

11262 25



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

FACULTAD DE MEDICINA

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACION

PROGRAMA DE MAESTRIA Y DOCTORADO EN

CIENCIAS MEDICAS,

ODONTOLOGICAS Y DE LA SALUD

**CARACTERIZACION CLINICA Y MOLECULAR DE
UN NUEVO TIPO DE ATAXIA AUTOSOMICO
DOMINANTE: ATAXIA ESPINOCEREBELOSA
TIPO 10 (SCA10).**

TRABAJO DE INVESTIGACION

Q U E P R E S E N T A:

ASTRID RASMUSSEN ALMARAZ

PARA OBTENER EL TITULO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS MEDICAS

Facultad de Medicina



MEXICO. D. F.

2002

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
Coordinación de Maestrías y Doctorados en Ciencias Médicas,
Odontológicas y de la Salud

**CARACTERIZACION CLINICA Y MOLECULAR DE UN NUEVO TIPO DE
ATAXIA AUTOSOMICO DOMINANTE: ATAXIA ESPINÓCEREBELOSA TIPO
10 (SCA 10)**

TESIS PROFESIONAL PRESENTADA POR:
ASTRID OLIVIA RASMUSSEN ALMARAZ
COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL TITULO DE MAESTRO EN CIENCIAS

JURADO CALIFICADOR:


PRESIDENTE (DR. ANTONIO VELÁZQUEZ ARELLANO)

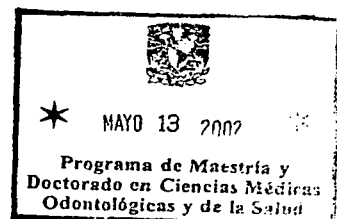

VOCAL/DIRECTOR DE LA TESIS (DRA. MARIA ELISA ALONSO VILATELA)


SECRETARIO (DRA. ALESSANDRA CARNEVALE CANTONI)


SUPLENTE (DRA. TERESITA CORONA VÁZQUEZ)


SUPLENTE (DR. RAMÓN MAURICIO CORAL VÁZQUEZ)

Cd. Universitaria, D. F., a 19 de Abril de 2002.





INSTITUTO NACIONAL DE NEUROLOGIA Y NEUROCIURGIA
MANUEL VELASCO SUAREZ

INSURGENTES SUR No. 3877
COL. LA FAMA C.P. 14269
MEXICO, D.F.
TEL. 5606-3822
www.innn.edu.mx

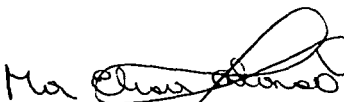
México, D. F. a 14 de Marzo de 2002.

Dr. Luís Felipe Abreu Hernández.
Coordinador General del Programa
de Maestrías y Doctorados en Ciencias
Médicas y Ciencias de la Salud.

Estimado Dr. Abreu:

Por medio de la presente hago constar que he sido tutor la Dra. Astrid Rasmussen Almaraz, alumna de Maestría en Ciencias Médicas, quien durante este periodo mostró un desempeño adecuado y que ha realizado el trabajo "Caracterización clínica y molecular de un nuevo tipo de ataxia autosómico dominante: ataxia espinocerebelosa tipo 10 (SCA10)" que fue publicado por la revista Annals of Neurology en Septiembre de 2001. Este trabajo cubre la calidad suficiente como documento de tesis para obtener el grado de maestro en ciencias médicas, y está complementado por otras publicaciones en el mismo campo de estudio, así como por un texto introductorio y conclusiones, tal y como lo refiere el numeral 5.2.5.5 inciso (f) del programa.

Reciba un cordial saludo,


Dra. María Elisa Alonso Vilatela,
Tutor

RESUMEN

Las ataxias espinocerebelosas autosómico dominantes (SCAs) son un grupo heterogéneo de padecimientos cuyos síntomas predominantes son atribuibles a disfunción cerebelosa. La heterogeneidad tanto inter como intrafamiliar que presentan, imposibilita su clasificación con base en la clínica por lo que en la actualidad se basa en el defecto genético subyacente. Hasta el momento hay 16 SCAs diferentes, habiéndose identificado mutaciones del tipo de expansión de trinucleótidos repetidos en 9 genes causales: SCA1, 2, 3, 6, 7, 8, 12 y 17. En 1999 se describieron dos familias mexicano-americanas con ataxia autosómica dominante mas epilepsia que no presentaban mutación o ligamiento a ninguno de los genes conocidos de SCAs; mediante estrategias de clonación posicional se estableció ligamiento con el cromosoma 22q13-qter, y se denominó SCA10 a éste padecimiento. El gen y la mutación responsables fueron identificados por nuestro grupo recientemente: un pentanucleótido repetido polimórfico (ATTCT) en el intron 9 del gen *SCA10*, se encuentra expandido en los individuos afectados por el padecimiento.

El objetivo del presente estudio fue analizar las características fenotípicas de los individuos afectados con el objeto de establecer la correlación genotipo-fenotipo.

Las características fenotípicas se analizaron en 18 individuos afectados de 4 familias mexicanas con SCA10. La edad promedio de inicio en los pacientes fue de 26.72 años (rango 14-44), y el repetido ATTCT iba de 920 a 4140 repetidos. Clínicamente, mostraron ataxia cerebelosa y epilepsia aunados a signos piramidales, disquinesia ocular, demencia y/o alteraciones conductuales. La resonancia magnética cerebral mostró atrofia predominantemente cerebelosa, y los estudios de conducción nerviosa polineuropatía axonal en 60% de los pacientes. Una de las familias cursó con anomalías hepáticas, cardíacas y hematológicas en sus miembros afectados, los cuales tenían los repetidos

MARCO TEÓRICO

El cerebelo es el órgano encargado del control o regulación del tono muscular, de la coordinación de los movimientos (principalmente los movimientos voluntarios), y del control de la postura y la marcha. Los trastornos cerebelosos se manifiestan de tres maneras principales: a) pérdida del tono muscular, b) incoordinación del movimiento voluntario (*Ataxia*) y c) trastornos del equilibrio y la deambulación (1).

La ataxia se caracteriza por movimientos incoordinados, de tal forma que el inicio del movimiento es lento, los movimientos son interrumpidos en vez de constantes y su fuerza y velocidad no se controlan adecuadamente. Aquellos padecimientos que afectan predominantemente al cerebelo y sus funciones se han denominado genéricamente Ataxias. Las ataxias son un grupo heterogéneo de padecimientos, que puede subdividirse en: (2)

1. Ataxias congénitas (no progresivas)
2. Ataxias hereditarias con defecto metabólico conocido.
3. Ataxias hereditarias de inicio temprano (en su mayoría Autosómicas recesivas)
4. Ataxias hereditarias de inicio tardío (en su mayoría Autosómicas dominantes)
5. Ataxias idiopáticas de inicio tardío (Tablas 1 y 2).

Por desgracia, muchas de estas ataxias son progresivas e incapacitantes, y sus causas apenas empiezan a dilucidarse estando aun lejano el momento en que sean curables.

Las ataxias autosómicas dominantes de inicio tardío han sido sumamente difíciles de clasificar, ya que existe una importante variabilidad clínica e histopatológica en pacientes con una misma enfermedad, e incluso en miembros de una misma familia afectada. Se han utilizado epónimos para designarlas, y algunos autores las engloban bajo el término de Atrofia olivopontocerebelosa (OPCA), lo cual es inapropiado ya que el término implica únicamente atrofia de los núcleos olivares inferiores y pontinos así como de la corteza cerebelosa, sin embargo es casi un hecho constante la presencia de alteraciones en la

médula espinal, ganglios basales, corteza cerebral y nervios periféricos. Asimismo, es poco frecuente que estos padecimientos se presenten como un síndrome cerebeloso puro, pudiendo asociarse a demencia, oftalmoplegia, atrofia óptica, retinosis pigmentaria y disfunción extrapiramidal (2, 3, 4). Desde el punto de vista clínico la clasificación mas aceptada es la de A. Harding (Tabla 3).

Recientemente los avances en técnicas de Biología molecular han permitido reclasificar a estos padecimientos con base en el defecto genético subyacente, y se ha propuesto que en un futuro esta sea la única clasificación de las ataxias (6, 7, 8). Hasta el momento actual se han identificado 16 loci de ataxias cerebelosas. Estos se denominan genéricamente SCAs (del inglés Ataxia espinocerebelosa), y están descritos en la Tabla 4.

Estas ataxias espinocerebelosas pertenecen a un novedoso grupo de enfermedades neurodegenerativas, caracterizado porque la mutación causal en todas ellas es la expansión de un microsatélite repetido. Los genes afectados por este tipo de mutación contienen secuencias de tripletes repetidos las cuales son polimórficas en cuanto a longitud, sin embargo, al cruzar un número umbral de repetidos, la secuencia se vuelve inestable en su transmisión a través de la línea germinal y da lugar a enfermedad. Presentan también el fenómeno de anticipación, que consiste en que generaciones subsecuentes presentan un inicio mas temprano de la enfermedad y un fenotipo mas severo que el de sus progenitores.

Las enfermedades por expansión de tripletes se pueden subdividir en dos grupos principales: aquellas con expansiones de trinucleótidos CAG, y aquellas con expansión de otros trinucleótidos. En el caso de la mayoría de las SCAs el triplete responsable es CAG siendo la excepción SCA 8 que se debe a la expansión de un triplete CTG.

Las enfermedades con expansión de tripletes no-CAG se caracterizan por presentar la mutación en regiones no codificadoras del gen (habitualmente afectando regiones reguladoras), el número de copias del repetido puede ser muy elevado y varia entre una

enfermedad y otra, presentan un rango intermedio de repetidos que se comporta como premutación y tienden a ser enfermedades con involucro sistémico. Son ejemplos de este grupo: Distrofia miotónica (DM), Síndrome de X frágil (FRAXA y FRAXE), la Ataxia de Friedreich (FA) y las recién identificadas Ataxia espinocerebelosa tipo 8 (SCA8) y Distrofia miotónica tipo 2.

El segundo grupo consiste en enfermedades con expansión del trinucleótido CAG dentro de la porción codificadora del gen, lo cual a nivel proteico se traducirá en trectos de poliglutaminas. Estos padecimientos son predominantemente neurodegenerativos, con un número comparativamente bajo de repetidos, y no tienen una franca premutación sino alelos intermedios que son menos inestables en su paso a través de la meiosis. Este grupo está comprendido por la Enfermedad de Huntington (EH), la atrofia dentatorubropalidoluisiana (DRPLA), la atrofia muscular espinal y bulbar (SBMA) o Enfermedad de Kennedy, y las ataxias espinocerebelosas tipo 1, 2, 3, 6, 7, 12 y 17 (27, 28).

Se han realizado estudios en diversas poblaciones de pacientes con ataxia con el objetivo de identificar cual es la mutación causal mas frecuente. Los resultados apoyan diferencias importantes con base en el grupo étnico estudiado, y también la existencia de otros loci aun no identificados, que son responsables de cuando menos el 20% de los casos de ataxia espinocerebelosa autosómico dominante. Estudios recientes sugieren que en general la frecuencia de mutaciones de SCA3 contribuye a un 23-34% de casos de SCAs, mutaciones en SCA2 al 13-15% de los casos y alteraciones de SCA1 a un 6-14% (29, 30, 31). Pocos son aun los reportes de mutaciones de las SCAs restantes, sin embargo se prevee que SCA6 tendrá también una frecuencia elevada en algunas poblaciones, sobre todo la japonesa (31, 33, 34).

Un ejemplo claro de las variaciones étnicas es Portugal, en donde el 74% de los casos de ADCA tipo I se deben a mutaciones en el gen SCA3/MJD, seguido por un 4% en SCA2 y

solo ocasionalmente mutaciones en los otros genes (35, 36). En otras poblaciones se ha encontrado que la proporción del total de mutaciones asociadas a ADCA tipo I correspondiente a cada locus es:

- Japón (33, 34): SCA3/MJD = 33.7%, DRPLA = 19.8%, SCA2 = 5.9%, SCA6 = 5.9%.
- Corea (37): SCA2 = 46.15%, SCA3/MJD = 30.76%, SCA1 = 15.3% y SCA6 = 7.6%.
- Alemania (37, 39): SCA3/MJD = 40.3-42%, SCA6 = 22%, SCA2 = 10-20.5%, SCA1 = 9-13.2%.
- Reino Unido (32, 40, 41): SCA2 = 40%, SCA1 = 35%, SCA3/MJD = 15% (de los alelos en que se documentó alguna mutación). En una muestra abierta de pacientes con ataxia, SCA6 contribuyó con 6%, SCA2 = 4%, SCA1 = 1.3%, DRPLA = 1.3% y SCA3/MJD = 0.68%.
- Francia (30, 42, 43): SCA3/MJD = 33-34%, SCA2 = 15-16%, SCA1 = 14-15%, SCA7 = 6% y SCA6 = 1%.
- Estados Unidos (29, 44, 45): SCA2 = 13-18%, SCA3 = 8.2-23%, SCA1 = 6-8.2% y SCA6 = 4.7%.

Hasta el momento no se ha reportado la frecuencia de estas mutaciones en poblaciones latinoamericanas o hispánicas.

En el caso de población mexicana, un estudio de 28 familias autosómico dominantes mostró que el 42.8% se debía a mutaciones en SCA2, 10.7% SCA7 y 7.1% a SCA3, el 25% de los casos se debe a loci no analizados. No se encontraron casos de SCA1, SCA6, SCA8, SCA12 ó DRPLA. Entre los casos esporádicos, se identificaron 4 con SCA2 (28).

