Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América

Dirección General de Estudios de Posgrado
Facultad de Ciencias Biológicas
Unidad de Posgrado

Distribución del triplete CAG del gen ATXN1 asociado a la Ataxia Espinocerebelosa Tipo 1 en una muestra de la población mestiza del Norte Chico-Lima

TESIS

Para optar el Grado Académico de Magíster en Genética

AUTOR

Nelly Claudia GONZALES SAENZ

ASESOR

Mg. Claudia Fiorella BARLETTA CARRILLO

Lima, Perú

2023



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Gonzales, N. (2023). *Distribución del triplete CAG del gen ATXN1 asociado a la Ataxia Espinocerebelosa Tipo 1 en una muestra de la población mestiza del Norte Chico-Lima*. [Tesis de maestría, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Ciencias Biológicas, Unidad de Posgrado]. Repositorio institucional Cybertesis UNMSM.

Metadatos complementarios

Datos de autor	
Nombres y apellidos	Nelly Claudia Gonzales Saenz
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	46296417
URL de ORCID	https://orcid.org/0000-0001-9094-1127
Datos de asesor	
Nombres y apellidos	Claudia Fiorella Barletta Carrillo
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	40846770
URL de ORCID	https://orcid.org/0000-0001-9982-5368
Datos del jurado	
Presidente del jurado	
Nombres y apellidos	Patricia Gloria Woll Toso
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	10587728
Miembro del jurado 1	
Nombres y apellidos	Fernando Octavio Retuerto Prieto
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	08212301
Miembro del jurado 2	
Nombres y apellidos	Mónica Yolanda Paredes Anaya
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	07901815

Datos de investigación	
Línea de investigación	C.3.1.2.
Grupo de investigación	Centro de Investigación Básica en Neurogenética (CIBN) del Instituto de Ciencias Neurológicas (INCN)
Agencia de financiamiento	Centro de Investigación Básica en Neurogenética (CIBN) del Instituto de Ciencias Neurológicas (INCN)
Ubicación geográfica de la investigación	Perú, Lima. Lima, Barrios Altos, Jr. Ancash 1271 Latitud: -12.045572 | Longitud: -77.016107
Año o rango de años en que se realizó la investigación	2013-2015
URL de disciplinas OCDE	Genética Humana: **https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#3.01.02** Neurociencias: **https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#3.01.04**

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
Universidad del Perú. Decana de América

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

UNIDAD DE POSGRADO

Exped. N.º 239-UPG-FCB-2023

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS PARA OPTAR AL GRADO ACADÉMICO DE MAGÍSTER EN GENÉTICA

Siendo las 10:00 horas del día 15 de diciembre de 2023, en el auditorio de la Facultad de Ciencias Biológicas, el Jurado de Tesis presidido por:

Mg.	Patricia Gloria Woll Toso	e integrado por
Mg.	Fernando Octavio Retuerto Prieto	(Miembro)
Dra.	Mónica Yolanda Paredes Anaya	(Miembro)
Mg.	Claudia Fiorella Barletta Carrillo	(Asesora)

Se reunió para la sustentación oral y pública de la Tesis para optar al Grado Académico de Magíster en Genética, que solicitara la señora Bachiller **NELLY CLAUDIA GONZALES SAENZ.**

Después de darse lectura al **Expediente N.º 239-UPG-FCB-2023,** en el que consta haberse cumplido con todas las disposiciones reglamentarias, los señores miembros del Jurado presenciaron la exposición de la Tesis Titulada:

"Distribución del triplete CAG del gen ATXN1 asociado a la Ataxia Espinocerebelosa Tipo 1 en una muestra de la población mestiza del Norte Chico-Lima", y formuladas las preguntas, éstas fueron absueltas por la graduando.

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

Universidad del Perú. Decana de América

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

UNIDAD DE POSGRADO

Acto seguido el Jurado procedió a la votación la que dio como resultado el calificativo de: ..Excelente..... con la nota de ..Diecinueve (19)

A continuación, la Presidente del Jurado de Tesis recomienda que la Facultad proponga que la Universidad le otorgue el grado académico de Magíster en Genética, a la señora Bachiller **NELLY CLAUDIA GONZALES SAENZ.**

Siendo las 11:20 se levantó la sesión, recibiendo la graduando las felicitaciones de los señores miembros del Jurado y público asistente.

Se extiende la presente Acta en Lima, a los 15 días del mes de diciembre del año 2023.

Mg. Patricia G. Woll Toso
Profesora Principal a D.E.
PRESIDENTE
pwollt@unmsm.edu.pe

Mg. Claudia F. Barletta Carrillo
Profesora Auxiliar T.C.
ASESORA
cbarlettac@unmsm.edu.pe
RENACYT P0111899

Dra. Mónica Y. Paredes Anaya
Profesora Principal a T.C.
MIEMBRO
mparedesa@unmsm.edu.pe
RENACYT P0000125

Mg. Fernando O. Retuerto Prieto
Profesor Principal a D.E.
MIEMBRO
fretuertop@unmsm.edu.pe
RENACYT P0003078

CERTIFICADO DE SIMILITUD

Yo Claudia Fiorella Barletta Carrillo en mi condición de asesor acreditado con la Resolución Decanal N° 000962-2023-D-FCB/UNMSM de la tesis, cuyo título es: "**Distribución del triplete CAG del gen ATXN1 asociado a la Ataxia Espinocerebelosa Tipo 1 en una muestra de la población mestiza del Norte Chico-Lima**", presentado por la licenciada **NELLY CLAUDIA GONZALES SAENZ** para optar el grado de **MAGÍSTER EN GENÉTICA.**

CERTIFICO: que se ha cumplido con lo establecido en la Directiva de Originalidad y de Similitud de Trabajos Académicos, de Investigación y Producción Intelectual. Según la revisión, análisis y evaluación mediante el software de similitud textual, el documento evaluado cuenta con el porcentaje de 5 % de similitud, nivel **PERMITIDO** para continuar con los trámites correspondientes y para su **publicación en el repositorio institucional.**

Se emite el presente certificado en cumplimiento de lo establecido en las normas vigentes, como uno de los requisitos para la obtención del grado/ título/ especialidad correspondiente.

Firma del Asesor
DNI: 40846770
Claudia Fiorella Barletta Carrillo



Agradecimientos

A ti mi Dios padre amoroso porque me has bendecido dándome todo. Te agradezco hoy especialmente el haberme dado mi profesión y mi maestría, gracias por darme la salud y la fortaleza para llegar a culminar este trabajo de tesis, gracias padre Santo.

A mis queridos padres por su amor y apoyo en todos mis estudios, en especial a mi madre Eva, la incondicional.

A mis apreciados mentores investigadores del Centro de Investigación Básica en Neurogenética del Instituto Nacional de Ciencias Neurológicas: Pilar Mazzetti, Mario Cornejo, Victoria Marca y Olimpio Ortega, por el gran apoyo y arduo esfuerzo realizado en este trabajo.

A mi asesora de tesis Mg. Claudia Barletta por la orientación y ayuda brindada en la elaboración de este trabajo de tesis.

A Saúl Lindo por su gran apoyo analítico y logístico.

Dedicatoria

Te entrego esta Tesis de Maestría como un regalo de amor a ti, mi Reyna, Madre y Maestra: María y a ti mi adorado Jesús como un regalo de reparación.

A ti mi amado esposo Jorge que caminas junto a mí en la vida, y a ustedes queridos hijos Uriel y Jeshua quienes llegaron a mi vida para hacer de mí mejor cada día.

CONTENIDO

1. INTRODUCCIÓN 1
2. MARCO TEÓRICO 4
   2.1. Ataxias 4
   2.2. Ataxias hereditarias 4
   2.3. Ataxia espinocerebelosa tipo 1 (SCA1): 5
   2.4. Caracterización Molecular del Gen ATXN1 6
   2.5. Ataxina 1 y Patogénesis Molecular de la SCA1 7
   2.6. Segmento de triplete repetido CAG e interrupciones CAT 9
   2.7. Distribución alélica del segmento CAG del gen ATXN1 - Alelos normales grandes (LN) 11
3. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS 16
4. MATERIALES Y MÉTODOS 17
   4.1. Tipo y diseño de estudio 17
   4.2. Población 17
   4.3. Materiales 18
      4.3.1. Insumos moleculares 18
      4.3.2. Reactivos 18
      4.3.3. Material de plástico 18
      4.3.4. Material de vidrio 19
      4.3.5. Aparatos y equipos 19
   4.4. Metodología 19
      4.4.1. Muestras 19
      4.4.2. Análisis Molecular 20
      4.4.3. Análisis estadístico 22
      4.4.4. Aspectos éticos 22
5. RESULTADOS 23
   5.1. Distribución del triplete CAG (n) en el gen ATXN1 23
   5.2. Análisis de polimorfismo de longitud de fragmentos de restricción (RFLP) para detección de interrupciones CAT 24
   5.3. Comparación de la frecuencia de alelos normales grandes (LN) ATXN1 de población peruana con otras poblaciones 24
6. DISCUSIÓN 26
7. CONCLUSIONES 29
8. RECOMENDACIONES 30
9. REFERENCIAS 31
10. ANEXOS 46

Resumen

Introducción: La ataxia espinocerebelosa tipo 1 (SCA1), es una ataxia cerebelosa autosómico dominante causada por la expansión anormal del microsatélite CAG dentro del gen *ATXN1*. La SCA1 es una de las más prevalentes a nivel mundial, con variaciones que dependen del origen geográfico. En algunas poblaciones se ha relacionado la frecuencia alta de alelos normales grandes (LN) con la prevalencia de SCA1, por lo cual son sugeridos como alelos de riesgo poblacional. Así mismo, la inestabilidad del triplete CAG en este locus, también se ha relacionado con la perdida de interrupciones CAT. La frecuencia de SCA1 en el Perú es baja y son muy pocos los estudios que muestran la distribución alélica para loci de ataxias hereditarias y no existe información sobre la distribución del triplete CAG en el locus de la SCA1. **Objetivos:** 1) Determinar la distribución del triplete CAG del gen *ATXN1*. 2) Determinar la frecuencia de alelos LN y la presencia de las interrupciones CAT en una muestra de la población mestiza peruana y 3) Determinar la asociación de los alelos LN con la frecuencia relativa de SCA1 en el Perú comparada con otras poblaciones. **Métodos:** Un total de 213 muestras de ADN fueron genotipificadas de individuos sanos mestizos del Norte de Lima por Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) y electroforesis en geles de poliacrilamida (PAGE). La identificación de las interrupciones CAT en 40 muestras con alelos más grandes se realizó mediante un análisis de restricción utilizando la enzima Lwel (*SfaNI*). Se realizó una comparación de la frecuencia de los alelos LN y la frecuencia relativa de SCA1 para esta muestra peruana y en otras poblaciones. **Resultados:** Se determinaron 12 alelos diferentes, en un rango de 24 a 35 repeticiones CAG siendo los alelos de 29 (21.1%) y 30 (22.8%) los más frecuentes. Los alelos LN presentaron una frecuencia de 16% del total de los alelos (n=68 alelos) en un rango de 32 a 35 repeticiones CAG. Las interrupciones CAT fueron detectadas en las 40 muestras. **Conclusión:** El porcentaje de alelos LN para *ATXN1* es de un rango intermedio respecto a otras poblaciones. Esta frecuencia de alelos LN no está relacionada con la frecuencia de SCA1, lo que sugiriere que el tamaño alélico del segmento CAG en el gen *ATXN1* junto con la interacción de otros factores, como el número de las interrupciones CAT en el segmento; así como el tamaño de los fragmentos a cada lado de la interrupción, pueden estar modificando la frecuencia relativa de SCA1 en la población peruana.

Palabras clave: Alelos normales grandes, ataxia, microsatélite, PCR, peruanos

Abstract

Introduction: Spinocerebellar ataxia type 1 (SCA1) is an autosomal dominant cerebellar ataxia caused by abnormal expansion of the CAG microsatellite within the *ATXN1* gene. The SCA1 is one of the most prevalent SCAs worldwide, with variations depending on geographic origin. In some populations, the high frequency of large normal (LN) alleles has been related to the prevalence of SCA1, therefore they have been proposed as population risk alleles. Likewise, the instability of the CAG repeats at this locus has also been related with the loss of CAT interruptions. The frequency of SCA1 in Peru is quite low and there are very few studies showing the allelic distribution for ataxia loci and there is no information about the distribution of the CAG triplet at the SCA1 locus. **Objectives:** 1) To determine the distribution of the CAG triplet of the *ATXN1* gene. 2) To determine the frequency of LN alleles and the presence of CAT interruptions in a sample of the Peruvian mestizo population and 3) To determine the association of LN alleles with the relative frequency of SCA1 in Peru compared with other populations. **Methods:** A total of 213 DNA samples were genotyped from healthy mestizo individuals from northern Lima by Polymerase Chain Reaction (PCR) and polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE). The identification of CAT interruptions in 40 samples with larger alleles was performed by restriction analysis using the LweI enzyme (*SfaNI*). Comparison of LN alleles frequency and SCA1 relative frequency was performed for this Peruvian sample and across other populations. **Results:** We identified twelve different alleles ranging from 24 to 35 CAG repeats, with the 29 (21.1%) and 30 (22.8%) alleles being the most frequent. LN alleles presented a frequency of 16% of the total alleles (n=68 alleles) in a range of 32 to 35 CAG triplets. CAT interruptions were detected in all 40 samples. **Conclusion**: The percentage of LN alleles for *ATXN1* is on intermediate range with respect other populations. This LN alleles frequency is not related with the SCA1 frequency, suggesting that the allelic size of the CAG segment at the *ATXN1* gene together with the interaction of other factors, such as number of CAT interruptions in the segment; as well as the size of the fragments on each side of the interruption, might be modifying the SCA1 relative frequency in the Peruvian population.

Keywords: Large normal alleles, ataxia, microsatellite, PCR, Peruvians

1. INTRODUCCIÓN

Las Ataxias Espinocerebelosas (SCAs) son un grupo de enfermedades heterogéneas, caracterizadas por el deterioro del cerebelo y sus vías aferentes y eferentes. Estas enfermedades son conocidas como raras o huérfanas en el Perú. Las más conocidas, son causadas por expansiones de microsatélites CAG como ocurre en la SCA1, SCA2, la enfermedad de Machado Joseph (MJD/SCA3), SCA6, SCA7, SCA12, SCA17 y la Atrofia Dentatorubropalidoluisiana (DRPLA) (López-Flores & Garrido-Ramos, 2010).

La prevalencia general de las SCAs es de 3 por cada 100 000 individuos, con variaciones de acuerdo al subtipo de SCA y grupo étnico de la población mundial (Schöls et al., 2004). La ataxia espinocerebelosa tipo 1(SCA1) es una de las más frecuentes, con una prevalencia global de 6% entre las Ataxias Cerebelosas Autosómico Dominantes ADCAs (Teive, 2009), con rangos entre 0% como en México y Corea del Sur (Magaña et al., 2014; Jin et al., 1999) o hasta con una prevalencia de 46 casos por cada 100 000 en Yakutos siberianos (Platonov et al., 2016). La mutación asociada con la SCA1, se encuentra en el gen *ATXN1* en la región cromosómica 6p23. Los Individuos normales tienen alelos entre 6 a 44 CAG con 1 a 3 interrupciones CAT (Chung et al., 1993). Los alelos con 36 a 38 CAG sin presencia de CAT, son conocidos como alelos intermedios o mutables normales. Estos alelos, no se han relacionado con síntomas de la enfermedad, pero se ha sugerido, que podrían expandirse en generaciones subsiguientes como en algunas enfermedades relacionadas a repeticiones de trinucleótidos (Andrew et al., 1997; Opal P & Ashizawa T, 1998). Los alelos patológicos llevan 39 tripletes CAG a más, sin interrupciones (Chung et al., 1993).

Los alelos normales grandes (LN), son considerados, aquellos que se encuentran en el 10% de la distribución superior alélica y han sido propuestos como probables factores de expansión hacia rangos patogénicos en una población, ya que pueden alterar la tasa de mutación de los microsatélites. Algunos estudios, muestran que el aumento del tamaño en el número de repeticiones de un microsatélite incrementa su tasa de mutación, conllevando a la formación de estructuras de ADN secundario mediados por procesos metabólicos de replicación, reparación y recombinación (Gacy et al., 1995; Pearson et al., 2005). Estudios en la enfermedad de Huntington, han asociado la prevalencia de esta enfermedad con la elevada frecuencia de alelos LN (Kay et al., 2018; Squitieri et al., 1994); así mismo, la alta frecuencia de alelos LN en el locus de la SCA2 en cubanos se ha relacionado con una alta prevalencia de esta enfermedad (Laffita-Mesa et al., 2012). Otros estudios para la SCA1, MJD/SCA3 y SCA6 han sugerido la misma relación entre los alelos LN y estas

enfermedades (Krishna et al., 2007; Mittal et al., 2005; Storey et al., 2000; Takano et al., 1998) ; sin embargo, otros estudios discrepan de estas asociaciones (Magaña et al., 2014).

La ausencia de interrupciones en el segmento repetido CAG también se ha asociado con la inestabilidad de microsatélites, dado que un segmento CAG puro es propenso a formar estructuras secundarias. Las secuencias que interrumpen los segmentos CAG, desestabilizan las estructuras secundarias de ADN y dificultan la formación de horquillas (Gacy et al., 1995; Pearson et al., 1998). El microsatélite CAG en el locus de *ATXN1* presenta hasta tres trinucleótidos CAT cuya frecuencia puede variar entre las diferentes poblaciones. Los alelos expandidos para SCA1 no llevan interrupciones CAT.

