

11216

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AVENIDA DE  
MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA  
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO  
HOSPITAL GENERAL DE MÉXICO  
SERVICIO DE GENÉTICA MÉDICA

“ESTUDIO CLÍNICO Y MOLECULAR EN 3  
FAMILIAS CON ENFERMEDAD DE HUNTINGTON”

T E S I S  
QUE PARA OBTENER EL GRADO DE  
ESPECIALISTA EN GENÉTICA MÉDICA  
P R E S E N T A  
JESÚS ERNESTO DUEÑAS ARIAS

SECRETARÍA DE SALUD  
HOSPITAL GENERAL DE MÉXICO  
ORGANISMO REGULADOR



ASESORES DE TESIS: DRA. MA DEL REFUGIO RIVERA VEGA  
DRA. SUSANA KOFMAN-ALFARO

DIRECCIÓN DE CALIDAD

MÉXICO, D.F.

2004



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).

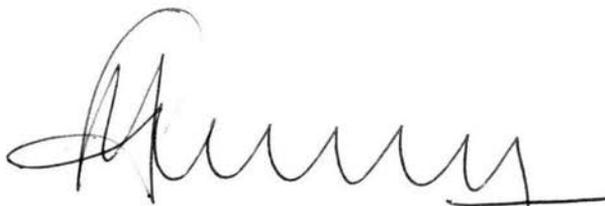
El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición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

# “ANÁLISIS CLÍNICO Y MOLECULAR EN 3 FAMILIAS CON ENFERMEDAD DE HUNTINGTON”

## ASESORES DE TESIS



**DRA. MA DEL REFUGIO RIVERA VEGA**  
SERVICIO DE GENÉTICA, HOSPITAL GENERAL DE MÉXICO.



**DRA. SUSANA KOFMAN-ALFARO**  
JEFE DEL SERVICIO DE GENÉTICA, HOSPITAL GENERAL DE MÉXICO  
PROF. TIT. “C” TC, UNAM

## **AGRADECIMIENTOS:**

A la Dra. Susana Kofman-Alfaro por la paciencia, apoyo y enseñanzas.

A la Dra. Ma. del Refugio Rivera Vega por sus enseñanzas y amistad.

A todo el personal del servicio de Genética, en especial a mis compañeros y grandes amigos de residencia: Gloria Queipo, Carlos Venegas, Tadeo Granados, Laura Machuca, Sonia Chavez, Ludivina Camberos y Arturo Polanco, que sin ellos la residencia no hubiera sido tan fructífera.

A los Drs. Juan Carlos Zenteno y Juan Manuel Valdés por el espíritu de compañerismo y amistad.

Al Departamento de Neurogenética del INNN, especialmente a la Dra. Ma. Elisa Alonso, a las químicas Petra Yescas Gómez y Rosario Macías Ojeda por el material facilitado.

RESUMEN .....	1
<b>1. INTRODUCCIÓN</b>	
1.1 Antecedentes históricos.....	3
1.2 Aspectos clínicos de la enfermedad de Huntington .....	7
1.2.1 Prevalencia .....	7
1.2.2 Manifestaciones clínicas.....	8
1.2.2.1 Anormalidades del movimiento.....	9
1.2.2.2 Anormalidades de la cognición.....	9
1.2.2.3 Anormalidades psiquiátricas.....	10
1.2.3 Correlación Fenotipo-Genotipo.....	11
1.2.4 Diagnóstico diferencial.....	13
1.2.5 Neuropatología.....	14
1.2.6 Diagnóstico.....	15
1.2.6.1 Diagnóstico clínico.....	15
1.2.6.2 Diagnóstico molecular.....	16
1.2.7 Consejo genético.....	17
1.3 Biología Molecular del Gen	
1.3.1 Defecto genético en la enfermedad de Huntington.....	22
1.3.2 La patogénesis en la HD involucra ganancia de función.....	25
1.3.3 Mecanismos de patogénesis en la HD.....	25
1.3.4 Proteínas entrelazadas.....	26
1.3.5 La hipótesis del fragmento tóxico.....	28
1.4 Tratamiento.....	32