Las características sobresalientes de cada una de las SCAs son:

SCA 1: La ataxia espinocerebelosa tipo I (SCA1) se mapeó a la región 6p22-p23 y el gen fue clonado en 1993 (9). La mutación es la expansión de un repetido CAG polimórfico, siendo el umbral para considerarlo patológico 43 copias del mismo, mientras que la

población sana tiene 36 o menos copias del triplete. Desde el punto de vista clínico se ha sugerido que estos pacientes se caracterizan por tener mayor espasticidad que otros tipos de SCAs. El producto del gen es la Ataxina 1, siendo su función hasta el momento desconocida, si bien se ha postulado que interviene en la vía de apoptosis. (29).

SCA 2: La ataxia espinocerebelosa tipo 2 (SCA2) fue inicialmente descrita en una población endogámica de Cuba por Orozco y cols. en 1990 (30), quienes mapearon el locus ahora llamado SCA2 a la región q23-q24.1 del cromosoma 12. El gen fue clonado en 1996 de manera casi simultánea por tres grupos (10, 11, 12). El repetido CAG se encuentra hacia el extremo 5' de la región codificadora, y en alelos normales tiene un número de repetidos que va de 14 a 31 copias (31), siendo poco polimórfico en la población, ya que el alelo de 22 repetidos contribuye a más del 90% de todos los alelos (10, 11, 12). Los alelos anormales tienen un rango que va de 35-64 repetidos, y se han reportado 4 casos de alelos intermedios entre 31 y 34 repetidos en individuos asintomáticos, desconociéndose si desarrollarán el padecimiento o no. (31, 32). El producto del gen se denominó ataxina 2 y tiene un peso molecular de 145 kD, no compartiendo características con las otras ataxinas descritas hasta la fecha, ni con otras proteínas conocidas. Hasta el momento se desconoce la función de la ataxina 2.

Clinicamente los pacientes cursan con ataxia cerebelosa, sacadas lentas, e hiporreflexia como tríada característica, si bien existe tanta variabilidad de expresión inter e intra-familiar que no consideran posible el diagnóstico basado solo en características clínicas (32).

SCA3 / ENFERMEDAD DE MACHADO-JOSEPH (MJD): La Enfermedad de Machado-Joseph se describió originalmente en familias originarias de las Islas Azores, y se consideró restringida a población de dichas Islas y población Portuguesa; posteriormente se ha determinado que su distribución es universal. Clínicamente cursa con ataxia cerebelosa y

oftalmoplegia, así como fasciculaciones faciales y linguales y pseudoproptosis secundaria a retracción palpebral en algunos pacientes, y se distinguen tres variantes (33): Tipo 1: Inicio temprano (25 años) con signos piramidales y posturas distónicas. Tipo 2: El más común, de inicio en edad adulta con predominio de ataxia con oftalmoplegia con o sin signos piramidales. Tipo 3: Inicio más tardío, con progresión lenta y predominio de amiotrofia.

En 1994 se determinó que SCA3 es alélica a MJD (33, 34), y la causa de ambas es la expansión de un triplete CAG (13).

SCA4: En 1994, Gardner et al. describieron una familia con una forma distinta de ataxia autosómico dominante y mostraron ligamiento al cromosoma 16q (14). Flanigan et al, en 1996, refinaron la región candidata a 6cM en 16q22.1, estudiando a la misma familia (35). Clínicamente los pacientes cursaron con ataxia aunada a una neuropatía sensitiva axonal muy prominente. Cuatro años después se reportó una familia japonesa con un cuadro de ataxia cerebelosa pura y ligamiento a la misma región que SCA4, sin embargo debido a que en ninguno de los dos casos se han identificado el gen y mutación responsables, aún está por definirse si se trata de expresividad variable de una misma enfermedad, o si serán enfermedades alélicas o incluso causadas por dos genes diferentes en sitios muy cercanos.

SCA5: En 1994, Ranum et al describieron una familia de 10 generaciones con ataxia dominante "pura" y fenómeno de anticipación más evidente con transmisión por línea materna, que mostró ligamiento a la región centromérica del cromosoma 11. Esta familia incluye a los ancestros del presidente Abraham Lincoln (15). En 1999, Stevanin et al reportaron una segunda familia en Francia, con ligamiento al locus de SCA5, sin embargo no fue posible refinar la región candidata, y hasta el momento no se conoce la mutación responsable (36).

SCA6: El locus SCA6 se identificó en 1997 por Zhuchenko y cols (16). El gen, localizado en el cromosoma 19, codifica para el receptor $\alpha 1A$ de un canal de calcio regulado por

voltaje, y es el mismo gen que es responsable de una Ataxia episódica familiar, y de migraña hemipléjica familiar cuando presenta mutaciones puntuales (16). Los alelos normales tienen de 4 a 16 copias del repetido, mientras que los anormales van de 21 a 27 copias, un número considerablemente menor que el necesario para causar patología en otras enfermedades por expansión de CAGs (37, 38, 39). Las mutaciones en este gen son una causa importante de ataxia autosómica dominante en población japonesa. Basado en el estudio de una paciente homocigoto con un cuadro severo, se ha propuesto que la dosis génica de este receptor es importante en la expresión fenotípica de la patología (37).

SCA7: Corresponde a ADCA II, que cursa con ataxia asociada a distrofia macular pigmentaria. El gen *SCA7* se localiza en 3p12-p21.1 y sus alelos normales tienen 7 a 16 copias del repetido CAG, mientras que los patológicos son altamente inestables, con un rango reportado de 41 a 306 repetidos (17, 40). El fenotipo de los pacientes incluye ataxia, maculopatía, demencia, alteraciones sensitivas y motoras, y ocasionalmente alucinaciones auditivas. Existe una forma juvenil con inicio temprano y cuadro clínico mas severo, y otra denominada infantil, en la cual los pacientes detectados han presentado hipotonía severa, retraso motor y cardiopatías congénitas graves (40). Evidencia reciente sugiere que hay heterogeneidad génica en las ADCA tipo II, ya que se ha descrito cuando menos una familia con el cuadro clínico característico y sin evidencia de expansión del triplete CAG o ligamiento al gen *SCA7* (41).

SCA 8: Fue descrita en Abril de 1999 por el grupo de Laura Ranum (18). *SCA8* mapea a la región 13q21 y las características de la mutación son diferentes a las detectadas en las demás SCAs. Se trata de una expansión extremadamente inestable de un repetido CTG, el cual se traduce en el sentido CTG y no en el sentido CAG como se hubiera esperado. Se localiza en el extremo 3' del gen, y el transcrito tiene variantes de 3 y 4 exones, las cuales no muestran un marco de lectura abierto, lo cual implica que no hay traducción del

transcrito en proteína. Se sospecha que su actividad sea a nivel de mRNA, y posiblemente se comporte como un mRNA anti-sentido que interactúa con proteínas con afinidad por regiones CUG. El alelo normal tiene un rango de 16 a 91 repetidos, aunque el 99% de individuos tiene entre 16 y 37 repetidos; por su parte el alelo mutado tiene un rango de 107 a 127 repetidos. Se encontró que en las 8 familias descritas hay un muy importante sesgo de penetrancia de la enfermedad a favor de la herencia materna, esto parece deberse a que el alelo tiende a tener importantes incrementos de tamaño cuando se hereda de la madre, y deleciones cuando se hereda del padre (42). Clínicamente son indistinguibles de otras SCAs excepto por disminución del sentido de vibración. (18).

Algunos autores han cuestionado que la expansión del trinucleótido CTG realmente sea la causa de la enfermedad, basándose en la detección de alelos con un número de repetidos CTG en el rango expandido en individuos sanos o con enfermedades diferentes a ataxia y edad muy superior a la esperada como edad de inicio de la ataxia. (43, 44, 45, 46).

SCA11, SCA13, SCA14 y SCA16: Los genes causales de estas cuatro variantes aun no se han identificado. SCA11 fue descrita en una familia con ADCA tipo III mapeando a 15q14-q21.3 (20). SCA13 se identificó en una familia francesa, y se caracteriza por inicio en la infancia, curso lento y retraso mental moderado (22); se localiza en 19q13.3-q13.4, mismo sitio al que mapea SCA14, que tiene inicio tardío, un cuadro clínico compatible con ADCA III y en pacientes jóvenes se manifiesta inicialmente por mioclonus axial intermitente (23). SCA16 corresponde a una familia japonesa con ligamiento a 8q22.1-q24.1 (24).

SCA12: Corresponde a una variante infrecuente de ataxia que clínicamente se distingue de los demás subtipos por la presencia, además de la ataxia, de temblor de acción en cabeza y manos, y ocasionalmente por la adición de síntomas parkinsonicos. Se debe a la expansión de un repetido CAG en el extremo 5' no traducido del gen *PPP2R2B* (subunidad cerebro-específica de la proteína-fosfatasa PP2A), que se localiza en el cromosoma 5q31-q33 (21).

SCA17: La adición mas reciente a la lista se debe a la expansión de un trinucleótido CAG en el gen TBP (*TATA-binding protein*). El rango normal es de 29-43, son alelos intermedios aquellos entre 43-46 y patogénicos entre 46-55 repetidos. Clínicamente da lugar a un cuadro complejo con inicio en la 3ª década de la vida con ataxia, alteraciones psiquiátricas y demencia a la cual se puede agregar parkinsonismo y convulsiones. Existe una fuerte correlación inversa entre el tamaño del repetido y la edad de inicio del padecimiento, sin embargo no se ha descrito inestabilidad del mismo en su transmisión meiótica (25, 50)

DRPLA: La atrofia dentatorubropalidoluisiana se caracteriza por ataxia, coreoatetosis, demencia epilepsia y mioclonus progresivo secundaria a la degeneración de los sistemas dentatorubral y palidoluisiano en el sistema nervioso central. El cuadro clínico en pacientes jóvenes se asemeja a las epilepsias mioclónicas progresivas mientras que los individuos con inicio tardío tienen predominio de ataxia, corea y demencia. Este padecimiento es particularmente frecuente en población japonesa (51).

El gen responsable se localiza en 12p12-pter, y fue clonado en 1994 (26). Presenta un repetido CAG, cuyo rango en alelos normales va de 7 a 23 repetidos, mientras que los alelos mutados tienen entre 53 y 88 copias del triplete. (51). Se ha demostrado posteriormente que la misma mutación es responsable del síndrome de Haw River, descrito en población norteamericana.

ATAXIA ESPINOCEREBELOSA TIPO 10

La ataxia espinocerebelosa tipo 10 (SCA10; MIM 603516; refs. 1,2) es un padecimiento autosómico dominante caracterizado por ataxia cerebelosa y crisis convulsivas. SCA10 inicialmente se describió como un síndrome cerebeloso puro, y por lo tanto se clasificó como ADCA tipo III (ADCAIII) (5); sin embargo, estudios posteriores han demostrado que algunos pacientes también presentan convulsiones (1). Tal y como ocurre en las demás ADCAs, los miembros afectados de las familias con SCA10 muestran el inicio de la

sintomatología de manera mas temprana en generaciones sucesivas, un fenómeno genético conocido como anticipación (5). Por el momento, SCA10 solo ha sido identificada en población mexicana (1,5).

En 1999, tanto Zu y cols, como Matsuura y cols, mapearon el locus *SCA10* al cromosoma 22q13-qter (1,2). Recientemente, nuestro grupo en colaboración con el Baylor College of Medicine, clonó el gen *SCA10* y descubrió la mutación causal de SCA10. Inicialmente, identificamos 4 familias mexicanas con un padecimiento autosómico dominante caracterizado por ataxia cerebelosa y crisis convulsivas (Fig. 1a). Algunas de las cuales presentaron fenómeno de anticipación, sugiriendo que se tratara de una enfermedad por expansión de trinucleótidos repetidos. Descartamos expansión de los repetidos CAG ó CTG involucrados en SCA1-3, 6-8 ó 12 (6-14).

Dos eventos de recombinación refinaron la región candidata de SCA10 a 2.7 cM en la región comprendida entre D22S1140 y D22S1153 (1, 2, 20). A pesar de que la secuencia de DNA de toda la porción eucromática del cromosoma 22 humano está disponible, aún existen 11 brechas que no se han secuenciado (21). El marcador D22S1153 se localiza en una de estas brechas, y por lo tanto, no nos era posible determinar el tamaño físico exacto de la región candidata de SCA10. Sin embargo, existen dos contigs compuestos de cromosomas bacterianos artificiales (BACs), cromosomas artificiales derivados del fago P1 (PACs) y diversos cósmidos que sí cubren la mayor parte de ésta región.

Debido al patrón de herencia autosómico dominante de SCA10 y la posible anticipación, examinamos 14 repetidos trinucleótidos (>3 repetidos cada uno) que se han descrito en la región candidata en la base de datos genómica del cromosoma 22 en el Centro Sanger (21). Ninguno de estos repetidos mostró expansiones en los miembros afectados de las familias con SCA10. Además, el análisis de las muestras de DNA genómico de los miembros afectados de las familias mediante la técnica de RED (detección de repetidos expandidos)

(22), no logró identificar secuencias CAG ó CAA expandidas. El análisis por Western-Blot - con un anticuerpo monoclonal que reconoce trectos expandidos de poliglutaminas- de proteínas obtenidas de líneas linfoblastoides de los pacientes tampoco dio resultados positivos. Esto nos llevó a extender nuestro análisis a la búsqueda de otros microsatélites que no fueran trinucleótidos repetidos (29).