Algunos estudios que han evaluado la frecuencia de CAT en población yakuta siberiana, norteamericana, india y china sugieren que a una alta frecuencia poblacional con una sola interrupción CAT, también se presenta una alta frecuencia relativa de SCA1 entre las SCAs (Chung et al., 1993; Mittal et al., 2005; Zhou et al., 2001). Estudios en el microsatélite de la SCA17, también evidencian el rol estabilizador de las interrupciones (CAA) con una frecuencia de alelos CAG expandidos al menos dos veces mayor que los alelos con interrupciones CAA (Gao et al., 2008).

La distribución de los alelos normales en el locus de la SCA1 se ha descrito en varios grupos étnicos de Asia, Europa y África, con excepción de Brasil y México, en Latinoamérica no se muestran estudios de distribución normal alélica en la población general (Freund, et al., 2009; Juvonen et al., 2005; Limprasert et al., 1996, 1997; Magaña et al., 2014; Popova et al., 2001; Silveira et al., 2002; Sobczak & Krzyzosiak, 2004). Así mismo, la frecuencia de CAT en el locus *ATXN1*, se ha descrito en algunas poblaciones, pero ninguna de Latinoamérica (Chung et al., 1993; Sobczak & Krzyzosiak, 2004; Zhou et al., 2001). Es por ello, que estudiar la frecuencia poblacional de los alelos LN y las interrupciones del microsatélite CAG del locus *ATXN1*, contribuye al conocimiento de la epidemiología de la SCA1 en el Perú y por tanto en Latinoamérica.

El Centro de Investigación Básica en Neurogenética (CIBN) del Instituto Nacional de Ciencias Neurológicas (INCN) ha implementado el análisis molecular para el diagnóstico de varias ataxias espinocerebelosas, entre ellas la SCA1. La alta frecuencia de alelos LN se ha sugerido como probable factor de riesgo poblacional para el desarrollo de la SCA1 en algunas poblaciones. Este estudio busca determinar la distribución del tamaño alélico, determinando la frecuencia de alelos LN en una muestra de la población peruana incrementando el estudio de la epidemiologia de la SCA1 y por tanto de las enfermedades

raras o huérfanas en el Perú. Para ello, se genotipificaron 213 individuos del norte de Lima por la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), autodeclarados mestizos y se comparó la frecuencia de los alelos LN con la frecuencia de la SCA1 en diferentes poblaciones. También se detectaron las interrupciones CAT mediante la técnica de Polimorfismos de Longitud de Fragmentos de Restricción (RFLP) dentro del microsatélite *ATXN1* en 40 individuos portadores en su gran mayoría de alelos normales grandes.

2. MARCO TEÓRICO

2.1. Ataxias

Ataxia proviene del griego a “sin” y taxia “orden” denota un síndrome clínico de incoordinación en la marcha o movimiento, pero también, hace referencia a un grupo de enfermedades del sistema nervioso en las que la ataxia progresiva es la manifestación clínica destacada (Rodríguez Pupo et al., 2019). Las ataxias pueden ser clasificadas en ataxias hereditarias, ataxias degenerativas no hereditarias y ataxias adquiridas.

2.2. Ataxias hereditarias

Las ataxias hereditarias son un grupo de enfermedades genéticas neurodegenerativas, caracterizadas por incoordinación progresiva en extremidades y en la marcha, alteración variable de movimientos oculares y disartria; también pueden estar asociadas con atrofia cerebelosa y/o del tronco cerebral; así como también con neuropatía. El patrón de herencia incluye variantes, como las ataxias espinocerebelosas autosómico dominantes (conocidas como ADCAs), autosómico recesivas y ligadas al cromosoma X. Las ataxias autosómico dominantes, en su gran mayoría incluyen a las ataxias espinocerebelosas (SCA) y las ataxias episódicas (EAs) (H. Paulson & Ammache, 2001; Schöls et al., 2004).

Clásicamente, las ataxias autosómico dominantes (ADCA) han sido clasificadas de forma clínica y genética basada en el tipo de mutación. La clasificación clínica, modificada de Harding, 1982 considera 3 tipos:

1) ADCA I: Caracterizada principalmente por ataxia cerebelar combinada con oftalmoplejía, deterioro cognitivo, neuropatía periférica, signos piramidales, extrapiramidales y demencia. En este grupo tenemos como ejemplos a la SCA1, SCA2, enfermedad de Machado-Joseph o SCA3, SCA6 y SCA10.
2) ADCA II: Se caracteriza por ataxia cerebelar con presencia de retinopatía pigmentaria como ocurre en la SCA7.
3) ADCA III: Incluye la ataxia cerebelar pura en la que el proceso degenerativo es limitado al cerebelo, destacan SCA5, SCA11 y SCA31 (Harding, 1983; Schelhaas et al., 2000).

Las ataxias espinocerebelosas, según el tipo de mutación se clasifican en:

1) SCAs por expansión de poliglutaminas: Generadas por mutaciones en la región codificante del gen por un trinucleótido polimórfico expandido CAG que codifica un

fragmento anormal de poliglutamina en la proteína ataxina. Incluyen las SCA1, SCA2, SCA3, SCA6, SCA7, SCA17 y la atrofia DRPLA.

2) SCAs por mutación en regiones no codificantes: generadas por mecanismos de ganancia de función, a través de las acumulaciones de transcriptos que contienen repeticiones expandidas CUG o CCUG. Se incluyen la SCA8, SCA10, SCA12 y SCA31.

3) SCAs causadas por mutaciones convencionales: como deleciones, mutaciones de cambio de sentido, mutaciones sin sentido y por cambio en el sitio de empalme en genes específicos. En este grupo se incluyen las SCA5, SCA11, SCA13, entre otras (Durr, 2010; H. L. Paulson, 2009).

2.3. Ataxia espinocerebelosa tipo 1 (SCA1):

Se caracteriza por ataxia cerebelosa progresiva de las extremidades inferiores y trastornos de la marcha. Se añaden progresivamente disartria, síntomas bulbares y piramidales, movimientos sacádicos hipermétricos, nistagmo, oftalmoplejía, espasticidad, disfagia leve entre otros síntomas (Durr, 2010; Schöls et al., 2004). La edad de inicio de la enfermedad se produce alrededor de la tercera o cuarta década de vida, aunque existen formas juveniles y tardías (Opal P & Ashizawa T, 1998).

La prevalencia global de la SCA1 es de 1 a 2 casos por cada 100 000 habitantes, representando aproximadamente el 6% de las ADCA, con variaciones que dependen de la localización geográfica y grupos étnicos (Schöls et al., 2004). Por ejemplo, la prevalencia más alta de SCA1 se ha reportado en población siberiana Sakha (yakutos) con 100% entre las ADCAs (Platonov et al., 2016), seguido por Polonia con 68% (Krysa et al., 2016), Sudáfrica (Región del Cabo Occidental) representando 41% de 54 familias con ataxia dominante (Bryer et al., 2003). Otras regiones de Europa y Asia con frecuencias elevadas de SCA1 son: Serbia: 34% (Dragasević et al., 2006), Australia: 30% (Storey et al., 2000), Italia: 24% (Filla et al., 2000), e India: 22% (Mittal et al., 2005). Menores frecuencias de SCA1 se han reportado en países europeos, como en Francia (13.6%). En España y Alemania SCA1 representa menos del 10% (Dubourg et al., 1995; Pujana et al., 1999; Schöls et al., 1997). En países asiáticos como China, la SCA1 representa menos del 10% de las ataxias dominantes. En Japón y Corea, la SCA1 tiene frecuencias muy bajas; sin embargo, en la zona norte de Japón la frecuencia relativa de SCA1 llega hasta casi la mitad de los casos de ataxias hereditarias (Jin et al., 1999; Kameya et al., 1995; Onodera et al., 2000; Sasaki et al., 2003; Zhou et al, 2001).

En América del Norte, Canadá reporta una frecuencia de SCA1 de 4.8% (Kraft et al., 2005). En Estados Unidos, la prevalencia de SCA1 es del 5.6% de las ataxias dominantes (Moseley et al., 1998).

En Latinoamérica, México hasta el momento no reporta casos de SCA1 (Alonso et al., 2007; Magaña et al., 2014). Cuba presenta una frecuencia relativa de SCA1 <1% (González-Zaldívar et al., 2015; Pérez et al., 2009); Venezuela 17.2% (Paradisi et al., 2016); Chile solo reporta un caso de SCA1 (León & Chaná, 2018). En Brasil la frecuencia de SCA1 oscila entre 2.9% a 6%, dependiendo de la localización respecto del total de ataxias autosómico dominantes (Cintra et al., 2014; de Castilhos et al., 2014; Lopes-Cendes et al., 1997; H. A. Teive et al., 2012). Argentina reporta 5 casos de SCA1 en un estudio prospectivo (Rodríguez-Quiroga et al., 2015). No se encuentran descripciones publicadas de SCA1 en otros países latinoamericanos (Lopes-Cendes et al., 1997). En nuestro país, se han dado reportes de casos aislados de SCA3, SCA7 y SCA10 (Castañeda et al., 2000; Cornejo Olivas et al., 2013; Ramírez et al., 2012) y recientemente se ha diagnosticado un caso esporádico de SCA1 de 38 familias SCAs perteneciente a la zona norte del Perú, haciendo que SCA1 tenga una prevalencia de 2% entre las ADCAs (Cornejo-Olivas et al., 2020).

2.4. Caracterización Molecular del Gen *ATXN1*

El locus del gen de la SCA1 o *ATXN1* se localiza en la región cromosómica 6p22.3, abarcando 450 kb de ADN genómico, organizado en 9 exones. El transcripto de SCA1 abarca 10 660 pb. Los siete primeros exones no son codificantes y se encuentran en la región 5' no traducible de 935 pb, su tamaño varía de 49 a 157 pb y están separados por grandes intrones que componen 400 kb de ADN genómico. Los dos últimos exones son grandes. El exón 8 tiene 2080 pb y el exón 9 presenta 7805 pb, ambos contienen la región codificadora de 2448 pb, y 7277 pb de la región 3' no traducible. Los 4 primeros exones sufren *splicing* alternativo en varios tejidos, indicando que la transcripción y traducción de este gen es compleja (Banfi et al., 1994). La región codificadora del exón 8, es la que contiene al microsatélite CAG, cuya expansión anormal es la que produce la enfermedad SCA1 (Orr et al., 1993).

El gen *ATXN1* codifica la proteína ataxina 1, constituida por 792-829 aminoácidos; contiene un segmento de poliglutamina cuyo tamaño varía según el número de repeticiones CAG. Su expresión se produce tanto en células neuronales como no neuronales. En tejidos neuronales la ataxina-1 se encuentra en el núcleo celular de todas las regiones cerebrales;

sin embargo, en células cerebelares de Purkinje, se localiza tanto en el núcleo como en el citoplasma. En tejido no neuronal como músculo esquelético, corazón e hígado, se localiza principalmente en el citoplasma. La proteína mutante tiene los mismos patrones de distribución nuclear/citoplasmático de la proteína silvestre en personas afectadas con SCA1. Esta proteína mutante se acumula en las células de Purkinje formando agregados nucleares y citoplasmáticos (Servadio et al., 1995).

2.5. Ataxina 1 y Patogénesis Molecular de la SCA1

En la enfermedad SCA1, la expansión de poliglutamina en la proteína ataxina-1 conlleva a su mal plegamiento, produciendo conformaciones aberrantes, llevando a la exposición de residuos hidrofóbicos y formando agregados insolubles en el núcleo (inclusiones nucleares), produciendo disfunción celular y eventualmente muerte celular. Estudios con modelos animales y tejidos de pacientes SCA1, indican que además de la acumulación de la proteína mutante en el núcleo, también se pueden encontrar otras proteínas como chaperonas y componentes del sistema ubiquitina-proteosoma. Este hecho sugiere que el mal plegamiento de la proteína mutante ataxina-1 produce una respuesta de estrés para disminuir la cantidad de esta proteína, produciendo toxicidad en las células diana de SCA1 (Matilla-Dueñas et al., 2008).

Además de la expansión de la poliglutamina, se conoce que la ataxina-1 mutante posee varios dominios con los que interactúa con otras proteínas, que pueden explicar la citotoxicidad observada en la SCA1. El extremo C-terminal de la ataxina-1 posee una región altamente conservada con tres dominios funcionales importantes: El dominio de unión 14-3-3, el ligando del motivo de homología U2AFy una señal de localización nuclear (NLS). Así mismo, cerca del extremo C-terminal, se encuentra el dominio globular AXH (*ataxin a/HMG-box protein*) altamente conservado, el cual, puede unirse al ARN y mediar muchas interacciones proteína-proteína. Todos estos dominios, permiten a la ataxina-1 unirse a diversas proteínas como factores de transcripción, factores de corte y empalme y proteínas lanzadera entre el núcleo y el citoplasma (Irwin et al., 2005; Yue et al., 2001). Entre los coactivadores y represores de la transcripción más caracterizados se incluyen: ANP32A/LAMP, *ATXN1*L, CBF1, Homologo capicúa CIC, GFI-1, HDAC3, Proteína de unión Poly Q 1, RORα-tip60, SMRTER y SP1. RBM17 y U2AF65 como factores de S*plicing* alternativo (Matilla-Dueñas et al., 2014).

Algunos de estos factores tienen un rol clave en la patogénesis de SCA1. Por ejemplo, la proteína 14-3-3 se une con mayor afinidad a la ataxina-1 mutante mediante su dominio

de unión 14-3-3 en su extremo C-terminal, incrementando sus niveles y por consiguiente una mayor cantidad de inclusiones nucleares, conllevando a los procesos de neurodegeneración (Chen et al., 2003). El dominio NLS en su extremo C-terminal permite a la ataxina-1 localizarse en el núcleo y su mutación anula totalmente la toxicidad en un modelo transgénico (Klement et al., 1998).

La ataxina-1 a través de su dominio AXH se une a diversos complejos proteicos entre ellos, al represor transcripcional capicúa (Cic), cuya actividad represiva se ve alterada en presencia de la ataxina-1 mutante, actuando mediante un mecanismo de ganancia de función, ya que afecta la función normal de Cic y exacerba su función represora de genes normal *in vivo* (Lam et al., 2006; Ortiz & Orr, 2018). De forma similar el dominio AXH que media la interacción con tip60/ Receptor de ácido retinoico alfa (ROR α), con Gfi y *ATXN1*L, en presencia de la ataxina-1 expandida, altera su estabilidad y actividad de los complejos nativos así como sus propios niveles. Algunos estudios muestran que al nivelar a sus compañeros nativos, incluso mediante la eliminación del dominio AXH o a través de la alteración de la longitud del segmento poly Q, se puede modular el perfil patológico en modelos transgénicos (Bowman et al., 2007; Gehrking et al., 2011; Tsuda et al., 2005).

Otro factor importante en la patogénesis de SCA1 es la proteína nuclear ácida rica en leucina (LANP), la cual puede unirse al dominio de unión AXH como al segmento polyQ de ataxina-1. Se cree que la ataxina-1 expandida compite por la unión de LANP con el represor transcripcional P120E4F, lo cual puede explicar la patología neuronal en las células de Purkinje ya que la reducción de LANP en ratones *knock-in* revierte el adelgazamiento de la capa molecular en estas células (Cvetanovic et al., 2007, 2012; Opal et al., 2003).

Las modificaciones post-traduccionales también juegan un rol importante en la patogénesis de SCA1; particularmente, en el extremo C-terminal, la fosforilación de la serina en la posición 776 (S776) es clave para la toxicidad de la ataxina-1. Estudios en modelos transgénicos y cultivos celulares, evidencian que la mutación en este residuo que impiden su fosforilación (S776A) o su forma fosfomimética constitutiva (S776D), reducen la formación de inclusiones nucleares de ataxina-1 y significativamente reduce la inducción a la enfermedad (Duvick et al., 2010; Emamian et al., 2003).

La ataxina-1 también interactúa con proteínas involucradas en la ubiquitinación, control de calidad y plegamiento de proteínas; como la interacción con la enzima UbcH6 que conjuga la ubiquitina E2, suprimiendo su represión transcripcional. La ataxina-1, también interactúa con la chaperona/E3 ligasa C-terminal de Hsc-70 (CHIP), la cual cataliza

la ubiquitinación y degradación de las ataxinas silvestres y expandidas, y su secuestro en agregados insolubles (Al-Ramahi et al., 2006; Choi et al., 2007; Lee et al., 2008).

Además de las modificaciones postraduccionales de la ataxina-1, también se ha descrito que la regulación postraduccional del ARNm de *ATXN1* por la proteína de unión al ARN PUMILIO 1, en la cual, la haploinsuficiencia de *Pumilio 1* resulta en niveles elevados de ataxina-1 (Gennarino et al., 2015).

2.6. Segmento de triplete repetido CAG e interrupciones CAT

El segmento del triplete repetido CAG en el rango normal se encuentra entre 6 a 44 repeticiones CAG. En un 84% son heterocigóticos y en un 98% se encuentran interrumpidos con 1 a 3 trinucleótidos CAT cuando contienen más de 21 repeticiones (Chung et al., 1993; Zoghbi & Orr, 2009). Los alelos con 36 a 44 repeticiones CAG pueden o no ser patogénicos dependiendo de la presencia de interrupciones. Si no tienen interrupciones en el rango de 36 a 38 CAG son considerados como alelos intermedios o mutables normales, dado que podrían expandirse en generaciones sucesivas (Opal P & Ashizawa T, 1998). Los alelos normales son considerados grandes cuando se encuentran entre un 5-10 % del extremo superior de la distribución alélica.

