respecto a su estado cognoscitivo. Pacientes que se encuentran en el inicio de la enfermedad presentan un mínimo o ningún déficit en el test neuropsicológico, mientras que los pacientes clínicamente avanzados tienen déficit en el control para la ejecución de sus tareas; sugestivo de disfunción cognoscitiva media generalizada. Deficiencias en las pruebas neuropsicológicas relacionadas con la severidad de la ataxia, pueden ser una consecuencia del daño de cada una de las estructuras en el sistema olivopontocerebelar que se deterioran paralelamente e influyen, a través de conexiones neuronales recíprocas, la función del lóbulo frontal (Kish *et al.*, 1994).

Análisis de TC, RM cerebral y metabólicos permiten correlacionar el cuadro progresivo con el comportamiento motor en las enfermedades cerebelares. Por otra parte el Tiempo de Reacción (RT) es una medida cognoscitiva que evalúa la velocidad del procesamiento de la información y se ha relacionado con la inteligencia; el Tiempo de Movimiento (MT) refleja los déficits de coordinación y el comportamiento motor. Botez *et al.* (1993), realizaron en 32 individuos con ADCA, correlación radiológica de las medidas de los tiempos de reacción; y encuentran que los pacientes tienen los tiempos de reacción y de movimiento significativamente bajos, y diferencias altamente significativas en RT y MT entre pacientes con atrofia severa y con atrofia moderada a nivel de cerebro medio. Los estudios de pruebas cognoscitivas y sus alteraciones en pacientes con atrofia olivopontocerebelosa fueron correlacionados con el grado de atrofia cerebelar y

explicados por Botez *et al.*, (1996) por las proyecciones cerebelo frontal, cerebelo parietal y cerebelo limbar.

2.4. ESTUDIOS POBLACIONALES

La gran variación en las manifestaciones clínicas de las SCAs y el solapamiento en el fenotipo con otras enfermedades hereditarias como DRPLA, FRDA y Paraplegia Espástica Familiar puede dificultar el diagnóstico clínico. Varios estudios han analizado las presentaciones clínicas de grupos grandes de pacientes con ADCA causada por expansión de tripletas dejando observar la variabilidad en relación a su prevalencia. Recientemente Takano *et al.*, han reportado que la prevalencia general de SCA1 y SCA2 es significativa entre los pedigrees de SCA en población caucásica (15% y 14% respectivamente) que en la japonesa, mientras que la prevalencia relativa de SCA3 es más alta en pedigrés japoneses (43%) que en blancos (30%). Igualmente SCA6 aparece menos frecuente en la población blanca (5%) que en la población japonesas (11%). SCA1 y SCA2 tienen una alta frecuencia en el reino Unido y en Italia en comparación con América y Francia (Tabla 5) (Basu *et al.*, 2000, Pujana *et al.*, 1999, Bürk *et al.*, 1996, Leggo *et al.*, 1997, Silveira *et al.*, 1998, Tang *et al.*, 2000).

Tabla 5. Frecuencias de SCAs en Diferentes Poblaciones.

PAÍS	SCA1	SCA2	SCA3	SCA6
España	6%	15%	15%	1%
Italia	50%	37%	----	----
Reino Unido	37%	47%	----	5%
Alemania	9%	10%	42%	22%
India	10.5%	17.5%	7%	1.8%
China	4.7%	5.8%	48.2%	----
Japón	10.5%	4.4%	24.6%	11.8%
Portugal	----	6%	74%	----

3. JUSTIFICACIÓN

Las Ataxias Hereditarias constituyen un grupo complejo de enfermedades degenerativas del SNC, caracterizadas por su gran variabilidad y heterogeneidad clínica, que afectan la función del cerebelo, sus vías aferentes y eferentes, así como otras estructuras como el cerebro, el ojo, los ganglios basales, la médula espinal y los nervios periféricos.

Para la clasificación de estas alteraciones se han utilizado la edad de inicio de los síntomas, los signos clínicos, el tipo de herencia, imágenes de resonancia magnética cerebral (RM) y tomografía axial computarizada cerebral (CT), hallazgos en la electromiografía (EMG), en el electroencefalograma (EEG), velocidades de conducción, test neuropsicológicos y pruebas metabólicas como vitamina E, lactato/piruvato y electroforesis de lipoproteínas. Sin embargo, varias de estas patologías presentan tanto hallazgos clínicos, imagenológicos y bioquímicos similares o iguales en algunos casos, lo que hace difícil identificarlos.

En los últimos años la clasificación de éstas entidades se ha facilitado por la identificación de algunos de los genes responsables de las mismas. Por tal razón, para confirmar la clasificación clínica de la entidad se requiere actualmente el estudio de los genes descritos para algunas de estas formas.

La prevalencia de éstas enfermedades varía de 1 a 23 en 100.000. Las formas más frecuentes de Ataxias Hereditarias son la Ataxia de Friedreich, las Ataxias espinocerebelosas y la Ataxia Telangiectasia.

En Colombia, Pedraza *et al.*(1996), evaluaron 38 casos de pacientes con síndromes atáxicos hereditarios encontrando como grupos más frecuentes las Ataxias Congénitas, la Ataxia de Friedreich, las Ataxias Espinocerebelosas, la Ataxia Telangiectasia y las Ataxias Intermittentes. La gran mayoría de casos tenían un modo de presentación autosómico recesivo o esporádico. No

observaron en estos pacientes la dominancia descrita en las ataxias tardías en la literatura mundial.

El estudio de las Ataxias Hereditarias y su clasificación constituyen una labor difícil, aún en manos de especialistas experimentados en el trabajo y reconocimiento de su gran variabilidad clínica.

El estudio clínico-genético permitirá reconocer los diferentes tipos de ataxia en nuestro medio, su variabilidad inter e intrafamiliar, su correlación fenotipo-genotipo. Esto facilitará la respectiva asesoría genética y los estudios de portadores, así como la identificación de otras formas no descritas de Ataxias Espinocerbelosas.

4. OBJETIVOS

Identificar entre los tipos de pacientes que sufren algún tipo de Ataxia Hereditaria, las formas progresivas tipo Friedreich y las degeneraciones olivopontocerebelosas o atrofas espinocerebelosas (SCA), determinando el tipo de herencia, correlacionar el genotipo encontrado con las manifestaciones fenotípicas, así como determinar si se presenta heterogeneidad genética en el grupo de pacientes estudiados.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Determinar si el tipo de mutación presente en los pacientes diagnosticados clínicamente con FRDA y SCA si corresponden a las descritas en los genes FRDA, SCA1, SCA2, SCA3, SCA6, SCA7 y SCA8 o si son otro tipo de SCA sin locus conocido.

En una población sana determinar el número de tripletas para los genes FRDA, SCA1, SCA2, SCA3, SCA6, SCA7 y SCA8 con el fin de calcular los alelos normales más frecuentes en nuestra población.

Detectar los portadores sanos en los familiares de pacientes con FRDA, con el fin de ofrecer un adecuado asesoramiento genético.

Correlacionar el tipo de mutación (expansión de tripletas) que presentan los pacientes con FRDA, SCA1, SCA2, SCA3, SCA6, SCA7, y SCA8, con el inicio de la sintomatología, severidad y el grado de incapacidad o complicaciones que presentan los pacientes.

Correlacionar el tipo de mutación (expansión de tripletas) que presentan los pacientes con FRDA con el grado de atrofia en la médula cervical.

Correlacionar el tipo de mutación (expansión de tripletas) que presentan los pacientes con FRDA y los tiempos de reacción.

Correlacionar el tipo de mutación (expansión de tripletas) que presentan los pacientes con FRDA y los hallazgos en pruebas neuropsicológicas.

Determinar si la población con FRDA se presenta como un efecto fundador en nuestra población.

Identificar los casos familiares de SCA en donde no se presentan mutaciones en los genes estudiados para estudios de ligamiento y determinar nuevos loci.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1. POBLACIÓN

Entre los pacientes que asistieron a los servicios de Neurología del Hospital de San Ignacio, Instituto de Genética Humana, Hospital Central Militar, Hospitales de la Secretaría de Salud del Distrito y Hospital de San Juan de Dios en Bogotá, durante el período comprendido entre enero de 1999 y marzo de 2001, 83 fueron identificados con Ataxia Hereditaria, a quienes les realizaron una escala clínica de severidad, pruebas de neuropsicología, tiempos de reacción y análisis de neuroimágenes (Anexos 1, 2 y 3). Se obtuvo consentimiento informado de cada uno de ellos para obtener información acerca de la historia familiar y muestras de sangre.

Además se tomo muestra de sangre a 53 individuos aparentemente sin algún tipo de parentesco, como población control . El DNA fue aislado de sangre periférica anticoagulada con EDTA con el método estandarizado de fenol-cloroformo, proteinasa K y precipitación con etanol (Monrós *et al.*, 1996).

5.2. ANÁLISIS GENÉTICO

5.2.1. Expansión de Trinucleótidos en SCA1, SCA2, SCA3, SCA6, SCA7 y SCA8.

La amplificación de las expansiones de los trinucleótidos en las SCAs se realizó por medio de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) en el termociclador para DNA Touch-gene ; con dNTPs 100uM., 1U/ul. Taq polimerasa, Buffer 10X, MgCl₂ 67mM y amplímeros S1 y rS1 en SCA1 (Orr *et al.*, 1993), UH13 y UH10 en SCA2 (Pulst *et al.*, 1996), MJD-52 y MJD-25 en SCA3 (Giunti *et al.*, 1995), S5F1 y S5R1 en SCA6 (Zhuchencko *et al.*, 1997), A1 y R1 en SCA7 (David *et al.*, 1997) y

en SCA8 F3 y R4 (Koob *et al.*, 1999). Las condiciones de amplificación para SCA1 fueron denaturación inicial 4 minutos a 94°C, 10 ciclos con 94°C 1 minuto, 57°C 1 minuto, 72°C 2 minutos, 20 ciclos con 94°C 1 minuto, 55°C 1 minuto, 72°C 2 minutos. Para SCA2 denaturación inicial 96°C 3 minutos, 35 ciclos de 94°C 30 segundos, 62°C 30 segundos, 72°C 30 segundos. En SCA3 denaturación inicial 94°C 5 minutos, 32 ciclos de 94°C 1 minuto, 60°C 1 minuto, 72°C 1 minuto. Para SCA6 95°C 3 minutos de denaturación inicial, 10 ciclos con 95°C 30 segundos, 62°C 30 segundos, 72°C 1 minuto 30 segundos; 15 ciclos con 95°C 30 segundos, 68°C 30 segundos y 72°C 1 minuto 30 segundos. En SCA7 denaturación inicial de 95°C 5 minutos, 35 ciclos con 95°C 1 minuto, 56°C 1 minuto, 72°C 1 minuto. Finalmente para SCA8 denaturación inicial a 94°C 5 minutos, 10 ciclos de 94°C 45 segundos, 54°C 1 minuto 15 segundos, 72°C 1 minuto 15 segundos; 25 ciclos de 94°C 45 segundos, 53°C 1 minuto 15 segundos, 72 °C 1 minuto 15 segundos; en todas las condiciones de amplificación de las SCAs se utilizó elongación final de 72°C 10 minutos.

Se tomo 8ul., de producto de amplificación mezclado con 8ul., de buffer de carga con formamida, y sometieron a denaturación a 95°C durante 10 minutos y luego colocados en hielo., para finalmente ser corridos en electroforesis de poliacrilamida 6% denaturante (7M urea) a 40W y 45°C, usando Phi X174/Hae III como marcador de peso molecular, y visualizados mediante coloración de plata. Para la determinación de los tamaños de los alelos, estos fueron medidos en un densitómetro Bio Rad mediante un software de análisis molecular.

5.2.2. Expansión del Trinucleótido GAA en FRDA.

La amplificación de la región del intrón 1 del gen FRDA que contiene la expansión GAA fue realizada por PCR-XL con los amplímeros GAA-F y GAA-R (Campuzano *et al.*, 1996) que generan un producto de 457pb+3 n pb (n =número de tripletas GAA). La reacción requirió de Buffer 10X, amplímeros con concentración de

100pM., dNTPs 200uM. (7-deazaGTP 1,6mM), MgCl₂ 50mM., 0,75U/ul. del Mix de Enzima del kit Expand Long PCR de Roche. La amplificación se realizó en termociclador Touch-Gene, con una denaturación inicial de 96°C durante 3 minutos, 10 ciclos de 94°C 30 segundos y 68°C 2 minutos y 30 segundos, y 20 ciclos de 94°C 30 segundos y 68°C 2 minutos 30 segundos y con un aumento de 20 segundos en cada ciclo. Los productos fueron corridos con el Ladder de 1Kb en geles de agarosa al 0.8% a 150V y teñidos con bromuro de etidio 10mg/dl. Los alelos fueron determinados y comparados manualmente y con el densitómetro para imágenes de BioRad.

5.2.3. Marcador FAD1

El marcador FAD1 como polimorfismo de un nucleótido (SNP) fue realizado como SSCP, el PCR requirió de dNTPs 100uM, amplímeros FAD1 S1 y FAD1 S2 100pM (Monrós *et al.*, 1996), Buffer 10X, MgCl₂ 67mM., 0.2U/ul de Taq Polimerasa. La amplificación comprende 5 minutos a 94°C de denaturación inicial, 30 ciclos de 95°C 45 segundos, 58°C 45 segundos y 92°C 1 minuto, y una elongación final de 8 minutos a 72°C. El producto de amplificación fue denaturado a 95°C durante 10 minutos con buffer de carga con formamida, y corrido en gel de poliacrilamida 12% con glicerol a temperatura ambiente, 650V 24 horas, el cual fue teñido con coloración de plata.

5.2.4. Marcadores FR1 y FR8

El marcador FR1 requirió para la amplificación amplímeros FR1-F y FR1-R 100pM (Rodius *et al.*, 1994), 0,7U/ul. de Taq Polimerasa, dNTPs 100uM., Buffer 10X, y MgCl₂ 67mM. La amplificación comprende de una denaturación inicial de 5 minutos a 94°C, 37 ciclos de 94°C 1 minuto y 65°C 4 minutos, y una elongación final de 65°C 10 minutos. Para FR8 se utilizaron los amplímeros FR8-F y FR8-R 100pM (Rodius *et al.*, 1994); las condiciones de amplificación fueron,

denaturación inicial de 2 minutos 94°C, 30 ciclos de 94°C 30 segundos, 62°C 30 segundos y 65°C 2 minutos, con elongación final de 65°C 7 minutos.

Los productos fueron mezclados con buffer de carga con formamida (1:1) , denaturados a 95°C durante 10 minutos, separados en un gel de poliacrilamida 8% denaturante (7M úrea) a 40W y 45°C con el marcador de peso molecular Phi X174/Hae III, y visualizados con tinción de nitrato de plata.

5.3. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

La comparación de las medias se realizó utilizando el test t . En SCAs y FRDA se determinaron las frecuencias alélicas y el índice de heterocigocidad. Coeficientes de regresión y el test de Pearson fueron calculados para evaluar la correlación entre la expansión de la tripleta GAA en los individuos FRDA y el inicio de la enfermedad, la severidad, el índice radiológico, variables neuropsicológicas y los tiempos de reacción y movimiento. Para el marcador FAD1 en pacientes FRDA y población control se hizo la prueba de X^2 y una prueba de independencia para ver la asociación del marcador con la expansión de la tripleta GAA.

6. RESULTADOS

Entre los 83 pacientes que fueron identificados con Ataxia Hereditaria 4 casos correspondieron a formas autosómicas dominantes y 16 a formas autosómicas recesivas. El 28.9% de los pacientes correspondió clínicamente a Ataxia de Friedreich y de este número de pacientes el 87.5% se confirmó que presentaban las expansiones GAA. El 1.2% de los casos correspondió a la forma de ataxia cerebelosa SCA8 y en el 69.9% de los casos no se evidenció ningún tipo de mutación en los loci estudiados.

6.1. ATAXIA DE FRIEDREICH

6.1.1. Expansión GAA

De acuerdo a los criterios de Harding, 24 pacientes presentaron un diagnóstico de Ataxia de Friedreich, todos presentaron ataxia en la marcha y disimetría seguida por disartria (79%), arreflexia en miembros inferiores (75%), Babinski (67%) y polineuropatía sensitiva axonal (62.5%) (Tabla 6 y 7). Otros hallazgos clínicos menos frecuentes y que no son criterios obligatorios, presentes en los pacientes fue sordera neurosensorial en 2 y retinitis pigmentosa en uno. Los 24 pacientes corresponden a 19 familias de las cuales en 5 se documentó consanguinidad y en 7 el tipo de herencia autosómico recesivo. El promedio de duración de la enfermedad fue de 12 años (6 meses-24 años), de inicio de 12.5 años (3-22 años) y de severidad de acuerdo a la escala clínica a 34.8 (12-64). De los 24 pacientes 7 presentaron la variante FARR y 17 la forma clásica de FRDA.