El análisis por PCR de una región que incluye un repetido en tándem del pentanucleótido ATTCT en el intron 9 del gen *SCA10* (antes conocido como *E46*) mostró que el número de repetidos era polimórfico en individuos normales (Fig. 1b). Los alelos normales contenían de 10 a 20 repetidos con un 82.1% de heterocigosidad. El análisis de la secuencia de alelos obtenidos a partir de 20 individuos normales, mostró que los repetidos ATTCT en tándem no mostraban interrupciones. Su distribución fue unimodal, con patrones similares en muestras obtenidas de individuos mexicanos, europeos y japoneses. La distribución de los alelos en cada uno de los tres grupos étnicos definidos (incluyendo 127 individuos de origen mexicano) fue consistente con la Ley de Hardy-Weinberg ($p > 0.05$). En familias con *SCA10*, el análisis por PCR de dicha región demostró de manera uniforme una pérdida de heterocigosidad en todos los individuos afectados y en los portadores del haplotipo que co-segregaba con la enfermedad (1,2). El alelo que amplificó en dichos individuos fue el alelo heredado del progenitor sano. Cuando los progenitores afectados y no afectados de los pacientes mostraban alelos con repetidos ATTCT de diferente tamaño, encontramos que el alelo único que amplificaba en el progenitor afectado nunca era que el que amplificaba en el descendiente enfermo, sugiriendo que el progenitor afectado era hemicigoto y que solo se lograba la amplificación del alelo del cromosoma silvestre (no-*SCA10*) (Fig. 1b). Se diseñaron otros dos pares de cebadores que flanqueaban el repetido ATTCT y los resultados obtenidos fueron similares, excluyendo la posibilidad de que la aparente hemicigosidad fuera debida a una mutación en el sitio de unión del cebador. Para investigar mas a fondo

estas observaciones, realizamos análisis por Southern Blot. Hibridamos DNA genómico digerido con diversas endonucleasas de restricción con una sonda no-repetitiva obtenida amplificando mediante PCR, la región inmediatamente río-arriba del repetido ATTCT usando como template DNA de una clona PAC (RP1-37M3). Se observó, además del alelo normal, un alelo expandido de longitud variable en todos los individuos afectados, mientras que en todos los individuos sanos de las familias se observaron dos alelos en el rango esperado para el alelo silvestre, lo cual demostró que la región repetida solo se encuentra expandida en pacientes con SCA10 (Fig. 1c) (29).

Con el objeto de delinear mejor el fenotipo, analizamos los hallazgos clínicos y moleculares de 4 familias Mexicanas con SCA10, tres de ellas utilizadas previamente para la identificación del gen *SCA10*. De 28 miembros identificados como afectados, se examinó a 18, así como a dos portadores asintomáticos de la mutación. La edad de inicio promedio fue de 26.7 años (rango 14-44). Examinamos 7 transmisiones de una generación a otra; en 6 de los casos fue madre/hijo(a) (III-7/IV-14, III-9/IV-24, III-9/IV-25, III-12/IV26, III-12/IV28, III-12/IV-30, y III-12/IV-32 de la Familia C) y el 7º caso fue padre/hijo (II-2/III-1 de la Familia E). La edad de inicio en la generación parental fue 23.3 ± 2.5 años (promedio \pm desviación estándar) mientras que en la filial fue 25.3 ± 7.1 años ($p > 0.05$), lo cual sugirió que no había fenómeno de anticipación. Los individuos afectados presentaron alelos del gen *SCA10* con 920 a 4140 repetidos ATTCT. No nos fue posible detectar una correlación significativa entre la edad de inicio y el tamaño del repetido en nuestros pacientes ($r = -0.02$, $r^2 = 0.0004$; $p > 0.96$).

La ataxia de la marcha fue la manifestación inicial de la enfermedad en la mayoría de los casos, seguida por disartria. Sin embargo, la mayoría de los individuos afectados mostraron también grados variables de ataxia de extremidades. El nistagmo (principalmente nistagmo a la mirada sostenida) se encontró en pacientes con un curso largo de la enfermedad,

mientras que la disquinesia ocular iba desde intrusiones leves de sacadas hipométricas durante el seguimiento visual, hasta flutter ocular franco. Trece de los 18 afectados tuvieron crisis convulsivas motoras generalizadas con inicio pocos años después del inicio de la ataxia. Seis de los trece tenían además crisis parciales motoras o parciales complejas, las cuales se presentaron varias veces por día si el paciente no recibía fármacos anticonvulsivantes. Dos sujetos claramente mostraron signos de afección del tracto corticoespinal con hiperreflexia bilateral, hipertonía espástica y signo de Babinski, mientras que otros seis sujetos tuvieron síntomas leves de compromiso piramidal consistentes en uno o dos de los síntomas antes mencionados. Diez de los 18 afectados presentan trastornos del estado de ánimo consistentes en depresión, agresividad o ambas. Los dos portadores asintomáticos de la mutación tuvieron una exploración neurológica normal.

Llevamos a cabo estudios de extensión en ocho de los dieciocho enfermos. La resonancia magnética cerebral de los ocho evidenció atrofia cerebelosa hemisférica y vermiana en todos los casos con mínima o ausente atrofia cortical y de tallo cerebral. El electroencefalograma se reportó como anormal en todos los pacientes. La alteración mas frecuente fue disfunción cortical difusa con actividad lenta, fusionada y desorganizada. Cinco de los ocho pacientes tuvieron irritabilidad cortical focal o enlentecimiento focal. El rango del coeficiente intelectual fue de 61 a 94 (media \pm desviación estándar = 79 ± 11). De acuerdo con el inventario MMPI los pacientes mostraron rasgos depresivos, agresivos y/o irritables. Los individuos afectados cursaron con una pérdida sensitiva leve en las regiones distales de las extremidades inferiores, al ser explorados neurológicamente, y los estudios de conducción nerviosa confirmaron la existencia de polineuropatía en cuatro de los seis sujetos estudiados. En la familia C, III-7 y III-12 tuvieron elevación de ALT y AST, trombocitopenia y anemia normocítica normocrómica; III-6 murió por anemia mas un padecimiento hepático no definido y IV-24 tiene anemia normocítica normocrómica y un

soplo en región precordial. En esta misma familia, IV-26 fue sometida a corrección quirúrgica de persistencia de conducto arterioso, y su hermana, IV-32 tiene un soplo cardiaco.

Large expansion of the ATTCT pentanucleotide repeat in spinocerebellar ataxia type 10

Tohru Matsuura^{1,6}, Takanori Yamagata^{3,4}, Daniel L. Burgess^{1,2}, Astrid Rasmussen⁷, Raji P. Grewal⁸, Kei Watase³, Mehrdad Khajavi^{1,6}, Alanna E. McCall³, Caleb F. Davis^{1,2}, Lan Zu⁹, Madhureeta Achari¹⁰, Stefan M. Pulst⁹, Elisa Alonso⁷, Jeffrey L. Noebels^{1,2,3}, David L. Nelson³, Huda Y. Zoghbi^{3,4,5} & Tetsuo Ashizawa^{1,6}

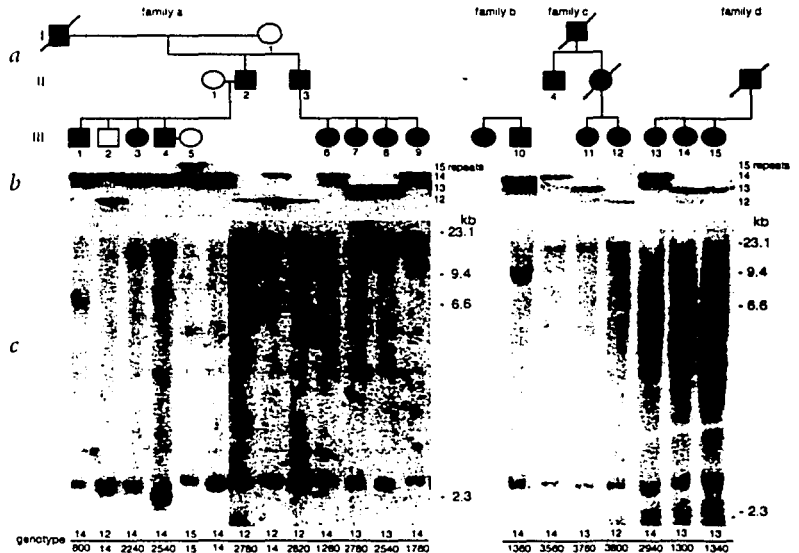
*These authors contributed equally to this work.

Spinocerebellar ataxia type 10 (SCA10; MIM 603516; refs 1,2) is an autosomal dominant disorder characterized by cerebellar ataxia and seizures. The gene *SCA10* maps to a 3.8-cM interval on human chromosome 22q13-qter (refs 1,2). Because several other SCA subtypes show trinucleotide repeat expansions, we examined microsatellites in this region. We found an expansion of a pentanucleotide (ATTCT) repeat in intron 9 of *SCA10* in all patients in five Mexican SCA10 families. There was an inverse correlation between the expansion size, up to 22.5 kb larger than the normal allele, and the age of onset ($r^2=0.34$, $P=0.018$).

Analysis of 562 chromosomes from unaffected individuals of various ethnic origins (including 242 chromosomes from Mexican persons) showed a range of 10 to 22 ATTCT repeats with no evidence of expansions. Our data indicate that the new *SCA10* intronic ATTCT pentanucleotide repeat in SCA10 patients is unstable and represents the largest microsatellite expansion found so far in the human genome.

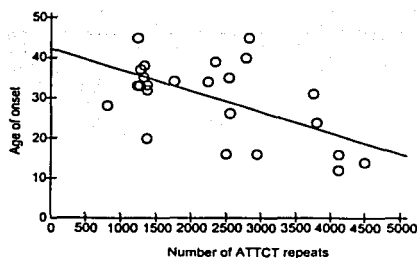
In addition to two previously described families with SCA10 (refs 1,2), we identified three additional Mexican families with an autosomal dominant disease characterized by cerebellar ataxia and

Fig. 1 Expansion mutations in four SCA10 families. **a**, Pedigrees of the four families studied for the SCA10 mutation. Family 'a' is of Mexican American descent¹. Families 'b', 'c' and 'd' are newly identified Mexican families with relatively pure cerebellar ataxia and seizures. **b**, PCR analysis of the ATTCT pentanucleotide repeat. The ATTCT pentanucleotide repeat region was PCR-amplified from the genomic DNA samples of the family members indicated in (a) using primers attct-L and attct-R. All affected individuals showed a single allele of variable size in families a, b, c and d (note that each band is accompanied by a faint band underneath due to PCR artefact). In family a, two unaffected individuals (II-1 and III-2) are heterozygous and two spouses (II-1, III-5) are homozygous for the ATTCT repeat. In this family, affected individuals in the second generation (II-2 and II-3) failed to transmit their 12-repeat allele to their affected offspring (III-1, III-3, III-4, III-6, III-7, III-8 and III-9), whereas an unaffected offspring (III-2) received this allele from the affected father (II-2). The alleles of unaffected parents (II-1 and II-1) were passed on to their offspring in a pattern consistent with mendelian inheritance. These data suggest that the affected individuals are apparently hemizygous for the ATTCT repeat. **c**, Southern-blot analysis of expansion mutations of the ATTCT repeat region. Southern blots of genomic DNA samples revealed variably expanded alleles in affected members of the families shown above. All individuals examined have a normal allele (2.5 kb). The apparent variability of the normal allele size is attributable to gel-loading artefacts, as additional analyses using the same (EcoRI) and different (EcoRV, HindIII and BglI) restriction endonucleases did not show consistent variability of the normal allele size. The genotype of each individual is shown at the bottom, with an estimated number of pentanucleotide repeats for disease-associated chromosomes based on the fragment size.



¹Department of Neurology, ²Division of Neurosciences, ³Department of Molecular and Human Genetics, ⁴Department of Pediatrics and ⁵Howard Hughes Medical Institute, Baylor College of Medicine, Houston, Texas, USA. ⁶Neurology Service, Veterans Affairs Medical Center, Houston, Texas, USA. ⁷Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía, México D.F., México. ⁸New Jersey Neuroscience Institute, JFK Medical Center, Edison, New Jersey, USA. ⁹Rose Mus Laboratory for Parkinson and Neurodegenerative Diseases, Burns and Allen Research Institute, Division of Neurology, Cedars-Sinai Medical Center, UCLA School of Medicine, Los Angeles, California, USA. ¹⁰Private practice, Houston, Texas, USA. Correspondence should be addressed to T.A. (e-mail: tetsuoa@bcm.tmc.edu)

Fig. 4 Correlation between the size of expanded SCA10 ATTCT repeat and the age of onset. A scatter plot shows an inverse correlation between the size of expansion and the age of onset in 26 SCA10 patients ($r^2=0.34$, $P=0.018$). Each symbol represents a SCA10 patient, and the linear regression line is shown.



European, Mexican and Japanese populations examined (Fig. 2). The allele distributions in each of three ethnically defined populations (including 127 persons from the Mexican population) were consistent with the Hardy-Weinberg equilibrium ($P>0.05$). In SCA10 families, PCR analysis demonstrated a uniform lack of heterozygosity in all affected individuals and carriers of the disease haplotype^{1,2}, with the single amplified allele of the ATTCT repeat being shared by their unaffected parent. When the affected and unaffected parents of the patients carried distinct ATTCT repeat alleles, we found that the single allele amplified from the affected parent was never transmitted to any of these patients, suggesting that the affected parent was hemizygous and that only the allele on the wild-type (non-SCA10) chromosome is amplified (Fig. 1b). Two other sets of primers flanking the ATTCT repeat gave the same result, excluding the possibility that the apparent hemizygosity is due to a mutation within the primer binding site. To further investigate these observations, we hybridized Southern blots of genomic DNA digested with multiple restriction endonucleases with a non-repetitive probe obtained by PCR amplification of the region immediately upstream of the ATTCT repeat, using DNA from a PAC clone (RP1-37M3) as template (Fig. 3b). In addition to the expected normal allele, we detected a variably expanded allele in all affected individuals, whereas we saw only the wild-type allele in all unaffected family members, demonstrating that the ATTCT repeat region is expanded exclusively in SCA10 patients (Fig. 1c). So far, we have found SCA10 only in the Mexican population, where it is the second most common autosomal dominant cerebellar ataxia after SCA2 (A.S. *et al.*, unpublished data). We did not detect the SCA10 expansion mutation in 17 probands of unrelated European American families with autosomal dominant cerebellar ataxia that have tested negative for the SCA1-3, -6, -7, -8 or -12 mutations. It remains unknown whether SCA10 exists at a low frequency in this population.