Los alelos con ≥ 39 repeticiones CAG sin interrupciones CAT son considerados de penetrancia completa. Generalmente el rango patológico está comprendido entre 39 a 81 repeticiones CAG (Banfi et al., 1994; Matilla et al., 1993; Orr et al., 1993); sin embargo, en casos muy raros, los alelos patológicos pueden tener interrupciones CAT y son relacionados con el inicio tardío de la enfermedad (Matsuyama et al., 1997; Menon et al., 2013). Los individuos afectados con alelos de 39 CAG sin interrupciones CAT tienen la misma sintomatología que los pacientes SCA1 con alelos más grandes; lo cual sugiere, que la pérdida de las interrupciones CAT, es lo que desencadenaría la inestabilidad del triplete repetido manifestando la enfermedad (Chung et al., 1993).

Las interrupciones CAT se localizan cerca de la mitad del segmento CAG [$(CAG)_{12}$ $(CATCAG)_2(CAG)_n$], dividiendo al segmento repetido en dos segmentos con menos de 18 repeticiones cada uno. Se han identificado tres configuraciones de la interrupción CAT; el más frecuente con 78 % es (CAG)nCATCAGCAT(CAG)n, seguido por (CAG)n CAT(CAG)n con 11% y el menos frecuente (CAG)n CATCAGCATCAGCAT(CAG)n con 4% (Chung et al., 1993).

A medida que el segmento CAG incrementa, más interrupciones CAT son encontradas, sugiriendo que no solo la presencia sino también el número y posición de CAT son importantes para estabilizar al segmento CAG con más de 21 repeticiones (Chung et al., 1993). Estudios en clonas *in vitro* de segmentos CAG y CGG en SCA1 y FRAXA respectivamente, puras e interrumpidas con longitudes por encima y debajo de un umbral de estabilidad genética; muestran, que sus interrupciones CAT y AGG respectivamente, pueden conferir la estabilidad a través de la regulación de la formación de las estructuras secundarias producidas por el deslizamiento de las hebras de ADN o "*slipped strands*". El estudio evidencia que las interrupciones reducen la cantidad de hebras deslizadas y limitan sus formas isoméricas específicas (Pearson et al., 1998).

En varios estudios se demuestra la importancia de la presencia y número de CAT en el segmento CAG, por ejemplo, la más alta prevalencia a nivel mundial de SCA1 ocurre en población Sakha, y en un estudio de 126 cromosomas normales de personas saludables, se reportó que el 65% presentó una sola interrupción CAT (Goldfarb et al., 1996); mientras que otras poblaciones como china y norteamericana presentaron una sola interrupción en el 8% y 11% respectivamente, sugiriendo que la población Sakha podría haberse predispuesto teniendo más individuos que llevan una sola interrupción CAT (Zhou et al., 2001). Históricamente, la población Sakha, estaría formada por aproximadamente 350 000 individuos y recientemente ha migrado del este de Siberia, en la que la prevalencia de SCA1 es extremadamente alta (Illarioshkin et al., 1996). Reportes similares de una alta frecuencia de cromosomas no afectados con una sola interrupción CAT se han dado en población india, lo que podría predisponerla a una alta frecuencia de SCA1 (Krishna et al., 2007).

Por otro lado, se ha reportado que ciertos haplotipos predisponen a la enfermedad SCA1, por ejemplo, en población india, el haplotipo C-4-C compuesto por dos SNPs y un microsatélite: SNP9-D6S288-SNP1, en cromosomas expandidos se encontró en un 44% (14 de 32 cromosomas SCA1), mientras que solamente estuvo en 6 de 240 cromosomas no afectados que fueron preferentemente asociados con alelos normales grandes. La asociación de este haplotipo C-4-C en cromosomas expandidos puede indicar un efecto fundador de SCA1 en la población india. Así mismo, la rareza del haplotipo C-4-C en cromosomas normales, sugiere que los cromosomas con este haplotipo son más propensos a la inestabilidad (Mittal et al., 2005).

Algunos estudios evidencian que los alelos patológicos pueden presentar interrupciones CAT entre un 6-11%, observándose un retraso en la edad de aparición de la enfermedad o incluso no padecerla (Frontali et al., 1999; Quan et al., 1995); por ejemplo; en un estudio de caso, se mostró que un paciente SCA1 con la configuración $(CAG)_{45}CATCAGCAT(CAG)_{10}$ presentó manifestaciones clínicas a los 50 años; sin embargo, de acuerdo a los cálculos de los investigadores, la edad de inicio con 58 CAG debió ser a los 22 años; por lo cual, sugirieron que la edad de inicio debería estimarse a partir del fragmento del segmento repetido más largo en vez de la longitud total del alelo patológico (Matsuyama et al., 1997; Menon et al., 2013).

2.7. Distribución alélica del segmento CAG del gen *ATXN1* - Alelos normales grandes (LN)

Son muy pocos los estudios que determinan la variación normal en el rango alélico del locus de SCA1 en población saludable. Limprasert *et al*., 1997 estudiaron 789 cromosomas normales de 5 poblaciones conformadas por franceses-acadios, africano-americanos, caucásicos no americanos, esquimales de Groenlandia y tailandeses, encontrando una heterocigosidad de 81%; con 17 alelos diferentes en un rango de 9-37 repeticiones. El 97% de los alelos tenía entre 25 y 33 CAG en la población combinada. Los alelos más frecuentes fueron de 29 y 30 repeticiones CAG, con frecuencias de 27.7% y 27.3% respectivamente; sin embargo, estos alelos no fueron los más frecuentes en todas las poblaciones, ya que los afroamericanos tenían alelos más frecuentes de 30 y 31 CAG con 29.9% y 16.7% respectivamente, y los tailandeses tenían alelos con 28 y 29 CAG con frecuencias de 29.9% y 18.8% respectivamente (Limprasert et al., 1997).

Andrés *et al*., 2003, en población africana reporta un rango alélico de 21 a 36 repeticiones CAG, cuyo alelo de 30 CAG fue el más frecuente (30%) (Andrés et al., 2003). Zhou et al., 2001, reporta en población china un rango de 26 a 35 repeticiones en cromosomas normales (Zhou et al., 2001).

En Sudamérica, a excepción de Brasil, no se evidencian estudios que describan la distribución normal de los alelos *ATXN1*, sino reportes de casos de SCA1 como en Chile (León & Chaná, 2018) y Argentina (Rodríguez-Quiroga et al., 2015). En un estudio en población del sudeste de Brasil, el rango alélico fue comprendido entre 18-38 CAG con 17 alelos diferentes. Los alelos mayormente estuvieron comprendidos entre 29 a 33 CAG, siendo el alelo de 32 CAG el más frecuente con 21.5%. El locus de *ATXN1* presentó una heterocigosidad del 75% (de Vargas Wolfgramm et al., 2008). En población del sur de

Brasil (Paraná), el rango alélico de individuos normales fue de 19 a 36 CAG con 16 diferentes alelos, cuyo alelo más frecuente con 32% fue el de 30 CAG (Freund et al., 2009). En población de Sao Paulo se reporta un rango alélico de 19-39 CAG con los alelos más frecuentes de 29 (>25%) y 30 (>35%) (Wiezel et al., 2003).

En un estudio en población polaca a 117 mujeres saludables provenientes de la zona central occidental, se determinó un rango alélico comprendido entre 27-43 CAG, con alelos más frecuentes de 29 y 30 CAG con 32.1% y 38.1% respectivamente. Este estudio realizó el secuenciamiento de las muestras mostrando la configuración de los segmentos repetidos, el 95 % presentó dos interrupciones, 3% tres interrupciones y 2% una sola interrupción CAT. Así mismo evidencian una alta frecuencia de alelos LN >30 CAG (23%). También evidenciaron la prevalencia de alelos LN de riesgo con extremos $CAG_{(n)}$ muy largos en posición 5' y aunque la frecuencia de alelos con una sola interrupción es muy baja (0.4% correspondiente a 1 alelo de 234), la alta prevalencia de SCA1 en esta población, (60 % entre las ADCAs) puede darse por el aporte en conjunto de todos estos factores (Sobczak & Krzyzosiak, 2004)

En población Sakha, la de mayor prevalencia de SCA1 en el mundo, se determinó que en población saludable, la distribución alélica, presenta un rango entre 26 a 40 CAG, con 9 alelos diferentes y los alelos más frecuentes de 28 CAG y 30 CAG con 43% y 23% respectivamente (Platonov et al., 2016; Popova et al., 2001).

Estudios de casos y controles también se han llevado a cabo. Takano et al., 1998; investigaron la prevalencia de varios loci SCA en 202 familias japonesas y 177 caucásicas. Determinaron la distribución de los alelos normales CAG y alelos normales grandes (LN) en estos loci en individuos normales: 176 japoneses y 574 caucásicos. Los alelos LN fueron definidos como aquellos que conforman un ~5-10% de la distribución superior. En el estudio, observaron que la prevalencia de SCA1 y SCA2 fue relativamente más alta en pedigríes caucásicos (15% y 14% respectivamente) que en japoneses (3% y 5% respectivamente) correspondiendo a que la frecuencia de alelos LN para SCA1 (>30 CAG) y para SCA2 (> 22 CAG) fueron más altos en caucásicos que en japoneses y por el contrario la prevalencia relativa de MJD/SCA3, SCA6 y DRPLA con 43%,11% y 20% respectivamente fueron mayores en japoneses que en caucásicos con 30%, 5% y 0% respectivamente, correspondiendo a la observación de que las frecuencias de alelos LN de MJD/SCA3 (>27 CAG), SCA6 (>13 CAG) y DRPLA (>17 CAG) fueron significativamente mayores en japoneses que en caucásicos; por lo cual, el estudio sugiere que la frecuencia de los alelos LN contribuye a la generación de alelos expandidos y la prevalencia relativa

de las SCAs dominantes en estas poblaciones. Los rangos alélicos en el locus SCA1 en individuos saludables para japoneses oscilaron entre 17-38 CAG con 28 CAG como más frecuente (>30%). Para caucásicos el rango fue de 25-37 CAG con 29 CAG (>30%) y 30 CAG (40%) como más frecuentes (Takano et al., 1998).

Alluri et al., 2007 en población del sur de India, investigaron la distribución alélica de 44 cromosomas normales de individuos sanos y 124 cromosomas normales de pacientes no relacionados con ataxia progresiva y si se asociaban con los alelos LN y la prevalencia de la enfermedad. Sus resultados muestran que para el locus SCA1, el rango alélico total fue de 20-37 CAG, con 18 alelos diferentes y los alelos más frecuentes fueron 31 CAG (>20 %) y 33 CAG (>25%). La frecuencia de alelos LN (>31 CAG) fue excepcionalmente alta (45%) comparada con otras poblaciones como Noreste de India, japoneses y caucásicos; y la frecuencia de SCA1 fue la más alta entre las ADCAs del estudio con 4.8%. La investigación, también determinó el número de individuos que tenían alelos LN en dos, tres y cuatro loci y encontró que el 75% (12 de 16) de los pacientes que tenían alelos LN en más de 2 loci de ADCA, tenían síntomas de inicio temprano de la enfermedad, mientras que ninguno de los controles tuvo alelos LN en más de dos loci, sugiriendo que los alelos LN en diferentes loci en un mismo individuo, pueden contribuir a los síntomas de la enfermedad (Alluri et al., 2007)

Otro estudio en población del Norte de India, en 42 familias (n=122) diagnosticadas con ataxia y 135 individuos saludables no relacionados, muestra que la distribución alélica de los individuos normales para el locus de la SCA1 tuvo un rango de 7 a 37 CAG, con el alelo de 29 CAG como más frecuente con aproximadamente 30%. El 90% de los alelos estuvo en el rango de 27-37 CAG. La frecuencia de alelos LN en la población >30 CAG y >31 CAG fue 27% y 12% respectivamente. En el estudio se realizó la comparación de la frecuencia de alelos LN SCA1 con caucásicos y japoneses y se determinó que solo con la población japonesa hubo diferencias significativas; sin embargo, no en todos los loci estudiados se encontró esta relación, pues a pesar de que la SCA2 fue la ataxia más frecuente 10/39 familias o 25.6% entre las ADCAs encontrada en el estudio; los alelos LN >22 CAG fueron significativamente menores que en la población caucásica donde SCA2 presentó una prevalencia mucho menor (14%), y como el segmento CAG presenta interrupciones CAA en este locus, los autores sugieren que la frecuencia de alelos LN en este locus no es el mejor indicador de la prevalencia de la enfermedad y por tanto la frecuencia de alelos largos no interrumpidos puede brindar más información en este aspecto (Saleem et al., 2000).

En un estudio realizado a 165 pacientes con ataxia y 307 controles de origen Galés, se determinó que la distribución de los alelos normales y los alelos LN en ambos grupos no difería significativamente, presentando un rango alélico entre 28 a 37 repeticiones CAG, siendo el de 31 CAG el más frecuente con un 38%; por lo cual, el estudio concluye en que no encontraron una influencia de los alelos LN sobre la susceptibilidad de desarrollar ataxia en esa población (Majounie et al., 2007) como lo sugirieron otros estudios en población caucásica (Takano et al., 1998).

En un estudio en población mexicana a 64 pacientes y 75 familiares no afectados; así como 370 individuos sanos, de los cuales 70 pertenecían a una comunidad nativa, la distribución alélica para el locus SCA1 en la población saludable fue de 24-39 CAG, con el alelo más frecuente de 31 CAG (>30%) y 29 CAG (25%) en la población nativa. El porcentaje de alelos LN en la población saludable fue bastante elevada (27.5%); sin embargo, no se encontró ningún caso de SCA1 (Magaña et al., 2014).

En población finlandesa, Juvonen *et al*., 2005 estudiaron 500 cromosomas normales de pacientes con ataxia progresiva, reportando un rango entre 22-36 CAG. No se encontraron alelos entre 23 a 26 CAG. El alelo más frecuente fue 29 CAG (37.6%) y 30 CAG (23%). La población presentó una frecuencia de alelos LN relativamente alta (>30 de 31% y >31 de 22%); sin embargo, al realizar un tamizaje de las principales SCAs, reportaron solo 2 individuos afectados con SCA1, manifestando que no encontraron una asociación entre la frecuencia de alelos LN y la frecuencia correspondiente de SCA a excepción de DRPLA, proponiendo el estudio de los alelos LN no interrumpidos para un mayor esclarecimiento (Juvonen et al., 2005).

La distribución de alelos normales de individuos afectados también ha sido descrita en algunos estudios. En Venezuela, cromosomas normales de la personas afectadas reporta rangos entre 27 y 33 CAG, siendo el alelo de 31 CAG como el más frecuente (25%), 32 CAG con 18.8%; 33 CAG con 15.6%; seguido por 27 y 28 CAG con 12.5% cada uno (Paradisi et al., 2016).

En un estudio de 202 pacientes portugueses y brasileños con ataxia espinocerebelosa, se determinó que el rango alélico normal para el locus de SCA1 fue de 29 a 37 CAG y el porcentaje de alelos LN (>34 CAG) fue mayor con significancia estadística en brasileños que en portugueses; no obstante, no fue determinado ningún caso de SCA1 en estos pacientes (Silveira et al., 2002).

En un estudio en pacientes ADCA españoles; para el locus de SCA1, se reportó un rango alélico entre 6 a 39 repeticiones CAG con una heterocigosidad del 72%. El alelo más frecuente fue de 31 CAG con 40%. Dichos alelos presentaron 1 a 2 interrupciones CAT en un 12% y 75% respectivamente. Alelos con bajo número de repeticiones CAG como 6, 14 y 21 no presentaron interrupciones (Pujana et al., 1999).

En Sudafricanos el rango de alelos normales reportados fue de 25-33 CAG (Bryer et al., 2003). En un estudio en una etnia China (Han y Sur de China) de 167 pacientes con ataxias hereditaria y esporádica, el rango alélico reportado fue de 21 a 36 repeticiones (Tang B, 2000).

3. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

La frecuencia de alelos normales grandes en población peruana se espera que sea baja, dada la baja frecuencia de SCA1 descrita en el Perú.

Objetivo general:

❖ Determinar la distribución del triplete CAG del gen *ATXN1* en una población peruana.

Objetivos específicos:

❖ Determinar la frecuencia de alelos normales grandes CAG del gen *ATXN1* en una población peruana.

❖ Detectar las interrupciones CAT en el segmento del triplete repetido CAG del gen *ATXN1* en una población peruana.

❖ Comparar la frecuencia de los alelos normales grandes del locus *ATXN1* y su relación con la prevalencia de la enfermedad en las diferentes poblaciones a nivel mundial.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Tipo y diseño de estudio

Estudio de tipo observacional analítico de tipo transversal.

4.2. Población

Con ayuda del software minsage del *Institute of Medical Biometry and Statistics* (IBMS https://www.imbs.uni-luebeck.de/forschung/software/details.html) se determinó un tamaño muestral n=213 individuos para obtener una probabilidad del 95% para detectar un alelo con una frecuencia del 1.4% sin equilibrio de Hardy-Weinberg; la cual fue escogida en base al alelo más raro observado en una población sudamericana-brasileña que tiene una frecuencia lo suficientemente alta como para no ser considerado una mutación (<1%) (Freund et al., 2009).

Se seleccionaron las 213 muestras de ADN de la ADNteca del CIBN-INCN obtenidas para el estudio “Distribución de tripletes CAG del gen *ATXN3* en una muestra de la población sana mestiza de Huacho-Perú” cuyo consentimiento informado autorizaba su uso en otros estudios relacionados con ataxias.