Tabla 6. Frecuencia (%) de los signos clínicos en pacientes FRDA.

Signos Clínicos	Grupo 1 n=20	Grupo 2 n=3	Grupo 3n=24
Ataxia en la marcha	100	100	100
Dismetría	100	100	100
Silla de ruedas	35	33	33
Hipotonía	60	0	54
Arreflexia en MMII	75	66	75
Babinski	60	100	67
Disartria	80	100	79
Nistagmo	60	0	50
Oftalmoparesis	10	33	12.5
Pie cavo	40	33	37.5
Escoliosis	55	33	50
Alteraciones en ECG y/o EKG	45	0	37.5
Neuropatía axonal	60	100	62.5
Neuroconducciones anormales	25	33.3	29

Grupo 1: pacientes con expansión GAA.

Grupo 2: pacientes sin expansión GAA.

Grupo 3: total de pacientes con FRDA (con o sin expansión).

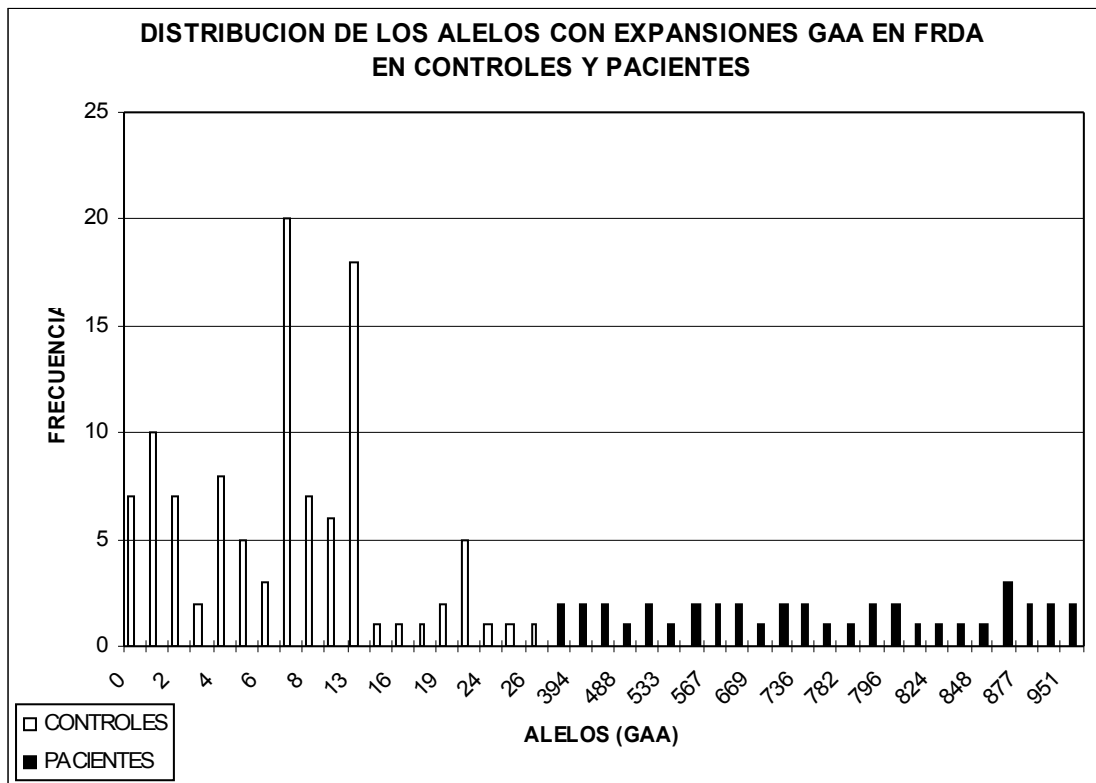
Tabla 7. Frecuencia (%) de los signos clínicos de los pacientes homocigotos para GAA y de los estudiados por otros autores. (Adaptado de Dürr *et al.*, 1996).

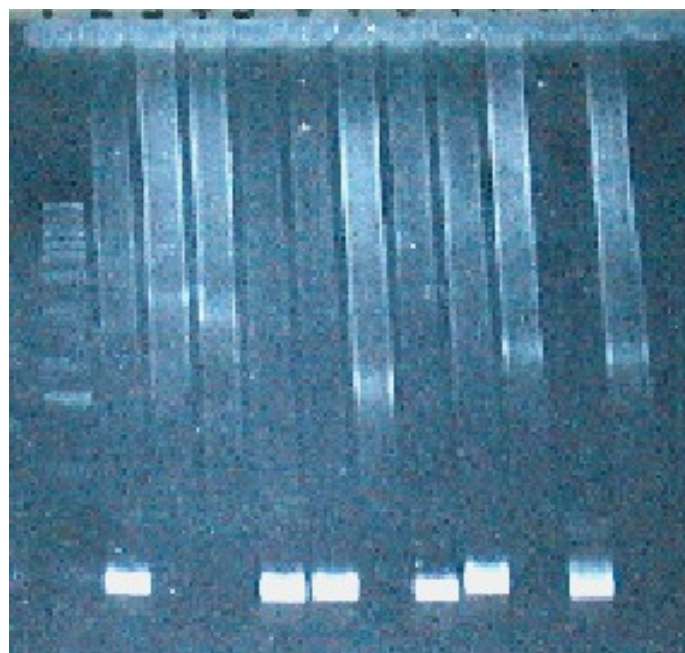
Signo Clínico	Presente Estudio	Harding,1993	Dürr <i>et al.</i>, 1996
Ataxia	100	100	100
Disartria	79	97	91
Arreflexia MMII	75	99	87
Escoliosis	50	79	60
Pie cavo	37.5	55	55
Nistagmo	50	20	40
Neuropatía axonal	62.5	96	98

La expansión de la tripleta GAA fue encontrada en los 2 alelos del gen de frataxina en 20 pacientes, un paciente fue heterocigoto y en 3 no se encontró expansión; de los pacientes con expansiones el 75% cumplieron el criterio de FRDA clásica y el 5% correspondieron a la variante FARR (Figura 4 Tabla 8). El rango del número de repeticiones en los pacientes homocigotos para la expansión GAA fue de 206 a 951; y en el grupo control de 0 a 26. El 35 % de los pacientes tenían los 2 alelos expandidos de diferentes tamaños. La media en el número de repeticiones GAA del alelo pequeño (alelo S) y el grande (alelo L) fue de 650 y 790 respectivamente (Figura 5).

Tabla 8 Distribución de la expansión GAA en pacientes Con FRDA clásico y variante FARR.

GRUPO	FRDA	FARR	TOTAL
Homocigotos GAA	15	5	20
Heterocigotos GAA	1	0	1
Sin Expansión GAA	2	1	3





1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12

Figura 4. Gel de agarosa 0.8%, Expansión GAA en FRDA. En el carril 1 Ladder 1Kb, en el 3 (951 GAAs), 4 (511 GAAs), 7 (415 GAAs), 10 (536 GAAs) y 12 (511 GAAs) pacientes con expansión GAA.

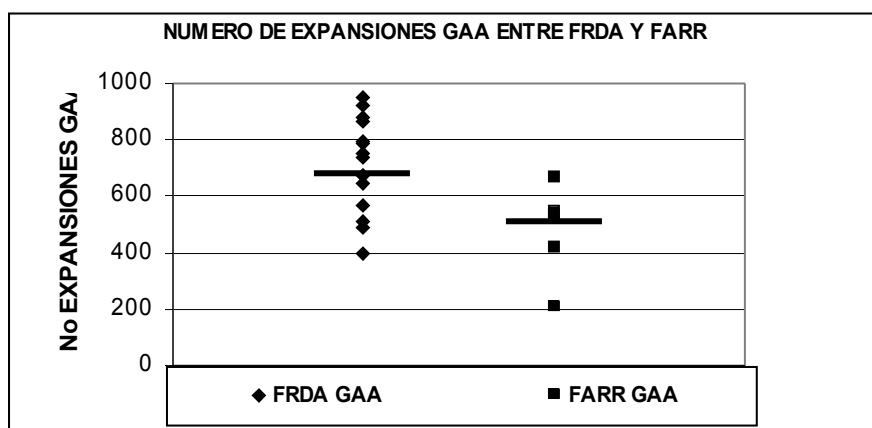


Figura 6. Número de expansiones en FRDA y FARR $p < 0.05$

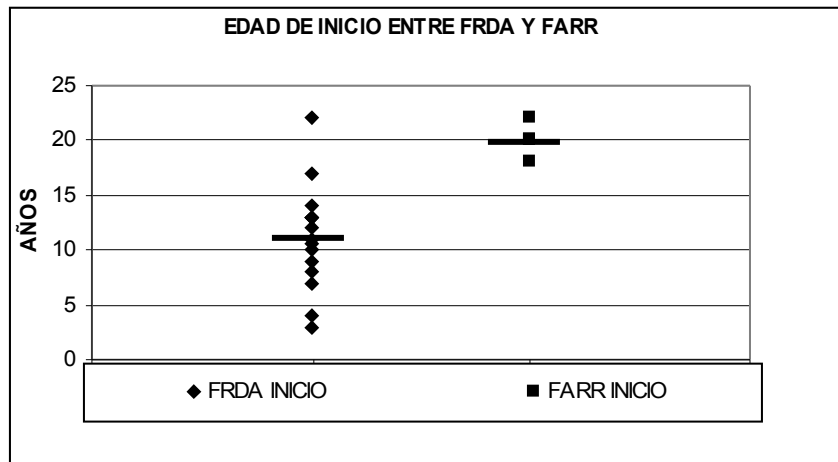


Figura 7. Edad de Inicio en FRDA y FARR $p < 0.05$.

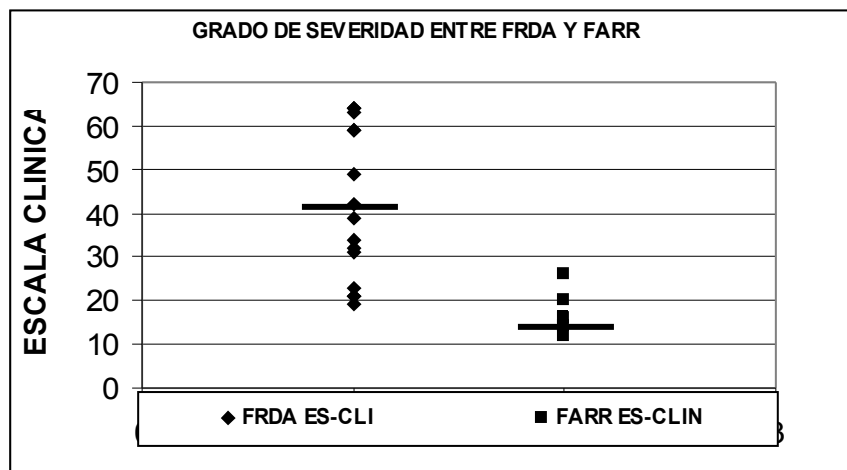


Figura 8. Grado de Severidad en FRDA y FARR $p < 0.001$.

De acuerdo a los resultados del grado de discapacidad medido clínicamente con la Escala Clínica de Ataxia desarrollada por el grupo de investigación de ataxia de la Federación Mundial de Neurología ; se correlaciono con el alelo S y este a la vez con la edad de inicio de la enfermedad. Encontrándose una relación inversa entre el alelo S y la edad de inicio ($n=20$, $r=-2.21$, $p < 0.05$) (Figura 9); y una

relación directa con la severidad de la enfermedad (n=20, r=2.95, p<0.01) (Figura 10).



Figura 9. Edad de inicio y número de expansiones en pacientes con FRDA p<0.05

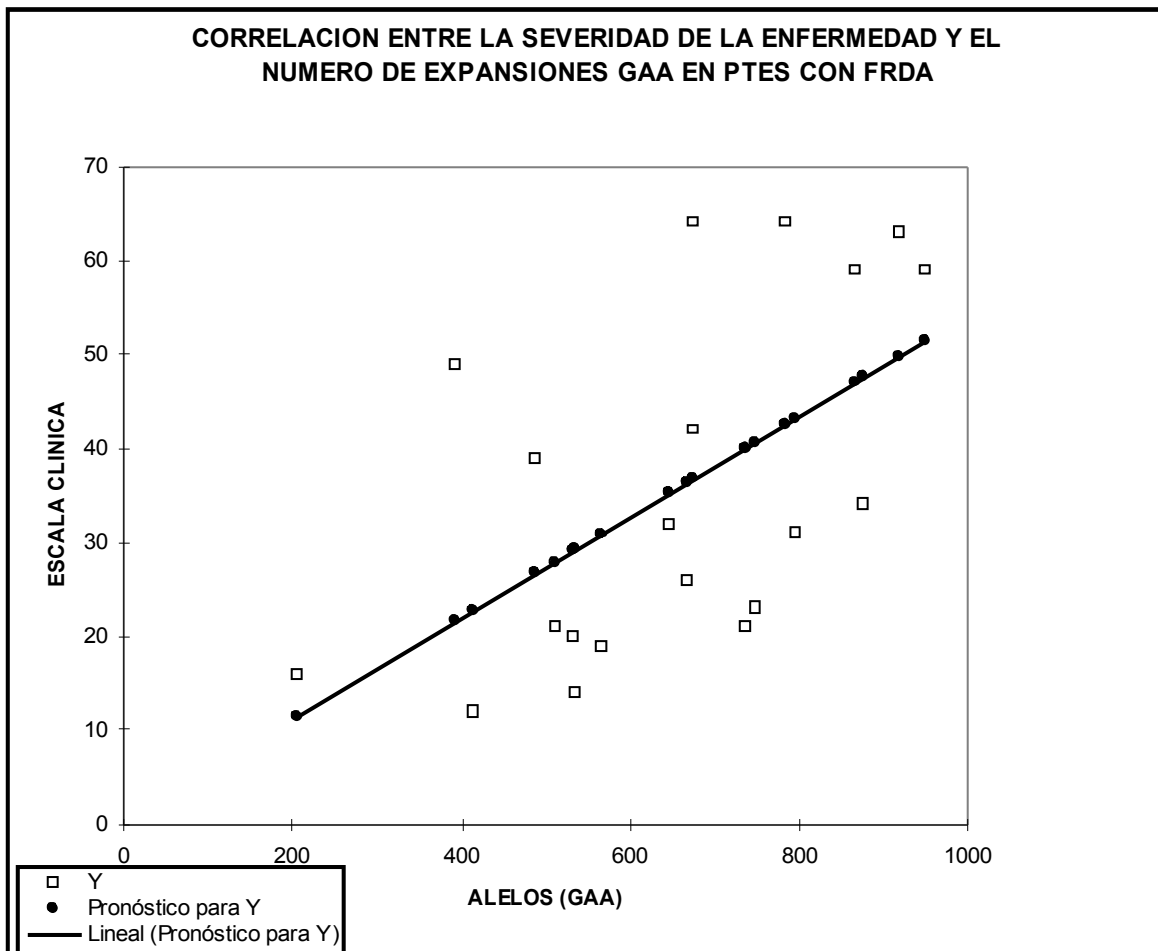


Figura 10. Severidad y número de expansiones en pacientes FRDA $p < 0.01$

En las 5 familias con herencia autosómica recesiva el número de expansiones GAA fue variable entre hermanos, así como los hallazgos clínicos (Figura 11). La familia 1 se caracterizó por presentar reflejos conservados en las 2 hermanas afectadas pero una de ellas presentó sordera. En la familia 3 el individuo II-3 presentó reflejos conservados, a diferencia de su hermana. El individuo II-1 se encuentra en silla de ruedas y la severidad de la enfermedad fue más fuerte en él que en su hermana respecto a la escala clínica cuyo puntaje en él fue de 59 mientras que en ella fue de 34 en la familia 4. Mientras que en la familia 5 la diferencia más acentuada fue la edad de inicio, pues en la mujer fue a los 12 años y en su hermano a los 20 años.

El análisis de las diferencias entre el tamaño de los alelos paternos y maternos en 12 casos, no evidenció diferencias significativas entre las medias \pm SD (751.43 \pm 74.84 y 721.89 \pm 97.05 respectivamente, $t=2.14$); así como la diferencia entre la media del número de repeticiones GAA de los progenitores y los individuos afectados (734.81 \pm 86.56 y 708.75 \pm 190.26 respectivamente, $t=2.03$). En dos casos de pacientes se observó la expansión de la tripleta GAA respecto a sus padres, en 4 casos se observó el efecto de contracción de la tripleta GAA.