The variable size of expanded alleles among affected individuals suggests that the expanded ATTCT repeat is highly unstable. In the SCA10 families we studied, intergenerational changes of the expanded alleles were variable, including not only expansions but also contractions (Fig. 1c). Studies of additional SCA10 families should provide further details of the genotype-phenotype correlation and the patterns of instability of the expanded ATTCT

repeats. Haplotype analysis using DNA markers flanking the ATTCT repeat showed a single disease haplotype shared by all SCA10 families studied (data not shown). Thus, our current haplotype data cannot exclude the possibility that the expanded repeat represents a rare polymorphism in linkage disequilibrium to the true pathogenic mutation. A notable observation in our SCA10 families was the weak inverse correlation between the size of the expanded allele and the age of disease onset ($n=26$, $r^2=0.34$, $P=0.018$) (Fig. 4). There may be heterogeneity in expansion size among different tissues, and the correlation we found might have been stronger if we had compared patient brain tissues, but these were not available. Although direct evidence that the ATTCT repeat expansion causes SCA10 must await the elucidation of SCA10 function, the correlation argues against the possibility that the expansion represents a rare non-pathogenic polymorphism. Moreover, we found no evidence of the ATTCT expansion in 562 normal chromosomes, including 242 chromosomes from Mexican individuals. On this basis, and the scale of the expansion observed, we propose that this unstable pentanucleotide repeat expansion is likely to be the disease-causing mutation in SCA10.

At present, we should consider both loss of function (haploinsufficiency) and gain of function as possible pathogenic mechanisms in SCA10. *Sca10* is expressed widely in mammalian brain (Fig. 5), consistent with the phenotype of ataxia and epilepsy, and expressed sequence tags representing *Sca10* are also detectable in several non-neuronal tissues. The ATTCT repeat is near the 3' end of the large (>66 kb) intron in SCA10, so the large expansion might affect transcription or post-transcriptional processing of SCA10. We have documented transcription silencing by a large intronic repeat expansion in Friedreich ataxia, in which an expanded GAA repeat interferes with transcription of the gene *FRDA* (ref. 16). Our preliminary northern-blot data, however, show no obvious changes in the level of SCA10 mRNA in lymphoblastoid cell lines of SCA10 patients (data not shown). It will be important to examine SCA10 mRNA levels in affected tissues of SCA10 patients; however, these tissues are currently not available. The ATTCT expansion might also affect genes other than SCA10 in *cis* or in *trans*, similarly to DM1, in which an unstable CTG repeat expands up to several thousand copies in the 3' untranslated region of the gene *DMPK* (ref. 17). The discovery of the pentanucleotide expansion in SCA10 patients defines a new class of mutations that will help determine basic mechanisms of microsatellite instability and their link to human diseases.

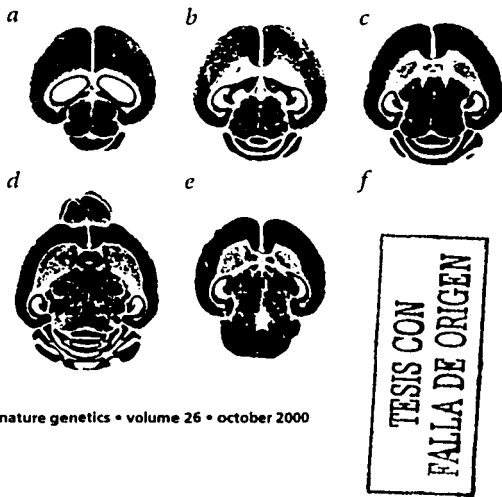


Fig. 5 *Sca10* is widely expressed in brain regions that are anatomical substrates for ataxia and epilepsy. The *Sca10* mRNA was detected by *in situ* hybridization of radiolabelled probes to horizontal sections of 4-month adult (a, b, c, d) and 10-day juvenile (e) mouse brain. The *Sca10* expression pattern was similar to that of the cell density as determined by cresyl violet staining of the same sections (not shown). a-d, Dorsal to ventral progression; f, negative control for non-specific hybridization to an adult brain section.



21

Methods

DNA extraction and polymorphism analysis. We extracted DNA from blood samples of all participating family members after obtaining informed consent. To define recombination events and construct haplotypes, we analysed genomic DNA by PCR amplification of polymorphic simple sequence repeat (SSR) markers using end-labelled primers. We determined the size of PCR products on 6% denaturing polyacrylamide gels.

RED analysis. We performed the RED analysis as described^{14,16}, using genomic DNA samples of SCA10 patients and control subjects devoid of CAG/CTG expansions at the *ERDA1* (ref. 19) and *SEF2.1* (ref. 20) loci. After 400 temperature cycles (95 °C for 10 s; 63 °C for 30 s) of genomic DNA (10 µg) and (CTG)₁₀ or (TTG)₁₀ oligonucleotides in the presence of Ampligase (5 U; Epicentre), the products were separated by electrophoresis and transferred to a nylon membrane. We hybridized the membrane with a ³²P-end-labelled (CAG)₁₀ or (CAA)₁₀ oligonucleotide probe to detect tandemly ligated (CTG)₁₀ or (TTG)₁₀ oligonucleotides.

Western-blot analysis. We separated proteins extracted from lymphoblastoid cell lines derived from SCA10 patients and control subjects by gel electrophoresis. After western-blot analysis, we used the monoclonal antibody 1C2, raised against the TATA-binding protein, to detect a long polyglutamine stretch as described¹³.

PCR assay of SCA10 repeats. We amplified the ATTCT repeat region from genomic DNA by PCR, using the primers attet-L (5'-AGAAAACAGATG GCAGAAATGA-3') and attet-R (5'-GCCCTGGGCAACATAGAGAGA-3') in HotStarTaq Master Mix (Qiagen) including 10% DMSO. The PCR conditions consisted of an initial denaturing at 95 °C for 15 min, 30 PCR cycles (94 °C for 30 s, 54 °C for 30 s, 72 °C for 45 s), and additional extension at 72 °C for 7 min. We estimated the number of the pentanucleotide repeats based on ladders of cloned segments of normal DNA containing 9–20 repeats, which had been sequenced.

Southern-blot analysis. EcoRI-digested genomic DNA (10 µg) was separated on a 0.8% agarose gel and transferred to a Hybond N⁺ membrane (Amersham). We generated an 800-bp SCA10 probe located upstream to the pentanucleotide repeat by PCR, using DNA of a PAC clone (RP1-37M3) as the template and primers DanL (5'-TCCTTCTCAGCTCTTCT GG-3') and DanR (5'-TGCCATCTGTTTCTATTG-3'). Using that probe, random-prime-labelled with ³²P-α-dCTP (Amersham), we hybridized the membrane in Church buffer (0.1 mM EDTA at pH 8.0, 0.5 M sodium phosphate at pH 7.2, 7% SDS) at 60 °C overnight, washed in 2xSSC (60 °C for 5 min), 1xSSC (60 °C for 20 min) and 0.5xSSC (60 °C for 20 min) with 0.1% SDS and analysed by autoradiography.

Sequencing. We amplified the ATTCT repeat region from genomic DNA obtained from normal individuals by PCR using primers attet-L and attet-R (Fig. 3c), then sequenced the PCR products using an Applied Biosystems (ABI) automated sequencer with fluorescent dideoxynucleotides.

In situ hybridization. We fixed horizontal brain sections (12 µm) from male C57BL/6J mice in 4% paraformaldehyde in PBS followed by dehydration. We end-labelled antisense oligonucleotide probes using terminal deoxynucleotidyl transferase (Promega) and [α-³⁵S] dATP (1250 Ci/mmol; NEN) to a specific activity of ~10⁸ dpm/µg. Hybridization solution contained formamide (50%, v/v), 4xSSC, sodium phosphate (25 mM), sodium pyrophosphate (1 mM), dextran sulphate (10%, w/v), 5xDenhardt's solution, sonicated herring sperm DNA (200 µg/ml; Promega), polyadenylic acid [5'] (100 µg/ml; Sigma-Aldrich) and [α-³⁵S] dATP-labelled probe (5x10³ d.p.m.). To monitor background hybridization, we added a 100-fold excess of unlabelled oligonucleotide to control sections. The sequences of the 45-mer probes were as follows: mE46A, 5'-CTGTTCTCTTCAGATGAGATTTCGCACAGCATA CACCACCCTGC-3'; mE46B, 5'-CACTGCAGAGATGAGAGGTCGGT GAGATGGAATCTGAATGTGTTC-3'. We hybridized the sections with the probes overnight at 42 °C, washed in 1xSSC (22 °C, 20 min), 0.3xSSC (55 °C, 40 min) and 2xSSC (22 °C, 5 min), then dehydrated and exposed to a Kodak BioMax MR film for 1 week.

GenBank accession numbers. SCA10, 9956851; E46, ALU50282; sequences of the 45-mer *in situ* hybridization probes, mE46A and mE46B, X61506 and A1836854, respectively; PAC37M3, Z84478.

Acknowledgements

We thank the patients for cooperation; L.R.W. Raum for confirming RED analysis results; and The Singer Centre for BAC, PAC and cosmid clones located in the chromosome 22 region of interest. This work was supported by grants from the Oxnard Foundation/National Ataxia Foundation (T.A.), National Ataxia Foundation (S.M.P.), Howard Hughes Medical Institute (H.Y.Z.), the National Institute of Health/NIH/HD29256 (D.L.N.), MRC HD24064, NINDS NS27699 and GCRC/M1RR00188 (H.Y.Z.), NS29709 (J.L.N.), NS33123 and NS37883 (S.M.P.), and K12-AG0052-01 (R.P.G.). The fellowship of T.M. was partly supported by the Cell Science Research Foundation, the Yamanouchi Foundation for Research on Metabolic Disorders and the Nakayama Foundation for Human Science, Japan. D.L.B. was supported by an American Epilepsy Society Fellowship.

Received 2 March; accepted 28 June 2000.

- Matsuura, T. et al. Mapping of the gene for a novel spinocerebellar ataxia with pure cerebellar signs and epilepsy. *Ann. Neurol.* **45**, 407–411 (1999).
- Zu, L., Figueroa, K.P., Grewal, R. & Puist, S.M. Mapping of a new autosomal dominant spinocerebellar ataxia to chromosome 22. *Am. J. Hum. Genet.* **64**, 594–599 (1999).
- Orr, H.T. et al. Expansion of an unstable trinucleotide CAG repeat in spinocerebellar ataxia type 1. *Nature Genet.* **4**, 221–226 (1993).
- Puist, S.M. et al. Moderate expansion of a normally biallelic trinucleotide repeat in spinocerebellar ataxia type 2. *Nature Genet.* **14**, 269–276 (1996).
- Sanei, K. et al. Identification of the spinocerebellar ataxia type 2 gene using a direct identification of repeat expansion and cloning technique, DIRECT. *Nature Genet.* **14**, 277–284 (1996).
- Imbert, G. et al. Cloning of the gene for spinocerebellar ataxia 2 reveals a locus with high sensitivity to expanded CAG/glutamine repeats. *Nature Genet.* **14**, 285–291 (1996).
- Kawaguchi, Y. et al. CAG expansions in a novel gene for Machado-Joseph disease at chromosome 14q32.1. *Nature Genet.* **8**, 221–228 (1994).
- David, G. et al. Cloning of the SCA7 gene reveals a highly unstable CAG repeat expansion. *Nature Genet.* **17**, 65–70 (1997).
- Zhuchenko, O. et al. Autosomal dominant cerebellar ataxia (SCA6) associated with small polyglutamine expansions in the α1A-voltage-dependent calcium channel. *Nature Genet.* **15**, 62–69 (1997).
- Holmes, S.E. et al. Expansion of a novel CAG trinucleotide repeat in the 5' region of *P2R2B* is associated with SCA12. *Nature Genet.* **23**, 391–392 (1999).
- Koob, M.D. et al. An untranslated CTG expansion causes a novel form of spinocerebellar ataxia (SCA8). *Nature Genet.* **21**, 379–384 (1999).
- Matsuura, T., Watake, K., Nagamitsu, S., Zoghbi, H.Y. & Ashizawa, T. Fine mapping of the spinocerebellar ataxia type 10 region and search for a polyglutamine expansion. *Ann. Neurol.* **46**, 480 (1999).
- Dunham, I. et al. The DNA sequence of human chromosome 22. *Nature* **402**, 489–495 (1999).
- Schalling, M., Hudson, T.J., Buetow, K.H. & Housman, D.E. Direct detection of novel expanded structure. *Am. J. Hum. Genet.* **62**, 111–121 (1998).
- Trottier, Y. et al. Polyglutamine expansion as a pathological epitope in Huntington's disease and four dominant cerebellar ataxias. *Nature* **378**, 403–406 (1995).
- Bidichandani, S.J., Ashizawa, T. & Patel, P.I. The GAA triplet-repeat expansion in Friedreich ataxia interferes with transcription and may be associated with an expanded DNA structure. *Am. J. Hum. Genet.* **62**, 111–121 (1998).
- Wells, R.D. & Warren, S.T. Genetic instability and Hereditary Neurological Diseases (Academic, San Diego, 1998).
- Koob, M.D. et al. Rapid cloning of expanded trinucleotide repeat sequences from genomic DNA. *Nature Genet.* **18**, 72–75 (1998).
- Ikeuchi, T. et al. A novel long and unstable CAG/CTG trinucleotide repeat on chromosome 17q. *Genomics* **49**, 321–326 (1998).
- Brushet, T.S. et al. A novel, heritable, expanding CTG repeat in an intron of the *SEF2.1* gene on chromosome 18q21.1. *Hum. Mol. Genet.* **6**, 1855–1863 (1997).