Las muestras fueron obtenidas a partir de individuos no emparentados del Norte de Lima durante un periodo de 6 meses en el 2013. Todos los participantes se auto declararon mestizos (peruanos con ancestría amerindia con mezcla de ascendencia europea - española) teniendo antepasados peruanos durante al menos dos generaciones.

Como parte del reclutamiento de participantes para el estudio de *ATXN3*, se realizó un examen neurológico a todos los participantes para excluir cualquier inestabilidad en la marcha y cualquier otro trastorno neurodegenerativo. El estudio fue aprobado por el Comité de ética institucional del Instituto Nacional de Ciencias Neurológicas.

4.3. Materiales

4.3.1. Insumos moleculares

- Cebador Rep 1: GTACGTCCACATTTCCAGTT (Orr et al., 1993).
- Cebador Rep 2: CAACATGGGCAGTCTGAG (Orr et al., 1993).
- Mezcla de Dinucleotidos trifosfatados: GeneAmp® dNTPs mix: A, T, G y C (2.5 mM c/u).
- Polimerasa Platinum® Taq DNA 5 U/µL (Invitrogen). Incluye: Buffer PCR 10x y $MgCl_2$ 50 mM.
- DMSO 100% (Dimetilsulfóxido) Sigma – Aldrich.
- Enzima de restricción LweI (SfanI) (Thermo Scientific 10 U/µL). Incluye: Buffer de restricción Tango 33mM Tris-acetato, 10 mM acetato de magnesio, 66mM acetato de potasio,0.1 mg/mL BSA.
- Marcadores de peso molecular para locus de SCA1 conocidos: 27, 28, 30, 31 y 33 tripletes CAG.

4.3.2. Reactivos

- Agua grado biología molecular
- Acrilamida
- Bisacrilamida
- TEMED (N, N, N', N'-tetrametiletano-1,2-diamina)
- APS (Amonio Peroxidodisulfato)
- Tris
- Ácido bórico
- EDTA (Ácido etilendiaminotetraacético)
- Xilencianol
- Azul de Bromofenol
- Glicerol
- Etanol absoluto
- Ácido acético
- Nitrato de Plata (AgNO3)
- Hidróxido de sodio (NaOH)
- Formaldehído 37%

4.3.3. Material de plástico

- Puntas con filtro 10 µL, 20 µL, 100 µL, 200 µL, 1000 µL
- Tubos de PCR 0.2 mL

- Tubos de centrífuga 1.5 mL
- Gradillas para tubos de 0.2 mL y 1.5 mL
- Pisetas

4.3.4. Material de vidrio

- Fiolas de 1 L, 250 mL
- Matraz aforado 1 L, 500 mL, 250 mL
- Probetas 10 mL,
- Vasos de precipitados
- Pipetas 1 mL, 5 mL, 10 mL y 25 mL.
- Frascos 250 mL
- Baguetas

4.3.5. Aparatos y equipos

- Micropipetas 10 µL, 20 µL, 50 µL, 100 µL, 200 µL y 1000 µL.
- Termociclador Veriti® (Applied Biosystems®)
- Termociclador GeneAmp® 9700 (Applied Biosystems®)
- Espectrofotómetro Epoch (Biotek)
- Cabina de PCR (ESCO®)
- Cámaras de electroforesis vertical (CIBN-INCN)
- Fuente poder (MRC)
- Balanza analítica (Shimadzu)
- Centrífuga (Eppendorf)
- Agitador magnético (Velp)
- Escáner (HP)
- Refrigeradoras a 4 ºC (Bosch y Coldex)
- Congeladoras a -8 °C/-20 º C (Frigidaire)

4.4. Metodología

4.4.1. Muestras

Se obtuvieron alícuotas de 213 muestras de ADN de la ADNteca del Servicio de Neurogenética del INCN, donde eran almacenadas a -20°C. Las alícuotas de ADN fueron llevadas a una concentración de 10 ng/µL mediante el espectrofotómetro EPOCH para su posterior análisis.

4.4.2. Análisis Molecular

4.4.2.1. PCR y electroforesis en gel

Las 213 muestras fueron analizadas mediante PCR convencional a fin de determinar el tamaño de los tripletes CAG en el gen *ATXN1*. Para ello, el CIBN realizó la optimización del protocolo de análisis de PCR a partir de las condiciones utilizadas por Orr *et al.*,1993 (Orr et al., 1993) con los siguientes cebadores:

Rep 1: GTACGTCCACATTTCCAGTT
Rep 2: CAACATGGGCAGTCTGAG

La reacción por PCR, consistió en el uso de 1.5 mM de $MgCl_2$, 10% de DMSO, 100 µM de cada dNTP,0.3 µM de cada cebador; 0.05 U/µL de Taq polimerasa y 10 ng de ADN en cada reacción. El programa de amplificación tuvo una denaturación inicial de 95°C por 5 minutos, seguido de 29 ciclos de denaturación a 95°C por 30 segundos; hibridación 57°C por 30 segundos; elongación a 72°C por 30 segundos, seguido de una extensión final a 72°C por 10 minutos.

Posteriormente, los productos de PCR, fueron separados en base a su peso molecular mediante electroforesis vertical en geles de poliacrilamida al 6%, con un potencial eléctrico de 100 V por 3.5 horas aproximadamente en una solución tampón TBE 1X (Tris-borato-EDTA 1X). Al terminar la electroforesis, el gel resultante fue teñido mediante tinción argéntica. Finalmente, para proseguir con el correspondiente cálculo del tamaño alélico, el gel fue digitalizado utilizando un escáner.

4.4.2.2. Determinación del número de tripletes CAG del gen *ATXN1*

La determinación del número de tripletes CAG se realizó en base a la distancia de migración de los productos de PCR junto con los marcadores de peso molecular para el locus de SCA1. Los marcadores utilizados fueron alelos de 27, 28, 30, 31 y 33 repeticiones CAG, cuyos tamaños fueron determinados por PCR y electroforesis capilar por la *Rede neurogenetica* - Departamento de Genética Médica del Hospital de Clínicas de Porto Alegre-Brasil.

Con estos marcadores, se realizó una regresión lineal a partir del tamaño de la repetición CAG versus la distancia migrada en el gel de electroforesis, en el programa Excel 2010; de esta manera, se predijo el tamaño de la repetición de las muestras desconocidas en función de su distancia migrada. Así mismo, a fin de calcular el tamaño en tripletes CAG,

se analizó previamente la región que contiene al microsatélite CAG (n) en el exón 8 del gen *ATXN1* (sequence ID *gen bank*: 6310) y se determinó que la suma de los tamaños de la secuencia de los cebadores utilizados en la amplificación del segmento repetido CAG, junto con la secuencia que no contiene tripletes CAG es igual a 125 pb (Figura 1), deduciendo la siguiente fórmula para determinar el número de tripletes CAG(n):

$$\mathrm{CAG(n)} = \frac{\mathrm{N°\ pb} - 125}{3}$$

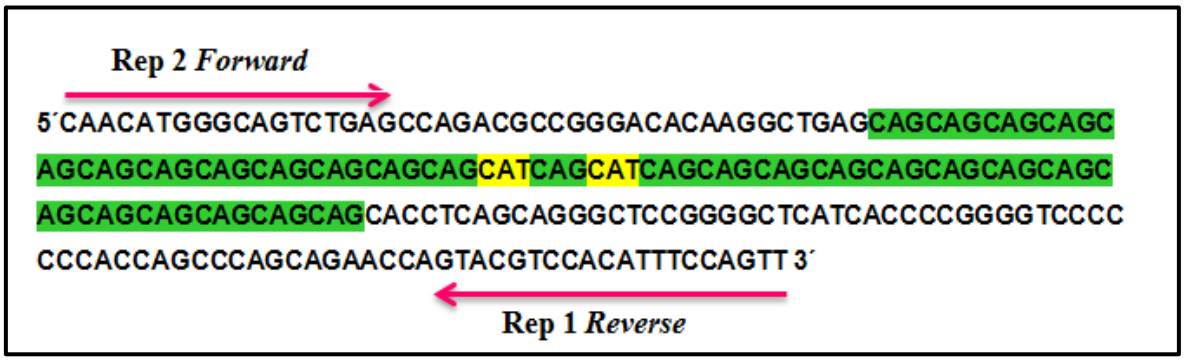


Figura 1: Segmento amplificado que contiene al microsatélite CAG(n): las flechas indican las secuencias donde se alinean los cebadores. En verde se muestra el segmento repetido CAG. En amarillo las interrupciones CAT.

4.4.2.3. Detección de las interrupciones CAT

Del total de las 213 muestras, se seleccionaron 40 muestras que incluían en gran mayoría alelos normales grandes, para la detección de la interrupción CAT. Los productos de PCR, fueron sometidos a digestión enzimática con la enzima LweI (SfaNI) 10U/ µL *Fermentas Life Sciences*, cuyo sitio de restricción es 5´…GCATC$(N)_5$…3´.

La reacción de digestión fue llevada a cabo en un volumen de 10 µL y estuvo compuesta por 2U de la enzima LweI, 1X de Buffer de la enzima LweI, 4 µL del producto de PCR y 4 µL de agua purificada, durante 5 horas a 37°C. Posteriormente, los productos de restricción fueron separados en base a su peso molecular mediante electroforesis en geles de poliacrilamida al 8% y visualizados mediante tinción argéntica como se detalló previamente para los productos de PCR.

Es importante señalar, que el número de fragmentos producidos por la enzima de restricción, no indica el número de interrupciones CAT presentes en el alelo CAG, ya que un alelo con 1, 2 o 3 interrupciones CAT, producirá de 2 a 3 fragmentos, con un tercer fragmento muy pequeño (6-12 pb), el cual se perdería muy rápidamente durante la

electroforesis (Anexo 1); sin embargo; nos permite inferir que al menos una interrupción CAT está presente en el alelo CAG(n).

4.4.3. Análisis estadístico

Se determinó el equilibrio de la población estudiada mediante el análisis de Hardy-Weinberg utilizando el software Genepop v. 4.5.1 (http://genepop.curtin.edu.au/).

La distribución alélica, se muestra en la Figura 2 con frecuencias alélicas, media, mediana y rango intercuartílico. Los alelos fueron clasificados como normales y alelos normales grandes (LN). Estos últimos comprendían el 10% de la distribución superior (>31 CAG) en referencia a previos estudios (Takano et al.,1998).

La normalidad de la distribución fue evaluada según la prueba de Shapiro Wilk (S-W). Para comparar las frecuencias alélicas de los alelos LN con las reportadas en otras poblaciones del mundo (latinoamericanas, asiáticas, caucásicas entre otras), se utilizó el test de chi^2 (α=0.05) mediante el Software Stata V.12; además se realizó la corrección de Bonferroni para ajuste de pruebas múltiples, dividiendo el nivel de significancia 0.05 por el número de comparaciones totales (0.05/7), a fin de encontrar un nuevo valor de corte para indicar que la prueba es estadísticamente significativa.

Asimismo, se determinó el intervalo de confianza al 95% de las frecuencias de alelos LN usando el método de Klopper-Pearson (Clopper & Pearson, 1934) implementado en el paquete binom (Dorai-Raj, 2014) para R v.3.5 (R Development Core Team, 2014).

4.4.4. Aspectos éticos

- Este estudio de investigación fue aprobado por el Comité de Ética en Investigación del INCN con Certificado de Aprobación Ética Nro.012-2013-CIEI-INCN. Así mismo cuenta con aprobación institucional, detallada en la Resolución Directoral N°209-2013-INCN-DG (Anexo 2).

  Las muestras de ADN utilizadas fueron obtenidas previamente a partir del estudio "Distribución de tripletes CAG del gen *ATXN3* en una muestra de la población sana mestiza de Huacho-Perú" el cual cuenta con un consentimiento informado para uso de la muestra en posteriores estudios relacionados con ataxia (Anexo 3).
- Todos los investigadores que participaron en este estudio firmaron un compromiso de confidencialidad de los datos y procesos según los procedimientos del CIBN del INCN (Anexo 4).

5. RESULTADOS

En la población estudiada, el locus *ATXN1* mostró una distribución normal (S-W, p > 0.05) ligeramente asimétrica (Figura. 2). La edad de los participantes tuvo un rango de 18 a 84 años, con un promedio de 36.07 ±18.64. Los varones conformaron el 26.5% (n=56). La heterocigosidad de la población fue 77.25%. La población, no presentó equilibrio de Hardy Weinberg (p=0.014).

5.1. Distribución del triplete CAG (n) en el gen *ATXN1*

Se identificaron 12 alelos diferentes comprendidos entre 24 a 35 repeticiones CAG con un promedio de 29.7 ± 1.9 y una mediana de 30 CAG. La gran mayoría de los alelos (93.84%) se encontraron en el rango de 27-33 CAG, siendo los alelos más frecuentes los de 29 CAG (21%) y 30 CAG (23%) respectivamente.

Los alelos LN conformaron 16% de la distribución alélica, (n=68 alelos) en un rango de 32 a 35 tripletes CAG y un promedio de 32.66 ± 0.76 (Figura 2).

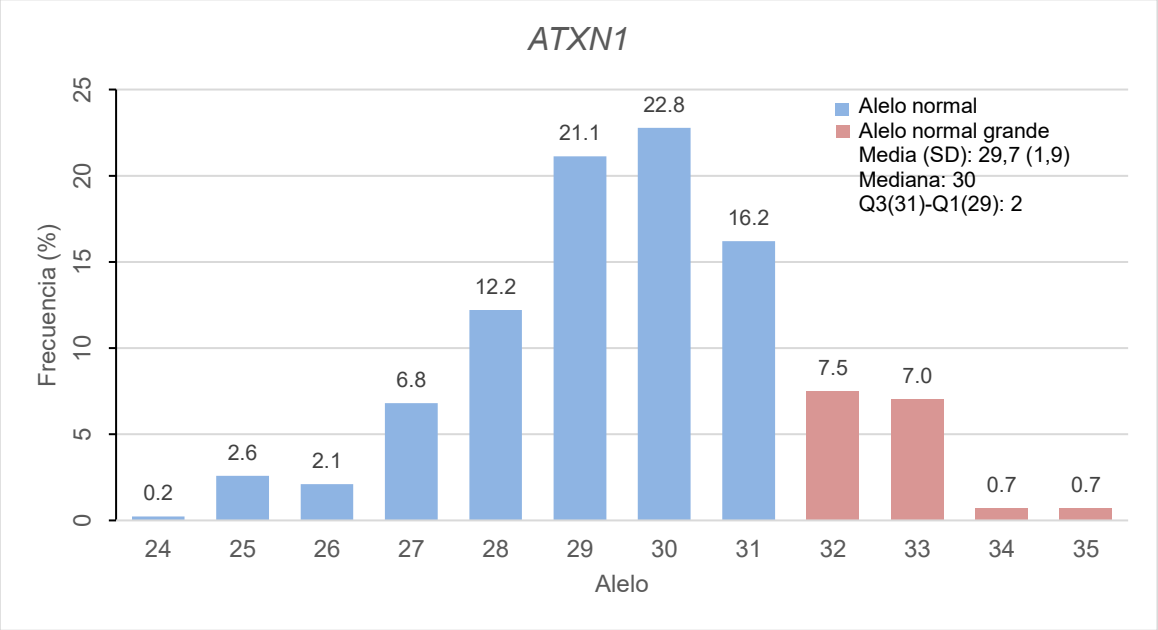


Figura 2: Distribución del triplete repetido CAG en el gen *ATXN1* en una muestra de la población sana mestiza del Norte-chico Lima

5.2. Análisis de polimorfismo de longitud de fragmentos de restricción (RFLP) para detección de interrupciones CAT

Los productos de PCR de 40 muestras fueron escindidos por la enzima LweI (S*faNI*), indicando la presencia de al menos un CAT en cada alelo de las muestras. En la Figura 3, se observa un ejemplo de separación en base al peso molecular mediante electroforesis del producto digerido.

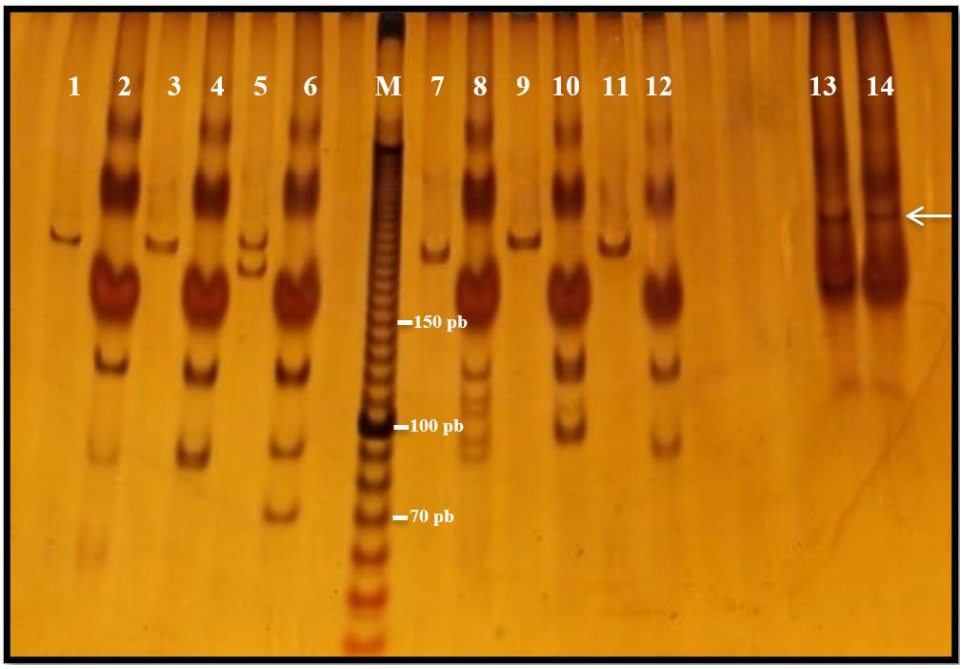


Figura 3. Polimorfismos de restricción realizados por la enzima LweI.
Los carriles 1, 3 y 5 son productos de PCR del triplete CAG en el locus de la SCA1. Los carriles 2, 4 y 6 son sus respectivos productos después de la digestión. M es un marcador de peso molecular en escala de 10 pb. Los carriles 7,9 y 11 son controles positivos para la presencia de CAT (marcadores de 27/28, 33/31 y 30/28 tripletes CAG). Los carriles 8, 10 y 12 son sus respectivos productos de digestión. Los carriles 13 y 14 son controles negativos para la presencia de CAT. El carril 13 es un producto de PCR para X frágil. El carril 14 es el producto sometido a digestión por la enzima donde la flecha evidencia la ausencia de corte.