En 8 individuos con FRDA y homocigotos para la expansión GAA no se encontró correlación entre el alelo S y el grado de atrofia de las estructuras de la fosa posterior y de la médula cervical, dado por la medida de los índices radiológicos de médula cervical, protuberancia, pedúnculo cerebeloso medio, mesencéfalo, IV ventrículo y el diámetro bicaudado de la escenografía cerebral TAC y de RM del paciente (Tabla 9).

Tabla 9. Índice radiológico y número de expansiones GAA en pacientes con FRDA. Correlación de Pearson.

N = 8	r	P
TAC Cerebral		
Protuberancia	0.34	Ns
IV Ventriculo	-0.107	Ns
Pedúnculo cerebeloso medio	0.429	Ns
Mesencéfalo	-0.332	Ns
Bicaudado	0.576	Ns
RM Cerebral		
Médula cervical	0.456	Ns
Protuberancia	-0.115	Ns
IV Ventriculo	0.386	Ns

En las pruebas neuropsicológicas de 16 individuos con FRDA homocigotos para la expansión GAA se encontró una correlación significativa entre el número de expansiones y la prueba de Raven (prueba que evalúa el pensamiento) y la escala de Queja Subjetiva de Memoria (evalúa la percepción del paciente de su déficit de memoria) (Tabla 10).

Tabla 10 Pruebas Neuropsicológicas y número de expansiones GAA en pacientes con FRDA. Correlación de Pearson.

VARIABLE	n	Pearson	Valor t	Valor P
Queja Subjetiva de Memoria	14	0.5929	2.550	<0.05
Memoria				
% Aprendizaje	14	-0.004	-0.016	NS
Interferencia	14	-0.133	-0.465	NS
MCPL	14	-0.304	-1.109	NS
MCPC	14	-0.370	1.380	NS
MLPL	14	-0.324	-1.186	NS
MLPC	14	-0.415	-1.583	NS
Reconocimientos	14	-0.070	-0.245	NS
Fenómenos Patológicos	14	0.154	0.541	NS
Praxis				
Cubos	14	-0.387	-1.456	NS
Rey	14	-0.266	-0.958	NS
Atención				
Dígito Símbolo	14	-0.397	-1.501	NS
Percepción Visual				
VOT	14	-0.541	-2.228	NS
Pensamiento				
WCST: Respuestas Correctas	12	0.235	0.261	NS
WCST: Errores Perseverativos	12	-0.765	0.856	NS
RAVEN	14	-0.638	-2.872	<0.05

Los tiempos de reacción simple y movimiento visuales y auditivos realizados en 14 individuos con FRDA, al correlacionarse con el número de expansiones GAA, se encontró correlación directa con TRVMSDER, TRVMSIZQ, TRAMSIZQ, TRVMIDER, TRVMIIZQ y TMVMIDER (Tabla 11).

Tabla 11. Tiempos de reacción , movimiento y número de expansiones GAA en pacientes con FRDA.

Variable	n	Pearson	Valor T	Valor P
TRVMSDER	14	0.556	2.319	<0.03
TRVMSIZQ	14	0.608	2.656	<0.02
TRAMSDER	14	0.481	1.903	NS
TRAMSIZQ	14	0.575	2.436	<0.03
TRVMIDER	13	0.638	2.750	<0.01
TRVMIIZQ	13	0.541	2.136	<0.05
TRAMIDER	13	0.487	1.851	NS
TRAMIIZQ	13	0.429	1.578	NS
TMVMSDER	14	0.052	0.181	NS
TMVMSIZQ	14	0.255	0.088	NS
TMAMSDER	14	0.085	0.298	NS
TMAMSIZQ	14	0.043	0.152	NS
TMVMIDER	13	0.621	2.627	<0.02
TMVMIIZQ	13	0.414	1.512	NS
TMAMIDER	13	0.458	1.713	NS
TMAMIIZQ	13	0.510	1.967	NS

TRVMSDER : Tiempo de Reacción Visual Miembro Superior Derecho.
 TRVMSIZQ: Tiempo de Reacción Visual Miembro Superior Izquierdo.
 TRAMSDER: Tiempo de Reacción Auditivo Miembro Superior Derecho.
 TRAMSIZQ: Tiempo de Reacción Auditivo Miembro Superior Izquierdo.
 TRVMIDER: Tiempo de Reacción Visual Miembro Inferior Derecho.
 TRVMIIZQ: Tiempo de Reacción Visual Miembro Inferior Izquierdo.
 TRAMIDER: Tiempo de Reacción Auditivo Miembro Inferior Derecho.
 TRAMIIZQ: Tiempo de Reacción Auditivo Miembro Inferior Izquierdo.
 TMVMSDER: Tiempo de Movimiento Visual Miembro superior Derecho.
 TMVMSIZQ: Tiempo de Movimiento Visual Miembro Superior Izquierdo.
 TMAMSDER: Tiempo de Movimiento Auditivo Miembro Superior Derecho.
 TMAMSIZQ: Tiempo de Movimiento Auditivo Miembro Superior Izquierdo.
 TMVMIDER: Tiempo de Movimiento Visual Miembro Inferior Derecho.
 TMVMIIZQ: Tiempo de Movimiento Visual Miembro Inferior Izquierdo.
 TMAMIDER: Tiempo de Movimiento Auditivo Miembro Inferior Derecho.
 TMAMIIZQ: Tiempo de Movimiento Auditivo Miembro Inferior Izquierdo.

6.1.2. Marcador FAD1

El polimorfismo dialélico FAD 1 en nuestra muestra poblacional se presentó el alelo A con una frecuencia de 0.858 y para el alelo B de 0.142, en los 20

individuos homocigotos para la expansión GAA se presento el alelo A con una frecuencia de 0.300 y para el alelo B de 0.700. Tanto para la población control como para los pacientes fue calculado las frecuencias esperadas y comparadas con las frecuencias observadas confirmado que las dos poblaciones se encuentran en equilibrio de Hardy-Weinberg. (Tabla 12).

	CT FO	CT FE	PTE FO	PTE FE
IND AA	39	39.061	1	1.800
IND AB	13	12.877	10	8.400
IND BB	1	1.061	9	9.800
F ALELO A	0.858	0.859	0.300	0.300
F ALELO B	0.142	0.141	0.700	0.700

Tabla 12. Comparaciones entre la frecuencias esperadas y observadas entre el grupo control y los pacientes para FRDA para el marcador FAD1.

$$X^2 (\text{Controles}) = 0.002 \text{ p} < 0,1$$

$$X^2 (\text{Pacientes}) = 0.402 \text{ p} < 0,8$$

Con el fin de determinar si el marcador FAD1 esta asociado con la expansión de tripletas GAA en pacientes con FRDA realizados la prueba de independencia en una tabla de contingencia de 2 x 2 de la siguiente forma:

	PACIENTE	CONTROL
ALELO A	11	52
SIN ALELO A	9	1

$$\text{Odds ratio} = 0.02 \text{ (} 0.00 < \text{OR} < 0.22 \text{)}$$

$$\text{RR} = 0.19$$

$$X^2 = 19.33 \text{ p} < 0.0000146.$$

	PACIENTE	CONTROL
ALELO B	19	14
SIN ALELO B	1	39

$$\text{Odds ratio} = 52.93 \text{ (} 6.34 < \text{OR} < 1161.66 \text{)}$$

$$\text{RR} = 23.03$$

$$X^2 = 24.88 \text{ p} < 0.000006.$$

6.1.3. Haplotipos en individuos con FRDA.

Los marcadores polimórficos FAD1, FR1 Y FR8 en los individuos afectados con FRDA, dieron origen a 17 haplotipos diferentes (Tabla 13); el haplotipo B14 correspondió al 41.1 % del total de haplotipos encontrados. De los 7 pacientes que tienen el haplotipo 3 fueron caracterizados como variante FARR, sólo en una de las 4 familias a las que pertenecen fue reportada consanguinidad. Además se encontró evento de recombinación en la familia 11 a nivel del marcador FR8 y en la familia 14 a nivel del marcador FR1 (Anexo 4).

Tabla 13. Haplotipos identificados en los individuos con expansión GAA para FRDA.

FAD1	FR1	FR8	N°De Cromosomas
B	1	4	7
B	1	1	4
A	3	4	4
B	2	2	3
B	2	4	3
B	6	4	3
A	1	2	3
A	3	5	3
A	2	4	2
B	1	2	2
B	1	3	1
B	2	3	1
B	3	4	1
B	5	2	1
B	6	2	1
A	1	3	1
A	3	2	1

6.2. SCA1.

Los 50 individuos normales a los que se les realizó análisis de expansión para SCA1, se les encontró 9 alelos con un rango de 4 a 13 repeticiones CAG, siendo los más frecuentes los de 8 (26%), 7 (25%) y 6 (18%) con una heterocigocidad de 81.6% (Tabla 14).

No se observó ninguna expansión para SCA1 en los pacientes, sus alelos se encontraron en un rango de 5 a 11 repeticiones (Figura 11).

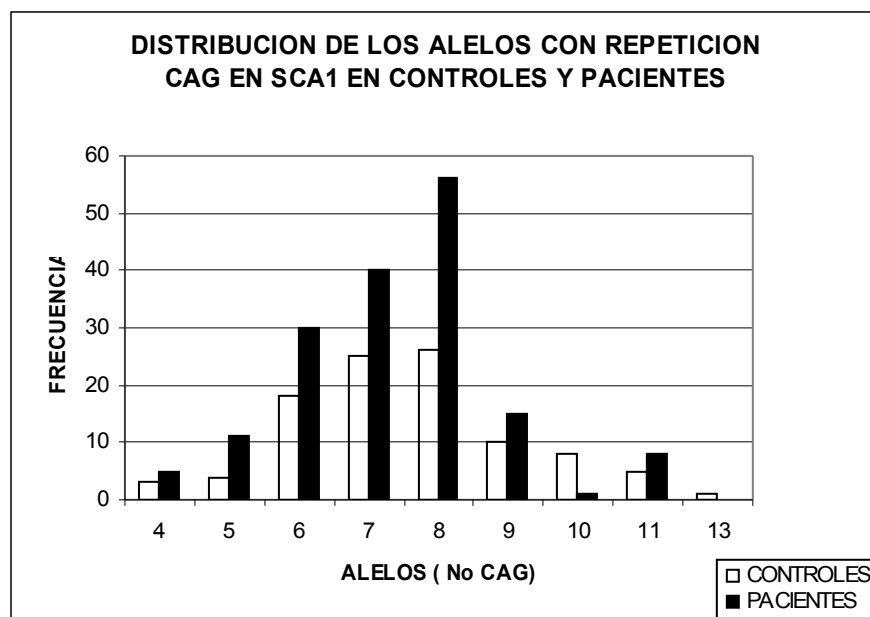


Figura 11. Distribución SCA1 en controles y pacientes.

Tabla 14. Distribución de los alelos, las frecuencias alélicas y porcentaje de heterocigocidad para los loci FRDA, SCA1, SCA2, SCA3, SCA6, SCA7 y SCA8.

SCA1	ALELO	FA	HZ%	SCA7	ALELO	FA	HZ%
n=50	4	0.03	81.6	n=53	11	0.009	45.4
	5	0.04			13	0.717	
	6	0.18			14	0.066	
	7	0.25			15	0.16	
	8	0.26			16	0.038	
	9	0.1			17	0.009	
	10	0.08			SCA8	ALELO	
	11	0.05		n=53	17	0.047	83
	13	0.01			18	0.047	
	SCA2	ALELO			FA	HZ%	
n=48	13	0.01	19		0.019		
	15	0.01	20		0.009		
	16	0.01	21		0.038		
	19	0.01	22		0.075		
	21	0.031	23		0.066		
	22	0.813	24		0.17		
	23	0.094	25		0.17		
	24	0.01	26	0.094			
26	0.01	27	0.113				
SCA3	ALELO	FA	HZ%	28	0.038		
n=51	9	0.078	79.4	29	0.057		
	10	0.108		30	0.009		
	11	0.01		31	0.009		
	13	0.01		32	0.009		
	15	0.01		33	0.009		
	16	0.029		36	0.009		
	17	0.078		42	0.009		
	18	0.01		FRDA	ALELO	FA	HZ%
	19	0.402		n=53	0	0.066	89.8
	20	0.029			1	0.094	
	21	0.01			2	0.066	
	22	0.029			3	0.019	
	23	0.127			4	0.075	
	24	0.01			5	0.047	
26	0.029	6	0.028				
27	0.01	7	0.189				
31	0.02	8	0.066				
31	0.02	9	0.057				
SCA6	ALELO	FA	HZ%	13	0.17		
n=49	7	0.092	67	15	0.009		
	11	0.48		16	0.009		
	12	0.071		17	0.009		
	13	0.286		19	0.019		
	14	0.071		20	0.047		
				24	0.009		
				25	0.009		
				26	0.009		

6.3. SCA2

El número expansiones CAG para SCA2 en 48 individuos normales se presento en un rango de 13 a 26 repeticiones, siendo el alelo más frecuente el de 22 (81.25%), 23 (9.4%) y 21 (3.1%) repeticiones; y una heterocigocidad de 32.9% (Tabla 14).

En el grupo de pacientes no se encontró ningún alelo expandido, se encontraron 3 alelos , en donde el de 22 (82.1%) repeticiones fue el más frecuente seguido por el de 23 (9.3%) y 21 (8.6%) (Figura 12).

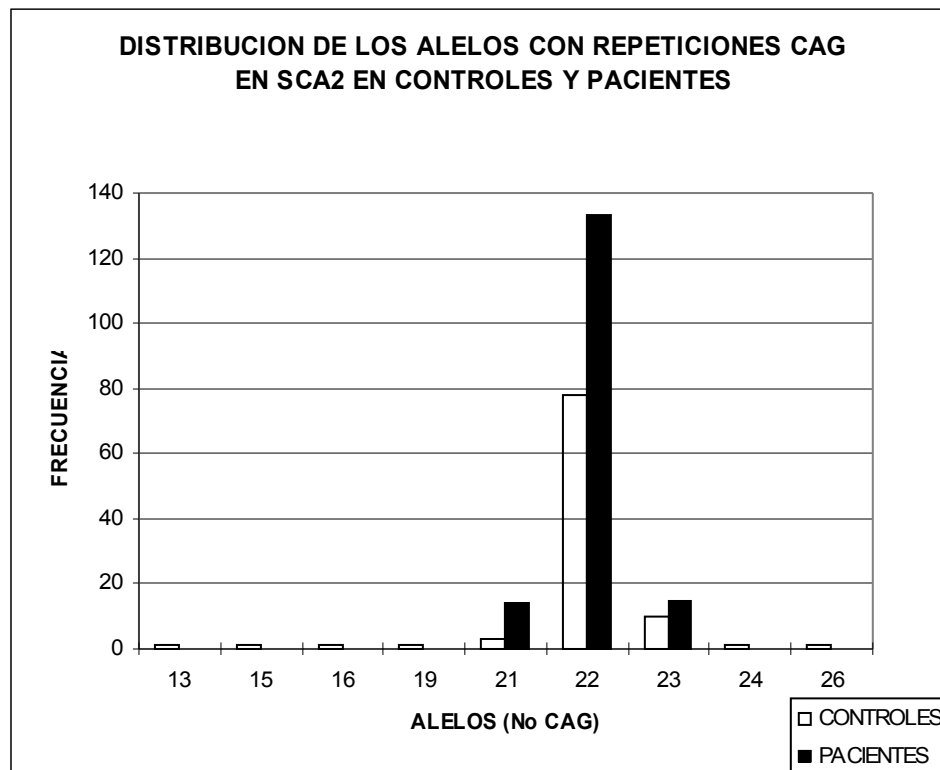


Figura 12. Distribución de SCA2 en controles y pacientes.

6.4. SCA3

En los 51 individuos de la población control se encontró un alto polimorfismo para SCA3 con 17 alelos, con un rango de repeticiones CAG de 9 a 31, siendo los alelos con mayor frecuencia el de 19 repeticiones (40.2%), seguido por el de 23 (12.75%) y el de 10 (10.78%), y una heterocigocidad de 79.4%(Tabla 14).

En los individuos afectados no se encontró ningún alelo expandido, el alelo de mayor frecuencia fue el 19 repeticiones (48.5%) (Figura 13).