Clinical and Genetic Analysis of Four Mexican Families With Spinocerebellar Ataxia Type 10

Astrid Rasmussen, MD,¹ Tohru Matsuura, MD,^{3,4} Luis Ruano, MD,² Petra Yescas, MSc,¹ Adriana Ochoa, BA,¹ Tetsuo Ashizawa, MD,^{3,4} and Elisa Alonso, MD¹

Spinocerebellar ataxia type 10 (SCA10) is an autosomal dominant disorder caused by expansion of an unstable ATTCT repeat. SCA10 has been described as a pure cerebellar syndrome accompanied by seizures and has been recognized only in families of Mexican origin. We describe clinical and molecular findings of 18 patients in four Mexican families with SCA10. Affected individuals had an average age at onset of 26.7 years (range 14–44 years) and ATTCT repeats ranging from 920 to 4,140 repeats. We could not detect significant anticipation or correlation between repeat size and age at onset, probably due to the small sample size. In addition to pure cerebellar ataxia and seizures, patients often showed soft pyramidal signs, ocular dyskinesia, cognitive impairment, and/or behavioral disturbances. Brain magnetic resonance imaging showed predominant cerebellar atrophy, and nerve conduction studies indicated polyneuropathy in 66% of patients. One family showed hepatic, cardiac, and hematological abnormalities in affected members. These findings suggest that a wide range of tissues may be affected in SCA10, including those outside of the cerebellum and cerebral cortex.

Ann Neurol 2001;50:234–239

Spinocerebellar ataxia type 10 (SCA10) is an autosomal dominant cerebellar ataxia (ADCA), which is one of a clinically and genetically heterogeneous group of neurodegenerative disorders primarily affecting the cerebellum.¹ The most accepted clinical classification in the premolecular era was formulated by Dr. A. E. Harding, who separated them into three types: Type I, where cerebellar ataxia is variably associated with dysarthria, ophthalmoplegia, pyramidal and extrapyramidal signs, deep sensory loss, amyotrophy, and dementia; Type II, cerebellar ataxia plus progressive macular degeneration; and Type III, a “pure” cerebellar syndrome.² SCA10 was initially described as a pure cerebellar syndrome and therefore classified as ADCA Type III (ADCAIII);³ however, a subsequent study showed that some patients also have seizures.⁴ Like some other ADCAs, affected members of SCA10 families show progressively earlier disease onset in successive generations, a genetic phenomenon known as anticipation.^{3–5} SCA10 has so far been identified only in the Mexican population,^{3–5} where it is the second most common ADCA after SCA2.⁶

Identification of the causative mutations in ADCA

began in 1993, with the discovery of the *SCA1* mutation.⁷ Expansions of polymorphic CAG/CTG repeats are mutations associated with SCA1, SCA2, SCA3, SCA6, SCA7, SCA8, and SCA12;^{7–15} and the genes responsible for SCA4, SCA5, SCA11, SCA13, and SCA14 have been mapped.^{16–20} In 1999, Zu et al.²¹ and Matsuura et al.⁴ mapped the *SCA10* locus to chromosome 22q13-qter. We have identified a pentanucleotide (ATTCT) repeat in intron 9 of *SCA10*, a gene of unknown function widely expressed in the brain. This repeat is polymorphic, with a size range of 10 to 22 ATTCT repeats in normal chromosomes and large (exceeding 800 ATTCT repeats) unstable expansions in SCA10-affected individuals.⁵ Thus, SCA10 shows a unique phenotype caused by a novel class of repeat expansion mutation. To further define the phenotype, we describe here clinical and molecular findings in four Mexican families with SCA10 (three partially described by Matsuura et al.⁵).

Patients and Methods

We studied 18 affected members of 4 families after obtaining signed informed consent under a protocol approved by the

From the Departments of ¹Neurogenetics and Molecular Biology and ²Neurology, Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía Manuel Velasco Suárez, Mexico City, Mexico; ³Department of Neurology, Baylor College of Medicine, Houston, and ⁴Neurology Service, Veterans Affairs Medical Center, Houston, TX.

Received Jan 16, 2001, and in revised form Apr 4. Accepted for publication Apr 4, 2001.

Published online May 25, 2001.

Address correspondence to Dr Alonso, Department of Neurogenetics and Molecular Biology, Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía Manuel Velasco Suárez, Insurgentes Sur 3877, Col. La Fama, 14269 Mexico City, D.F. Mexico. E-mail: elisav@servidor.unam.mx

local Institutional Review Board for Human Research. All index cases underwent a clinical evaluation by a neurologist (L.R. and/or T.A.) that consisted of detailed history, physical examination, magnetic resonance imaging (MRI) of the brain and electroencephalography (EEG). When possible, nerve conduction velocity, neuropsychological, and neuro-ophthalmological tests were performed.

Nerve conduction velocity was measured according to the standard protocol of the Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía and was similar for all patients. For upper limbs, the cubital and median nerves were tested; for lower limbs, the tibial, peroneal, and sural nerves were tested. Common causes of polyneuropathy were excluded.

The neuropsychological testing consisted of the Wechsler or the Army Beta test for an intelligence quotient, the Minnesota Multiphasic Personality Inventory (MMPI) for personality traits, and in some cases a Daily Living Activities Scale for daily activities that require cognitive functions.

We also contacted all living family members and performed the same procedures if they consented. Age at onset and initial symptoms, either ataxia or seizures, were recorded based on information given by the patient and 1 or more relative.

DNA Analysis

DNA was extracted from whole blood by conventional methods. The ATTCT repeat region in intron 9 of *SCA10* was amplified by polymerase chain reaction (PCR) from

genomic DNA using primers attcr-L (5'-AGAAAAACAG-ATGGCAGAATGA-3') and attcr-R (5'-GCCTGGGCAACATAGAGAGA-3') in HotStarTaq Master Mix (Qiagen, Chatsworth, CA), including 10% dimethyl sulfoxide as described previously.² Samples that showed a single allele underwent Southern blot analysis using 10 µg of EcoRI-digested genomic DNA and the 800 bp *SCA10* intron 9 probe.⁵

Statistical Analysis

The correlation between the size of the repeat and age at onset was examined with Spearman's rho test.

Results

Figure 1 shows pedigrees of Families B–E. Of 28 members who were identified as affected, 18 were examined, together with 2 asymptomatic mutation carriers. Two of these 18 patients died after the examination. Table 1 summarizes their clinical features. Average age at onset was 26.7 years (range 14–44). We examined 8 parent/child pairs; 7 were mother/child pairs (III-7/IV-14, III-9/IV-24, III-9/IV-25, III-12/IV-26, III-12/IV-28, III-12/IV-30, and III-12/IV-32 of Family C) and one father/child pair (II-2/III-1 of Family E). Age at onset was 23.3 ± 2.5 years [mean \pm standard deviation (SD)] for the parents and $25.3 \pm$

Fig 1. Pedigrees of the 4 *SCA10* families. Dark symbols indicate affected individuals; dark upper left quarter indicates a female who died with hepatic failure and anemia but whose neurological data are not available. A symbol with a dark dot indicates a carrier individual. Roman numerals identify generation; Arabic numerals denote each individual in a generation.

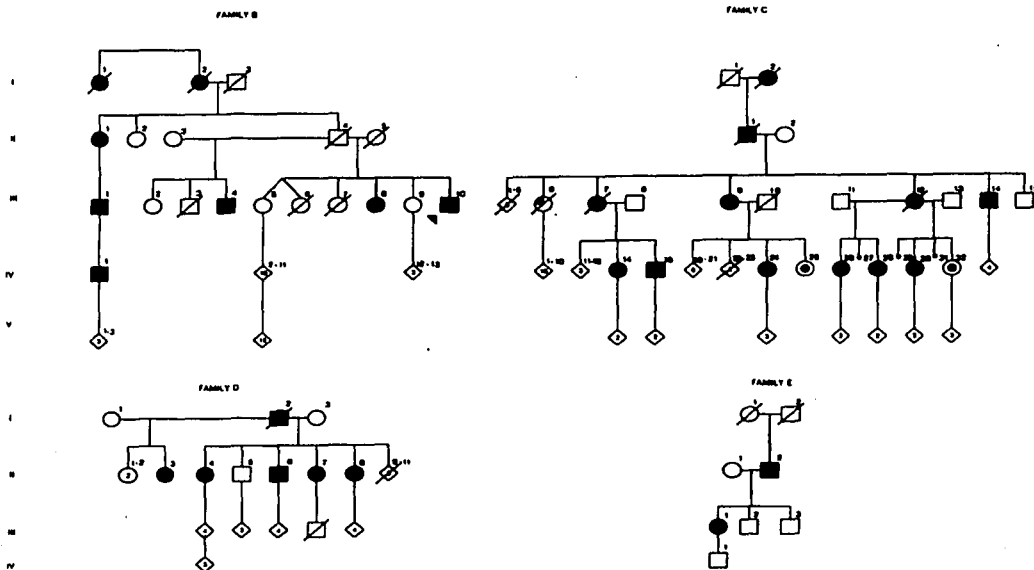


Table 1. Clinical Features

	Family B			Family C				
	III-8	III-10	IV-1	III-7	III-9	III-12	III-14	IV-14
Gender	F	M	M	F	F	F	M	F
Age at onset (years)	44	18	21	27	20	24	38	35
Duration of disease (years)	10	24	10	25	34	25	13	2
Age at death (years)	NA	NA	NA	52	NA	49	NA	NA
Seizures	GMS	GMS	—	PMS, GMS	PC, GMS	GMS	—	—
Gait ataxia	+	+	+	+	+	+	+	+
Kinetic tremor	+	+	+	NA	+	NA	+	±
Dysarthria	+	+	+	+	+	+	+	—
Dysmethria	+	+	+	+	+	+	+	±
Dysdiadochokinesia	+	+	+	+	+	+	+	—
Nystagmus	—	±	—	+	+	+	+	—
Ocular dyskinesia	+	+	+	NA	+	NA	+	+
Hypotonia	+	+	—	—	—	—	—	—
Hyporeflexia	—	—	—	+	—	+	—	—
Hyperreflexia	—	—	—	—	+	—	+	—
Babinski's sign	—	—	—	+	+	+	—	—
Leg spasticity	—	—	—	NA	+	NA	+	—
Aggressiveness	+	+	NA	—	NA	—	NA	—
Depression	—	+	NA	+	NA	+	NA	NA

M, Male; F, female; +, present; —, absent; U, unknown; NA, nonavailable or nonapplicable; GMS, generalized motor seizure; PMS, partial motor seizure; PC, partial complex seizure.

7.1 years for the offspring ($p > 0.05$), suggesting that there was no anticipation. Affected individuals carried SCA10 alleles with 920 to 4,140 ATTCT repeats. We could not detect significant correlation between age at onset and repeat size ($r = -0.02$, $r^2 = 0.0004$, $p > 0.96$) (Table 2). However, there appears to be an interfamilial variability of the correlation.

Gait ataxia was usually the initial manifestation of the disease, followed by dysarthria. However, most affected individuals showed a variable degree of limb ataxia. Nystagmus (mostly gaze-evoked sustained nystagmus) was observed in patients with a relatively long duration of the disease, while ocular dyskinesia ranged from subtle intrusions of hypometric saccade during pursuit to overt ocular flutter. Thirteen of the 18 affected individuals had generalized motor seizures, typically starting within a few years after the onset of ataxia. Six of these 13 had additional partial motor or partial complex seizures, which could occur several times a day if not treated with anticonvulsants. Two subjects clearly had corticospinal tract signs with bilateral hyperreflexia, spastic hypertonus, and Babinski's sign; and six subjects had "soft" pyramidal signs consisting of 1 or 2 of these signs. Ten of the 18 affected individuals showed mood disorders consisting of depression, aggression, or both. The 2 known asymptomatic mutation carriers had a normal neurological examination.

We conducted further neurological investigations on 8 of the 18 affected subjects (Table 3). MRI of the brain showed that all 8 had vermian and hemispheric cerebellar atrophy, with minimal or absent cortical and brain stem atrophy (Fig 2). EEG was abnormal in ev-

ery patient (Fig 3). The most common abnormality was diffuse cortical dysfunction with slow, fused, and disorganized activities. Focal cortical irritability or slow activity was found in 5 of the 8 subjects. Intelligence quotient (IQ) ranged from 61 to 94 (mean \pm SD = 79 ± 11). MMPI detected depressive, aggressive, and/or irritable traits. Affected individuals often showed mild sensory loss in distal portions of the lower extremities on neurological examination. Nerve conduction studies confirmed the presence of polyneuropathy in 4 of 6 subjects studied. In Family C, III-7 and III-12 had increased serum levels of alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, thrombocytopenia, and normocytic normochromic anemia; III-6 died of anemia plus an undefined hepatic disorder, and IV-24 has normochromic normocytic anemia and a cardiac murmur. In this same family, IV-26 underwent surgical correction of persistent ductus arteriosus, and her sister, IV-32, has a cardiac murmur.