5.3. Comparación de la frecuencia de alelos normales grandes (LN) *ATXN1* de población peruana con otras poblaciones

La Tabla 1 muestra la comparación de las frecuencias alélicas de los alelos LN y su relación con la frecuencia de casos positivos para SCA1 en diferentes poblaciones. La comparación fue realizada con el test de chi^2 aplicando la corrección de Bonferroni para ajuste de pruebas múltiples, dividiendo 0.05 entre el número total de comparaciones (00.5/7= 0.00714) de esta manera el nuevo valor 0.00714 permitió establecer que la prueba es estadísticamente significativa ($p< 0.00714$).

La frecuencia de alelos LN encontrada (16%) en nuestra población fue significativamente diferente a las encontradas en población mexicana (27.5%), india (38%) y japonesa (4%) ($p<0.001$).

Tabla 1: Comparación de la frecuencia de alelos LN de población peruana con otras poblaciones a nivel mundial

			ATXN1		
Población	**Frecuencia de SCA1 (%)[a]**	**N**	**% alelos LN[b] [CI]**	**P-value[c]**	**Referencia**
Mexicana	0	600[d]	27.5	p<0.001	(Magaña et al., 2014)
Brasileña (Sur)	0	308[d]	14.24	0.49	(Freund et al., 2009)
Brasileña*	0	46[e]	15	NA	(Silveira et al., 2002)
Portuguesa*	0	164[e]	11	NA	(Silveira et al., 2002)
India (Sur)	4.8	318[d,e]	38	p<0.001	(Alluri et al., 2007)
India (Norte)	8	270[d]	12	0.130	(Saleem et al., 2000)
Japonesa	3	176[d]	4	p<0.001	(Takano et al., 1998)
Caucásica	15	574[d]	16	0.980	(Takano et al., 1998)
Finlandesa	4	500[e]	22	0.020	(Juvonen et al., 2005)
Siberiana Yakuta	88.1	180[d]	11.20	0.120	(Popova et al., 2001; Puzyrev & Maximova, 2008)
Peruana	2.6	426[d]	15.96 [0.126-0.198]	NA	(Este studio; (Cornejo-Olivas et al., 2020)

N: Número de cromosomas analizados
[CI]: Intervalo de confianza al 95%
NA: No aplicable
[a] % de SCA1 con respecto al número total de casos de ataxia.
[b] % alelos LN para *ATXN1* >31 CAG.
[c] Comparación de la frecuencia de alelos LN entre Perú y otras poblaciones mediante Chi ^{2}
[d] Cromosomas de individuos saludables no relacionados.
[e] Cromosomas normales de pacientes con ataxia
* Poblaciones que consideraron un umbral > 33CAG para alelos LN, por lo tanto no se realizó la comparación estadística.

6. DISCUSIÓN

La prevalencia de muchas enfermedades neurodegenerativas causadas por microsatélites como la Enfermedad de Huntington, Distrofia Miotónica y las Ataxias espinocerebelosas se ha relacionado con la frecuencia de los alelos largos en la población normal (Goldman et al., 1996; Kay et al., 2018; Mor-Cohen et al., 1997; Squitieri et al., 1994; Takano et al., 1998) probablemente por la tasa de mutación de un microsatélite, que aumenta su longitud, incluso dentro del rango no patogénico (Falush & Iwasa, 1999; Semaka et al., 2013); por lo cual, los alelos normales con un mayor número de repeticiones pueden ser relativamente inestables y llegar a alcanzar un nivel intermedio a partir del cual tendría lugar una mayor expansión al rango patológico. En este estudio basado en 213 muestras de ADN de individuos mestizos del norte de Lima-Perú, determinamos el rango alélico del triplete CAG en el gen *ATXN1* y la frecuencia de los alelos LN relacionados con probables expansiones patogénicas comparándola con la frecuencia de SCA1 en el Perú y otras poblaciones. Nuestro estudio encontró una frecuencia intermedia de alelos LN que no se relaciona con la frecuencia de SCA1 en el Perú.

La distribución alélica del gen *ATXN1* en la población estudiada incluye 12 alelos distintos. El rango determinado (24-35 CAG) fue similar a los reportados a nivel mundial, como México (26-38 CAG) (Magaña et al., 2014), China (26-35 CAG) (Zhou et al., 2001), y África (21-36 CAG) (Andrés et al., 2003). Otras poblaciones han reportado alelos mucho más extremos como España (6-39 CAG) (Pujana et al., 1999), India (norte) (7-37 CAG) (Saleem et al., 2000), Brasil- Rio de Janeiro (10-39 CAG) (Duarte et al., 2003) y población caucásica (9-36 CAG) (Limprasert et al., 1997); sin embargo, la distribución típica en el locus *ATXN1* se mantiene principalmente entre 25 a 33 repeticiones CAG, con alelos más frecuentes entre 28 a 31 CAG en la población mundial (Majounie et al., 2007; Storey et al., 2000; Takano et al., 1998). Se han reportado alelos frecuentes más altos, como en el sudeste de Brasil con 32 CAG (de Vargas Wolfgramm et al., 2008), India con 33 CAG (Alluri et al., 2007) e India (Lodha) con 34 CAG (Basu et al., 2000), probablemente en relación a una elevada frecuencia de alelos LN con ≈20%, 38% y 43.5% respectivamente.

La frecuencia de alelos LN hallada en la población peruana puede ser considerada intermedia (≈16%). Todos los alelos y alelos LN en el análisis RFLP (n=80) evidenciaron la presencia de al menos un CAT en todos ellos (Figura 3), sugiriendo que no hubo ningún individuo con alelos expandidos o alelos intermedios propensos a mutaciones. La frecuencia de alelos LN encontrada (16%), contrasta con la baja frecuencia de SCA1 en el Perú (1 caso

de 38 familias SCA). Un comportamiento similar ocurre en México, donde existe una alta frecuencia de alelos LN, con 27.5% sin reporte de casos de SCA1 (Magaña et al., 2014). El estudio mexicano no realizó el análisis de CAT, y muchos de los estudios que realizan la distribución alélica del locus *ATXN1* en población normal tampoco tomaron en cuenta el análisis de CAT (Freund et al., 2009), (Takano, et al., 1998), (Popova et al., 2001).

Poblaciones con una variada frecuencia de casos de SCA1 como Brasil (Paraná) (Freund et al., 2009), Norte de India (Saleem et al., 2000), caucásicos (Takano, et al., 1998) e incluso la población yakuta con la mayor prevalencia mundial de SCA1 (Popova et al., 2001), no muestran diferencia estadísticamente significativa de la frecuencia de alelos LN con la población peruana (Tabla 1). De todos estos estudios, el de población india (norte), realizó el secuenciamiento a las muestras de personas controles indicando que CAT estaba presente en todas las muestras pero no indicaba la cantidad de estas (Saleem et al., 2000) Así mismo, otras poblaciones como la portuguesa y brasileña si bien no fueron comparadas estadísticamente debido al umbral de alelos LN superior al peruano (> 33 CAG frente a >31 CAG), también evidencian una frecuencia intermedia de 11% y 15% de alelos LN respectivamente, sin encontrarse casos SCA1 (Silveira et al., 2002) Tabla 1. Todos estos resultados, evidencian una falta de asociación entre la frecuencia de alelos LN y la prevalencia de SCA1. Sin embargo; estudios en población yakuta, donde se reportó una moderada frecuencia de alelos LN (11%), también se presenta una alta frecuencia de alelos con una sola interrupción CAT (65%) en su rango normal, por lo cual se puede explicar su alta prevalencia de SCA1. En otras poblaciones, como China donde SCA1 tiene una frecuencia del 7%, la frecuencia de alelos con un CAT fue mucho más baja (8%) (Goldfarb et al., 1996; Zhou et al, 2001). Al parecer, la frecuencia de alelos con menor número de CAT es un factor que en conjunto a la alta frecuencia de alelos LN puede influir en el riesgo poblacional para SCA1; así lo describe un estudio en población india, donde se atribuye la alta frecuencia de SCA1 (22%) a la interacción de estos dos factores (Mittal et al., 2005).

Otros factores podrían incrementar la inestabilidad hacia rangos patológicos; por ejemplo, en población yakuta y polaca (además de la alta frecuencia de alelos LN y de alelos con una sola interrupción CAT) se ha sugerido que los alelos LN de riesgo, que se caracterizan por tener el extremo 5' CAG(n) muy largo, pueden originar mutaciones hacia rangos patogénicos. En estas poblaciones yakuta y polaca se reportaron las siguientes configuraciones respectivamente: $CAG_{24}CATCAGCATCAG_{10}$ y $CAG_{23}CATCAGCATCAG_{17}$ (Goldfarb et al., 1996 ; Sobczak & Krzyzosiak, 2004). En el estudio polaco, los autores sugieren que la expansión en el locus de SCA1 ocurre en la repetición interrumpida y la perdida de las interrupciones CAT es un evento posterior lento y por tanto la alta incidencia de SCA1 en esta

población (60% de las ADCAs) puede explicarse por la prevalencia de estos alelos normales grandes de riesgo; sin embargo, la frecuencia de estos alelos fue muy baja, tan solo del 0.4% (1 alelo de 234) en polacos y 0.79% (1 de 126 alelos) en yakutos, lo cual puede sugerir que la contribución de otros factores genéticos, como los discutidos previamente pueden influir en la incidencia de SCA1 en estas poblaciones. En nuestra población puede esperarse la ausencia de estos alelos normales LN con segmentos 5'$CAG_{(n)}$ largos, mayores a 23 CAG y 24 CAG, dada la baja frecuencia de SCA1 en el Perú.

A pesar de la moderada frecuencia de alelos LN en la población peruana, el reporte de SCA1 es muy bajo, lo cual, podría atribuirse a una alta frecuencia de alelos con al menos 02 CAT y a una nula o muy baja frecuencia de alelos LN con extremos 5' $CAG_{(n)}$ muy grandes, cuyo análisis no era objetivo de este estudio. Se requieren estudios posteriores que realicen el secuenciamiento del segmento del triplete repetido CAG en el gen *ATXN1* que determinen la cantidad de interrupciones CAT y su posición dentro del fragmento CAG, para contabilizar también el tamaño de los fragmentos CAG a cada lado de la interrupción CAT. Por otro lado, la correlación entre la frecuencia de alelos largos y la frecuencia de SCA1 en el Perú podría cambiar en el futuro a medida que el registro de personas con ataxia hereditaria vaya aumentando dado que actualmente dicho registro es pequeño (38 familias SCA) y la baja frecuencia de SCA1 observada en nuestro país, puede explicarse también (aunque es poco probable) por un subdiagnostico de la enfermedad (Cornejo-Olivas et al., 2020).

Además de la falta de secuenciación de los alelos, reconocemos otras limitaciones como la población estudiada, la cual no ha provenido de la población en general sino de una región especifica al norte de Lima, pudiendo diferir de la distribución alélica poblacional.

7. CONCLUSIONES

- La distribución del triplete CAG del gen *ATXN1* tuvo 12 alelos diferentes, con rangos entre 24 a 35 repeticiones CAG, siendo los alelos más frecuentes los de 29 y 30 repeticiones CAG con 23% y 21 % respectivamente.

- Se determinó la presencia de al menos una interrupción CAT en el segmento del triplete repetido CAG en todas las muestras seleccionadas (40 de 213).

- El porcentaje de alelos normales grandes fue de 16% correspondiendo a una frecuencia intermedia, contrastando con la baja frecuencia de SCA1 en la población, sugiriendo que otros factores genéticos estarían modificando el riesgo poblacional de SCA1 en la población peruana.

8. RECOMENDACIONES

- Realizar estudios posteriores con mayor tamaño muestral y mayor representatividad de la población peruana.

- Realizar un análisis de secuenciación del microsatélite CAG en el locus *ATXN1* para determinar la cantidad y posición de las interrupciones CAT dentro del segmento del triplete repetido CAG de alelos normales.

9. REFERENCIAS

Alluri, R. V., Komandur, S., Wagheray, A., Chaudhuri, J. R., Sitajayalakshmi, null, Meena, A. K., Jabeen, A., Chawda, K., Subhash, K., Krishnaveni, A., & Hasan, Q. (2007). Molecular analysis of CAG repeats at five different spinocerebellar ataxia loci: Correlation and alternative explanations for disease pathogenesis. *Molecules and Cells*, *24*(3), 338-342.

Alonso, E., Martínez-Ruano, L., De Biase, I., Mader, C., Ochoa, A., Yescas, P., Gutiérrez, R., White, M., Ruano, L., Fragoso-Benítez, M., Ashizawa, T., Bidichandani, S. I., & Rasmussen, A. (2007). Distinct distribution of autosomal dominant spinocerebellar ataxia in the Mexican population. *Movement Disorders: Official Journal of the Movement Disorder Society*, *22*(7), 1050-1053. https://doi.org/10.1002/mds.21470

Al-Ramahi, I., Lam, Y. C., Chen, H.-K., de Gouyon, B., Zhang, M., Pérez, A. M., Branco, J., de Haro, M., Patterson, C., & Zoghbi, H. Y. (2006). CHIP protects from the neurotoxicity of expanded and wild-type ataxin-1 and promotes their ubiquitination and degradation. *Journal of Biological Chemistry*, *281*(36), 26714-26724.

Andrés, A. M., Lao, O., Soldevila, M., Calafell, F., & Bertranpetit, J. (2003). Dynamics of CAG repeat loci revealed by the analysis of their variability. *Human mutation*, *21*(1), 61-70. https://doi.org/10.1002/humu.10151

Andrew, S. E., Goldberg, Y. P., & Hayden, M. R. (1997). Rethinking Genotype and Phenotype Correlations in Polyglutamine Expansion Disorders. *Human Molecular Genetics*, *6*(12), 2005-2010. https://doi.org/10.1093/hmg/6.12.2005

Banfi, S., Servadio, A., Chung, M. Y., Kwiatkowski, T. J., Jr, McCall, A. E., Duvick, L. A., Shen, Y., Roth, E. J., Orr, H. T., & Zoghbi, H. Y. (1994). Identification and characterization of the gene causing type 1 spinocerebellar ataxia. *Nature genetics*, *7*(4), 513-520. https://doi.org/10.1038/ng0894-513

Basu, P., Chattopadhyay, B., Gangopadhaya, P. K., Mukherjee, S. C., Sinha, K. K., Das, S. K., Roychoudhury, S., Majumder, P. P., & Bhattacharyya, N. P. (2000). 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. *Human Genetics*, *106*(6), 597-604. https://doi.org/10.1007/s004390050031

Bowman, A. B., Lam, Y. C., Jafar-Nejad, P., Chen, H.-K., Richman, R., Samaco, R. C., Fryer, J. D., Kahle, J. J., Orr, H. T., & Zoghbi, H. Y. (2007). Duplication of Atxn1l suppresses SCA1 neuropathology by decreasing incorporation of polyglutamine-expanded ataxin-1 into native complexes. *Nature genetics*, *39*(3), 373-379.

Bryer, A., Krause, A., Bill, P., Davids, V., Bryant, D., Butler, J., Heckmann, J., Ramesar, R., & Greenberg, J. (2003). The hereditary adult-onset ataxias in South Africa. *Journal of the neurological sciences*, *216*(1), 47-54.

Castañeda, M. A., Avalos, C., & Jerí, F. R. (2000). [Clinical and genetic studies of a family from Peru affected by spinocerebellar ataxia type 7]. *Revista de neurologia*, *31*(10), 923-928.

Chen, H.-K., Fernandez-Funez, P., Acevedo, S. F., Lam, Y. C., Kaytor, M. D., Fernandez, M. H., Aitken, A., Skoulakis, E. M., Orr, H. T., & Botas, J. (2003). Interaction of Akt-phosphorylated ataxin-1 with 14-3-3 mediates neurodegeneration in spinocerebellar ataxia type 1. *Cell*, *113*(4), 457-468.

Choi, J. Y., Ryu, J. H., Kim, H.-S., Park, S. G., Bae, K.-H., Kang, S., Myung, P. K., Cho, S., & Park, B. C. (2007). Co-chaperone CHIP promotes aggregation of ataxin-1. *Molecular and Cellular Neuroscience*, *34*(1), 69-79.