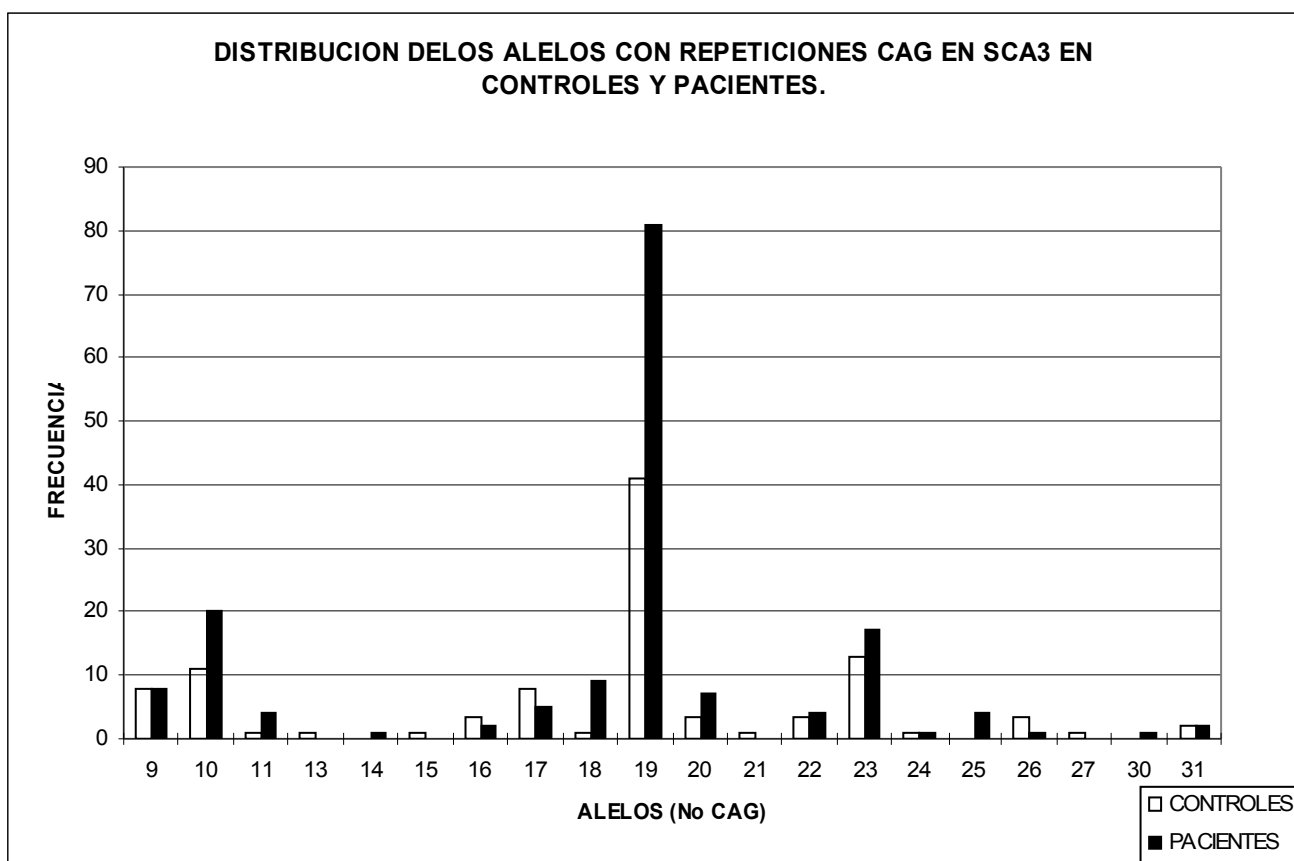


Figura 13. Distribución de SCA3 en controles y pacientes.

6.5. SCA6

Se analizó en 49 controles sanos la expansión CAG de SCA6, encontrándose 5 alelos con rangos de 7 a 14 repeticiones. Los alelos más frecuentes fueron los de 11, 13 y 7 repeticiones con frecuencias de 47.96%, 28.57% y 9.18% respectivamente. La heterocigocidad fue de 67%(Tabla 14).

Al igual que en SCA1, SCA2 y SCA3 no se encontró alelos expandidos para SCA6 en los individuos afectados, los alelos más frecuentes fueron los de 11 (50%), 13/25.9%) y 12 (9.3%) repeticiones CAG (Figura 14).

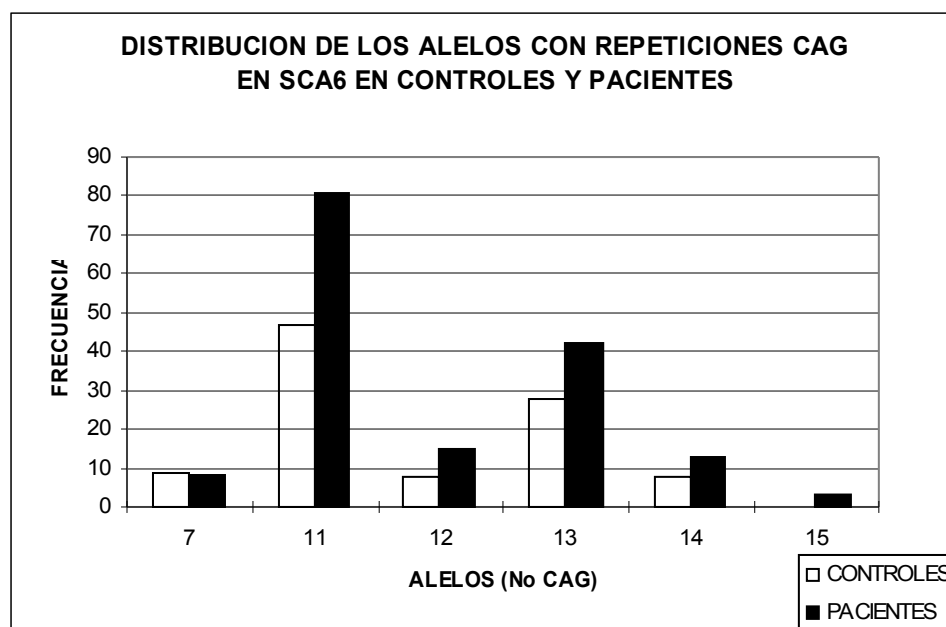


Figura 14. Distribución de SCA6 en controles y pacientes.

6.6. SCA7

En 53 individuos normales se observaron 6 alelos con rangos de 11 a 17 repeticiones CAG para SCA7; siendo los alelos más frecuentes 13 (71.7%), 15 (16.04%) y 14 (6.6%) repeticiones , con una heterocigocidad de 45.4% (Tabla 14).

En el grupo de pacientes se encontró 4 alelos siendo el de 13 repeticiones el más común y ninguno con expansión CAG. (Figura 15).

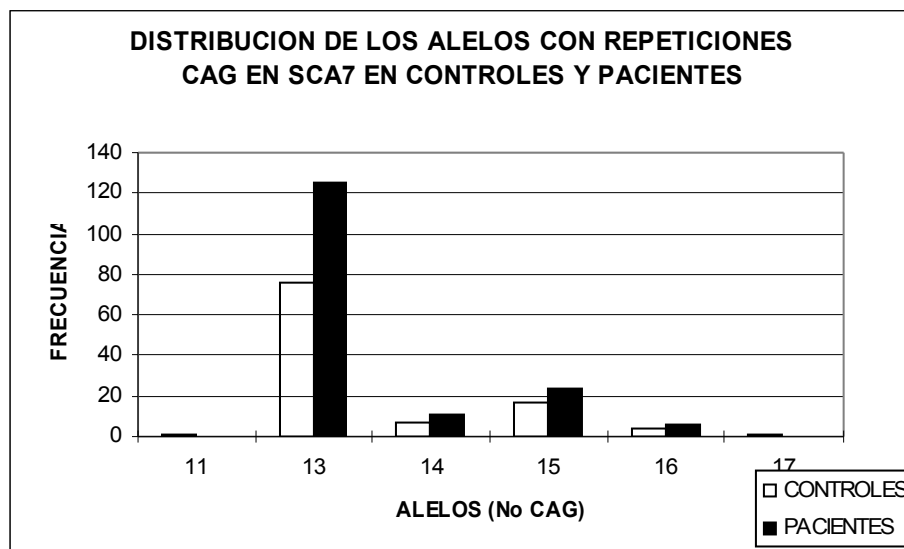


Figura 15. Distribución de SCA7 en controles y pacientes.

6.7. SCA8

El grupo de 53 controles presentó un alto polimorfismo en SCA8, con 20 alelos en un rango de 17 a 42 repeticiones, siendo el de mayor frecuencia el de 24 –25 repeticiones (17.2%) seguido por el de 27 (11.3%). La heterocigocidad fue de 83% (Tabla 14).

Los alelos más frecuentes al igual que en la población control, en los pacientes fueron el de 24 y 25 repeticiones (36.% y 32.5%). Un de los pacientes presentó un alelo con una expansión de 111 CTG dentro del rango de mutaciones y el otro alelo de 81 repeticiones considerado dentro del rango normal (Figura 16 y 17).

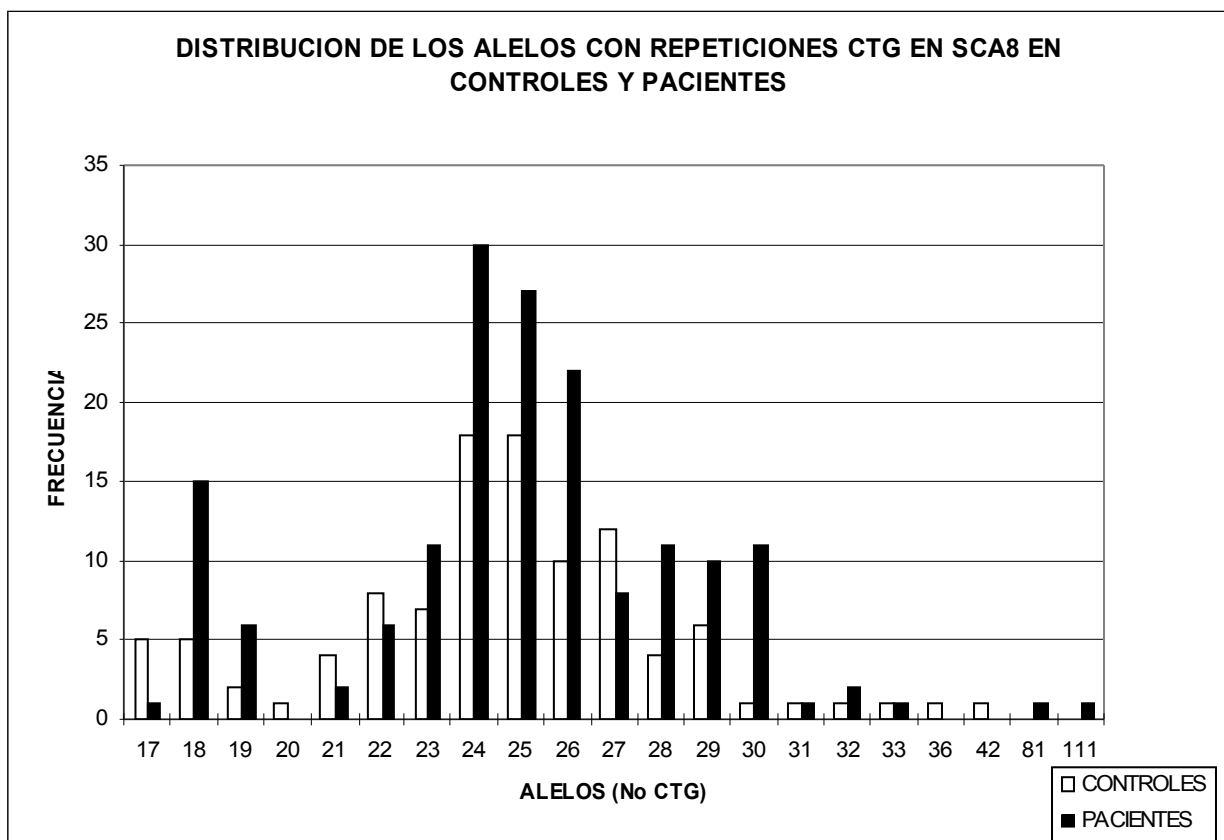


Figura 16. Distribución de SCA8 en controles y pacientes.

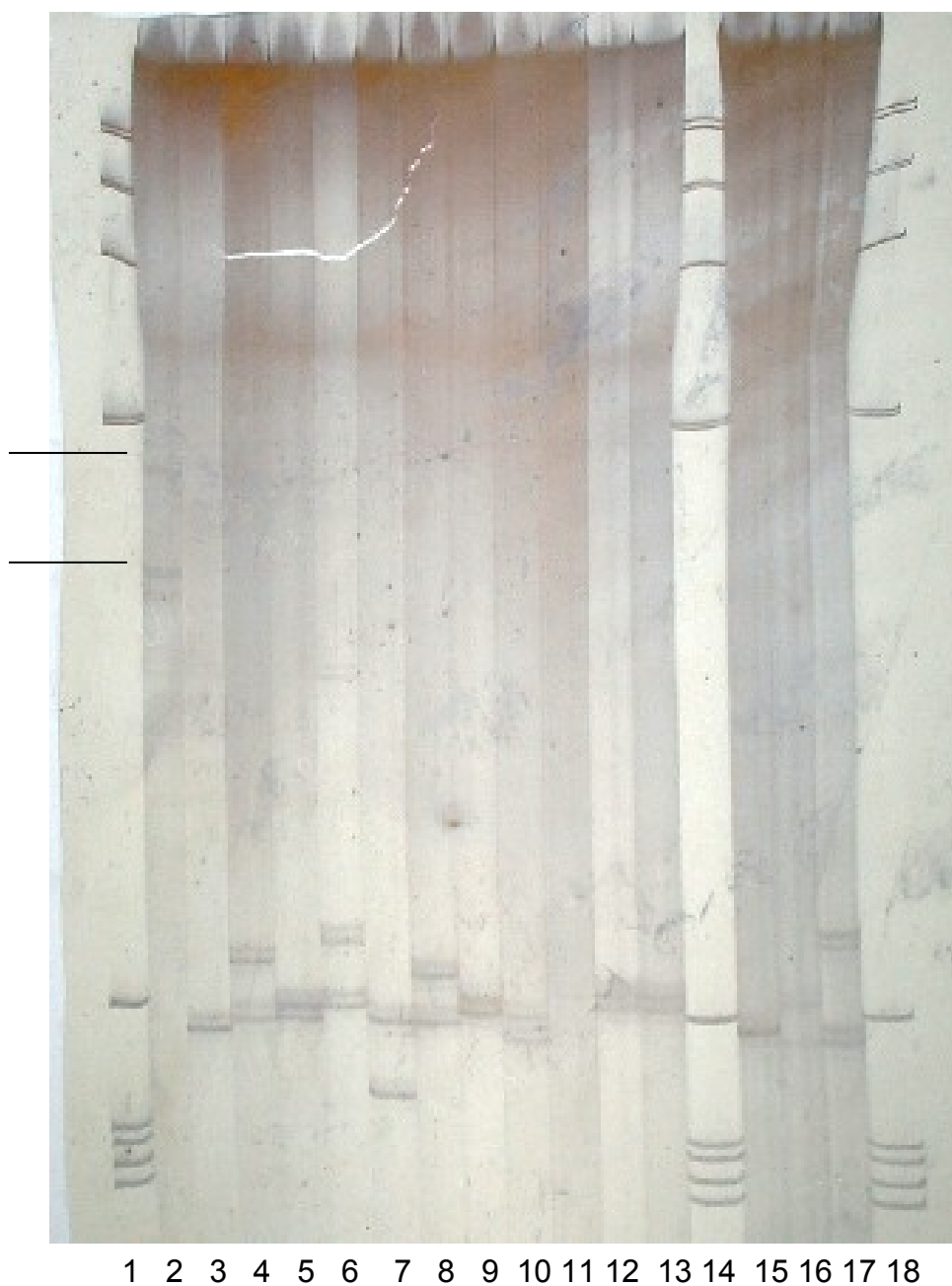


Figura 18. Gel de Poliacrilamida 6% denaturante, Expansión CTG en SCA8. En el carril 1, 14 y 18 Phi X174/HaeIII, en el 2 paciente con 111CTGs en el alelo expandido y 81 CTGs en el alelo normal. En 3-13 y 15-17 pacientes con alelos dentro del rango normal.