Discussion

The original 2 SCA10 families shared unique features: (1) all were of Mexican origin, (2) affected individuals showed a "pure" cerebellar syndrome frequently accompanied by seizures, and (3) they exhibited anticipation.^{4-5,21} Three of the four Mexican families described in this study were included in a previous report without detailed clinical description²; however, further investigations of these families disclosed clinical findings that have not been identified in SCA10.^{4,5,21} Most affected members of the four SCA10 families showed pancerebellar ataxia and seizures. The preva-

25

Table 1. Continued

Family C					Family D			Family E	
IV-24	IV-26	IV-28	IV-30	IV-32	II-3	II-4	II-7	II-2	III-1
F	F	F	F	F	F	F	F	M	F
20	24	31	29	?	16	35	30	20	14
10	8	4	1	<1	18	18	13	24	10
NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	U	NA
PC, GMS	GMS	—	GMS	—	PC, GMS	PC, GMS	GMS	GMS	PC, GMS
+	+	+	—	—	+	+	+	+	+
+	—	—	—	—	—	±	—	NA	—
+	+	+	—	—	+	+	+	+	+
+	+	+	—	—	+	+	+	+	+
+	+	+	—	±	+	+	+	+	+
—	—	—	—	—	—	+	NA	NA	—
+	+	+	—	—	+	+	—	NA	—
—	+	—	—	—	—	+	—	NA	—
—	+	+	—	—	+	+	—	NA	—
—	—	+	—	—	±	—	+	NA	—
±	NA	NA	—	—	+	—	NA	NA	—
NA	—	—	—	—	—	—	—	+	+
NA	+	—	—	—	+	+	+	+	+

lence of seizures was 72.2% in these families, which is higher than the 20% and 60% reported in the previous two families. Given the fact that neurocysticercosis is the main cause of late-onset seizures in the Mexican population,²² this possibility was ruled out by computed tomographic scans and/or normal cerebrospinal fluid examination (negative enzyme-linked immunosor-

bent assay and microfixation for cysticercosis). All seizures were of the generalized motor type; however, simple motor seizures and complex partial seizures were also identified. All available EEGs were abnormal, mostly with diffuse cerebral dysfunction with or without focal irritability. These findings suggest that the underlying abnormalities leading to seizures are wide-

Table 2. Age at Onset and Repeat Number

	Family B				Family C						Family D			Family E					
	III-8	III-10	IV-1	III-7	III-9	III-12	III-14	IV-14	IV-24	IV-25	IV-26	IV-28	IV-30	IV-32	II-3	II-4	II-7	II-2	III-1
Number of repeats	1,900	1,360	2,620	NA	3,700	NA	3,560	4,140	3,860	920	3,760	3,760	3,560	3,800	2,940	1,300	1,340	NA	2,900
Age at onset (years)	44	18	21	27	20	24	38	35	20	A	24	31	29	A	16	35	30	20	14

A, Asymptomatic; NA, not available.

Table 3. Paraclinic and Psychological Tests

	Family B		Family C			Family D		Family E
	III-8	III-10	III-7	III-12	IV-26	II-3	II-7	III-1
MRI	Co + C + B atrophy	C atrophy	C + Co atrophy	C atrophy	C atrophy	C atrophy	C atrophy	C atrophy
EEG	Diffuse Co dysfunction, left temporal Co irritability	Diffuse Co dysfunction	Diffuse slow activity (left frontotemporal)	Diffuse subCo and left frontotemporal Co dysfunction	Diffuse Co dysfunction	Bilateral frontotemporal focal irritability	Disorganized background activity	Diffuse Co + subCo dysfunction, right frontotemporal focal irritability
NCV	Polynuropathy	Polynuropathy	Normal	Polynuropathy	Polynuropathy	NA	NA	Normal
IQ (scale)	***	94 (WAIS)	79 (WAIS)	75 (Army Beta)	86 (WAIS)	79 (WAIS)	***	61 (WAIS)
Personality (MMPI)	Isolated, dependent, apathic	Depressive, aggressive, irritable	Schizoid, depressive, dependent	Irritable, depressive	Depressive, passive-hostile	Depressive	Aggressive, irritable, dependent	Depressive

NA, Nonavailable; MRI, magnetic resonance imaging; EEG, electroencephalogram; NCV, nervous conduction velocity; IQ, intelligence quotient; C, cerebellar; Co, cortical; B, brain stem; *** not possible to quantify. Cognitive decay index 94%; WAIS, Wechsler Adult Intelligence Scale.

TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

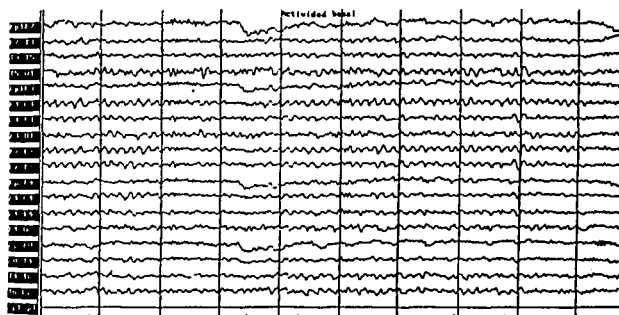


Fig 2. Magnetic resonance image (sagittal T1-weighted views) of representative patient showing atrophy of the cerebellar hemispheres and vermis (Family C, IV-26).

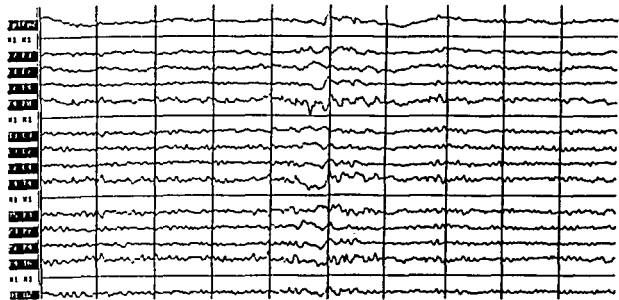
spread in the brain. Furthermore, the majority of our patients who had neuropsychological testing showed a below-normal IQ, and most were also suffering from mood disorders, mainly depression and aggressive be-

havior. The consistent pattern of mood abnormalities suggests additional brain dysfunction caused by SCA10, although this could be attributed to the patients' reaction to a disabling chronic condition. Also, some affected members had some pyramidal tract signs and ocular dyskinesia. MRI showed cerebellar atrophy, sometimes accompanied by mild cerebral cortical atrophy. Altogether, these observations provide strong evidence that the pathological process is ongoing not only in the cerebellum and cerebral cortex but also in widespread regions of the brain, which is consistent with the expression pattern of the SCA10 gene in the brain.⁵ Furthermore, clinical and electrophysiological evidence of sensorimotor polyneuropathy was detected in several patients. Thus, while some SCA10 patients may have clinical findings consistent with ADCAIII, most patients in our families have both ataxia and seizures that often accompany other variable neurological signs, resembling ADCAI.

Several affected members of Family C had abnormalities outside the nervous system, including hepatic failure, anemia, and/or thrombocytopenia, which were the causes of death in three patients. In the youngest



A



B

Fig 3. Electroencephalograms of representative patients (Family B III-8 and Family C IV-24). (A) Disorganized basal activity with a 6 to 7 Hz/15 to 25 μ V irregular and unstable diffusely distributed theta rhythm. (B) Generalized bouts of slow, sharp polymorphic waves, with predominance in the right frontocentral region.

affected generation, one of the females was born with patent ductus arteriosus and two of her sisters have cardiac murmurs in the pulmonary area, which have not been studied further for lack of interest from the patients. A similar cardiac anomaly has been observed in SCA7 patients with large CAG expansions.²³ We speculate that the systemic involvement in this family is due to a much larger ATTCT expansion (>3,000 repeats) than in the rest of the SCA10 individuals identified so far. Alternatively, it could be due to different genetic or environmental background or concurrent hereditary disorders in this family. The *SCA10* gene is expressed in liver, hematopoietic cells, and other tissues.⁵ Thus, the involvement of the peripheral tissues, if confirmed, would provide a justification to study the pathogenic mechanism of SCA10 in these tissues, and their accessibility by biopsy would alleviate the current research difficulty caused by unavailability of brain tissues from SCA10 patients.

In the four SCA10 families, we were unable to demonstrate significant anticipation or correlation between age at onset and ATTCT repeat size. However, these patients were included in a previous analysis of a larger cohort of SCA10 patients that showed weak but significant inverse correlation between age at onset and repeat size.⁵ Our sample size may be too small to detect such a correlation. The interfamilial variability in the relationship between ATTCT repeat size and age at onset may have further obscured the correlation. The relationship between anticipation and the intergenerational repeat size changes may not always be straightforward in some families, suggesting the presence of complex factors influencing this relationship.⁵ We are planning to study parental gender, parental age at the time of transmission, somatic mosaicism of the expanded ATTCT repeat, and other variables that may influence this relationship in additional SCA10 families.

This work was supported by CONACYT 30970-M, NINDS NS41547 (to T.A.) and a grant from the Oxnard Foundation/the National Ataxia Foundation; the fellowship of Dr. Matsuura was partly supported by the Uehara Memorial Foundation, Japan.

We appreciate the cooperation of all patients and their families. We thank Dr. Jaime Ramos-Peek, Dr. Jesús Higuera and Francisco Paz for assistance with the manuscript.

References

- Harding AE. The clinical features and classification of the late onset autosomal dominant cerebellar ataxias. *Brain* 1982;105:1-28.
- Harding AE. Clinical features and classification of the inherited ataxias. *Adv Neurol* 1991;61:1-14.
- Grewal RP, Tayag E, Figueroa KP, et al. Clinical and genetic analysis of a distinct autosomal dominant spinocerebellar ataxia. *Neurology* 1998;51:1423-1426.
- Matsuura T, Achari M, Khajavi M, et al. Mapping of the gene for a novel spinocerebellar ataxia with pure cerebellar signs and epilepsy. *Ann Neurol* 1999;45:407-411.
- Matsuura T, Yamagata T, Burgess DL, et al. Large expansion of ATTCT pentanucleotide repeat in spinocerebellar ataxia type 10. *Nat Genet* 2000;26:191-194.
- Rasmussen A, Yescas P, Matsuura T, et al. Molecular diagnosis of spinocerebellar ataxias in Mexican population. *Am J Hum Genet* 2000;67(Suppl 2):A1902.
- Orr HT, Chung M-Y, Banfi S, et al. Expansion of an unstable trinucleotide repeat in spinocerebellar ataxia type 1. *Nat Genet* 1993;4:221-226.
- Pulst SM, Nechiporuk A, Nechiporuk T, et al. Moderate expansion of a normally biallelic trinucleotide repeat in spinocerebellar ataxia type 2 gene on human chromosome 12. *Nat Genet* 1996;14:269-276.
- Sanpei K, Takano H, Igarashi S, et al. Identification of the gene for spinocerebellar ataxia type 2 (SCA2) using a direct identification of repeat expansion and cloning technique (DIRECT). *Nat Genet* 1996;14:277-284.
- Imbert B, Saudou F, Yvert G, et al. Cloning of the gene for spinocerebellar ataxia 2 reveals a locus with high sensitivity to expanded CAG/glutamine repeats. *Nat Genet* 1996;14:285-291.
- Kawaguchi Y, Okamoto T, Taniwaki M, et al. CAG repeat expansion in a novel gene in Machado-Joseph disease at chromosome 14q32.1. *Nat Genet* 1994;8:221-228.
- Zhuchenko O, Bailey J, Bonnen P, et al. Autosomal dominant cerebellar ataxia (SCA6) associated with small polyglutamine expansions in the alpha 1A voltage-dependent calcium channel. *Nat Genet* 1997;15:62-69.
- David G, Abbas N, Stevanin GD, et al. Cloning of the SCA7 gene reveals a highly unstable CAG repeat expansion. *Nat Genet* 1997;17:65-70.
- Koob MD, Moseley ML, Schut LJ, et al. An untranslated CTG expansion causes a novel form of spinocerebellar ataxia (SCA8). *Nat Genet* 1999;21:379-384.
- Holmes SE, O'Hearn EE, McInnis MG, et al. Expansion of a novel CAG trinucleotide repeat in the 5' region of PPP2R2B is associated with SCA12. *Nat Genet* 1999;23:391-392.
- Flanigan K, Gardner K, Alderson K, et al. Autosomal dominant spinocerebellar ataxia with sensory axonal neuropathy (SCA4): clinical description and genetic localisation to chromosome 16q22.1. *Am J Hum Genet* 1996;59:392-399.
- Ranum LP, Schut LJ, Lundgren JK, et al. Spinocerebellar ataxia type 5 in a family descended from the grandparents of President Lincoln maps to chromosome 11. *Nat Genet* 1994;8:280-284.
- Worth PF, Giunti P, Gardner-Thorpe C, et al. Autosomal dominant cerebellar ataxia type III: linkage in a large British family to a 7.6-cM region on chromosome 15q14-21.3. *Am J Hum Genet* 1999;65:420-426.
- Herman-Bert A, Stevanin G, Netter JC, et al. Mapping of spinocerebellar ataxia 13 to chromosome 19q13.3-q13.4 in a family with autosomal dominant cerebellar ataxia and mental retardation. *Am J Hum Genet* 2000;67:229-235.
- Yamashita I, Sasaki H, Yabe I, et al. A novel locus for dominant cerebellar ataxia (SCA14) maps to a 10.2-cM interval flanked by D19S206 and D19S205 on chromosome 19q13.4-qter. *Ann Neurol* 2000;48:156-163.
- Zu L, Figueroa KP, Grewal RP, Pulst SM. Mapping of a new autosomal dominant spinocerebellar ataxia to chromosome 22. *Am J Hum Genet* 1999;64:594-599.
- Medina MT, Rosas E, Rubio-Donnadieu F, Sotelo J. Neurocysticercosis as the main cause of late-onset epilepsy in Mexico. *Arch Intern Med* 1990;150:325-327.
- Benton CS, de Silva R, Rutledge SL, et al. Molecular and clinical studies in SCA-7 define a broad clinical spectrum and the infantile phenotype. *Neurology* 1998;51:1081-1086.

DISCUSIÓN

Hasta el momento solo se han detectado casos de SCA10 en población mexicana, en la cual es la segunda causa mas frecuente de ataxia espinocerebelosa autosómico dominante después de SCA2 (32). No identificamos la expansión en los casos índice de 17 familias de origen Europeo-Americano con ataxia cerebelosa autosómico dominante no emparentados entre sí, y que fueron negativos para mutaciones en los demás genes de SCA (datos no mostrados). Está por determinarse si esta mutación existe con una frecuencia baja en estas poblaciones.