Chung, M. Y., Ranum, L. P., Duvick, L. A., Servadio, A., Zoghbi, H. Y., & Orr, H. T. (1993). Evidence for a mechanism predisposing to intergenerational CAG repeat instability in spinocerebellar ataxia type I. *Nature genetics*, *5*(3), 254-258. https://doi.org/10.1038/ng1193-254

Cintra, V. P., Lourenço, C. M., Marques, S. E., de Oliveira, L. M., Tumas, V., & Marques Jr, W. (2014). Mutational screening of 320 Brazilian patients with autosomal dominant spinocerebellar ataxia. *Journal of the neurological sciences*, *347*(1-2), 375-379.

Clopper, C. J., & Pearson, E. S. (1934). The use of confidence or fiducial limits illustrated in the case of the binomial. *Biometrika*, *26*(4), 404-413.

Cornejo Olivas, M., Cornejo-Herrera, I., Lindo-Samanamud, S., Castilhos, R., Saraiva-Pereira, M. L., Jardim, L., & Mazzetti Soler, P. (2013). Spinocerebellar Ataxia Type 10 or SCA10 in Peruvian Population. First Report of Three Families (PD2. 006). *Neurology*, *80*(Meeting Abstracts 1), PD2-006.

Cornejo-Olivas, M., Inca-Martinez, M., Castilhos, R. M., Furtado, G. V., Mattos, E. P., Bampi, G. B., Leistner-Segal, S., Marca, V., Mazzetti, P., & Saraiva-Pereira, M. L. (2020). Genetic Analysis of Hereditary Ataxias in Peru Identifies SCA10 Families with Incomplete Penetrance. *The Cerebellum*, *19*(2), 208-215.

Cvetanovic, M., Kular, R. K., & Opal, P. (2012). LANP mediates neuritic pathology in Spinocerebellar ataxia type 1. *Neurobiology of Disease*, *48*(3), 526-532. https://doi.org/10.1016/j.nbd.2012.07.024

Cvetanovic, M., Rooney, R. J., Garcia, J. J., Toporovskaya, N., Zoghbi, H. Y., & Opal, P. (2007). The role of LANP and ataxin 1 in E4F-mediated transcriptional repression. *EMBO reports*, *8*(7), 671-677.

de Castilhos, R. M., Furtado, G. V., Gheno, T. C., Schaeffer, P., Russo, A., Barsottini, O., Pedroso, J. L., Salarini, D. Z., Vargas, F. R., & Godeiro, C. (2014). Spinocerebellar ataxias in Brazil—Frequencies and modulating effects of related genes. *The Cerebellum*, *13*(1), 17-28.

de Vargas Wolfgramm, E., de Carvalho, F. M., De Nadai Sartori, M. P., Spagnol Perrone, A. M., de Paula, F., & Louro, I. D. (2008). Molecular analysis of spinocerebellar ataxia trinucleotide repeat behavior in normal individuals of a Brazilian population. *Journal of the neurological sciences*, *269*(1-2), 113-117. https://doi.org/10.1016/j.jns.2008.01.001

Dorai-Raj, S. (2014). *binom: Binomial Confidence Intervals For Several Parameterizations* (1.1-1) [Computer software]. https://CRAN.R-project.org/package=binom

Dragasević, N. T., Culjković, B., Klein, C., Ristić, A., Keckarević, M., Topisirović, I., Vukosavić, S., Svetel, M., Kock, N., Stefanova, E., Romac, S., & Kostić, V. S. (2006). Frequency analysis and clinical characterization of different types of spinocerebellar ataxia in Serbian patients. *Movement disorders: official journal of the Movement Disorder Society*, *21*(2), 187-191. https://doi.org/10.1002/mds.20687

Duarte, S. F. P., Gestinari, R. S., Campos Junior, M., Pimentel, M. M. G., & Lima, M. A. C. (2003). Genetic polymorphism at spinocerebellar ataxia 1 and 2 loci in Brazil. *Genetics and molecular research: GMR*, *2*(4), 360-365.

Dubourg, O., Dürr, A., Cancel, G., Stevanin, G., Chneiweiss, H., Penet, C., Agid, Y., & Brice, A. (1995). Analysis of the SCA1 CAG repeat in a large number of families with dominant ataxia: Clinical and molecular correlations. *Annals of neurology*, *37*(2), 176-180. https://doi.org/10.1002/ana.410370207

Durr, A. (2010). Autosomal dominant cerebellar ataxias: Polyglutamine expansions and beyond. *The Lancet Neurology*, *9*(9), 885-894. https://doi.org/10.1016/S1474-4422(10)70183-6

Duvick, L., Barnes, J., Ebner, B., Agrawal, S., Andresen, M., Lim, J., Giesler, G. J., Zoghbi, H. Y., & Orr, H. T. (2010). SCA1-like disease in mice expressing wild-type ataxin-1 with a serine to aspartic acid replacement at residue 776. *Neuron*, *67*(6), 929-935.

Emamian, E. S., Kaytor, M. D., Duvick, L. A., Zu, T., Tousey, S. K., Zoghbi, H. Y., Clark, H. B., & Orr, H. T. (2003). Serine 776 of ataxin-1 is critical for polyglutamine-induced disease in SCA1 transgenic mice. *Neuron*, *38*(3), 375-387.

Falush, D., & Iwasa, Y. (1999). Size-Dependent Mutability and Microsatellite Constraints. *Molecular Biology and Evolution*, *16*(7), 960.

Filla, A., Mariotti, C., Caruso, G., Coppola, G., Cocozza, S., Castaldo, I., Calabrese, O., Salvatore, E., De Michele, G., Riggio, M. C., Pareyson, D., Gellera, C., & Di Donato, S. (2000). Relative frequencies of CAG expansions in spinocerebellar ataxia and dentatorubropallidoluysian atrophy in 116 Italian families. *European neurology*, *44*(1), 31-36. https://doi.org/8189

Freund, A. A., Scola, R. H., Teive, H. A. G., Arndt, R. C., da Costa-Ribeiro, M. C. V., Alle, L. F., & Werneck, L. C. (2009). Spinocerebellar ataxias: Microsatellite and allele frequency in unaffected and affected individuals. *Arquivos de neuro-psiquiatria*, *67*(4), 1124-1132.

Frontali, M., Novelletto, A., Annesi, G., & Jodice, C. (1999). CAG repeat instability, cryptic sequence variation and pathogeneticity: Evidence from different loci. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, *354*(1386), 1089-1094.

Gacy, A. M., Goellner, G., Juranić, N., Macura, S., & McMurray, C. T. (1995). Trinucleotide repeats that expand in human disease form hairpin structures in vitro. *Cell*, *81*(4), 533-540.

Gao, R., Matsuura, T., Coolbaugh, M., Zühlke, C., Nakamura, K., Rasmussen, A., Siciliano, M. J., Ashizawa, T., & Lin, X. (2008). Instability of expanded CAG/CAA repeats in spinocerebellar ataxia type 17. *European Journal of Human Genetics*, *16*(2), 215-222. https://doi.org/10.1038/sj.ejhg.5201954

Gehrking, K. M., Andresen, J. M., Duvick, L., Lough, J., Zoghbi, H. Y., & Orr, H. T. (2011). Partial loss of Tip60 slows mid-stage neurodegeneration in a spinocerebellar ataxia type 1 (SCA1) mouse model. *Human molecular genetics*, *20*(11), 2204-2212.

Gennarino, V. A., Singh, R. K., White, J. J., De Maio, A., Han, K., Kim, J.-Y., Jafar-Nejad, P., Di Ronza, A., Kang, H., & Sayegh, L. S. (2015). Pumilio1 haploinsufficiency leads to SCA1-like neurodegeneration by increasing wild-type Ataxin1 levels. *Cell*, *160*(6), 1087-1098.

Goldfarb, L. G., Vasconcelos, O., Platonov, F. A., Lunkes, A., Kipnis, V., Kononova, S., Chabrashvili, T., Vladimirtsev, V. A., Alexeev, V. P., & Gajdusek, D. C. (1996). Unstable triplet repeat and phenotypic variability of spinocerebellar ataxia type 1. *Annals of neurology*, *39*(4), 500-506. https://doi.org/10.1002/ana.410390412

Goldman, A., Ramsay, M., & Jenkins, T. (1996). Ethnicity and myotonic dystrophy: A possible explanation for its absence in sub-Saharan Africa. *Annals of human genetics*, *60*(1), 57-65.

González-Zaldívar, Y., Vázquez-Mojena, Y., Laffita-Mesa, J. M., Almaguer-Mederos, L. E., Rodríguez-Labrada, R., Sánchez-Cruz, G., Aguilera-Rodríguez, R., Cruz-Mariño, T., Canales-Ochoa, N., & MacLeod, P. (2015). Epidemiological, clinical, and molecular characterization of Cuban families with spinocerebellar ataxia type 3/Machado-Joseph disease. *Cerebellum & ataxias*, *2*(1), 1-6.

Harding, A. E. (1983). Classification of the hereditary ataxias and paraplegias. *Lancet*, *1*(8334), 1151-1155.

Illarioshkin, S. N., Slominsky, P. A., Ovchinnikov, I. V., Markova, E. D., Miklina, N. I., Klyushnikov, S. A., Shadrina, M., Vereshchagin, N. V., Limborskaya, S. A., & Ivanova-Smolenskaya, I. A. (1996). Spinocerebellar ataxia type 1 in Russia. *Journal of neurology*, *243*(7), 506-510.

Irwin, S., Vandelft, M., Pinchev, D., Howell, J. L., Graczyk, J., Orr, H. T., & Truant, R. (2005). RNA association and nucleocytoplasmic shuttling by ataxin-1. *Journal of cell science*, *118*(1), 233-242.

Jin, D. K., Oh, M. R., Song, S. M., Koh, S. W., Lee, M., Kim, G. M., Lee, W. Y., Chung, C. S., Lee, K. H., Im, J. H., Lee, M. J., Kim, J. W., & Lee, M. S. (1999). Frequency of spinocerebellar ataxia types 1,2,3,6,7 and dentatorubral pallidoluysian atrophy mutations in Korean patients with spinocerebellar ataxia. *Journal of neurology*, *246*(3), 207-210.

Juvonen, V., Hietala, M., Kairisto, V., & Savontaus, M.-L. (2005). The occurrence of dominant spinocerebellar ataxias among 251 Finnish ataxia patients and the role of predisposing large normal alleles in a genetically isolated population. *Acta Neurologica Scandinavica*, *111*(3), 154-162. https://doi.org/10.1111/j.1600-0404.2005.00349.x

Kameya, T., Abe, K., Aoki, M., Sahara, M., Tobita, M., Konno, H., & Itoyama, Y. (1995). Analysis of spinocerebellar ataxia type 1 (SCA1)-related CAG trinucleotide expansion in Japan. *Neurology*, *45*(8), 1587-1594.

Kay, C., Collins, J. A., Wright, G. E. B., Baine, F., Miedzybrodzka, Z., Aminkeng, F., Semaka, A. J., McDonald, C., Davidson, M., Madore, S. J., Gordon, E. S., Gerry, N. P., Cornejo-Olivas, M., Squitieri, F., Tishkoff, S., Greenberg, J. L., Krause, A., & Hayden, M. R. (2018). The molecular epidemiology of Huntington disease is related to intermediate allele frequency and haplotype in the general population. *American Journal of Medical Genetics. Part B, Neuropsychiatric Genetics: The Official Publication of the International Society of Psychiatric Genetics*, *177*(3), 346-357. https://doi.org/10.1002/ajmg.b.32618

Klement, I. A., Skinner, P. J., Kaytor, M. D., Yi, H., Hersch, S. M., Clark, H. B., Zoghbi, H. Y., & Orr, H. T. (1998). Ataxin-1 nuclear localization and aggregation: Role in polyglutamine-induced disease in SCA1 transgenic mice. *Cell*, *95*(1), 41-53.

Kraft, S., Furtado, S., Ranawaya, R., Parboosingh, J., Bleoo, S., McElligott, K., Bridge, P., Spacey, S., Das, S., & Suchowersky, O. (2005). Adult onset spinocerebellar ataxia in a Canadian movement disorders clinic. *Canadian journal of neurological sciences*, *32*(4), 450-458.

Krishna, N., Mohan, S., Yashavantha, B. S., Rammurthy, A., Kiran Kumar, H. B., Mittal, U., Tyagi, S., Mukerji, M., Jain, S., Pal, P. K., & Purushottam, M. (2007a). SCA 1, SCA 2 & SCA 3/MJD mutations in ataxia syndromes in southern India. *The Indian journal of medical research*, *126*(5), 465-470.

Krysa, W., Sulek, A., Rakowicz, M., Szirkowiec, W., & Zaremba, J. (2016). High relative frequency of SCA1 in Poland reflecting a potential founder effect. *Neurological Sciences*, *37*(8), 1319-1325.

Laffita-Mesa, J. M., Velázquez-Pérez, L. C., Santos Falcón, N., Cruz-Mariño, T., González Zaldívar, Y., Vázquez Mojena, Y., Almaguer-Gotay, D., Almaguer Mederos, L. E., & Rodríguez Labrada, R. (2012). Unexpanded and intermediate CAG polymorphisms at

the SCA2 locus (ATXN2) in the Cuban population: Evidence about the origin of expanded SCA2 alleles. *European Journal of Human Genetics: EJHG*, *20*(1), 41-49. https://doi.org/10.1038/ejhg.2011.154

Lam, Y. C., Bowman, A. B., Jafar-Nejad, P., Lim, J., Richman, R., Fryer, J. D., Hyun, E. D., Duvick, L. A., Orr, H. T., Botas, J., & Zoghbi, H. Y. (2006). ATAXIN-1 Interacts with the Repressor Capicua in Its Native Complex to Cause SCA1 Neuropathology. *Cell*, *127*(7), 1335-1347. https://doi.org/10.1016/j.cell.2006.11.038

Lee, S., Hong, S., & Kang, S. (2008). The ubiquitin-conjugating enzyme UbcH6 regulates the transcriptional repression activity of the SCA1 gene product ataxin-1. *Biochemical and biophysical research communications*, *372*(4), 735-740.

León, M., & Chaná, P. (2018). Changes in balance and gait after a single session of combined cerebellum and primary motor cortex transcranial direct current stimulation (tDCS) in a person with SCA1. *MOVEMENT DISORDERS*, *33*, S281-S281.

Limprasert, P., Nouri, N., Heyman, R. A., Nopparatana, C., Kamonsilp, M., Deininger, P. L., & Keats, B. J. (1996). Analysis of CAG repeat of the Machado-Joseph gene in human, chimpanzee and monkey populations: A variant nucleotide is associated with the number of CAG repeats. *Human molecular genetics*, *5*(2), 207-213.

Limprasert, P., Nouri, N., Nopparatana, C., Deininger, P. L., & Keats, B. J. (1997). Comparative studies of the CAG repeats in the spinocerebellar ataxia type 1 (SCA1) gene. *American journal of medical genetics*, *74*(5), 488-493.

Lopes-Cendes, I., Teive, H. G., Calcagnotto, M. E., Da Costa, J. C., Cardoso, F., Viana, E., Maciel, J. A., Radvany, J., Arruda, W. O., Trevisol-Bittencourt, P. C., Rosa Neto, P., Silveira, I., Steiner, C. E., Pinto Júnior, W., Santos, A. S., Correa Neto, Y., Werneck, L. C., Araújo, A. Q., Carakushansky, G., … Rouleau, G. A. (1997). Frequency of the different mutations causing spinocerebellar ataxia (SCA1, SCA2, MJD/SCA3 and DRPLA) in a large group of Brazilian patients. *Arquivos De Neuro-Psiquiatria*, *55*(3B), 519-529.

López-Flores, I., & Garrido-Ramos, M. A. (2010). The repetitive DNA content of eukaryotic genomes. *Genome dynamics*, *7*, 1-28. https://doi.org/10.1159/000337118

Magaña, J. J., Tapia-Guerrero, Y. S., Velázquez-Pérez, L., Cerecedo-Zapata, C. M., Maldonado-Rodríguez, M., Jano-Ito, J. S., Leyva-García, N., González-Piña, R., Martínez-Cruz, E., Hernández-Hernández, O., & Cisneros, B. (2014). Analysis of CAG repeats in five SCA loci in Mexican population: Epidemiological evidence of a SCA7 founder effect. *Clinical Genetics*, *85*(2), 159-165. https://doi.org/10.1111/cge.12114

Majounie, E., Wardle, M., Muzaimi, M., Cross, W. C., Robertson, N. P., Williams, N. M., & Morris, H. R. (2007). Case control analysis of repeat expansion size in ataxia. *Neuroscience Letters*, *429*(1), 28-32. https://doi.org/10.1016/j.neulet.2007.09.055

Matilla, T., Volpini, V., Genís, D., Rosell, J., Corral, J., Dávalos, A., Molins, A., & Estivill, X. (1993). Presymptomatic analysis of spinocerebellar ataxia type 1 (SCA1) via the expansion of the SCA1 CAG-repeat in a large pedigree displaying anticipation and parental male bias. *Human molecular genetics*, *2*(12), 2123-2128.