7. DISCUSIÓN

Los estudios epidemiológicos de las Ataxias Hereditarias se han visto dificultados por la variedad de formas clínicas reportadas y de clasificaciones propuestas. En los últimos años la clasificación de estas entidades se ha facilitado por la identificación de algunos de los genes responsables de las mismas. Se ha observado una gran heterogeneidad y variabilidad genética, y la necesidad de los estudios de genética molecular para su confirmación.

La identificación clínica de las Ataxias en Colombia realizada por Pedraza *et al.*, en 1996, establece como grupo más frecuente las ataxias de inicio tardío seguido de las ataxias congénitas y la Ataxia de Friedreich. Este primer estudio clínico-genético en nuestra población; en el cual a 83 pacientes con ataxia se les determinó el número de expansiones para los loci SCA1, SCA2, SCA3, SCA6, SCA7, SCA8 y FRDA, señala que el 28.9% corresponden clínicamente a FRDA, el 1,2% a la forma de ataxia cerebelar SCA8 y el 69.9% de los casos no presentaron ningún tipo de mutación en los loci estudiados. Resultados que demuestran la necesidad de los análisis genético moleculares para confirmar el diagnóstico clínico de las Ataxias Hereditarias.

La determinación del número de trinucleótidos GAA permitió confirmar el diagnóstico de Ataxia de Friedreich en el 87.5% de los casos que resultaron homocigotos para la expansión presentando una correlación negativa entre el alelo S, la edad de inicio y una correlación positiva con la severidad de la enfermedad medida por la Escala Clínica. Contrario a estudios que muestran al 95% y 100% de los pacientes FRDA son homocigotos o heterocigotos para la expansión GAA. En el 12.5% de los pacientes con FRDA clásico no se identificó la expansión GAA, lo cual puede reflejar la presencia de mutaciones puntuales o heterogeneidad genética. Más de la mitad de los casos fueron esporádicos o no reportaron en la historia familiar antecedentes de casos similares.

Dentro de los criterios clínicos se estableció que el inicio de la ataxia o temblor determina el inicio de la enfermedad, sin embargo se observó que en el momento en el que reportan pérdida de equilibrio pueden existir signos clínicos de la enfermedad que preceden la ataxia, como las alteraciones en el desarrollo psicomotor encontrada en dos de los pacientes, escoliosis o lentificaciones, que el propio paciente no nota sino sus familiares. Lo cual cuestiona si se debe establecer la edad de inicio de la enfermedad con la ataxia en la marcha o cuando otros signos clínicos característicos de FRDA se han identificado.

El 21,8% de los pacientes homocigotos para la expansión GAA presentaron la variante FARR, caracterizados por inicio tardío de la sintomatología, cuadro clínico menos severo que en FRDA y un menor número de expansiones; lo cual sugiere, como ha sido reportado en otros estudios, que expansiones pequeñas no inhiben completamente la transcripción del RNAm de la frataxina y permiten la expresión residual de la proteína (Bidichandani *et al.*, 1998, Oshima *et al.*, 1998).

Al igual que Montermini *et al.*, (1997), se considera que la variabilidad clínica Inter e intrafamiliar en los pacientes con FRDA no puede ser solo explicada por las variaciones en el tamaño de las expansiones, ya que otros factores como genes modificadores y/o factores ambientales influyen en el fenotipo.

De acuerdo a los resultados, los signos clínicos obligatorios en nuestra población son ataxia en la marcha y miembros, acompañados regularmente de disartria, arreflexia en miembros inferiores, babinski y neuropatía sensitiva de tipo axonal. La neuropatía de tipo desmielinizante se halló en un 12,5% de los pacientes; y aunque la pérdida de fibras sensoriales por desmielinización es típica en FRDA, rara vez ha sido reportada (Geschwind *et al.*, 1997). Un signo clínico que se observó en los pacientes en especial cuando aún tienen marcha autónoma es la hipotonía. El tono no ha sido incluido en los criterios de clasificación de Harding y Geoffrey, y en nuestra población se encontró en un 54%.

El análisis de la expansión en portadores realizado en los padres de los pacientes permitió observar la dinámica de la mutación, expansión/contracción, en la transmisión de progenitores a individuos afectados, y entre hermanos afectados; así como en los estudios intergeneracionales de la inestabilidad del trinucleótido GAA descritos (De Michele et al., 1998, Delatyck et al., 1998). Sin embargo, se observó que hay una tendencia a la contracción, ya que los alelos paternos presentaron un número mayor de expansiones GAA que sus hijos afectados, a diferencia de la transmisión materna que es más estable, esta tendencia ha sido documentada por Monrós *et al.*(1997), Delatycki *et al.*(1998), la cual según De Michele *et al.*(1998) se explica por la diferencia en el número de divisiones celulares en la oogénesis y la espermatogénesis

No se evidenció correlación entre el número de expansiones GAA y los índices radiológicos, sin embargo es necesario aumentar el número de análisis radiológicos que permitan evaluar la médula cervical, el IV ventrículo y las demás estructuras del tallo afectadas en los individuos con FRDA para confirmar este hallazgo; siendo este el primer estudio que correlaciona el número de repeticiones GAA con los índices neuroradiológicos que miden el grado de atrofia de las estructuras afectadas en los pacientes FRDA. Ha sido observado en un estudio anterior sobre medidas del tallo cerebral (Pedraza *et al.*, 1993) que pacientes con Ataxia Hereditaria tienen atrofia del mesencéfalo y una tendencia a la dilatación del IV ventrículo en pacientes con Ataxia de Friedreich que se han asociado a atrofia de núcleo dentado y fibras eferentes de la médula espinal. Sin embargo los principales cambios anatómicos de esta enfermedad se localizan en la médula espinal. Estas correlaciones permitirán una mejor comprensión de la fisiopatología de esta enfermedad y del tipo de estructuras del SNC que se ven directamente relacionadas con la expansión GAA y la disfunción de la proteína fraxina.

En relación a los hallazgos de correlación entre la expansión del trinucleótido GAA y las pruebas de Raven y la Escala de Queja de Memoria en los pacientes con FRDA se puede evidenciar por una parte que el análisis subjetivo del paciente de

sus funciones intelectuales permanecen a pesar del deterioro de su ataxia, y del número grande de expansiones, sin desarrollar anosognosia, lo cual le permite mantener su autocrítica respecto a su estado de enfermedad y sus déficits intelectuales, sugiriendo una relativa integridad de las conexiones límbico-frontales involucradas en el déficit anosognósico. La severidad de la enfermedad medida clínicamente y la expansión de la tripleta, también puede predecirse con el grado de compromiso de los tiempos de reacción en miembros inferiores y superiores, los cuales sirven para predecir el grado de déficit atencional y ejecutivo en estos pacientes.

Sólo un paciente de 13 años fue heterocigoto para la expansión GAA, caracterizado por inicio de la enfermedad a los 5 años de edad con ataxia en la marcha y al examen físico presentaba pie cavo, signo de Babinski, dismetría leve y reflejos conservados; en la escala clínica presentó un puntaje de 23. Es posible que el paciente presente en el alelo no expandido una mutación puntual. Las mutaciones puntuales en el gen de FRDA llevan cambios en su secuencia dando como resultado una proteína truncada o un cambio de aminoácido probablemente con significancia no funcional; se distinguen por estar asociadas con la expresión severa de la enfermedad si se encuentran en motivos altamente conservados de la proteína o en otros motivos pero con un cuadro clínico menos severo y que además no cumple con todos los criterios clínicos de FRDA (Bartolo *et al.*, 1998). De acuerdo al bajo grado de severidad, dado por la escala clínica, el paciente puede tener alguna de las mutaciones que se encuentran en regiones no conservadas o una mutación aún no descrita. Es necesario confirmar este hallazgo identificando mediante secuenciación el tipo de mutación que puede presentar.

La heterogeneidad genética parece ser evidente en el 3.6% de los pacientes que presentaron los criterios clínicos para el diagnóstico de Ataxia de Friedreich y no se les encontró alelos expandidos. De acuerdo a los hallazgos fenotípicos de estos pacientes , es necesario determinar sus niveles de vitamina E, pues la

mayoría de individuos con deficiencia de vitamina E cumplen con los criterios diagnósticos para FRDA (Cavalier 1998, Hammans 1998) o determinar la presencia de mutaciones puntuales por secuenciación. Casos de FRDA típicos sin mutaciones en el gen X25 han sido inusuales. Dürr *et al.*, encontraron un 80% de los casos FRDA típicos con alelos expandidos, dejando el 20% sin identificar mutaciones y describir clínicamente. El no describir clínicamente los individuos con FRDA clásico sin mutaciones, no permite establecer si los hallazgos pueden estar dados por heterogeneidad genética u otro tipo de Ataxia. Delatycki *et al.*, en 1999 propone que la variedad fenotípica en FRDA no solo puede ser resultado de un mosaicismo somático, sino que puede estar dada por diferencias en las regiones promotoras/reguladoras del gen, o en genes reguladores cercanos a X25; siendo otra explicación a los casos de pacientes que en la población estudiada cumplieron con los criterios clínicos para FRDA pero que no presentaron expansiones GAA dentro del rango anormal.

El análisis de haplotipos en los pacientes con FRDA de Acadia (Este de Canadá) mostró la presencia de un haplotipo ancestral para FRDA (Sirugo *et al.*, 1992), los pacientes se caracterizaban por un cuadro clínico menos severo y progresión lenta. En esa misma región Richter *et al.*, (1996) encontraron un haplotipo común en pacientes con ataxia de Friedreich pero que clínicamente se diferenciaban por tener ataxia espástica. En el grupo de pacientes con expansión GAA se encontró el haplotipo B14 en un 41.1% del total de haplotipos hallados, los pacientes forman parte de la población mestiza el país, ninguno provino de áreas de comunidades negras, indígenas o mestiza que puedan estar genéticamente aisladas como la Acadiana. Es de resaltar que 3/7 pacientes que presentaron este haplotipo se caracterizaron por presentar la variante FARR, lo cual indica que en Colombia es posible que exista un haplotipo específico para la variante FARR, haciendo necesario aumentar el número de pacientes para así confirmar este hallazgo.

El marcador FAD1 que se encuentra distal al locus FRDA y consiste en la distinción de un alelo A por la presencia de una citosina y un alelo B dado por la presencia de una adenina en el mismo nucleótido de la secuencia, descrito por Monrós et al., (1996) quienes realizaron un análisis de divergencia haplotípica encontrando un marcado desequilibrio de ligamiento entre FAD1 y la Ataxia de Friedreich, diferencias en la distribución alélica de FAD1 y la distribución genotípica entre población normal y con Ataxia de Friedreich por la presencia del alelo B en un amplio background de diferentes haplotipos FRDA; explicando: (a) el alelo B es resultado de 1 o 2 mutaciones ancestrales para FRDA y los haplotipos FRDA asociados a B han derivado, (b) el alelo B refleja una mutación predisponente a FRDA.

El polimorfismo dialélico FAD1 en la población control se presentó el alelo A con una frecuencia de 0.858 y para el alelo B de 0.142, mientras que en los individuos homocigotos para la expansión GAA la frecuencia del alelo A fue de 0.300 y del alelo B de 0.700, encontrándose ambas poblaciones en equilibrio de Hardy-Weinberg. De acuerdo a los resultados en la población española y la estudiada es posible concluir que el alelo B FAD1 está asociado a la mutación por expansión del trinucleótido GAA o es un alelo con predisposición para la expansión, y así definirlo como un alelo de alto riesgo; mientras que el alelo A FAD1 como un alelo protector en la población normal.

Para SCA8 se encontró un caso esporádico de Ataxia, sin antecedentes familiares en otros miembros afectados; caracterizada por un inicio a la edad de 36 años consistente en latero pulsión, aumento del polígono de sustentación, disartria y temblores de intención en miembros superiores. En el examen clínico como hallazgos positivos disimetría, nistagmus horizontal, ataxia en la marcha, reflejos osteotendinosos normales, respuesta flexora presente, fuerza conservada y un valor en la escala clínica de 21. El paciente presentó un alelo con una expansión de 111 repeticiones CTG en el rango de mutación y el otro alelo de 81 repeticiones considerado dentro del rango normal según los estudios de Moseley *et al.*, 2000

Worth *et al.*, 2000, Silveira *et al.*, y 1999, Koob *et al.*, 1999; aunque en nuestra población control el rango fue de 17 a 42 repeticiones con heterocigocidad de 83% siendo el más polimórfico en nuestra población. La expansión de la tripleta CTG para la forma de ataxia cerebelar tipo 8, ha sido recientemente descrita (Koob *et al.*, 1999) y son pocos los casos reportados, así como estudios poblacionales. En la población Brasileña los alelos normales presentaron una distribución trimodal con alelos pequeños entre 15 y 21 repeticiones, alelos intermedios entre 22 y 37 repeticiones y alelos grandes entre 40 y 91 repeticiones; al igual que en nuestra población es altamente polimórfico. La distribución de los alelos en la población estudiada es similar a las descritas en otras poblaciones, el 83.1% de los alelos se encontraron en el rango entre 22 y 37 repeticiones y el 0.9% de los alelos se consideran alelos grandes.

El número de repeticiones de trinucleótidos en los alelos normales es variable, pero el grado de polimorfismo varía de acuerdo al locus. En SCA1 el rango de repeticiones en nuestra población fue de 4 a 13 CAGs, mientras que en España de 6 a 39, Hungría 21 a 34, India 23 a 26. En SCA2 el rango de repeticiones fue de 13 a 26 con una heterocigocidad del 32.9%, mientras que en Portugal el rango es de 22 y 23 repeticiones, en el oeste y sur de África es de 15 a 29, Japón tiene un rango de 15 a 24 repeticiones y el alelo más frecuente el de 22 repeticiones, en España el rango normal de repeticiones es de 17 a 29 con un 20 % de heterocigocidad, siendo el alelo más frecuente el de 22 repeticiones, en Francia el rango es de 17 a 29 repeticiones y el alelo más frecuente el 22 repeticiones, y nuestra población presentó también el alelo de 22 repeticiones tuvo una frecuencia del 81.25% siendo el más frecuente al igual que en los países enunciados anteriormente. Los alelos normales en SCA3 presentaron un rango de repeticiones de 9 a 31 y una heterocigocidad de 79.4%, España tiene un rango de 14 a 36 repeticiones con una heterocigocidad del 86%, en Portugal el rango es de 13 a 41 repeticiones, en Japón es de 13 a 36 repeticiones. SCA6 presentó un rango de 7 a 14 CAGs en los alelos normales con una heterogeneidad del 67%, en España el rango es de 5 a 15 con heterocigocidad del 73%, en Japón es de 6 a 17

repeticiones con heterocigocidad de 72%, en 457 muestras que incluyeron individuos de Europa, Africo-Americanos, Hispanos y ancestros Asiáticos se encontró que la población control tuvo alelos en el rango de 4 a 16 repeticiones CAG con una heterocigocidad de 71% (Zhuchenko et al., 1997). Y en SCA7 los alelos de la población control presentaron un rango de 11 a 17 repeticiones con heterocigocidad de 72%, en España el rango es de 7 a 15 CAGs con heterocigocidad del 43% (Basu et al., 2000, Gyürus et al., 1999, Pujana et al., 1999, Leggo et al. 1997, Bürk et al., 1996, Giunti et al., 1998, Moseley et al., 1998). Los rangos de repeticiones de los trinucleótidos de CAG en SCA2, SCA3, SCA6 y SCA7 en nuestra población fueron similares a los reportados en otras poblaciones, excepto en SCA1. Los alelos normales en SCA1, SCA3 y SCA6 son muy polimórficos, con porcentaje de heterocigocidad aproximadamente de 80%, mientras que la heterocigocidad de los alelos normales en SCA2 y SCA7 representa solo el 24 y 35% respectivamente, debido a la alta frecuencia del alelo 22 en SCA2 y el alelo de 10 CAGs en el locus SCA7 (Stevanin et al, 2000).

Las frecuencias relativas de las expansiones de tripletas en SCAs ha permitido la tipificación molecular en varias poblaciones, las cuales varían de manera amplia de acuerdo al origen geográfico. Así mismo análisis de ligamiento han evidenciado desequilibrio de ligamiento con marcadores que flanquean al locus SCA1 en Japón, SCA2 en el norte de Europa, SCA3/MJD en Francia, Portugal y Japón, SCA7 en Corea, África del norte, Europa Continental y países Anglosajones, y SCA6 en Alemania. Los estudios genéticos no solo han revelado la existencia de efectos fundadores sino que además han evidenciado mutación *de novo* en SCA7, las cuales hasta ahora son raras en SCAs. Estas mutaciones son el resultado de la expansión de alelos normales grandes, frecuentemente denominados como alelos intermedio que contienen de 28 a 35 repeticiones, mostrando el alto grado de inestabilidad de las expansiones durante la transmisión, es decir, que el grado de inestabilidad aumenta con el número de expansiones de los alelos normales. Si ésta observación no sólo se encuentra en SCA3 y SCA7, sino que se extiende a todas las SCAs, es de esperarse que

mutaciones *de novo* ocurran una o rara vez en alelos intermedios (Stevanin *et al.*, 2000).