La variación en el tamaño de los alelos expandidos entre los individuos afectados sugiere que el repetido ATTCT es altamente inestable. En las familias con SCA10 estudiadas, los cambios intergeneracionales en el tamaño del repetido fueron variables, incluyendo no solo expansiones sino también contracciones. El análisis de haplotipos utilizando marcadores de DNA que flanquean al repetido ATTCT mostraron un haplotipo único asociado a la enfermedad y que es compartido por todas las familias estudiadas hasta el momento. Por lo tanto, nuestros datos presentes no pueden excluir la posibilidad de que los expandidos del repetido sean polimorfismos raros en desequilibrio de ligamiento con la verdadera mutación patogénica. Una observación notable en nuestra serie de pacientes es la pobre relación inversa entre el tamaño del alelo expandido y la edad de inicio de la enfermedad en el caso de los individuos de las familias A, B, C y D que se utilizaron para la identificación del gen ($n=26$, $r^2=0.34$, $p=0.018$), mientras que en el caso de los individuos estudiados para la correlación fenotipo-genotipo, esta correlación débil se vuelve no significativa ($r = -0.02$ $r^2 = 0.0004$; $p > 0.96$). Es posible que exista heterogeneidad en el tamaño de la expansión en diferentes tejidos, y será interesante correlacionar el tamaño de la misma en el tejido cerebral de los pacientes con la edad de inicio. A pesar de que será necesario dilucidar la función de SCA10 para obtener la evidencia directa de que la expansión del repetido

ATTCT es la causa de SCA10, tenemos elementos que apoyan que así sea: al analizar 562 cromosomas normales (incluyendo 242 de individuos Mexicanos), no encontramos evidencia de la expansión de ATTCT. Con ésta base proponemos que la expansión de éste pentanucleótido inestable es la mutación causal de SCA10.

Por el momento, podemos considerar como mecanismos fisiopatogénicos de la enfermedad tanto una pérdida de función (haploinsuficiencia) como un mecanismo de ganancia de función. *Sca10* se expresa ampliamente en el cerebro de mamíferos, lo cual es consistente con el fenotipo de ataxia mas epilepsia, y también se han identificado ESTs que representan *Sca10* en diversos tejidos fuera del sistema nervioso central. El repetido ATTCT se localiza cerca del extremo 3' de un intron grande (>66kb) del gen *SCA10*, de tal manera que es posible que la gran expansión afecte a la transcripción o al procesamiento post-transcripcional de *SCA10*. Recientemente se ha documentado que una expansión grande (GAA) dentro de un intrón en el gen de la Ataxia de Friedreich es capaz de interferir e incluso silenciar la transcripción del gen (24). Sin embargo, los datos preliminares del Northern-blot de nuestro trabajo previo no demostraron cambios evidentes en los niveles del mRNA de *SCA10* en células de líneas linfoblastoides obtenidas de pacientes con SCA10. Será importante hacer un análisis similar en otros tejidos de los pacientes afectados, sin embargo estos no están disponibles por el momento. La expansión ATTCT también podría afectar *in cis* o *in trans* a genes diferentes a SCA10, de manera similar a lo que ocurre en distrofia miotónica, en la cual un repetido inestable CTG se expande hasta varios miles de copias en la región 3' no traducida del gen DMPK (25).

Las primeras dos familias descritas con SCA10 tuvieron en común características diferentes a las de otras ataxias: 1. Todas fueron de origen Mexicano, 2. Los individuos afectados mostraron un síndrome cerebeloso "puro" que con frecuencia se asociaba a epilepsia y 3. Mostraron anticipación (1, 2). El análisis clínico detallado de cuatro familias con SCA10

dió lugar a observaciones previamente no identificadas. La mayoría de los miembros afectados de las cuatro familias que estudiamos clínicamente, mostraron ataxia pancerebelosa y crisis convulsivas. La prevalencia de las crisis fue de 72.2% en estas familias, lo cual es mucho mas elevado que el 20 y 60% reportado en los dos estudios previos (1,2). Dado que en México la causa mas importante de crisis convulsivas de inicio tardío es la neurocisticercosis (30), ésta posibilidad fue descartada mediante TAC cerebral y/o examen de líquido cefalorraquídeo normal (ELISA y microfijación para cisticercosis negativos). Las crisis convulsivas fueron en todos los casos generalizadas motoras, sin embargo, también identificamos crisis motoras simples y crisis parciales complejas. Todos los electroencefalogramas de nuestros pacientes fueron anormales, en su mayoría con disfunción cerebral difusa con o sin irritabilidad focal. Estos hallazgos sugieren que las anomalías subyacentes que dan lugar a las crisis convulsivas se encuentran diseminadas en el cerebro. Además, la mayoría de los pacientes que fueron sometidos a evaluación neuropsicológica mostró un coeficiente intelectual (IQ) inferior al normal, y padecen de trastornos del estado de ánimo, principalmente depresión y conducta agresiva. El patrón consistente de anomalías del estado de ánimo sugiere disfunción cerebral adicional causada por SCA10, sin embargo no podemos descartar que se trate de reacciones de adaptación de los pacientes a un padecimiento crónico e incapacitante. Encontramos también que algunos de los miembros afectados de las familias tenían signos piramidales y disquinesia ocular. Los estudios de resonancia magnética cerebral mostraron atrofia cerebelosa, la cual en ocasiones se encuentra acompañada de atrofia cortical cerebral leve. En conjunto, estas observaciones proveen una fuerte evidencia de que el proceso patológico no solo está presente en las cortezas cerebrales y cerebelosas, si no de manera difusa en el cerebro, lo cual es consistente con el patrón de expresión del gen SCA10 en el cerebro.

Adicionalmente, varios de los pacientes tuvieron evidencia clínica y electrofisiológica de polineuropatía sensori-motora. Por lo tanto, a pesar de que algunos pacientes con SCA10 pudieran mostrar un cuadro clínico compatible con ADCAIII, la mayoría de los pacientes en nuestras familias tienen ataxia y epilepsia acompañadas de diversos otros signos neurológicos, asemejándose a ADCAI.

Varios de los miembros afectados de la Familia C tuvieron anomalías fuera del sistema nervioso, incluyendo falla hepática, anemia y/o trombocitopenia, que fueron la causa de muerte en tres pacientes. En la generación mas joven de dicha familia, una de las mujeres nació con persistencia del conducto arterioso y dos de sus hermanas tiene soplos precordiales en el foco pulmonar, los cuales no se han estudiado por falta de interés por parte de las pacientes. Anomalías cardíacas similares se han observado en pacientes con SCA7 y grandes expansiones CAG (31). Proponemos que el involucro sistémico en esta familia se debe a que poseen expansiones de ATTCT mucho mas grandes (>3000 repetidos) que las reportadas en los demás individuos con SCA10 identificados hasta la fecha. Alternativamente, pudiera ser una causa genética o ambiental independiente en esta familia. El gen *SCA10* se expresa en hígado, células hematopoyéticas y otros tejidos. Por lo tanto, el involucro de tejidos periféricos, justificaría estudiar el mecanismo patogénico de SCA10 en estos tejidos, y su accesibilidad mediante biopsia permitiría solucionar la dificultad para la investigación causada por no disponer de tejido cerebral de pacientes con SCA10.

En las cuatro familias estudiadas por clínica no pudimos demostrar anticipación significativa o correlación entre la edad de inicio y el tamaño del repetido ATTCT, y los individuos estudiados para la identificación del gen solo mostraron una correlación débil. Planeamos estudiar otras variables que puedan explicar esta correlación en SCA10, tales

como: género parental, edad parental al momento de la transmisión, y mosaicismo somático del expandido ATTCT.

El descubrimiento de la expansión del pentanucleótido en los pacientes con SCA10 define un nuevo tipo de mutación que ayudará a determinar los mecanismos básicos de la inestabilidad de microsatélites y su relación con la patología humana.

CONCLUSIONES

En conjunto, las ataxias espinocerebelosas autosómico dominantes se han considerado “el dolor de cabeza” del neurólogo clínico debido a su gran heterogeneidad tanto clínica como génica. En la actualidad un diagnóstico etiológico de certeza solo puede emitirse con base en el estudio molecular del paciente. La importancia de alcanzar el diagnóstico radica en: 1) aclarar la causa del padecimiento y por lo tanto evitar mas estudios en busca de la misma, 2) permite un asesoramiento genético preciso y la posibilidad de diagnóstico predictivo para los familiares en riesgo, 3) identificar pacientes con alteraciones en genes específicos con el objeto de estudiar la historia natural de la enfermedad, correlación genotipo-fenotipo y pronóstico y 4) es indispensable para el desarrollo de tratamientos específicos basados en la mutación subyacente. Las desventajas de este tipo de estudios son que el costo de los mismos es elevado, y se eleva aún mas porque con frecuencia es necesario realizar un panel en busca de mutaciones en todos los genes causales conocidos, ya que los datos clínicos del paciente con frecuencia no permiten sospechar cual será el gen responsable de la enfermedad.

Por otra parte, solo es posible hacer el diagnóstico de manera directa en 9 SCAs y DRPLA, en las restantes 6 SCAs es necesario contar con familias extensas para realizar análisis de ligamiento; asimismo, existe un grupo de familias (aprox. 20%) con ataxia autosómico dominante de inicio tardío que no corresponde a los genes descubiertos hasta la fecha. El conocimiento de la frecuencia relativa de cada SCA en un grupo étnico o población determinada, ayudará a seleccionar cual prueba es la indicada para realizarse en primer término, optimizando el uso de los recursos disponibles.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a los pacientes y sus familiares su cooperación. El presente proyecto fue apoyado por CONACYT 30790M (AR), NINDS NS41547, la Fundación Oxnard y la National Ataxia Foundation (TA), Cell Science Research Foundation, Yamanouchi Foundation for Research on Metabolic Disorders, Uehara Memorial Foundation y Nakayama Foundation for Human Science (TM).

BIBLIOGRAFÍA

1. Matsuura T, Achari M, Khajavi M, et al. Mapping of the gene for a novel spinocerebellar ataxia with pure cerebellar signs and epilepsy. *Ann Neurol* 1999;45:407-411.
2. Zu L, Figueroa K, Grewal R, Pulst SM. Mapping of a new autosomal dominant spinocerebellar ataxia to chromosome 22. *Am J Hum Genet* 1999;64:594-599.
3. Harding AE. The clinical features and classification of the late onset autosomal dominant cerebellar ataxias. *Brain* 1982;105:1-28.
4. Harding AE. Clinical features and classification of the inherited ataxias. *Adv Neurol* 1991;61:1-14.
5. Grewal RP, Tayag E, Figueroa KP, et al. Clinical and genetic analysis of a distinct autosomal dominant spinocerebellar ataxia. *Neurology* 1998;51:1423-1426.
6. Orr HT, Chung M-Y, Banfi S, et al. Expansion of an unstable trinucleotide repeat in spinocerebellar ataxia type 1. *Nat Genet* 1993;4:221-226.
7. Pulst SM, Nechiporuk A, Nechiporuk T, et al. Moderate expansion of a normally biallelic trinucleotide repeat in spinocerebellar ataxia type 2 gene on human chromosome 12. *Nat Genet* 1996;14:269-276.
8. Sanpei K, Takano H, Igarashi S, et al. Identification of the gene for spinocerebellar ataxia type 2 (SCA2) using a direct identification of repeat expansion and cloning technique (DIRECT). *Nat Genet* 1996;14:277-284.
9. Imbert B, Saudou F, Yvert G, et al. Cloning of the gene for spinocerebellar ataxia 2 reveals a locus with high sensitivity to expanded CAG/glutamine repeats. *Nat Genet* 1996;14:285-291.

10. Kawaguchi Y, Okamoto T, Taniwaki M, et al. CAG repeat expansion in a novel gene in Machado-Joseph disease at chromosome 14q32.1. *Nat Genet* 1994;8:221-228. 13.
11. David G, Abbas N, Stevanin GD, et al. Cloning of the SCA7 gene reveals a highly unstable CAG repeat expansion. *Nat Genet* 1997;17:65-70.
12. Zhuchenko O, Bailey J, Bonnen P, et al. Autosomal dominant cerebellar ataxia (SCA6) associated with small polyglutamine expansions in the alpha 1A-voltage-dependent calcium channel. *Nat Genet* 1997;15:62-69.
13. Koob MD, Moseley ML, Schut LJ, et al. An untranslated CTG expansion causes a novel form of spinocerebellar ataxia (SCA8). *Nat Genet* 1999;21:379-384.
14. Holmes SE, O'Hearn EE, McInnis MG, et al. Expansion of a novel CAG trinucleotide repeat in the 5' region of *PPP2R2B* is associated with SCA12. *Nat Genet* 1999;23:391-392.
15. Flanigan K, Gardner K, Alderson K, et al. Autosomal dominant spinocerebellar ataxia with sensory axonal neuropathy (SCA4): clinical description and genetic localization to chromosome 16q22.1. *Am J Hum Genet* 1996;59:392-399.
16. Ranum LP, Schut LJ, Lundgren JK, et al. Spinocerebellar ataxia type 5 in a family descended from the grandparents of President Lincoln maps to chromosome 11. *Nat Genet* 1994;8:280-284.
17. Worth PF, Giunti P, Gardner-Thorpe C, et al. Autosomal Dominant cerebellar ataxia type III: Linkage in a large British family to a 7.6-cM region on chromosome 15q14-21.3. *Am J Hum Genet* 1999;65:420-426.
18. Herman-Bert A, Stevanin G, Netter JC, et al. Mapping of Spinocerebellar ataxia 13 to chromosome 19q13.3-q13.4 in a family with autosomal dominant cerebellar ataxia and mental retardation. *Am J Hum Genet* 2000;67: 229-235.