Matilla-Dueñas, A., Ashizawa, T., Brice, A., Magri, S., McFarland, K. N., Pandolfo, M., Pulst, S. M., Riess, O., Rubinsztein, D. C., Schmidt, J., Schmidt, T., Scoles, D. R., Stevanin, G., Taroni, F., Underwood, B. R., & Sánchez, I. (2014). Consensus paper: Pathological mechanisms underlying neurodegeneration in spinocerebellar ataxias. *Cerebellum (London, England)*, *13*(2), 269-302. https://doi.org/10.1007/s12311-013-0539-y

Matilla-Dueñas, A., Goold, R., & Giunti, P. (2008). Clinical, genetic, molecular, and pathophysiological insights into spinocerebellar ataxia type 1. *Cerebellum (London, England)*, *7*(2), 106-114. https://doi.org/10.1007/s12311-008-0009-0

Matsuyama, Z., Kawakami, H., Maruyama, H., Maruyama, H., Izumi, Y., Komure, O., Udaka, F., Kameyama, M., Nishio, T., Kuroda, Y., Nishimura, M., & Nakamura, S. (1997). Molecular Features of the CAG Repeats of Spinocerebellar Ataxia 6 (SCA6). *Human Molecular Genetics*, *6*(8), 1283-1287. https://doi.org/10.1093/hmg/6.8.1283

Menon, R. P., Nethisinghe, S., Faggiano, S., Vannocci, T., Rezaei, H., Pemble, S., Sweeney, M. G., Wood, N. W., Davis, M. B., & Pastore, A. (2013). The role of interruptions in polyQ in the pathology of SCA1. *PLoS Genet*, *9*(7), e1003648.

Mittal, U., Sharma, S., Chopra, R., Dheeraj, K., Pal, P., Srivastava, A., & Mukerji, M. (2005b). Insights into the mutational history and prevalence of SCA1 in the Indian population through anchored polymorphisms. *Human Genetics*, *118*(1), 107-114. https://doi.org/10.1007/s00439-005-0018-8

Mor-Cohen, R., Magal, N., Gadoth, N., Shohat, T., & Shohat, M. (1997). Correlation between the incidence of myotonic dystrophy in different groups in Israel and the number of CTG trinucleotide repeats in the myotonin gene. *American journal of medical genetics*, *71*(2), 156-159.

Moseley, M. L., Benzow, K. A., Schut, L. J., Bird, T. D., Gomez, C. M., Barkhaus, P. E., Blindauer, K. A., Labuda, M., Pandolfo, M., Koob, M. D., & Ranum, L. P. (1998). Incidence of dominant spinocerebellar and Friedreich triplet repeats among 361 ataxia families. *Neurology*, *51*(6), 1666-1671.

Onodera, Y., Aoki, M., Tsuda, T., Kato, H., Nagata, T., Kameya, T., Abe, K., & Itoyama, Y. (2000). High prevalence of spinocerebellar ataxia type 1 (SCA1) in an isolated region of Japan. *Journal of the Neurological Sciences*, *178*(2), 153-158. https://doi.org/10.1016/S0022-510X(00)00390-7

Opal P & Ashizawa T. (1998). *Spinocerebellar Ataxia Type 1—GeneReviews™—NCBI Bookshelf*. Opal P, Ashizawa T. Spinocerebellar Ataxia Type 1. 1998 Oct 1 [Updated 2017 Jun 22]. In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, et al., editors. GeneReviews® [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2021. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1184/

Opal, P., Garcia, J. J., Propst, F., Matilla, A., Orr, H. T., & Zoghbi, H. Y. (2003). Mapmodulin/leucine-rich acidic nuclear protein binds the light chain of microtubule-associated protein 1B and modulates neuritogenesis. *Journal of Biological Chemistry*, *278*(36), 34691-34699.

Orr, H. T., Chung, M. Y., Banfi, S., Kwiatkowski, T. J., Jr, Servadio, A., Beaudet, A. L., McCall, A. E., Duvick, L. A., Ranum, L. P., & Zoghbi, H. Y. (1993). Expansion of an unstable trinucleotide CAG repeat in spinocerebellar ataxia type 1. *Nature genetics*, *4*(3), 221-226. https://doi.org/10.1038/ng0793-221

Ortiz, J. M. P., & Orr, H. T. (2018). Spinocerebellar ataxia type 1: Molecular mechanisms of neurodegeneration and preclinical studies. *Polyglutamine Disorders*, 135-145.

Paradisi, I., Ikonomu, V., & Arias, S. (2016). Spinocerebellar ataxias in Venezuela: Genetic epidemiology and their most likely ethnic descent. *Journal of human genetics*, *61*(3), 215-222.

Paulson, H., & Ammache, Z. (2001). Ataxia and hereditary disorders. *Neurologic Clinics*, *19*(3), 759-782. https://doi.org/10.1016/S0733-8619(05)70044-X

Paulson, H. L. (2009). The Spinocerebellar Ataxias. *Journal of neuro-ophthalmology : the official journal of the North American Neuro-Ophthalmology Society*, *29*(3), 227-237. https://doi.org/10.1097/WNO0b013e3181b416de

Pearson, C. E., Edamura, K. N., & Cleary, J. D. (2005). Repeat instability: Mechanisms of dynamic mutations. *Nature Reviews Genetics*, *6*(10), 729-742.

Pearson, C. E., Eichler, E. E., Lorenzetti, D., Kramer, S. F., Zoghbi, H. Y., Nelson, D. L., & Sinden, R. R. (1998). Interruptions in the triplet repeats of SCA1 and FRAXA reduce the propensity and complexity of slipped strand DNA (S-DNA) formation. *Biochemistry*, *37*(8), 2701-2708. https://doi.org/10.1021/bi972546c

Pérez, L. V., Cruz, G. S., Falcón, N. S., Mederos, L. E. A., Batallan, K. E., Labrada, R. R., Herrera, M. P., Mesa, J. M. L., Díaz, J. C. R., & Rodríguez, R. A. (2009). Molecular epidemiology of spinocerebellar ataxias in Cuba: Insights into SCA2 founder effect in Holguin. *Neuroscience letters*, *454*(2), 157-160.

Platonov, F. A., Tyryshkin, K., Tikhonov, D. G., Neustroyeva, T. S., Sivtseva, T. M., Yakovleva, N. V., Nikolaev, V. P., Sidorova, O. G., Kononova, S. K., & Goldfarb, L. G. (2016). Genetic fitness and selection intensity in a population affected with high-incidence spinocerebellar ataxia type 1. *Neurogenetics*, *17*(3), 179-185.

Popova, S. N., Slominsky, P. A., Pocheshnova, E. A., Balanovskaya, E. V., Tarskaya, L. A., Bebyakova, N. A., Bets, L. V., Ivanov, V. P., Livshits, L. A., & Khusnutdinova, E. K. (2001). Polymorphism of trinucleotide repeats in loci DM, DRPLA and SCA1 in East European populations. *European Journal of Human Genetics*, *9*(11), 829.

Pujana, M. A., Corral, J., Gratacòs, M., Combarros, O., Berciano, J., Genís, D., Banchs, I., Estivill, X., & Volpini, V. (1999). Spinocerebellar ataxias in Spanish patients: Genetic analysis of familial and sporadic cases. *Human Genetics*, *104*(6), 516-522. https://doi.org/10.1007/s004390050997

Puzyrev, V. P., & Maximova, N. P. (2008). Hereditary diseases among Yakuts. *Russian journal of genetics*, *44*(10), 1141-1147.

Quan, F., Janas, J., & Popovich, B. W. (1995). A novel CAG repeat configuration in the SCA1 gene: Implications for the molecular diagnostics of spinocerebellar ataxia type 1. *Human Molecular Genetics*, *4*(12), 2411-2413.

R Development Core Team. (2014). *R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. 2013*.

Ramírez, L. T., Rojas, M. V., Soler, P. M., Reyes, R. S., Esquerre, C. C., Quispe, N. M., Olivas, M. C., Isabel, M. M., Dávila, O. O., & Baltuano, M. V. (2012). *Ataxia espinocerebelosa tipo 3 (Enfermedad de Machado Joseph) A propósito de un caso*. http://www.fihu-diagnostico.org.pe/revista/numeros/2012/ene-mar/33-36.html

Rodríguez Pupo, J. M., Núñez Arias, E., Rojas Rodríguez, Y., Aguilera Sánchez, Y., Amieiro Paz, M., & Sarmiento Oliveros, M. A. (2019). Ataxias cerebelosas hereditarias: Principales avances neurofisiológicos, clínicos y genéticos. *Correo Científico Médico*, *23*(2), 599-622.

Rodríguez-Quiroga, S. A., Cordoba, M., Gonzalez-Moron, D., Medina, N., Vega, P., Dusefante, C. V., Arakaki, T., Garretto, N. S., & Kauffman, M. A. (2015). Neurogenetics in Argentina: Diagnostic yield in a personalized research based clinic. *Genetics research*, *97*.

Saleem, Q., Choudhry, S., Mukerji, M., Bashyam, L., Padma, M. V., Chakravarthy, A., Maheshwari, M. C., Jain, S., & Brahmachari, S. K. (2000). Molecular analysis of autosomal dominant hereditary ataxias in the Indian population: High frequency of SCA2 and evidence for a common founder mutation. *Human Genetics*, *106*(2), 179-187.

Sasaki, H., Yabe, I., & Tashiro, K. (2003). The hereditary spinocerebellar ataxias in Japan. *Cytogenetic and genome research*, *100*(1-4), 198-205. https://doi.org/72855

Schelhaas, H. J., Ippel, P. F., Beemer, F. A., & Hageman, G. (2000). Similarities and differences in the phenotype, genotype and pathogenesis of different spinocerebellar ataxias. *European journal of neurology: the official journal of the European Federation of Neurological Societies*, *7*(3), 309-314.

Schöls, L., Amoiridis, G., Büttner, T., Przuntek, H., Epplen, J. T., & Riess, O. (1997). Autosomal dominant cerebellar ataxia: Phenotypic differences in genetically defined subtypes? *Annals of neurology*, *42*(6), 924-932. https://doi.org/10.1002/ana.410420615

Schöls, L., Bauer, P., Schmidt, T., Schulte, T., & Riess, O. (2004). Autosomal dominant cerebellar ataxias: Clinical features, genetics, and pathogenesis. *Lancet neurology*, *3*(5), 291-304. https://doi.org/10.1016/S1474-4422(04)00737-9

Semaka, A., Kay, C., Doty, C., Collins, J. A., Bijlsma, E. K., Richards, F., Goldberg, Y. P., & Hayden, M. R. (2013). CAG size-specific risk estimates for intermediate allele repeat instability in Huntington disease. *Journal of Medical Genetics*, *50*(10), 696-703. https://doi.org/10.1136/jmedgenet-2013-101796

Servadio, A., Koshy, B., Armstrong, D., Antalffy, B., Orr, H. T., & Zoghbi, H. Y. (1995). Expression analysis of the ataxin-1 protein in tissues from normal and spinocerebellar ataxia type 1 individuals. *Nature genetics*, *10*(1), 94-98. https://doi.org/10.1038/ng0595-94

Silveira, I., Miranda, C., Guimaraes, L., Moreira, M.-C., Alonso, I., Mendonca, P., Ferro, A., Pinto-Basto, J., Coelho, J., & Ferreirinha, F. (2002a). Trinucleotide repeats in 202

families with ataxia: A small expanded (CAG) n allele at the SCA17 locus. *Archives of neurology*, *59*(4), 623-629.

Sobczak, K., & Krzyzosiak, W. J. (2004). Patterns of CAG repeat interruptions in SCA1 and SCA2 genes in relation to repeat instability. *Human mutation*, *24*(3), 236-247. https://doi.org/10.1002/humu.20075

Squitieri, F., Andrew, S. E., Goldberg, Y. P., Kremer, B., Spence, N., Zelsler, J., Nichol, K., Theilmann, J., Greenberg, J., Goto, J., Kanazawa, I., Vesa, J., Peltonen, L., Almqvist, E., Anvret, M., Telenius, H., Lin, B., Napolitano, G., Morgan, K., & Hayden, M. R. (1994). DNA haplotype analysis of Huntington disease reveals clues to the origins and mechanisms of CAG expansion and reasons for geographic variations of prevalence. *Human Molecular Genetics*, *3*(12), 2103-2114. https://doi.org/10.1093/hmg/3.12.2103

Storey, E., du Sart, D., Shaw, J. H., Lorentzos, P., Kelly, L., McKinley Gardner, R. j., Forrest, S. M., Biros, I., & Nicholson, G. A. (2000). Frequency of spinocerebellar ataxia types 1, 2, 3, 6, and 7 in Australian patients with spinocerebellar ataxia. *American Journal of Medical Genetics*, *95*(4), 351-358. https://doi.org/10.1002/1096-8628(20001211)95:4<351::AID-AJMG10>3.0.CO;2-R

Takano, H., Cancel, G., Ikeuchi, T., Lorenzetti, D., Mawad, R., Stevanin, G., Didierjean, O., Dürr, A., Oyake, M., & Shimohata, T. (1998). Close associations between prevalences of dominantly inherited spinocerebellar ataxias with CAG-repeat expansions and frequencies of large normal CAG alleles in Japanese and Caucasian populations. *The American Journal of Human Genetics*, *63*(4), 1060-1066.

Tang B, L. C. (2000). FRequency of sca1, sca2, sca3/mjd, sca6, sca7, and drpla cag trinucleotide repeat expansion in patients with hereditary spinocerebellar ataxia from chinese kindreds. *Archives of Neurology*, *57*(4), 540-544.

Teive, H. A. G. (2009). Spinocerebellar ataxias. *Arquivos de neuro-psiquiatria*, *67*(4), 1133-1142.

Teive, H. A., Munhoz, R. P., Arruda, W. O., Lopes-Cendes, I., Raskin, S., Werneck, L. C., & Ashizawa, T. (2012). Spinocerebellar ataxias: Genotype-phenotype correlations in 104 Brazilian families. *Clinics*, *67*(5), 443-449.

Tsuda, H., Jafar-Nejad, H., Patel, A. J., Sun, Y., Chen, H.-K., Rose, M. F., Venken, K. J., Botas, J., Orr, H. T., & Bellen, H. J. (2005). The AXH domain of Ataxin-1 mediates neurodegeneration through its interaction with Gfi-1/Senseless proteins. *Cell*, *122*(4), 633-644.

Wiezel, C. E. V., Canas, M. do C. T., & Simões, A. L. (2003). The SCA1 (Spinocerebellar ataxia type 1) and MJD (Machado-Joseph disease) CAG repeats in normal individuals: Segregation analysis and allele frequencies. *Genetics and molecular biology*, *26*(2), 115-119.

Yue, S., Serra, H. G., Zoghbi, H. Y., & Orr, H. T. (2001). The spinocerebellar ataxia type 1 protein, ataxin-1, has RNA-binding activity that is inversely affected by the length of its polyglutamine tract. *Human molecular genetics*, *10*(1), 25-30.

Zhou, Y. X., Qiao, W. H., Gu, W. H., Xie, H., Tang, B. S., Zhou, L. S., Yang, B. X., Takiyama, Y., Tsuji, S., He, H. Y., Deng, C. X., Goldfarb, L. G., & Wang, G. X. (2001). Spinocerebellar ataxia type 1 in China: Molecular analysis and genotype-phenotype correlation in 5 families. *Archives of neurology*, *58*(5), 789-794.

Zoghbi, H. Y., & Orr, H. T. (2009). Pathogenic mechanisms of a polyglutamine-mediated neurodegenerative disease, spinocerebellar ataxia type 1. *Journal of Biological Chemistry*, *284*(12), 7425-7429.

10. ANEXOS

Anexo 1: Estudio *in silico* del polimorfismo en longitud de fragmentos de restricción de la enzima *SfaNI* para una secuencia de 27 tripletes CAG, con 1,2 y 3 interrupciones CAT.

- En verde: secuencia de alineamiento de los cebadores
- En gris: segmento del triplete repetido CAG.
- En fucsia: sitio de reconocimiento de la enzima *SfaNI* : GCATC(N)5

A) Fragmento de restricción con una interrupción CAT

Hebra 5´-3´

CAACATGGGCAGTCTGAGCCAGACGCCGGGACACAAGGCTGAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGC
AGCAGCAGCAGCAGCAGCATCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAG
CAGCACCTCAGCAGGGCTCCGGGGCTCATCACCCCGGGGTCCCCCCCACCAGCCCAGCAGAA
CCAGTACGTCCACATTTCCAGTT = 209pb

CAACATGGGCAGTCTGAGCCAGACGCCGGGACACAAGGCTGAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGC
AGCAGCAGCAGCAGCAGCATCAGCAG =88 pb

CAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCACCTCAGCAGGGCTCCGGGGCT
CATCACCCCGGGGTCCCCCCCACCAGCCCAGCAGAACCAGTACGTCCACATTTCCAGTT
=121 Pb

Con una interrupción CAT, la enzima siempre cortará en un sitio de restricción produciendo dos fragmentos

B) Fragmento de restricción con dos interrupciones CAT

En este análisis, la enzima puede escindir de acuerdo a la posición de CAT

Hebra 5´-3´

CAACATGGGCAGTCTGAGCCAGACGCCGGGACACAAGGCTGAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGC
AGCAGCAGCAGCAGCAGCATCAGCATCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAG
CAGCAGCACCTCAGCAGGGCTCCGGGGCTCATCACCCCGGGGTCCCCCCCACCAGCCCAGCA
GAACCAGTACGTCCACATTTCCAGTT tamaño =212 pb

1) Cuando la enzima reconoce el primer CAT

CAACATGGGCAGTCTGAGCCAGACGCCGGGACACAAGGCTGAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGC
AGCAGCAGCAGCAGCAGCATCAGCAT =88pb

CAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCACCTCAGCAGGGCTCCGGG
GCTCATCACCCCGGGGTCCCCCCCACCAGCCCAGCAGAACCAGTACGTCCACATTTCCAGTT
= 124pb

2) Cuando la enzima reconoce al segundo CAT

CAACATGGGCAGTCTGAGCCAGACGCCGGGACACAAGGCTGAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGC
AGCAGCAGCAGCAGCAGCATCAGCATCAGCAG = 94pb

Este fragmento, puede ser cortado nuevamente por la enzima, tal como sigue:

↓

CAACATGGGCAGTCTGAGCCAGACGCCGGGACACAAGGCTGAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGC
AGCAGCAGCAGCAGCAGCATCAGCAT =88pb + CAGCAG = 6pb

CAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCACCTCAGCAGGGCTCCGGGGCTCAT
CACCCCGGGGTCCCCCCCACCAGCCCAGCAGAACCAGTACGTCCACATTTCCAGTT = 118
pb

Con dos interrupciones CAT, se pueden producir 2 a 3 fragmentos, si produce 3, uno será muy pequeño.