2.- PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN.....	36
3.- OBJETIVOS.....	36
4.- DISEÑO DEL ESTUDIO.....	36
5.- MATERIAL Y MÉTODOS.....	37
5.1 Criterios de inclusión.....	37
5.2 Criterios de exclusión.....	37
5.3 Criterios de eliminación.....	37
5.4 Metodología.....	38
6.- RESULTADOS.....	40
7.- DISCUSIÓN.....	47
REFERENCIAS	

La enfermedad de Huntington (HD) es una enfermedad neurodegenerativa con patrón hereditario autosómico dominante, que consiste en alteraciones motor-progresivas con perturbaciones cognoscitivas y psiquiátricas. La edad promedio de inicio es de los 35 a 44 años y el tiempo de supervivencia promedio es de 15 a 18 años después de su inicio.

El diagnóstico de HD se basa en la historia familiar positiva, manifestaciones clínicas e imágenes características y la confirmación a nivel molecular de la expansión del codon CAG/poliglutamina en el gen HD localizado en el cromosoma 4p16.3. El número de repetidos CAG en pacientes con HD van de 36 a 121. La prueba molecular es 100 % sensible y se efectúa en nuestro país, en el departamento de Genética del Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía, donde además se realiza el abordaje multidisciplinario en el manejo y seguimiento de las familias afectadas con este padecimiento.

La descendencia de individuos afectados tiene 50% de riesgo de heredar el gen mutado y por lo tanto presentar la enfermedad. Actualmente existen pruebas moleculares predictivas, disponibles para adultos asintomáticos en riesgo, pero se requiere de un manejo cuidadoso, que incluye asesoramiento pre-prueba y post-prueba. En niños asintomáticos en riesgo, no se debe realizar una prueba predictiva por el riesgo de estigmatizarlo. El diagnóstico prenatal está disponible para realizarse en fetos con riesgo aunque raramente se solicita.

Nosotros realizamos el análisis molecular en 8 individuos de 3 familias no relacionadas con diagnóstico clínico de Enfermedad de Huntington con el fin de conocer el número de repetidos en estos pacientes.

Se estudiaron 3 familias con 8 afectados de Enfermedad de Huntington. La selección de los pacientes para el estudio fue dado por criterios clínicos. El análisis molecular se basó en la amplificación de la secuencia de interés por PCR y los productos obtenidos se corrieron en gel de poliacrilamida para el posterior análisis en placa radiográfica.

Clínicamente los pacientes de las 3 familias sujetas a estudio presentaron manifestaciones clínicas características de la enfermedad, como son: corea, bradiquinesia, distonia, déficit cognoscitivo y variables grados de hipoplasia del estriado. El análisis molecular de todos los pacientes demostró un número de tripletes CAG por arriba de los 35 repetidos. Se discute cada una de las familias de acuerdo a estos resultados y se correlaciona con lo informado en la literatura.

# 1. INTRODUCCIÓN

---

## 1.1 Antecedentes históricos

La enfermedad de Huntington recibe su nombre por George Huntington, médico de mediados del siglo XIX que ejerció la medicina en la punta este de Long Island. En 1872, en el único artículo científico que publicó titulado "La corea", Huntington describió una escena que observó cuando estaba conduciendo por la carretera que va de Amagansett a East Hampton, la zona habitada actualmente por gente acomodada y escritores, pero que en aquella época eran tierras de labrantío. "Repentinamente nos encontramos con dos mujeres madre e hija, ambas altas, delgadas y casi cadavéricas, ambas inclinándose, retorciéndose y haciendo muecas", escribió.<sup>1</sup>

En aquella época, estos movimientos controlados eran diagnosticados como forma adulta del baile de San Vito. Sin embargo, Huntington se dio cuenta de que el movimiento frenético y el paso tambaleante de las dos mujeres era muy diferente al baile de San Vito observado en niños que, temporalmente, desarrollaban movimientos incontrolados durante ataques de fiebre ( hoy en día se sabe que es un resultado temporal de las infecciones bacterianas). Posteriormente, en un artículo que incluiría su nombre permanente en la bibliografía de la Medicina, observó que la extraña corea (movimientos sin objeto) parecía darse en familias "a lo largo de muchas generaciones hasta el más remoto pasado". Observó que cuando uno de los padres padecía la enfermedad, "uno o más descendientes casi invariablemente la padecen si viven hasta edades adultas. Pero si estos hijos viven sin padecerla, el hilo se rompe y los nietos y bisnietos ya no se verán afectados por la enfermedad".<sup>1</sup>

En 1968, casi un siglo más tarde, poco más se había averiguado acerca de la enfermedad de Huntington. Se sabía que la transmisión del misterioso gen de padres a hijos

seguía un patrón denominado por el monje austriaco Gregor Mendel como gen dominante (o "factor hereditario" en palabras de Mendel) en los experimentos con plantas de guisantes.