En nuestra población el 69.9% de los casos no correspondieron a los loci estudiados, porcentaje que varía considerablemente en otras poblaciones, en España el 58% de los casos no han sido identificados, en China el 41.19%, en la India el 63%, en Portugal el 22%, en Inglaterra el 15% y en Francia el 40% (Herman *et al.*, 2000, Basu, *et al.*, 2000, Pujana *et al.*, 1999, Leggo *et al.*, 1997, Tang *et al.*, 2000, Silveira *et al.*, 1999). De los 70 grupos familiares a los que corresponden los 83 pacientes estudiados, en 4 familias fue reportado en la historia familiar ataxia en la marcha en varias generaciones (2,3,4 y 5), presentaron número de expansiones para los loci estudiados dentro de los rangos normales. Siendo en estas familias posible realizar análisis de ligamiento para los loci de SCA4; SCA5, SCA11, SCA13; o para el hallazgo de otras formas de SCA.

De acuerdo a los resultados obtenidos en nuestra población, es poco probable que se encuentre una forma de SCA específica, debido a la diversidad poblacional del país, como lo reportado para SCA3 en Portugal y en las Islas Azores, SCA2 en Cuba y el norte de Europa. Sin embargo es necesario continuar el estudio en los pacientes para los loci SCA10 y SCA12 tanto en estas familias como en los demás pacientes clasificados como casos esporádicos.

8. CONCLUSIONES

En la población estudiada no se observa el patrón dominante descrito para las SCAs como en otras poblaciones. El número de familias con formas autosómicas dominantes correspondieron a 4 y 16 a formas autosómicas recesivas de 70 grupos familiares.

El 28.9% de los pacientes correspondieron clínicamente a FRDA y de éste número el 87.5% fueron homocigotos para la expansión GAA. El 1.2% correspondió a la Ataxia Espinocerebelar Tipo 8 y el 69.9% no se le encontró mutación en los ninguno de los loci estudiados.

El estudio de los loci SCA1, SCA2, SCA3, SCA6, SCA7 y SCA8 en la población control demostró la variabilidad genética de la población dada por el polimorfismo alto en algunos loci y el porcentaje de heterocigocidad.

El 28.9% de los casos FRDA clínicamente corresponden a 19 familias de las cuales fue documentada consanguinidad en 5, y el tipo de herencia autosómico recesivo en 7.

El análisis de expansión GAA en individuos con FRDA permitió confirmar en un 87.5% de los casos el diagnóstico, y reconocer la variante FARR en un 5% en la población homocigota para GAA.

La Variante FARR en los pacientes se caracterizó por inicio tardío de la sintomatología y un cuadro menos severo que en los pacientes con FRDA clásico y un número menor de expansiones GAA, sugiriendo que expansiones pequeñas no inhiben completamente la transcripción del RNA de la frataxina y permite la expresión residual de la proteína en la mitocondria.

En los pacientes con ataxia de Friedreich entre más temprano es el inicio de la enfermedad y más severo el curso de la enfermedad, el número de repeticiones GAA es mayor. Sin embargo el tamaño de las expansiones GAA que se correlaciona en un 50% con la heterogeneidad clínica de la enfermedad, y el 3.6% de pacientes que clínicamente se clasificaron como FRDA y no fueron homocigotos para la expansión, indican que otros factores como genes modificadores y/o factores ambientales, influyen en el fenotipo.

No se encontró correlación entre los diferentes índices neuroradiológicos de los pacientes con Ataxia de Friedreich y el número de expansiones GAA por el pequeño tamaño de la muestra.

La correlación entre los tiempos de reacción y el número de expansiones GAA en los pacientes con Ataxia de Friedreich, permite predecir el grado de déficit atencional y ejecutivo en esta enfermedad.

El análisis haplotípico realizado en los individuos con Ataxia de Friedreich mostró que en Colombia es posible se encuentre un haplotipo específico para la variante FARR.

De acuerdo a los resultados de la población española y los resultados en la población estudiada, es posible concluir que el alelo B FAD1 esta asociado a la mutación por expansión del trinucleótido GAA o es un alelo con predisposición para la expansión, definiéndolo como un alelo de alto riesgo; mientras que el alelo A FAD1 como un alelo protector en la población normal.

BIBLIOGRAFÍA

Adamec J., Rusnak F., Owen W., Naylor S., Benson L., Gacy M., Isaya G. Iron-Dependent Self-assembly of Recombinant Yeast Frataxin: Implications for Friedreich Ataxia. *Am. J. Hum. Genet.* 2000, 67:549-562.

Babcock M., De Silva D., Oaks R., Kaplan S., Jiralerspong S., Montermini L., Pandolfo M., Kaplan J. Regulation of Mitochondrial Iron Accumulation by Yfh 1p, a Putative Homolog of Frataxin. *Science* 1997, 276:1709-1711

Babovic D., Snow K., Patterson M., Michels V. Spinocerebellar Ataxia Type 2 (SCA2) in an Infant With Extreme CAG Repeat Expansion. *Am. J. Med. Genet.* 1998, 79:383-387.

Bartolo C., Mendell J., Prior T. Identification of Missense Mutation in a Friedreich's Ataxia Patient: Implications for Diagnosis and Carrier Studies. *Am. J. Med. Genet.* 1998, 79:396-399.

Basu P., Chattopadhyay B., Gangopahaya K., Mukherje S., Sinha K., Das S., Roychoudhury S., Majumder P., Bhattacharyya N. Analysis of CAG repeats in SCA1, SCA2, SCA3, SCA6, SCA7 and DRPLA loci in spinocerebellar ataxia patients and distribution of CAG repeats at the SCA1, SCA2 and SCA6 loci in nine ethnic populations of eastern India. *Hum. Genet.* 2000, 106:597-604.

Bidichandani S., Ashizawa T., Patel P. Atypical Friedreich ataxia Caused by Compound Heterozygosity for a Novel Missense Mutation and the GAA Triplet-Repeat Expansion. *Am. J. Hum. Genet.* 1997, 60:1251-1256.

Bidichandani S., Ashizawa T., Patel P. The GAA Triplet-Repeat Expansion in Friedreich Ataxia Interferes with Transcription and May Be Associated with an Unusual DNA Structure. *Am. J. Hum. Genet.* 1998, 62:111-121.

Botez M.I., Pedraza O.L., Botez T., Vecina J., Elie R. Radiologic Correlates of Reaction Time Measurements in Olivopontocerebellar Atrophy. *Eur. Neurol.* 1993, 33:304-309

Botez T., Pedraza O.L., Botez M.I. Neuroradiological correlates of neuropsychological disorders in olivopontocerebellar atrophy (OPCA). *Eur. J. Neurol.* 1996, 3:89-97.

Bradley J.L., Blake J.C., Chamberlain S., Thomas P.K., Cooper J.M., Schapira A.H.V. Clinical, biochemical and molecular genetic correlations in Friedreich's ataxia. *Hum. Mol. Genet.* 2000, 9(2):275-282.

Burges s D., Jones J., Meisler M., Noebels J. Mutation of the Ca²⁺ Channel β subunit Gene *Cchb4* Is Associated with Ataxia and Seizures in the Lethargic (lh) Mouse. *Cell* 1997, 88_385-392.

Bürk K., Fetter A., Dichgans J., Sakalej M., Laccone F., Didierjean O., Brice A., Klockgether T. Autosomal dominant cerebellar ataxia type I clinical features and MRI in families with SCA1, SCA2, and SCA3. *Brain* 1996, 119:1497-1505.

Burright E., Davidson J., Duvick L., Koshy B., Zoghbi H., Orr H. Identification of a self-association region within the SCA1 gene product, ataxin-1. *Hum. Mol. Genet.* 1997, 6(4):513-518.

Campuzano V., Montermini L., Mólto M., Pianese L., Cossée M., Cavalcanti F., Monros E., Rodius F., Duclos F., Monticelli A., Zara F., Cañizares J., Koutnikova H., Bidichandani S., Gellera C., Brice A., Trouillas P., De Michele G., Filla A., De Frutos R., Palau F., Patel P., Di Donato S., Mandel J.L., Coccozza S., Koenig M., Pandolfo M. Friedreich's Ataxia: Autosomal Recessive Disease Caused by an Intronic GAA Triplet Repeat Expansion. *Science* 1996, 271:1423-1427.

Campuzano V., Montermini L., Lutz Y., Cova L., Hindelang C., Jiralerspong S., Trottier Y., Kish S., Faucheux B., Trouillas P., Authier F., Dürr A., Mandel J.L., Vescovi A., Pandolfo M., Koenig M. Frataxin is reduced in fredreich ataxia patients and is associated with mitochondrial membranes. *Hum. Mol. Genet.* 1997, 6(11):1771-1780.

Cancel G., Dürr A., Didierjean O., Imbert G., Bürk K., Lezin A., Belal S., Benomar A., Abada M., Vial C., Guimaraes J., Chneiweiss H., Stevanin G., Yvert G., Abbas N., Saudous F., Lebre A., Yahyaoui M., Hentati F., Vernant J., Klockgether T., Mandel J., Agid Y., Brice A. Molecular and clinical correlations in spinocerebellar ataxia 2: a study of 32 families. *Hum. Mol. Genet.* 1997, 6(5):709-715.

Casazza F., Morpurgo M. The Varying Evolution of Friedreich's Ataxia Cardiomyopathy. *Am. J. Cardiol.* 1996, 77:895-898.

Caskey C., Pizzuti A., Fu Y., Fenwick R., Nelson D. Triplet repeat Mutations in Human Disease. *Science* 1992, 256:784-788.

Chai Y., Koppenhafer S., Shoesmith S., Perez M., Paulson H. Evidence for proteasome involvement in polyglutamine disease: localization to nuclear inclusions in SCA3/MJD and suppression of polyglutamine aggregation *in vitro*. *Hum. Mol. Genet.* 1999, 8(4):673-692.

Chamberlain S., Shaw J., Rowland A., Wallis J., South S., Nakamura Y., Gabain A., Farral M., Williamson. Mapping of mutation causing Friedreich's Ataxia to human chromosome 9. *Nature* 1988, 334:248-249.

Chamberlain S., Shaw J., Wallis J., Rowland A., Chow L., Farall M., Keats B., Richter A., Roy M., Melancon S., Deufel T., Berciano J., Williamson R. Genetic Homogeneity at the Friedreich ataxia Locus on Chromosome 9. *Am. J. Hum. Genet.* 1989, 44:518-521.

Chamberlain S., Farall M., Shaw J., Wilkes D., Carvajal J., Hillerman R., Doudney K., Harding A.E., Williamson R., Sirugo G., Fujita R., Koenig M., Mandel J.L., Palau F., Monrós E., Vilchez J., Prieto F., Richter A., Vanasse M., Pianese L., Filla A., DiDonato S., pandolfo M. Genetic Recombination Events Which Position the Friedreich ataxia Locus Proximal to the D9S15/D9S5 Linkage Group on Chromosome 9q. *Am. J. Hum. Genet.* 1993, 52:99-109.

Cossée M., Schmit M., Campuzano V., Reutenauer L., Moutou C., Mandel J.L., Koenig M. Evolution of the Friedreich's ataxia trinucleotide repeat expansion: Founder effect and permutations. *Proc. Natl. acad. Sci. USA* 1997, 94:7452-7457.

Cossée M., Campuzano V., Koutnikova H., Fischbeck K., Mandel J., Koenig M., Bidichandani S., patel P., Mólto M., Cañizares J., De Frutos R., Pianese L., Cavalcanti F., Monticelli A., Cocozza S., Montermini L., Pandolfo M. Frataxin fragas. *Nat. Genet.* 1997, 15:337-338.

Cummings C., Zoghbi H. Fourteen and counting: unraveling trinucleotide repeat diseases. *Hum. Mol. Genet.* 2000, 9(6):909-916.

David G., Abbas N., Stevanin G., Dürr A., Yvert G., Cancel G., Weber C., Imbert G., Saudou F., Antoniou E., Drabkin H., Gemmill R., Giunti P., Benomar A., Wood N., Ruberg M., Agid Y., Mandel J., Brice A. Cloning of the SCA7 gene reveals a highly unstable CAG repeat expansion. *Nat. Genet.* 1997, 17:65-70.

David G., Dürr A., Stevanin G., Cancel G., Abbas N., Benomar A., Belal S., Lebre A., Abada M., Grid D., Holmberg M., Yahyaoui M., Hantati F., Chkili T., Agid Y., Brice A. Molecular and clinical correlations in autosomal dominant cerebellar ataxia with progressive macular dystrophy (SCA7). *Hum. Mol. Genet.* 1998, 7(2):165-170.

Day J., Schut L., Moseley M., Durand A., Ranum L. Spinocerebellar ataxia type 8. Clinical features in a large family. *Neurology* 2000, 55:649-657.

De Michele G., Filla A., Cavalcanti F., Di Maaio L., Pianese L., Castaldo I., Calabrese O., Monticelli A., Varrone S., Campanella G., Leone M., Pandolfo M., Cocozza S. Late onset Friedreich's disease clinical features and mapping of mutation to the FRDA locus. *J. Neur. Neurosurg. Pschy.* 1994, 57:977-979.

De Michele G., Cavlacanti F., Criscuolo C., Pianese L., Monticelli A., Filla A., Cocozza S. Parental gender, age at birth and expansion length influence GAA repeat intergenerational instability in the X25 gene: pedigree studies and analysis

of sperm from patients with Friedreich's ataxia. *Hum. Mol. Genet.* 1998, 7(12): 1901-1906.

Delatycki M., Paris D., Gardner R., Forshaw K., Nicholson G., Nassif N., Williamson R., Forrest S. Sperm DNA analysis in a Friedreich ataxia permutation carrier suggests both meiotic and mitotic expansion in the FRDA gene. *J. Med. Genet.* 1998, 35:713-716.

Delatycki M., Paris D., Gardner M., Nicholson G., Nassif N., Storey E., MacMillan J., Collins V., Williamson R., Forrest S. Clinical and Genetic Study of Friedreich Ataxia in an Australian Population. *Am. J. Med. Genet.* 1999, 87:168-174.

Denney R., Koch H., Craig I. Association between monoamine oxidase A activity in human male skin fibroblast and genotype of the MAOA promoter-associated variable number tandem repeat. *Hum. Genet.* 1999, 105:542-551.

Devos D., Schraen S., Vuillaume I., Dijardin K., Nazé P., Willoteaux C., Destée A., Sablonnière B. Clinical features and genetic analysis of a new form of spinocerebellar ataxia. *Neurology* 2001, 56:234-238.

Dijkstra U., Gabreëls F., Josten E., Wevers R., Lamers K., Doesburg W., Renier W. Friedreich's ataxia: Intravenous pyruvate load to demonstrate a defect in pyruvate metabolism. *Neurology* 1984, 34:1493-1497.

Dubourg O., Dürr A., Cancel G., Stevanin G., Chneiweiss H., Penet C., Agid Y., Brice A. Analysis of the SCA1 CAG Repeat in a Large Number of Families with Dominant Ataxia: Clinical and Molecular Correlations. *Ann. Neurol.* 1995, 37:176-180.

Duclos F., Boschert U., Sirugo G., Mandel J., Hen R., Koenig. Gene in the region of the Friedreich ataxia locus encodes a putative transmembrane protein expressed in the nervous system. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1993, 90:109-113.

Ducros A., Denier C., Joutel A., Vahedi K., Michel A., Darcel F., Madigand M., Guerouaou D., Tison F., Julien J., Chedru F., Bisgard C., Lucotte G., Després P., Billard C., Barthez M., Ponsot G., Bousser M., Tournier E. Recurrence of the T666M Calcium Channel CACNA1A Gene Mutation in Familial Hemiplegic Migraine with Progressive Cerebellar ataxia. *Am. J. Hum. Genet.* 1999, 64:89-98.

Dürr A., Smadja D., Cancel G., Lezin A., Stevanin G., Mikol J., Bellance R., Buisson G., Chneiweiss H., Dellanave J., Agid Y., Brice A., Vernant J. Autosomal dominant cerebellar ataxia type I in Martinique (French West Indies). Clinical and neuropathological analysis of 53 patients from three unrelated SCA2 families. *Brain* 1995, 118:1573-1581.