C) <u>Fragmento de restricción con tres interrupciones CAT</u>

En este análisis, la enzima puede escindir de acuerdo a la posición de CAT

Hebra 5´-3´

CAACATGGGCAGTCTGAGCCAGACGCCGGGACACAAGGCTGAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGC
AGCAGCAGCAGCAGCAGCATCAGCATCAGCATCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAG
CAGCAGCAGCACCTCAGCAGGGCTCCGGGGCTCATCACCCCGGGGTCCCCCCCACCAGCCCA
GCAGAACCAGTACGTCCACATTTCCAGTT =215pb

1) Cuando la enzima reconoce la secuencia del primer CAT

CAACATGGGCAGTCTGAGCCAGACGCCGGGACACAAGGCTGAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGC
AGCAGCAGCAGCAGCAGCATCAGCAT =88 pb

Esta secuencia puede ser cortada nuevamente por la enzima tal como sigue:

CAGCATCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCACCTCAGCAGGGCTCC
GGGGCTCATCACCCCGGGGTCCCCCCCACCAGCCCAGCAGAACCAGTACGTCCACATTTCCA
GTT = 127 pb

↓

CAGCATCAGCAG=12pb+

CAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCACCTCAGCAGGGCTCCGGGGCTCATCAC
CCCGGGGTCCCCCCCACCAGCCCAGCAGAACCAGTACGTCCACATTTCCAGTT= 115 pb

2) Cuando la enzima reconoce la secuencia del segundo CAT

CAACATGGGCAGTCTGAGCCAGACGCCGGGACACAAGGCTGAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGC
AGCAGCAGCAGCAGCAGCATCAGCATCAGCAT = 94 pb

Este fragmento, puede ser cortado nuevamente por la enzima, tal como sigue:



```
CAACATGGGCAGTCTGAGCCAGACGCCGGGACACAAGGCTGAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGC
AGCAGCAGCAGCAGCAGCATCAGCAT  = 88 + CAGCAT = 6  = 94

CAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCACCTCAGCAGGGCTCCGGGGCT
CATCACCCCGGGGTCCCCCCCACCAGCCCAGCAGAACCAGTACGTCCACATTTCCAGTT=
121 pb
```

Si la secuencia tiene tres CAT, la enzima va a producir tres fragmentos, uno de los cuales es muy pequeño.

Finalmente, con 1, 2 o 3 interrupciones CAT la enzima producirá 2 a 3 fragmentos.

Anexo 2: Aprobación del estudio por el Comité de Ética en Investigación del Instituto Nacional de Ciencias Neurológicas

Ministerio de Salud
Instituto Nacional
de Ciencias
Neurológicas

REPUBLICA DEL PERU

N° 209 -2013-INCN-DG.

RESOLUCIÓN DIRECTORAL

Lima, 16 de Julio del 2013.

VISTOS :

El Informe Nº 036-2013- JEF.OEAIDE -INCN, emitida por la Oficina Ejecutiva de Apoyo a la Investigación y Docencia Especializada, el Proyecto de Investigación presentado por la Investigadora principal Tesista Nelly Claudia Gonzales Sáenz y los co- investigadores: Dra Pilar Elena Mazzetti Soler, Dr. Mario Reynaldo Cornejo Olivas, Ing. María Victoria Marca Ysabel, Blgo. Gerardo Olimpio Ortega Dávila, y como investigador asociado: Blgo. Demetrio Saúl Lindo SamanamudTitulado: **"DISTRIBUCIÓN DEL TRIPLETE CAG DEL GEN ATXN1 EN UNA MUESTRA DE LA POBLACIÓN MESTIZA DE HUACHO"**, aprobado mediante Certificación del Comité Institucional de Ética en la Investigación del Instituto Nacional de Ciencias Neurológicas.

CONSIDERANDO :

Que, el literal m), del Art. 8° de la Ley N° 27657-Ley del Ministerio de Salud y el Inc. d) del Art. 11° del Reglamento de Organización y Funciones, aprobado por la Resolución Ministerial N° 787-2006-MINSA, faculta al Director General aprobar los proyectos y convenios de investigación y las propuestas de innovación de normas en el ámbito de su competencia y en concordancia con la Ley N° 27658- Ley Marco de Modernización de la Gestión del Estado;

MINISTERIO DE SALUD V° B° Instituto Nacional de Ciencias Neurológicas Oficina de Asesoría Jurídica C. BERROCAL V.

Que, es visión del Instituto ser un centro líder en la investigación y desarrollo de tecnología en las ciencias neurológicas; asimismo, un centro de referencia para la formación y capacitación de profesionales de la especialidad en el ámbito nacional e internacional, y como tal, debe promover, apoyar y autorizar las investigaciones que se promuevan en el Instituto;

Que, mediante Informe Nº 036-2013- JEF.OEAIDE-INCN, la Oficina Ejecutiva de Apoyo a la Investigación y Docencia Especializada manifiesta que el Proyecto de Investigación presentado por la Investigadora principal Tesista Nelly Claudia Gonzales Sáenz Titulado: **"DISTRIBUCIÓN DEL TRIPLETE CAG DEL GEN ATXN1 EN UNA MUESTRA DE LA POBLACIÓN MESTIZA DE HUACHO"**, ha sido aprobado mediante el Certificado de Aprobación de Ética N° 012-2013-CIEI-INCN;

Que, las Ataxias hereditarias son un grupo de enfermedades genéticas neurodegenerativas, caracterizadas por incoordinación progresiva para la marcha y en extremidades, alteración variable de movimientos oculares y disartria;

MINISTERIO DE SALUD Instituto Nacional de Ciencias Neurológicas

Que, el proyecto tiene como objetivo general caracterizar la distribución del triplete CAG del gen ATXN1 en una muestra de la población mestiza de Huacho-Perú;

Que, el Proyecto: **"DISTRIBUCIÓN DEL TRIPLETE CAG DEL GEN ATXN1 EN UNA MUESTRA DE LA POBLACIÓN MESTIZA DE HUACHO"**, ha sido aprobado por el Comité Institucional de Ética en la Investigación.

Que, mediante Resolución Ministerial N° 701-2004/MINSA, se delega facultades y atribuciones a los titulares de los Institutos Especializados y que es atribución y

MINISTERIO DE SALUD Instituto Nacional de Ciencias Neurológicas Dirección General

responsabilidad del Director General expedir resoluciones de los asuntos de su competencia; y,

Con la opinión favorable del Jefe de la Oficina de Apoyo a la Investigación y Docencia Especializada; y

Con la visación de la Oficina de Asesoría Jurídica;

SE RESUELVE :

Artículo Primero.- APROBAR el Proyecto de Investigación titulado: **"DISTRIBUCIÓN DEL TRIPLETE CAG DEL GEN ATXN1 EN UNA MUESTRA DE LA POBLACIÓN MESTIZA DE HUACHO".**

Artículo Segundo.- INDICAR a la investigadora principal que un ejemplar del protocolo de la investigación deberá quedar en poder del Comité Institucional de Ética en la Investigación y la Oficina Ejecutiva de Apoyo a la Investigación y Docencia Especializada del Instituto.

Artículo Tercero.- SEÑALAR que la Investigadora principal es la Tesista Nelly Claudia Gonzales Sáenz y los co- investigadores: Dra Pilar Elena Mazzetti Soler, Dr. Mario Reynaldo Cornejo Olivas, Ing. María Victoria Marca Ysabel, Blgo. Gerardo Olimpio Ortega Dávila, y como investigador asociado: Blgo. Demetrio Saúl Lindo Samanamud.

Regístrese y comuníquese.

MINISTERIO DE SALUD
Instituto Nacional de Ciencias Neurológicas

Dra. YRMA S. QUISPE ZAPANA
Directora General (e)

YQZ/LMT/CBV/agg.

Anexo 3: Consentimiento informado

CONSENTIMIENTO INFORMADO

"DISTRIBUCIÓN DE TRIPLETES CAG DEL GEN *ATXN3* EN UNA MUESTRA DE LA POBLACION SANA MESTIZA PERUANA"

PRESENTACION DE LOS INVESTIGADORES:
Somos miembros del Centro de Investigación en Neurogenética del Instituto Nacional de Ciencias Neurológicas (INCN), con dirección en Jr. Ancash 1271, Lima, teléfono 411-7779.

- Tesista Keren Antonieta Espinoza Huertas. Celular: 991305494
- Médica neuróloga Pilar Elena Mazzetti Soler. Celular: 992063146
- Médico neurólogo Mario Reynaldo Cornejo Olivas. Celular: 992063146
- Magister María Victoria Marca Ysabel. Celular: 996171308
- Biólogo Gerardo Olimpio Ortega Dávila. Celular:961042427
- Biólogo Saúl Demetrio Lindo Samanamud. Celular: 961768848

El propósito de este formato de consentimiento es dar la información necesaria para que libremente decida si Ud. quiere participar o no en el estudio. Puede preguntar todas las dudas que tenga acerca del estudio y solo después que hayan sido contestadas todas sus preguntas podrá decidir si participa o no. Le daremos una copia de este consentimiento.

La ataxia 3 es una enfermedad familiar que se caracteriza por dificultad para caminar y para pronunciar palabras así como incoordinación con manos y pies producida por el cambio anormal del ADN. En nuestras células se encuentra el ADN, que almacena nuestra información hereditaria, como si fuera una biblioteca que almacena datos y reciben el nombre de genes. Todas las personas tenemos el gen de la ataxia 3 de un tamaño normal que varía de población a población. Nos encontramos desarrollando un trabajo para estudiar la variación del gen de la ataxia 3 en población sana peruana. Este estudio genético se puede realizar tomando una muestra de sangre.

¿Cómo será su participación en la investigación?
Si usted decide participar sucederá lo siguiente:

- Registro de antecedentes: Se le realizarán preguntas sobre el lugar de su nacimiento y origen de sus antepasados, así como sus antecedentes familiares. Esta primera parte tomara alrededor de 5 minutos.
- Examen neurológico: Se le realizará un examen neurológico para evaluar las manifestaciones de Ataxia o incoordinación. Esta segunda parte durará unos 10 minutos.
- Toma de muestra de sangre: Se le tomara una muestra de sangre en cantidad de 15 mililitros que corresponde a tres cucharadas soperas para realizar el estudio genético.

¿Cuáles son los beneficios de participar con su muestra en este estudio?
No existe beneficio directo para Ud. Por participar de esta investigación, sin embargo con los resultados de este estudio, podremos conocer la variación del gen de ataxia 3 en la población sana que nos dará una idea del riesgo de nuestra población para desarrollar esta enfermedad.

MINISTERIO DE SALUD
Instituto Nacional de Ciencias Neurológicas
Fecha de Aprobación 28 MAY 2013
Fecha de Caducidad 27 MAY 2014
Dr. JUAN DE DIOS ALTAMIRANO DEL POZO
Presidente del Comité Institucional de Ética en Investigación

¿Cuáles son los riesgos para Ud.?
Las molestias que Ud. sentirá por la toma de muestra son; algo de dolor por el pinchazo de la aguja y rara vez podría presentar un moretón en el área donde se le introdujo la aguja o bien una infección en la zona de punción. No es posible conservar totalmente la confidencialidad de su información genética, ya que en el fututo la información del ADN podría ser utilizada para desarrollar otros procedimientos como terapia génica, diseño de medicamentos, estudio de origen de nuestra población, etc.; sin embargo, estos riesgos son mínimos en este estudio debido a que nosotros almacenaremos su muestras sólo para estudios de investigación en ataxias hereditarias.

¿Son confidenciales los datos de los estudios?
Sí. Todos los hallazgos en este estudio serán confidenciales. Sus datos personales así como la muestra de sangre tendrán un código y no su nombre, los cuales quedarán registrados. Si los resultados de este estudio son publicados, su nombre no aparecerá.

¿Se le informará sus resultados?
No se le proporcionara resultados individuales sobre el análisis de su muestra debido a que esta información no será de utilidad ya que UD. es una persona sana. Al terminar el estudio, todos los participantes serán informados de los resultados globales del estudio.

Derechos de participantes

Si Ud. tiene preguntas sobre los aspectos éticos del estudio, o cree que ha sido tratado injustamente puede contactar al Dr. Juan Altamirano, Presidente del Comité Institucional de Ética del Instituto Nacional de Ciencias Neurológicas, teléfono 51- 1 4117762.

DECLARACIÓN DEL PARTICIPANTE

Yo,..... Declaro que he sido informado sobre las características de este estudio, que he podido hacer preguntas y mis dudas han sido resueltas. Sé que mi participación es voluntaria y que puedo retirarme en cualquier momento. Sé que mi participación contribuirá al mejor conocimiento de la enfermedad sin otro beneficio para mí. Con estos conocimientos:

Autorizo o doy mi consentimiento para ...	SI	NO
Que se me extraiga una muestra de sangre para obtención de ADN para estudiar la variación del gen de la Ataxia 3 en población sana.		
Que se me contacte en el futuro en caso de que producto del estudio se encuentre alguna información de interés para mi caso		

MINISTERIO DE SALUD
Instituto Nacional de Ciencias Neurológicas
Fecha de Aprobación 28 / 05 / 2013
Fecha de Caducidad 28 / 05 / 2014
Dr. JUAN DE DIOS ALTAMIRANO DEL POZO
Presidente del Comité Institucional de Ética en Investigación

PARTICIPANTE	TESTIGO
Nombre completo	**Nombre completo**
.....	.....
.....	.....
Firma	**Firma**
.....	.....
Fecha y hora.....	**Fecha y hora**.....

Investigador que toma el consentimiento: .....

Firma: .....

Fecha y hora: .....

Si el solicitante no está capacitado para dar su consentimiento

Yo, como representante legal autorizado y/o familiar responsable del solicitante y consentimiento para participar en investigación.

Nombre completo: .....

Firma: .....

Fecha y hora: .....

Revocatoria (retiro) del Consentimiento:

Nombre completo .....

Firma .....

Fecha y hora: .....

MINISTERIO DE SALUD
Instituto Nacional de Ciencias Neurológicas
Fecha de Aprobación 28 / 05 / 2013
Fecha de Caducidad 28 / 05 / 2014
Dr. JUAN DE DIOS ALTAMIRANO DEL POZO
Presidente del Comité Institucional de Ética en Investigación

PARTICIPACIÓN EN ESTUDIOS POSTERIORES DE INVESTIGACIÓN

Los estudios genéticos, especialmente en enfermedades del sistema nervioso, se realizan continuamente en todo el mundo. Cada día se buscan y encuentran genes involucrado en enfermedades neurológicas. Los resultados se verán mejor en el futuro. Por ello le pedimos permiso para que la muestra de ADN obtenida a partir de su sangre se almacene en el Servicio de neurogenética del Instituto. El propósito es seguir investigando no sólo en la Ataxia tipo 3 sino en otras formas de ataxia hereditarias y otras enfermedades neurológicas que pudieran tener una explicación genética. Un Comité de Ética en Investigación siempre evaluará y autorizará cualquier investigación que se realice en el futuro. Si Ud. desea puede autorizar con su firma su participación en estudios posteriores:

Autorizo que mi muestra de sangre sea utilizada en estudios genéticos posteriores relacionados a Ataxias y otras enfermedades neurológicas.

_____

Participante ó familiar responsable

MINISTERIO DE SALUD
Instituto Nacional de Ciencias Neurológicas
Fecha de Aprobación: 28 / 05 / 2013
Fecha de Caducidad: 28 / 05 / 2014
Dr. JUAN DE DIOS ALTAMIRANO DEL POZO
Presidente del Comité Institucional de Ética en Investigación

Anexo 4

COMPROMISO DE CONFIDENCIALIDAD

Yo, Nelly Claudia Gonzales Sáenz,
con DNI No. 46296417 ,en mi condición de tesista,
trabajo/asisto/hago una rotación en el Servicio y Laboratorio de Neurogenética del Instituto Nacional de Ciencias Neurológicas, desde setiembre de 2012 hasta abril de 2014.

Desde el inicio de mi trabajo y en adelante, sin importar en que Institución o dependencia trabaje, me comprometo a guardar confidencialidad y no divulgar bajo cualquier forma de difusión, la información que tenga que manejar como parte de mi permanencia en el Servicio y Laboratorio, incluyendo nombres de las personas e identificación de las familias a las que pertenecen, resultados clínicos y moleculares encontrados, contenido de la consejería genética y otros no directamente especificados en este documento pero que pongan en riesgo la confidencialidad debida a las personas directa o indirectamente afectadas que acuden para atención. Igualmente, me comprometo a guardar confidencialidad bajo las mismas características antes mencionadas, con respecto a las bases de datos y técnicas moleculares que se emplean en el Servicio y Laboratorio y los resultados clínico moleculares disponibles, y a no modificar ni copiar las bases de datos, protocolos clínicos o técnicos y resultados antes mencionados.

Barrios Altos, 11 de marzo del 2013.