Ese mismo año, se entregaron 4 premios Nobel a trabajos relacionados con los genes. Nadie tenía interés por la enfermedad de Huntington. Nancy Wexler (**Fig. 1**), psicóloga norteamericana fue la impulsora de los descubrimientos relacionados con la enfermedad de Huntington. Después de saber que su madre (Leonora) tuvo la enfermedad de Huntington y años más tarde su única hermana Alice Wexler la desarrolló, motivó su inquietud para reunir a genetistas y biólogos moleculares a estudiar el padecimiento en búsqueda del gen responsable. En 1972, en un congreso organizado por la Federación Mundial de Neurología de la corea de Huntington, un médico venezolano, Ramón Ávila Girón, presentó su trabajo de tesis doctoral sobre una familia venezolana que presentaba un número considerable de víctimas con enfermedad de Huntington.



**Fig 1.** Nancy Wexler y un paciente con enfermedad de Huntington de Maracaibo, Venezuela.

La ponencia del Dr. Ávila impactó a la audiencia de tal forma que se fundó una comisión para investigar los casos de Maracaibo, que no tuvo consecuencia alguna sino hasta 1976, cuando Wexler y sus consejeros se enteraron de la noticia de que, en Texas, se había hecho un descubrimiento fundamental. Dos médicos genetistas de la Facultad de Medicina de la Universidad de Texas, en Dallas, Michael Brown y Joseph Goldstein, habían encontrado el defecto genético que provocaba la hipercolesterolemia familiar o FH<sup>2,3</sup>, un padecimiento genético que cursa con alteraciones cardíacas graves y precoces. Las claves para el descubrimiento de la FH eran niños que habían heredado dos copias defectuosas de un gen, uno de cada progenitor, y que eran homocigotos para el gen defectuoso. Sus síntomas eran mucho más graves que los de sus padres que solo presentaban una copia defectuosa del gen y que por lo tanto eran heterocigotos.

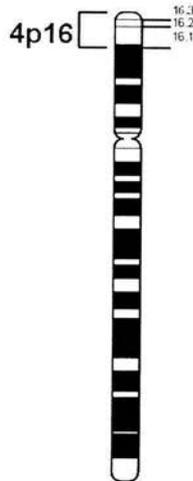
El descubrimiento llenó de esperanza a la Comisión para la Enfermedad de Huntington, la cual planteó un objetivo generado por el artículo publicado por Brown y Goldstein, encontrar un niño homocigoto para el gen de Huntington. En este caso su enfermedad tendría mayor gravedad y se produciría en edades más tempranas de la vida. Posiblemente los procesos bioquímicos, a través de los cuales el gen produce sus efectos nocivos, destacarían con más claridad y ofrecerían pistas para comprender la enfermedad. Actualmente se sabe que no existen diferencias clínicas entre homocigotos y heterocigotos.

En palabras de Nancy Wexler, si hubiera un niño homocigoto en el mundo, éste probablemente se encontraría entre los habitantes de los pueblos venezolanos a lo largo del lago Maracaibo.<sup>4</sup>

En 1980, Botstein y cols publicaron un artículo remitido al *American Journal of Human Genetics*, en el que describen una nueva base para la construcción de un mapa de asociación genética del genoma humano, abriendo con esto una etapa en la biología

molecular con el uso de los RFLP's.<sup>5</sup> Unos meses después, Wyman y White, publican en *Proceedings of the National Academy of Sciences*, un artículo que confirma la teoría expuesta por Botstein, sobre la relevancia de los marcadores de DNA.<sup>6</sup>