Dürr a., Cossée M., Agid Y., Campuzano V., Mignard C., Penet C., Mandel J.L., Brice A., Koenig M. Clinical and Genetic Abnormalities in Patients with Friedreich's Ataxia. *N. Engl. J. Med.* 1996, 335:1169-1175.

Dürr A., Brice A. Clinical and genetics aspects of spinocerebellar degeneration. *Curr. Opin. Neurol.* 2000; 13:407-413.

Epplen C., Epplen J., Frank G., Mitterski B., Santos E., Schöls L. Differential stability of the (GAA)_n tract in the Friedreich ataxia (STM7) gene. *Hum. Genet.* 1997, 99:834-836

Filla A., Michele G., Banfi S., Santoro L., Perretti A., Cavalcanti F., Pianese L., Castaldo I., Barbieri F., Campanella G., Coccozza S. Has spinocerebellar ataxia type 2 a distinct phenotype? Genetic and clinical study of an Italian family. *Neurology* 1995, 45:793-796.

Filla A., De Michele G., Cavalcanti F., Pianese L., Monticelli A., Campanella G., Coccozza S. The Relationship between Trinucleotide (GAA) Repeat Length and Clinical Features in Friedreich ataxia. *Am. J. Hum. Genet.* 1996, 59:554-560.

Finochiaro G., Baio G., Micossi P., Pozza G., Di Donato S. Glucose metabolism alterations in Friedreich's ataxia. *Neurology* 1988, 38:1292-1296.

Flanigan K., Gardner K., Alderson K., Galster B., Otterud B., Leppert M.F., Kaplan C., Ptáček L.J. Autosomal Dominant Spinocerebellar Ataxia with Sensory Axonal Neuropathy (SCA4): Clinical Description and Genetic Localization to Chromosome 16q22.1. *Am. J. Hum. Genet.* 1996, 59:392-399.

Forrest S., Knight M., Delatycki M., Paris D., Williamson R., King J., Yeung L., Nassif N., Nicholson G. The correlation of clinical phenotypes in Friedreich ataxia with the site of point mutations in the FRDA gene. *Neurogenetics* 1998, 1:253-257.

Foury F., Cazzalini O. Deletion of the yeast homologue of the human gene associated with Friedreich's ataxia elicits iron accumulation in mitochondria. *FEBS* 1997, 411:373-377.

Fujigasaki H., Uchihara T., Koyano S., Iwabuchi K., Yagishita S., Makifuchi T., Nakamura A., Ishida K., Toru S., Hirai S., Ishikawa K., Tanabe T., Mizusawa H. ataxin-3 Is Translocated into the Nucleus for the Formation of Intracellular Inclusions in Normal and Machado-Joseph Disease Brains. *Exp. Neurol.* 2000, 165:248-256.

Gates P., Paris D., Forrest S., Williamson R., Gardener R. Friedreich's ataxia presenting as adult-onset spastic paraparesis. *Neurogenetics* 1998, 1:297-299.

Genis D., Volpini V. Machado-Joseph disease, spinopontine atrophy, and SCA3. *Neurology* 1997;48:1137-1138.

Geschwind D., Perlaman S., Grody W., Telatar M., Montermini L., Pandolfo M., Gatti R. Friedreich's ataxia GAA repeat expansion in patients with recessive or sporadic ataxia. *Neurology* 1997, 49:1004-1009.

Geschwind D., Perlamn S., Figueroa K., Karrin J., Baloh R., Pulst S. Spinocerebellar ataxia type 6. Frequency of the mutation and genotype-phenotype correlations. *Neurology* 1997, 49:1247-1251.

Geschwind D., Perlaman S., Figueroa C., Treiman L., Pulst S. The Prevalence and Wide Clinical Spectrum of the Spinocerebellar Ataxia Type 2 Trinucleotide Repeat in Patients with Autosomal Dominant Cerebellar Ataxia. *Am. J. Hum. Genet.* 1997, 60:842-850.

Geschwind D. focusing Attention on Cognitive impairment in Spinocerebellar Ataxia. *Arch. Neurol.* 1999, 56:20-22.

Giunti P., Sweney M., Harding A.E. Detection of the Machado-Joseph disease/spinocerebellar ataxia three trinucleotide repeat expansion in families with autosomal dominant motor disorders, including the Drew family of Walworth. *Brain* 1995, 118:1077-1085.

Giunti P., Sabbadini G., Sweeney M., Davis M., veneziano L., Mantuano E., Federico A., Plasmati R., Frontali M., Wood N. The role of the SCA2 trinucleotide repeat expansion in 89 autosomal dominant cerebellar ataxia families, frequency, clinical and genetic correlates. *Brain* 1998, 121:459-467.

Gómez C., Thompson R., Gammack J., Perlaman S., Dobyns W., Truwitz C., Zee D., Clark B., Anderson J. Spinocerebellar ataxia type 6: Gaze-Evoked and Vertical Nystagmus, Purkinje Cell Degeneration, and Variable Age of Onset. *Ann. Neurol.* 1997, 42:933-950.

Gouw L., Castañeda M., McKenna C., Digre K., Pulst S., Perlaman S., Lee M., Gómez C., Fishbeck K., Gagnon D., Storey E., Bird T., Jeri F., Ptáček L. Analysis of the dynamic mutation in the SCA7 gene shows marked parental effects on CAG repeat transmission. *Hum. Mol. Genet.* 1998, 7(3):525-532.

Gray J., Johnson K. Waiting for frataxin. *Nat. Genet.* 1997, 16:323-325.

Grewal R.P., Tayag E., Figueroa K.P., Zu L., Durazo A., Núñez C., Pulst S.M. Clinical and genetic analysis of a distinct autosomal dominant spinocerebellar ataxia. *Neurology* 1998, 51:1423-1426.

Gu W., Wang Y., Liu X., Zhou B., Zhou Y., Wang G. Molecular and Clinical Study of Spinocerebellar Ataxia Type 7 in Chinese Kindreds. *Arch. Neurol.* 2000, 57:1513-1518.

Guida S., Trettel F., Pagnutti S., Mantuano E., Tottene A., Veneciano L., Fellín T., Spadaro M., Stauderman k., Williams M., Volsen S., Ophoff R., Frants R., Jodice C., Frontali M., Pietrobon D. Complete Loss of P/Q Calcium Channel activity Caused by a CACNA1A Missense Mutation Carried by Patients with Episodic ataxia Type 2. *Am. j. Hum. Genet.* 2001,

Gyürus P., Molnár J., Melegh B., Tóth G., Morava E., Kosztolányi G., Méhes K. Trinucleotide Repeat polymorphism at Five Disease Loci in Mixed Hungarian Population. *Am. J. Med. Genet.* 1999, 87:245-250.

Hammans S.R. The inherited ataxias and the new genetics. *J. Neurol, Neuros. Psych.* 1996, 61:327-332.

Hammans S., Kennedy C. Ataxia with isolated vitamin E deficiency presenting as mutation negative Friedreich's ataxia. *J. Neurol. Neurosurg. Psch.* 1998, 64:368-370.

Harding A. E., Zilkha K. pseudo-dominant inheritance in Friedreich's ataxia. *J. Med. Genet.* 1981, 18:285-287.

Harding A. E. Clinical Features and Classification of Inherited Ataxias. *Adv. Neurol.* 1993, 61:1-14.

Hashida H., Goto J., Kurisaki H., Mizusawa H., Kanazawa I. Brain Regional Differences in the Expansion of a CAG Repeat in the Spinocerebellar Ataxias: Dentatorubral-Pallidolusian Atrophy, Machado-Joseph Disease, and Spinocerebellar Ataxia Type 1. *Ann. Neurol.* 1997, 41:505-511.

Hayes S., Turecki G., Brisebois K., Lopes I., Gaspar C., Riess o., Ranum L., Pulst S., Rouleau G. CAG repeat length in RAI1 is associated with age at onset variability in spinocerebellar ataxia type 2 (SCA2). *Hum. Mol. Genet.* 2000, 9(12):1753-1758.

Hermann A., Stevanin G., Netter J., Rascol O., Brassat D., Calvas P., Camuzat A., Yuan Q., Schanlling M., DÜrr A., Brice A. Mapping of Spinocerbellar Ataxia 13 to Chromosome 19q13.3-q13.4 in a Family with Autosomal Dominant Cerebllar Ataxia and Mental Retardation. *Am. J. Hum. Genet.* 2000, 67:229-235.

Holmberg M., Duyckaerts C., DÜrr A., Cancel G., Gourfinkel I., Damier P., Faucheux B., Trottier Y., Hirsch E., Agid Y., Brice A. Spinocerebellar ataxia type 7 (SCA7): a neurodegenerative disorder with neuronal intranuclear inclusions. *Hum. Mol. Genet.* 1998, 7(5): 913-918.

Holmes S., O'Hearn E., McInnis M., GorelickD., Kleiderlein J., Callahan C., Kwak N., Ingersoll R., Sherr M., Summer A., Sharp A., Ananth U., Seltzer W., Boss M., Viera A., Epplen J., Riess O., Rosss C., Margolis R. Expansion of a novel CAG

trinucleotide repeat in the 5' region of PPP2R2B is associated with SCA12. *Nat. Genet.* 1999, 23.

Ikeda Y., Shizuka M., Watanabe M., Okamoto K., Shoji M. Molecular and clinical analyses of spinocerebellar ataxia type 8 in Japan. *Neurology* 2000, 54:950-955.

Ikeuchi T., Igarashi S., Takiyama Y., Onodera O., Oyake M., Tacaño H., Koide R., Tanaka H., Tsuji S. Non-Mendelian Transmisión in Deantorubral-Pallidoluysian Atrophy and Machado-Joseph Disease: the Mutant allele Is preferentially Transmitted in Male Meiosis. *Am. J. Hum. Genet.* 1996, 58:730-733.

Ikeuchi T., Takano H., Koide R., Horikawa Y., Honma Y., Onishi Y., Igarashi S., Tanaka H., Nakao N., Sahashi K., Tsukagoshi H., Inoue K., takahashi H., Tsuji S. Spinocerebellar ataxia type 6 : CAG Repeat Expansion in α 1A Voltage-Dependent Calcium Channel Gene and Clinical Variations in Japanese population. *Ann. Neurol.* 1997, 42:879-884.

Imbert G., Saudou F., Yvert G., Devys D., Trottier Y., Garnier J., Weber C., Mandel J.L., Cancel G., Abbas N., Dürr A., Didierjean O., Stevanin G., Agid Y., Brice A. Cloning of the gene for spinocerebellar ataxia 2 reveals a locus with high sensitivity to expanded CAG/glutamine repeats. *Nat. Genet.* 1996, 14:285-291.

Ishikawa K., Fujigasaki H., Saegusa H., Ohwada K., Fujita T., Iwamoto H., Komatsuzaki Y., Toru S., Toriyama H., Watanabe M., Ohkoshi N., Shoji A., kanazawa I., Tanabe T., Mizusawa H. Abundant espression and cytoplasmic aggregation of α 1A coltage-dependent calcium channel protein associated with neurodegenerative in spinocerebellar ataxia type 6. *Hum. Mol. Genet.* 1999, 8(7):1185-1193.

Isnard R., Kalotka H., Dürr A., Cossée M., Schmitt M., Pousset F., Thomas D., Brice A., Koenig M., Komajada M. Correlation Between Left Ventricular Hypertrophy and GAA Trinucleotide repeat Length in Friedrechih 's Ataxia. *Circualtion* 1997, 95:2247-2249.

Jiralerspong S., Liu Y., Montermini L., Stifani S., Pandolfo M. Frataxin Shows Developmentally Regulated Tissue-Specific Expression in the Mouse Embryo. *Neurobiology of Disease* 1997, 4:103-113.

Johansson J., Forsgren L., Sandgren O., Brice A., Holmgren G., Holmberg M. Expanded CAG repeats in Swedish spinocerebellar ataxia type 7 (SCA7) patients: effect of CAG repeat length on the clinical manifestation. *Hum. Mol. Genet.* 1998, 7(2):171-176.

Junk L., Gilman S., Gebarski S., Koeppe R., Klum K., Markel D. Structural and functional brain imaging in Friedreich's ataxia. *Arch. Neurol.* 1994, 51:349-355.

Kaplan J. Friedreich's ataxia is a mitochondrial disorder. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1999, 96:10948-10949.

Kish S., El-Awar M., Stuss D., Nobrega J., Currier R., Aita J., Schut L., Zoghbi H., Freedman M. Neuropsychological test performance in patients with dominantly inherited spinocerebellar ataxia: relationship to ataxia severity. *Neurology* 1994, 44:1738-1746.

Klement I., Skinner P., Kaytor M., Yi H., Hesh S., Clark H., Zoghbi H., Orr H. Ataxin-1 Nuclear Localization and Aggregation: Role in Polyglutamine-Induced Disease in SCA1 Transgenic Mice. *Cell* 1998, 95:41-53.

Klockgether T., Wüllner U., Dichgans J., Grodd W., Nägele T., Petersen D., Schroth G., Schmidt O., Voigt K. Clinical and Imaging Correlations in Inherited Ataxias. *Adv. Neurol.* 1993, 61:77-96.

Klockgether T., Zühlke C., Scultz J., Bürk K., Fetter M., Dittmann H., Skalej M., Dichgans J. Friedreich's ataxia with retained tendon reflexes: Molecular genetics, clinical neurophysiology, and magnetic resonance imaging. *Neurology* 1996, 46:118-121.

Klockgether T., Lütke R., Kramer B., Abele M., Bürk K., Schöls L., Riess O., Laccone F., Boesch S., Lopes I., Brice A., Inzelberg R., Zilber N., Dichgans J. The natural history of degenerative ataxia: a retrospective study in 466 patients. *Brain* 1998, 121:589-600.

Klockgether T., Evert B. Genes involved in hereditary ataxias. *Trends. Neurosci.* 1998, 21:413-418.

Klockgether T. Recent advances in degenerative ataxias. *Curr. Opin. Neurol.* 2000, 13:451-455.

Knight S., Sepuri N., Pain D., Dancis A. Mt-Hsp70 Homolog, Ssc2p, Required for Maturation of Yeast Frataxin and Mitochondrial Iron Homeostasis. *J. Biol. Chem.* 1998, 273(29):18389-1893.

Knight S., Kim R., Pain D., Dancis A. The Yeast Connection to Friedreich Ataxia. *Am. J. Hum. Genet.* 1999, 64:365-371.

Koeppen A. The Hereditary Ataxias. *J. Neuropat. Exp. Neurol.* 1998, 57(6):531-543.

Koeppen A., Dickson A., Lamarche J., Robiraille Y. Synapses in the Hereditary Ataxias. *J. Neuropath. Exp. Neurol.* 1999, 58(7):748-761.

Koob M., Moseley M., Schut L., Benzow K., Bird T., Day J., Ranum L. An untranslated CTG expansion causes a novel form of spinocerebellar ataxia (SCA8). *Nat. Genet.* 1999, 21(4):379-384.

Koutnikova H., Campuzano V., Foury F., Dollé P., Cazzalini O., Koenig M. Studies of human, mouse and yeast homologues indicate a mitochondrial function for frataxin. *Nat. Genet.* 1997, 16:345-351.

Koutnikova H., Campuzano V., Koenig M. Maturation of wild -type and mutated frataxin by the mitochondrial processing peptidase. *Hum. Mol. Genet.* 1998, 7(9):1485-1489.

Lamont P., Davis M., Wood N. Identification and sizing of the GAA trinucleotide repeat expansion of Friedreich's ataxia in 56 patients. Clinical and genetic correlates. *Brain* 1997, 120:673-680.

Leggo J., Dalton A., Morrison P., Dodge A., Connarty M., Kotze M., Rubinstein D. Analysis of spinocerebellar ataxia types 1, 2, 3, and 6, dentatorubral-pallidoluysian atrophy, and Friedreich's ataxia in spinocerebellar ataxia patients in the UK. *J. Med. Genet.* 1997, 34:982-985.

Leone M., Brignolio F., Rosso M., Curtoni E., Moroni A., Tribolo A., Schiffer D. Friedreich's ataxia: a descriptive epidemiological study in an Italian population. *Clinical Genetic* 1990, 38:161-169.

Lodi R., Cooper M., Bradley J., Manners D., Styles P., Taylor D., Scahpira A. Deficit of in vivo mitochondrial ATP production in patients with Friedreich ataxia. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1999, 96:11492-11495.