19. Yamashita I, Sasaki H, Yabe I, et al. A novel locus for dominant cerebellar ataxia (SCA14) maps to a 10.2-cM interval flanked by D19S206 and D19S205 on chromosome 19q13.4-qter. *Ann Neurol* 2000;48:156-63.
20. Matsuura T, Watase K, Nagamitsu S, Zoghbi HY, Ashizawa T. Fine mapping of the spinocerebellar ataxia type 10 region and search for a polyglutamine expansion. *Ann Neurol* 1999;46:480.
21. Dunham I et al. The DNA sequence of human chromosome 22. *Nature* 1999;402:489-495.
22. Schalling M, Hudson TJ, Buetow KH, Housman DE. Direct detection of novel expanded trinucleotide repeats in the human genome. *Nature Genet* 1993;4:135-139.
23. Trotter Y et al. Polyglutamine expansion as a pathological epitope in Huntington's disease and four dominant cerebellar ataxias. *Nature* 1995;378:403-406.
24. Bidichandani SI, Ashizawa T, Patel PI. The GAA triplet-repeat expansion in Friedreich ataxia interferes with transcription and may be associated with an unusual DNA structure. *Am J Hum Genet* 1998;62:111-121.
25. Wells Rd, Warren ST. *Genetic Instability and Hereditary Neurological Diseases* (Academic, San Diego, 1998).
26. Koob MD et al. Rapid cloning of expanded trinucleotide repeat sequences from genomic DNA. *Nature Genet* 1998;18:72-75.
27. Ikeuchi et al. A novel long and unstable CAT/CYG trinucleotide repeat on chromosome 17q. *Genomics* 1998;49:321-326.
28. Breschel TS et al. A novel, heritable, expanding CTG repeat in an intron of the SEF2-1 gene on chromosome 18q21.1. *Hum Mol Genet* 1997;6:1855-1863.

29. Matsuura T, Yamagata T, Burgess DL, Rasmussen A, et al. Large expansion of ATTCT pentanucleotide repeat in Spinocerebellar ataxia type 10. *Nat Genet* 2000;26:191-194.
30. Medina MT, Rosas E, Rubio-Donnadieu F, Sotelo J. Neurocysticercosis as the main cause of late-onset epilepsy in Mexico. *Arch Inter Med* 1990;150:325-7.
31. Benton CS, de Silva R, Rutledge SL et al. Molecular and clinical studies in SCA-7 define a broad clinical spectrum and the infantile phenotype. *Neurology* 1998;51:1081-1086.
32. Rasmussen A, Yescas P, Matsuura T, et al. Molecular diagnosis of spinocerebellar ataxias in Mexican population. *Am J Hum Genet* 2000;67 Suppl 2:A190

Tabla 1: Clasificación de las Ataxias.

Hereditarias

Autosómico Dominante
Autosómico Recesivo
Ligado al X
Congénitas
Defectos de reparación de DNA
Desórdenes metabólicos
Mitocondriopatías
Enfermedades multisistémicas

Inmunes

Miller-Fisher
Esclerosis múltiple
Paraneoplásicos

Infecciosas:

Ataxia aguda: Viral
Meningitis

Lesiones ocupativas

Abscesos
Neoplasias
Sarcoideas

Paroxísticas

Epilepsia
Febril
Migrañosa

Proteína Prión

Creutzfeldt-Jakob
Gertsmann-Straussler-Scheinker

Polineuropatías

Síndrome anti-MAG
Síndrome GALOP
Neuronopatía sensitiva
Fibras largas

Supratentorial

Trastornos de la marcha
Del anciano
Extrapiramidal
Hidrocefalia

Sistémico

Amiloideo
Autoinmune
Endócrino
Hipoparatiroideo
Tiroideo
Enf. gastrointestinal
Enfermedad celiaca; sprue
Malabsorción de vitamina E
Enfermedad de Whipple

Toxinas y Drogas

Trauma

Vascular

Vestibular

Tabla 2: Ataxias autosómico recesivas, recesivas ligadas al X y congénitas.

<u>SÍNDROMES DE ATAXIA RECESIVA</u>	<u>ATAXIAS METABÓLICAS</u>	<u>ATAXIAS CONGÉNITAS</u>
<p>Ataxia-Apraxia Oculomotora (AOA): 9q34; 9p13 Ataxia Cayman: 19p13 Ataxia espástica Charlevoix-Saguenay: Sacsin; 13q12 Ataxia espinocerebelosa de inicio infantil: 10q23 Ataxia de Friedreich : Frataxin (FRDA); 9q13 Ataxia de Friedreich 2(FRDA 2): 9p23 Ataxia de inicio temprano con reflejos conservados (EOCA): 13q12 Ataxia telangectasia: ATM; 11q22 Ataxia telangectasia-like (ATLD): MRE11; 11q21 Cordones posteriores y retinitis pigmentosa: 1q31 Deficiencia de coenzima Q10 Deficiencia de citocromo oxidasa C: mitocondrial Deficiencia de vitamina E: α-tocopherol transfer protein; 8q13 Enf. cerebeloparenquimatosas (CPD): II, III, IV, V Hipogonadismo Lesiones talámicas e inicio adulto Leucoencefalopatía con materia blanca evanescente: 3q27 Marinesco-Sjögren Mioclonus Báltico (Unverricht-Lundborg): Cystatin B; 21q22 Parálisis laríngea y neuropatía motora Síndrome Cockayne (S) Síndrome Salla (Ateoramiento de ácido siálico): SLC17A5; 6q14 Sordera y atrofia óptica: 6p21 Xeroderma pigmentoso</p>	<p>Abetalipoproteinemía: MTP; 4q22 Deficiencia de Biotinidasa : 3q25 Deficiencia de Carnitin-acetiltransferasa: 9q34 Enfermedad de Orina de jarabe de arce: BCKDH; 19q13 Enfermedad de Refsum: PHYH; 10pter Enfermedad de Wilson: ATP7B; 13q14 γ-Glutamyl-Cistein-Sintetasa: 6p12 Hartnup: 11q13 Hiperamonemia: Ciclo de urea Hipobetalipoproteinemía: APOB; 2p24, 3p22 L-2 Acidemia hidroxiglutarica Niemann-Pick, Tipo C: NPC1; 18q11 Xantomatosis cerebrotendinosa: CYP27; 2q33</p>	<p>Aprosencefalia y disgenesia cerebelar Ataxia cerebelosa 1 (CLA1): 9q34 Ataxia congénita ligada al X-1: Xq23 Ataxia congénita ligada al X-2: X Ataxia-Retraso mental : Xq24-q27 Ataxia-Sordera: X Dandy-Walker Displasia dérmica cerebelotrigeminal Distrofias musculares congénitas Glicoproteína deficiente de carbohidratos Hipoplasia de cerebelo: RELN; 7q22 Lisencefalia con paladar hendido e hipoplasia de cerebelo Parálisis cerebral atáxica: 9p12-q12 Síndrome Behr Síndrome de COACH Síndrome de Gillespie Síndrome de Hoyeraal-Hreidarsson: Dyskerin; Xq28 Síndrome de Joubert: 9q34</p>
<p><u>OTRAS ATAXIAS RECESIVAS</u> Congénitas Defectos de reparación de DNA Enfermedades multisistémicas Metabólicas Mitocondriales</p>	<p><u>ATAXIAS LIGADAS A X</u> Anemia sideroblástica Congénita Extrapiramidal Piruvato deshidrogenasa E1-α Síndrome de Arts Síndrome de Rett Variante alélica Pelizaeus-Merzbacher</p>	<p><u>OTROS SÍNDROMES DE ATAXIA</u> Dominantes: Enfermedad de Creutzfeldt Jakob y Enfermedad de Gerstmann-Straussler-Scheinker. Espásticas</p>

Tabla 3: Clasificación clínica de las ataxias de inicio tardío. Adaptado de Harding

A.E. (5)

Ataxias de inicio tardío (posterior a los 20 años de edad)

- A. Ataxia cerebelosa autosómico dominante (ADCA):**
 - Tipo I** Oftalmoplegia/Atrofia óptica/Demencia/Signos extrapiramidales. Incluye Enfermedad de Machado-Joseph.
 - Tipo II** Retinosis pigmentaria ± Oftalmoplegia/Signos extrapiramidales.
 - Tipo III** Ataxia cerebelosa autosómica dominante "pura" de inicio tardío (posterior a los 50 años).
- B. Otros trastornos dominantes progresivos.**
- C. Ataxia cerebelosa autosómico dominante periódica o intermitente.**
- D. Ataxia autosómica recesiva de inicio tardío.**

Tabla 4: Clasificación molecular de las ataxias autosómico dominantes

ATAXIA	LOCALIZACION	MUTACION	GEN Y/O PRODUCTO
SCA tipo 1 ⁹	6p22-23	CAG	SCA1/Ataxina 1
SCA tipo 2 ^{10,11,12}	12q24.1	CAG	SCA2/Ataxina 2
SCA tipo 3/ Enfermedad de Machado-Joseph ¹³	14q32.1	CAG	SCA3/MJD Ataxina 3
SCA tipo 4 ¹⁴	16q24-qter	??	Gen no clonado
SCA tipo 5 ¹⁵	cen 11	??	Gen no clonado
SCA tipo 6 ¹⁶	19p13	CAG	CACNL1A4/ α_{1A} -voltage- dependent calcium channel.
SCA tipo 7 ¹⁷	3p12-13	CAG	SCA7/Ataxina 7
SCA tipo 8 ¹⁸	13q21	CTG	SCA8
SCA tipo 10 ¹⁹	22q13-qter	ATTCT	SCA10
SCA tipo 11 ²⁰	15q14-21.3	??	Gen no clonado
SCA tipo 12 ²¹	5q31-q33	CAG	PPP2R2B
SCA tipo 13 ²²	19q13.3-q13.4	??	Gen no clonado
SCA tipo 14 ²³	19q13.4-qter	??	Gen no clonado
SCA tipo 16 ²⁴	8q22.1-24.1	??	Gen no clonado
SCA tipo 17 ²⁵	6q27	CAG	TBP/TATA binding protein
DRPLA ²⁶	12p12-pter	CAG	DRPLA

ANEXO I

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

INVITACION A PARTICIPAR

Usted y/o su hijo (a) están invitados a participar en el estudio que incluye a pacientes y sus familiares con Ataxia espinocerebelosa. Esta es una enfermedad del sistema nervioso que afecta principalmente al cerebelo, órgano encargado de controlar la coordinación de los movimientos y la marcha y se sabe que una proporción importante de pacientes con este problema tienen una causa hereditaria. Este estudio está diseñado con el objeto de identificar a un subgrupo de pacientes con la enfermedad en los cuales ya se conoce el gen responsable de la misma. Su aceptación en el estudio no implica la administración de medicamentos diferentes a los que usted recibe hasta la actualidad, ni tiene influencia sobre los tratamientos futuros que pudieran implementarse.

La decisión de participar implica que usted tenga un conocimiento completo de los riesgos y beneficios, los cuales se detallan en esta carta. Cualquier duda adicional puede ser aclarada por los investigadores responsables. Una vez que usted lea este escrito y aclare sus dudas, podrá decidir si desea participar en el estudio o no.

PROCEDIMIENTOS A REALIZARSE

Inicialmente se realizará una historia clínica completa y el árbol genealógico de la familia, identificando a los familiares que posiblemente estén afectados con la misma enfermedad y se colectará una muestra de sangre. Con su consentimiento, es posible que en un futuro se contacte a sus familiares para invitarles a participar en el estudio, en el caso de menores de 18 años se requerirá de la autorización firmada de los padres o responsables legales. En una consulta posterior en el servicio de Genética, se le brindará información acerca de los mecanismos de herencia del padecimiento.

EFFECTOS INDESEABLES Y RIESGOS

Cuando la sangre es obtenida, usted podrá experimentar un leve dolor en el sitio de punción. Raras veces ocurren infecciones o inflamación local. Estos riesgos se reducen al emplear al personal especializado para la obtención de muestras. Mediante este estudio se detectará a un grupo de familias en las cuales el riesgo de que sus hijos esté afectado con la enfermedad es alto, por lo cual es importante que la familia esté enterada de dicha posibilidad.

BENEFICIOS PARA LAS PERSONAS PARTICIPANTES EN EL ESTUDIO

La identificación de alteraciones en el material genético que da lugar a la Ataxia, permitirá establecer el riesgo de que un individuo dentro de la familia pueda heredar el padecimiento, así como establecer quienes no están en riesgo de transmitirlo.

CONSIDERACIONES ECONOMICAS

Este estudio no representará ningún costo adicional para el paciente o su familia.

CONFIDENCIALIDAD

Todos los expedientes serán mantenidos con carácter estrictamente confidencial. Solo los investigadores tendrán acceso a los datos generados durante el estudio.

DERECHO A ABANDONAR EL ESTUDIO

Su participación se considera completamente voluntaria y usted puede desistir de participar o continuar en el estudio en el momento que lo desee. Esta determinación no afectará de ninguna manera su relación con el hospital o el grupo médico.

Si usted considera que cualquiera de los puntos antes mencionados no está claro, o le surgen dudas nuevas, le suplicamos aclararlas con los investigadores responsables antes de determinar si participará o no en el estudio. Los participantes en el proyecto son la Dra. Ma. Elisa Alonso, Dra. Astrid Rasmussen y Lic. en T.S. Adriana Ochoa del Departamento de Genética del Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía. Tel. 606 3822 ext. 2018 y 2019.

AUTORIZACION

He leído el contenido de este escrito y he decidido por voluntad propia participar en este estudio. Sus objetivos generales, los particulares y los riesgos posibles e inconveniencias me han sido explicadas y aclaradas a satisfacción. Mi firma indica también que he recibido una copia de la presente autorización para participar.

Nombre

Firma

Fecha: _____

Teléfono: _____

Fecha y Firma de quien obtiene el consentimiento