Nancy Wexler con el apoyo de sus consejeros genetistas, entendió la importancia de la utilización de marcadores para la búsqueda del gen responsable de la enfermedad de Huntington. Con el apoyo de la Fundación Huntington, Jim Gusella, un biólogo molecular de la Facultad de Medicina de la Universidad de Harvard, colabora en el diseño de sondas que pudieran ser informativas en la búsqueda del *locus* HD. En 1983, Gusella y cols publican en *Nature* su informe, diciendo que el defecto genético de la enfermedad de Huntington había sido localizado en el brazo corto del cromosoma 4, utilizando la hibridación de la sonda G8 que un año antes, el mismo había diseñado.<sup>7</sup> Estudios adicionales, mapearon al gen responsable en 4p16.3.<sup>8</sup> **(Fig. 2)**. El Grupo de Investigación Colaborativo para la Enfermedad de Huntington encontró un nuevo gen denominado IT15 (Transcrito Importante número 15) y más tarde llamado HD, el cual fue clonado en 1993 de un área blanco que contiene un repetido trinucleótido polimórfico que está expandido y es inestable en cromosomas de pacientes con enfermedad de Huntington.<sup>9</sup>



**Figura 2.** Localización cromosómica del *locus* HD

## 1.2 Aspectos clínicos de la enfermedad de Huntington

### 1.2.1 Prevalencia

La prevalencia en poblaciones de origen europeo-occidental es de 3 a 7 por 100,000 habitantes. La HD es menos común en Japón, China, Finlandia y en negros africanos.<sup>10</sup> La frecuencia en Japón se ha estimado entre 0.1 y 0.38 por 100,000. La prevalencia de la HD excede 15 por 100,000 en algunas poblaciones que son principalmente de origen Europeo occidental.<sup>11-13</sup> La distribución desigual de la HD es explicada por lo menos parcialmente por la distribución de alelos y haplotipos predisponentes en la población normal de estos grupos étnicos.<sup>14-17</sup> Los alelos más comunes en todas las poblaciones contienen 15 a 20 CAG repetidos; en poblaciones de Europa occidental, la distribución se sesga hacia los alelos más largos dentro del rango normal, considerando que estos alelos más largos son menos

comunes en poblaciones africanas y asiáticas.<sup>15,16,18</sup> Esto sugiere que los alelos expandidos en el rango de la enfermedad provengan de alelos normales largos prevaleciente en poblaciones de Europa occidental.

En México se desconoce la frecuencia de pacientes con HD. En un estudio realizado por la Dra. Alonso en el INNN, se analizaron por PCR 192 cromosomas de individuos no afectados con HD en orden de establecer la frecuencia de los alelos con el repetido CAG en población mexicana. El número de repetidos encontrados oscilaban entre 13 a 32, siendo el alelo más frecuente encontrado con 18 repetidos (32.29%).<sup>19</sup>

### **1.2.2 Manifestaciones clínicas**

La enfermedad de Huntington es un trastorno neurodegenerativo motor-progresivo con perturbaciones cognoscitivas y psiquiátricas. Aproximadamente 2/3 de los pacientes presentan inicialmente manifestaciones neurológicas, mientras el resto comienza con cambios psiquiátricos. La edad promedio de inicio es de los 35 a 44 años.<sup>12,20</sup> En la fase temprana, las manifestaciones incluyen cambios sutiles en la coordinación, movimientos involuntarios menores, dificultad en el procesamiento y planificación del pensamiento y frecuentemente depresión o irritabilidad. En esta fase los pacientes pueden normalmente realizar la mayoría de sus actividades ordinarias y continuar con sus trabajos.<sup>12,20</sup>

En la siguiente fase, la corea es más evidente con dificultad creciente de la actividad voluntaria y la disartria y disfagia empeoran. La mayoría de los pacientes están forzados a dejar su empleo y aumenta el estado de dependencia hacia los demás, aunque ellos pueden mantener todavía un grado considerable de independencia personal. El deterioro es considerable, con arranques intermitentes de conductas agresivas y desinhibición social. En fases tardías, la invalidez motora aumenta en severidad y el paciente llega a ser totalmente

dependiente<sup>(21)</sup>. El promedio de sobre-vida después del inicio es de 15 a 18 años.<sup>20,22</sup> La edad promedio de muerte es a los 54-55 años.<sup>12,20</sup>

**1.2.2.1 Anormalidades del movimiento.** Las perturbaciones de los movimientos voluntarios e involuntarios están presentes en la HD.<sup>13,20</sup> La corea, es el signo mayor, y corresponde a un desorden del movimiento involuntario que consiste en movimientos no continuos y no periódicos que comprometen de manera acentuada los músculos del tronco y los proximales de los miembros, produciendo una alteración caricaturesca de la marcha. Estos movimientos en ocasiones se observan precozmente en la cara. La corea se observa en mas de 90% de los pacientes, aumentando durante los primeros 10 años.<sup>13</sup> Los movimientos coreicos están continuamente presentes al despertar, no pueden suprimirse voluntariamente y empeoran por el estrés.