Lopes I., Maciel P., Kish S., Gaspar C., Robitaille Y., Clark B., Koeppen A., Nance M., Schut L., Silveira I., Coutinho P., Sequeiros J., Rouleau G. Somatic Mosaicism in the Central Nervous System in Spinocerebellar Ataxia Type 1 and Machado-Joseph Disease. *Ann. Neurol.* 1996, 40:199-206.

Matilla A., Koshy B., Cummings C., Isobe T., Orr H., Zoghbi H. The cerebellar leucine-rich acidic nuclear protein interacts with ataxin-1. *Nature* 1997, 389:974-978.

Matsumura R., Futamura N., Fujimoto Y., Yangimoto S., Horikawa H., Suzumura A., Takayanagi T. Spinocerebellar ataxia type 6. Molecular and clinical features of 35 Japanese patients including one homozygous for the CAG repeat expansion. *Neurology* 1997, 49:1238-1243.

Matsuyama Z., Kawakami H., Mruyama H., Zumi Y., Komure O., Udaka F., Kameyama M., Nishio T., Kuroda Y., Nishimura M., Nakamura S. Molecular features of the CAG repeats of spinocerebellar ataxia 6 (SCA6). *Hum. Mol. Genet.* 1997, 6(8):1283-1287.

Monrós E., Smeyers P., Rodius F., Cañizares J., Molto M., Vilchez J., Pandolfo M., Lopez J., Frutos R., Prieto F., Koenig M., Palau F. Mapping of Friedreich's Ataxia Locus by identification of Recombinant Events in Patients Homozygous by Descent. *Eur. J. Hum. Genet.* 1994, 2:291-299.

Monrós E., Cañizares J., Moltó M., Rodius F., Montermini L., Cossée M., Martínez F., Prieto F., de Frutos R., Koenig M., Pandolfo M., Bertranpetit J., Palau F. Evidence for a Common Origin of Most Friedreich Ataxia Chromosome in the Spanish Population. *Eur. J. Hum. Genet.* 1996, 4:191-198.

Monrós E., Mólto M., Martínez F., Cañizares J., Blanca J., Vílchez J., Prieto F., Frutos R., Palau F. Phenotype Correlation and Intergenerational Dynamics of the Friedreich Ataxia GAA Trinucleotide Repeat. *Am. J. Hum. Genet.* 1997, 61:101-110.

Montermini L., Rodius F., Pianese L., Mólto M., Cossée M., Campuzano V., Cavalcanti F., Monticelli A., Palau F., Gyapay G., Wenhert M., Zara F., Patel P., Coccozza S., Koenig M., Pandolfo M. The Friedreich Ataxia Critical Region Spans a 150-kb Interval on Chromosome 9q13. *Am. J. Hum. Genet.* 1995, 57:1061-1067.

Montermini L., Anderman E., Labuda M., Richter A., Pandolfo M., Cavalcanti F., Panese L., Iodice L., Farina G., Monticelli A., Turano M., Filla A., De Michele G., Coccozza S. The Friedreich ataxia GAA triplet repeat: permutation and normal alleles. *Hum. Mol. Genet.* 1997, 6(8):1261-1266.

Montermini L., Kish S., Jiralerspong S., Lamrche J., Pandolfo M. Somatic mosaicism for Friedreich's ataxia GAA triplet repeat expansions in the central nervous system. *Neurology* 1997, 49:606-610.

Montermini L., Richter A., Morgan K., Justice C., Julien D., Castelloti B., Mercier J., Poirier J., Capozzoli F., Bouchard J., Lemieux B., Mathieu J., Vanasse M., Seni M., Graham G., Andermann F., Andermann E., Melancon S., Keats B., Di Donato S., Pandolfo M. Phenotypic Variability in Friedreich Ataxia: Role of the Associated GAA Triplet Repeat Expansion. *Ann Neurol.* 1997, 41:675-682.

Moseley M., Benzow K., Shut L., Bird T., Gómez C., Barkhaus P., Blindauer K., Labuda M., Pandolfo M., Koob M., Ranum L. Incidence of dominant spinocerebellar and Friedreich triplet repeats among 361 ataxia families. *Neurology* 1998, 51:1666-1671.

Moseley M., Schut L., Bird T., Koob M., Day J., Ranum L. SCA8 CTG repeat: en masse contractions in sperm and intergenerational sequence changes may play a role in reduced penetrance. *Hum. Mol. Genet.* 2000, 9(14):2125-2130.

Mrisa N., Belal S., Hamida B., Amouri R., Turki I., Mrissa R., Hamida M., Hentati F. Linkage to chromosome 13q11-12 of an autosomal recessive cerebellar ataxia in a Tunisian family. *Neurology* 2000, 54:1408-1414.

Nagaoka U., Takashima M., Ishikawa K., Yoshizawa K., Yoshizawa T., Ishikawa M., Yamawaki T., Shoji S., Mizusawa H. A gene on SCA4 locus causes dominantly inherited pure cerebellar ataxia. *Neurology* 2000, 54: 1971-1975.

Orr H., Chung M., Banfi S., Kwiatkowski T., Servadio A., Beauder A., McCall A., Duvick L., Ranum L., Zoghbi H. Expansion of an unstable trinucleotide CAG repeat in spinocerebellar ataxia type 1. *Nat. Genet.* 1993, 4:221-226.

Oshima K., Montermini L., Wells R., Pandolfo M. Inhibitory Effects of expanded GAA*TTC Triplet repeats from Intron I of the Friedreich Ataxia gene on Transcription and replication in vivo. *J. Biol.Chem.* 1998, 273(23):14588-14595.

Palau F., De Michele G., Vilchez J., Pandolfo M., Monrós E., Coccozza S., Smeyers P., Lopez J., Campanella G., Di Donato S., Filla A. Early-Onset ataxia with cardiomyopathy and retained tendonreflexes maps to the Friedreich's ataxia locus on Chromosome 9q. *Ann. Neurol.* 1995, 37:359-362.

Pandolfo M. Molecular Pathogenesis of Friedreich Ataxia. *Arch. Neurol.* 1999, 56:1201-1208.

Pedraza O.L., Botez M., Lorreine J., Elise R. Medidas del tallo cerebral en pacientes con ataxias hereditarias, una ayuda útil en la valoración radiológica. *Neurol. Colomb.* 1994, 10:61-66.

Pedraza O.L., Prieto J.C., Casasbuenas O.L., Espinosa E. Identificación clínica de las ataxias hereditarias: Estudio de 38 casos en Colombia. *Neurol. Colomb.* 1996, 12:132-140.

Pianese L., Cavalcanti F., De Michele G., Filla A., Campanella G., Calabrese O., Castaldo I., Monticelli A., Coccozza S. The effect of parental gender on the GAA dynamic mutation in the FRDA gene. *Am. J. Hum. Genet.* 1997, 60:460-463.

Prieto J.C., Pedraza O.L. ataxias hereditarias: Clasificación y genética. *Acta Neurol. Colomb.* 1994, 10(2):69-73.

Priller J., Scherzer C., Faber P., MacDonald M., Young A. Frataxin Gene of Friedreich's Ataxia Is Targeted to Mitochondria. *Ann. Neurol.* 1997, 42:265-269.

Puccio H., Koenig M., Recent advances in the molecular pathogenesis of Friedreich ataxia. *Hum. Mol. Gnete.* 2000, 9(6):887-892.

Pujana M., Corral J., Gatacaos M., Combarros O., Berciano J., Genis D., Banchs I., Estivill X., Volpini V. Spinocerebellar ataxias in Spanish patients: genetic analysis of familial and sporadic cases. *Hum. Genet.* 1999, 104:516-522.

Pulst S., Nechiporuk A., Nechiporuk T., Gispert S., Chen X., Lopes I., Pearleman S., Starkman S., Orozco G., Lunke A., DeJong P., Rouleau G., Auburger G., Korenberg J., Figueroa C., Sahba S. Moderate expansion of a normally biallelic trinucleotide repeat in spinocerebellar ataxia type 2. *Nat. Genet.* 1996, 14:269-276.

Pulst S., Filla A. Ataxias on the march from Quebec to Tunisia. *Neurology* 2000, 54:1400-1401.

Ragno M., De Michele G., Cavalcanti F., Pianese L., Monticelli A., Curatola L., Bollettini F., Coccozza S., Caruso G., Santoro L., Filla A. Broadened Friedreich's ataxia phenotype after gene cloning. Minimal GAA expansion causes late-onset spastic ataxia. *Neurology* 1997, 49:1617-1620.

Ranum L., Lundgren J., Schut L., Ahrens M., Pelam S., Aita J., Bird T., Gómez C., Orr H. Spinocerebellar Ataxia Type and Machado-Joseph disease: Incidence of CAG Expansions among Adult-Onset ataxia patients from 311 families with Dominant, Recessive, or Sporadic Ataxia. *Am. J. Hum. Genet.* 1995, 57:603-608.

Richter A., Poirier J., Mercier J., Julien D., Morgan K., Roy M., Gosselin F., Bouchard J., Melancon. Friedreich ataxia in Acadian Families From Eastern Canada: Clinical Diversity With Conserved Haplotypes. *Am. J. Med. Genet.* 1996, 64:594-601.

Rodius F., Duclos F., Wrogermann K., Leapslier D., Ougen P., Billault A., Belal S., Mussenger C., Brice A., Durr A., Mignard C., Sirugo G., Weissenbach J., Cohen D., Hentati F., Hamida M., Mandel J.L., Koenig M. Recombination in Individuals Homozygous by Descent Localize the Friedreich Ataxia Locus in a Cloned 450-Kb Interval. *Am. J. Hum. Genet.* 1994, 54:1050-1059.

Rosenberg R. DNA-Triple Repeats and Neurologic Disease. *The New England Journal of Medicine* 1996, 335(16):1222-1224.

Rosenberg R. Autosomal dominant cerebellar phenotypes: The genotype has settled the issue. *Neurology* 1995, 45:1-5.

Rötig A., Lonlay P., Chretien D., Foury F., Koenig M., Sidi D., Munnich A., Rustin P. Aconitase and mitochondrial iron-sulphur protein deficiency in Friedreich ataxia. *Nat. Genet.* 1997, 17:215-217.

Rustin P., Kleist J., Chantrel K., Sidi D., Munnich A., Rötig A. Effect of idebenone on cardiomyopathy in Friedreich's ataxia a preliminary study. *Lancet* 1999, 354:477-479.

Said G., Marion M., Selva J., Jamet C. Hypotrophic and dying-back nerve fibers in Friedreich's ataxia. *Neurology* 1986, 36:1292-1299.

Sanpei K., Takano H., Igarashi S., Sato T., Oyake M., Sasaki H., Wahisaka A., Tashiro K., Ishida Y., Ikeuchi T., Koide R., Saito M., Sato A., Tanaka T., Hanyu S., Takiyama Y., Nishizawa M., Shimizu N., Nomura Y., Segawa M., Iwabuchi K., Eguchi I., Tanaka H., takahashi H., Tsuji S. Identification of the spinocerebellar ataxia type 2 gene using a direct identification of repeat expansion and cloning technique, DIRECT. *Nat. genet.* 1996, 14:277-284.

Schöls L., Amoiridis G., Przuntek H., Frank G., Epplen J., Epplen C. Friedreich's ataxia. Revision of the phenotype according to molecular genetics. *Brain* 1997, 120:2131-2140.

Schöls L., Amoiridis G., Büttner T., Przuntek H., Epplen J., Riess O. Autosomal Dominant Cerebellar Ataxia: Phenotypic Differences in Genetically Defined Subtypes?. *Ann. Neurol.* 1997, 42:924-932.

Schöls L., Gispert S., Vargerd M., Menezes A., Saecker V., Blanke P., Aurburger G., Amoiridis G., Meves S., Epplen J., Przuntek H., Pulst S., Riess O. Spinocerebellar Ataxia Type 2: Genotype and Phenotype in German Kindreds. *Arch. Neurol.* 1997, 54:1073-1080.

Silva R., Stockton D., Ketas B., Justice C., Richards C., Ashizawa T. Delayed diagnosis of Friedreich's ataxia due to coexisting recessive deaf/blind syndrome. *Neurology* 1998, 50:1924-1925.

Silveira L., Coutinho P., Maciel P., Gaspar C., Hayes S., Dias A., Guimarães J., Loureiro L., Sequeiros J., Rouleau G. Analysis of SCA1, DRPLA, MJD, SCA2, and SCA6 CAG Repeats in 48 Portuguese Ataxia Families. *Am. J. Med. Genet.* 1998, 81:134-138.

Sinden R. Biological implications of the DNA Structures Associated with Disease-Causing Triplet Repeats. *Am. J. Hum. Genet.* 1999, 64:346-353.

Sirugo G., Keats B., Fujita R., Duclos F., Purohit K., Koenig M., Mandel J.L. Friedreich Ataxia in Louisiana Acadians: Demonstration of a founder Effect by Analysis of Microsatellite-generated Extended Haplotypes. *Am. J. Hum. Genet.* 1992, 50:559-566.

Soong B., Cheng C., Liu R., Shan D. Machado-Joseph Disease: Clinical, Molecular, and Metabolic Characterization in Chinese Kinreds. *Ann. Neurol.* 1997, 41:446-452.

Stevanin G., Dürr A., David G., Didierjean O., Cancel G., Rivaud S., Tourbah A., Water J., Agid Y., Brice A. Clinical and molecular features of spinocerebellar ataxia type 6. *Neurology* 1997, 49:1243-1246.

Stevanin G., Herman A., Dürr A., Jodice C., Frontali M., Agid Y., Brice A. Are (CTG)_n expansions at the SCA8 locus rare polymorphisms?. *Nat. genet.* 2000, 24:213.

Storey E., Forrest S., Shaw J., Mitchell P., Gardener J. Spinocerebellar Ataxia Type 2. Clinical features of a Pedigree displaying prominent frontal-executive dysfunction. *Arch. Neurol.* 1999, 56:43-50.

Stumpf D., Parks J., Eguren I., Haas R. Friedreich ataxia: III. Mitochondrial malic enzyme deficiency. *Neurology* 1982, 32:221-227.

Takiyama Y., Sakoe K., Soutome M., Namekawa M., Ogawa T., Nakano I., Igarashi G., Oyake M., Tanaka H., Tsuji S., Nishizawa M. Single sperm analysis of the CAG repeats in the gene for Machado-Joseph disease (MJD1): evidence for non-Mendelian transmission of the MJD1 gene and for the effect of the intragenic CGG/GGG polymorphism on the intergenerational instability.

Tang B., Liu Ch., Shen L., Dai H., Pan Q., Jing L., Ouyang S., Xia J. Frequency of SCA1, SCA2, SCA3/MJD, SCA6, SCA7, and DRPLA CAG Trinucleotide Repeat Expansion in Patients With Hereditary Spinocerebellar Ataxia From Chinese Kinreds. *Arch. Neurol.* 2000, 57:540-544.

Wallis J., Shaw J., Wilkes D., Farrall M., Williamson R., Chamberlain S., Skare J., Milunsky A. prenatal Diagnosis of Friedreich ataxia. *Am. J. Med. Genet.* 1989, 34:458-461.

Wells R. y Warren S. 1998. Genetic Instabilities and Hereditary Neurological Diseases. Academic Press. Houston. USA.

Wilson R., Lynch D., Fishbeck K. Normal Serum Iron and Ferritin Concentrations in Patients with Friedreich's ataxia. *Ann. Neurol.* 1998, 44:132-134.

Wilson R., Roof D. Respiratory deficiency due to loss of mitochondrial DNA in yeast lacking the frataxin homologue. *Nat. Genet.* 1997, 16:352-357.

Wolf U. Identical mutations and phenotypic variation. *Hum. Genet.* 1997, 100:305-321.

Zhu S., Gerhard D. A transcript map of an 800-Kb region on human chromosome 11q13, part of the candidate region for SCA5 and BBS1. *Hum. Genet.* 1998, 103:674-680.

Zhuchenko O., Bailey J., Bonnen P., Ashizawa T., Stockton D., Amos C., Dobyns W., Subramony S., Zoghbi H., Lee C. Autosomal dominant cerebellar ataxia (SCA6) associated with small polyglutamine expansions in the α 1A. voltage-dependent calcium channel. *Nat. genet.* 1997, 15:63-68.

Zoghbi H. CAG Repeats in SCA6. Anticipating new clues. *Neurology* 1997, 49:1196-1199.

Zühlke C., Laccone F., Cossée M., Kohlsch. Mutation of the start codon in the FRDA1 gene: linkage analysis of three pedigrees with the ATG to ATT transversion points to a unique common ancestor. *Hum. Genet.* 1998, 103:102-105.