Con el tiempo, se presentan otros movimientos involuntarios como bradiquinesia, rigidez y distonia. El deterioro de la función motora-voluntaria es un signo muy precoz. Los pacientes y sus familias describen la torpeza en sus actividades diarias. La velocidad motora, control motor fino y el deambular están afectados. Las perturbaciones oculo-motoras ocurren tempranamente y empeoran progresivamente. La dificultad en la fijación de la mirada puede verse en más de 75% de los individuos sintomáticos. La disartria se presenta tempranamente y es común. La disfagia ocurre en fase tardía y la hiperreflexia se observa tempranamente en 90% de los pacientes, mientras los clonus y la respuesta del extensor plantar ocurren tardíamente y son menos frecuentes.<sup>13</sup>

**1.2.2.2 Anormalidades de la cognición.** Un declive global en las capacidades cognitivas se presenta en todos los pacientes con HD.<sup>23</sup> Los cambios cognoscitivos

incluyen olvido, lentitud de los procesos del pensamiento, deterioro de la capacidad visión-espacial y daño a la habilidad de manipular el conocimiento adquirido. Aunque el déficit cognoscitivo ocurre muy temprano en la enfermedad, se desconoce si las deficiencias neuropsicológicas aparecen antes de otras señales clínicas.<sup>24,25</sup> En varios estudios se ha identificado el déficit cognoscitivo previo a los síntomas motores<sup>26,27</sup> aunque no en otros.<sup>28</sup> Los cambios iniciales involucran frecuentemente la pérdida de flexibilidad mental y el deterioro de las funciones ejecutivas como la planificación mental y la organización de actividades secuenciales.<sup>29,30</sup> Los déficits de memoria con deterioro mayor para la recuperación de información ocurren temprano.<sup>31-34</sup> La atención y concentración se ven afectadas tempranamente<sup>35</sup>, produciendo fácilmente distracción. Las funciones del idioma están relativamente conservadas, pero presentan un nivel disminuido de complejidad sintáctica, anormalidades del discurso corticales, errores parafásicos y dificultades para encontrar las palabras son comunes en fase tardía.<sup>30,36</sup> Las pruebas neuropsicológicas revelan deterioro de la capacidad visión-espacial, particularmente en fase tardía de la enfermedad.<sup>32</sup>

**1.2.2.3 Anormalidades psiquiátricas.** Los pacientes con HD desarrollan cambios significativos de la personalidad (72%), psicosis afectiva (20-90%), o psicosis esquizofrénica (4-12%).<sup>29,31,36-38</sup> El suicidio ocurre en más del 12% de los pacientes.<sup>37,38</sup> Los trastornos de la conducta como explosividad intermitente, apatía, agresión, abuso de alcohol, trastorno sexual, desviaciones y aumento del apetito son frecuentes.<sup>13</sup>

Otras anormalidades como pérdida de peso, disturbios del sueño o incontinencia son características tardías de la HD.<sup>20,23,39,40</sup>

### 1.2.3 Correlación Fenotipo-Genotipo

Aunque la edad promedio de inicio es de los 35 a 44 años, aproximadamente 25% de los pacientes con HD presentan signos y síntomas después de los 50 años.<sup>41</sup> Estos pacientes tienen corea, trastornos de la marcha y disfagia, pero con un curso más prolongado y benigno que el paciente típico. Aproximadamente 10% de los pacientes con HD tienen la forma o variante juvenil, con inicio antes de los 20 años de edad.<sup>20</sup> Las caídas frecuentes, disartria, torpeza, hiperreflexia y perturbaciones oculo-motoras son frecuentes y se presentan tempranamente. La rigidez marcada, deterioro mental severo, alteración motora prominente, síntomas cerebelares y el declive rápido, son características de HD juvenil.<sup>42</sup> Las convulsiones epilépticas son más comunes en los casos de inicio temprano con 30 a 50% de los pacientes juveniles afectados.<sup>43</sup>

Existe una correlación inversa significativa entre el número de repetidos CAG y la edad de inicio<sup>44</sup> **Tabla 1.** Los pacientes con inicio de síntomas en edad adulta normalmente tienen una expansión que va de 40 a 55 repetidos CAG. Los pacientes con inicio de síntomas en edad juvenil, comúnmente tienen expansiones por arriba de 60 repetidos CAG.

La longitud del repetido no correlaciona con cualquier otro rasgo clínico de la HD.<sup>13,21,45-52</sup>

Individuos con un tamaño del alelo en el rango de 36 a 41 CAG repetidos pueden o no desarrollar síntomas de HD durante su vida. En cambio, individuos con un tamaño del alelo en el rango intermedio de 27 a 35 CAG repetidos no están en riesgo de desarrollar síntomas de HD, pero pueden segregar un alelo expandido en el rango de la enfermedad a su descendencia. Los pacientes homocigotos para la HD no están clínicamente más afectados que los heterocigotos.<sup>46,49</sup>

**Tabla 1. Edad de inicio observada por tamaño del repetido CAG.<sup>54</sup>**

<b>Tamaño del repetido CAG</b>	<b>Edad promedio de inicio (años)</b>	<b>Rangos de edad de inicio (95% intervalos de confianza) (años)</b>
39	66	(59-72)
40	59	(56-61)
41	54	(52-56)
42	49	(48-50)
43	44	(42-45)
44	42	(40-43)
45	37	(36-39)
46	36	(35-37)
47	33	(31-35)
48	32	(30-34)
49	28	(25-32)
50	27	(24-30)

## 1.2.4 Diagnóstico diferencial

El espectro de padecimientos a incluirse dentro del diagnóstico diferencial de la HD, incluye a aquellos padecimientos que presentan corea, demencia y perturbaciones psiquiátricas. Una minoría de pacientes tienen un fenotipo clínico de HD sin una amplificación del codon CAG en el gen HD.<sup>54</sup> En por lo menos 3 familias, los estudios de ligamiento excluyeron el *locus* HD como responsable para este fenotipo. Estas observaciones sugieren que en raras ocasiones, la heterogeneidad no alélica pueda estar debajo de la presentación de un fenotipo semejante a la HD. Sin embargo, el examen de estas familias revela un cuadro atípico más característico de otros trastornos multi-sistemas.<sup>54</sup>

Muchas condiciones no hereditarias están asociadas con corea, pero la mayoría puede excluirse fácilmente en un paciente con sospecha de HD. Las causas de corea como disquinesia tardiva, tirototoxicosis, enfermedad cerebrovascular, lupus cerebral y policitemia, pueden ser excluidas basados en los hallazgos asociados y el curso de la enfermedad. La neuroacantocitosis es un padecimiento autosómico dominante con corea que debe ser considerado si el desgaste muscular, reflejos ausentes en tendones de miembros inferiores y signos de neuropatía están presentes; puede diferenciarse de la HD encontrando acantocitos típicos en la mancha de una sangre húmeda espesa.<sup>55,56</sup> La corea hereditaria benigna, una condición autosómica dominante, generalmente se presenta con corea no progresiva sin demencia.

La ataxia cerebelar hereditaria puede ser discernible de la HD debido a los signos cerebelares prominentes. La enfermedad de Creutzfeld-Jakob progresa más rápidamente que la HD y presenta mioclonía como un movimiento involuntario prominente.

El diagnóstico de HD en niños, no debe presentar ningún problema si se reconocen los detalles del fenotipo clínico y si hay una historia familiar conocida de HD, pero en casos

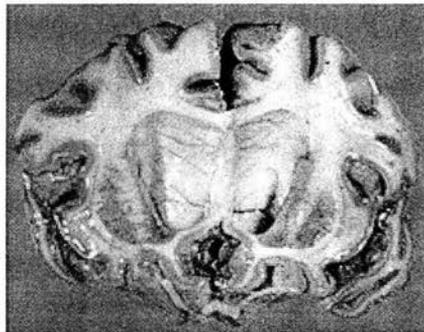
aislados el síndrome de Hallervorden-Spatz<sup>57,58</sup>, síndrome de Lesch Nyhan, y otras enfermedades metabólicas deben excluirse.<sup>12</sup>

### 1.2.5 Neuropatología

La progresión clínica de la HD es a través de la degeneración neuronal en el cerebro<sup>59</sup>

(Figura 3):

- Pérdida de las neuronas espinosas del cuerpo estriado, que empieza en el núcleo caudado y se extiende hasta el putamen y las capas profundas de la corteza cerebral.
- Terminales dendríticas recurvadas y cambios en la densidad espinal; la forma y tamaño son asociados con pérdida de función y finalmente la muerte celular neuronal.
- La pérdida neuronal extensa puede reducir el peso cerebral en 25% o más.



**Figura 3.** Corte cerebral coronal, donde se aprecia la dilatación ventricular, atrofia del núcleo caudado.

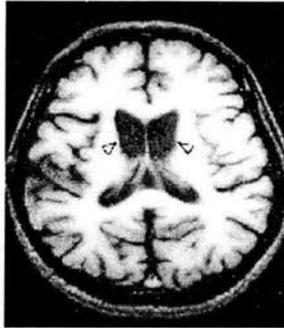
## 1.2.6 Diagnóstico

El diagnóstico de la enfermedad de Huntington se realiza en base a una historia familiar positiva, hallazgos clínicos característicos y la detección molecular de la expansión del triplete CAG en el gen HD (sitio cromosómico 4p16.3). La comprobación molecular es muy específica (100%).<sup>53</sup>

### 1.2.6.1 Diagnóstico clínico

El diagnóstico de HD es clínicamente sospechado por la presencia de invalidez motor-progresiva que involucra tanto movimientos voluntarios como involuntarios, perturbaciones mentales que incluyen declive cognoscitivo y/o cambios en la personalidad<sup>14,60</sup> y una historia familiar positiva compatible con la herencia autosómica dominante. Usando estos criterios, aproximadamente pueden identificarse el 85-93% de los casos de HD correctamente.<sup>61,62</sup>

Los estudios por imagen que incluyen resonancia magnética (MRI), tomografía axial-computarizada (TAC) y la tomografía por emisión de positrones (PET) pueden proporcionar apoyo adicional para el diagnóstico clínico. Exámenes por TAC y MRI pueden demostrar la atrofia característica del núcleo caudado y putamen<sup>63-65</sup> Fig. 4. Los hallazgos por PET en personas afectadas revelarán frecuentemente una disminución en la captación y metabolismo de la glucosa en el núcleo caudado antes que la pérdida del tejido estructural sea claramente evidente.<sup>66,67</sup>



**Figura 4.** TAC de cráneo en la que se ilustran con flechas la dilatación ventricular por atrofia del núcleo caudado.

### 1.2.6.2 Diagnóstico molecular

El análisis directo de los repetidos CAG en el gen HD, está disponible y la detección de un número aumentado de repetidos CAG es muy específica (100%).<sup>53,68</sup> El número de tripletes varía de 10 a 26 en alelos normales. En pacientes con HD, el número de los repetidos varía entre 36-121. Alelos con 27 a 41 repetidos necesitan ser interpretados con cautela. Alelos con 27-35 CAG repetidos son considerados intermedios (premutación); una persona con un alelo en el rango intermedio puede estar en riesgo de tener un hijo con un alelo en el rango anormal, pero la persona con alelo intermedio no está en riesgo de desarrollar síntomas de HD.<sup>69</sup> Un alelo en el rango de 36-41 repetidos está asociado con penetrancia reducida para HD; un individuo con un alelo en el rango de penetrancia reducida puede o no desarrollar síntomas de HD en su vida.<sup>18,53,70</sup> Cuando en un individuo se identifica

un alelo con repetidos CAG en el rango de penetrancia reducida, la prueba debe repetirse y los resultados deben interpretarse en el contexto de la historia familiar.

El diagnóstico de la HD generalmente se realiza mediante la técnica molecular de la PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa). La detección esta basada en la identificación del número de repetidos CAG inestable localizados en la porción N-terminal de la proteína que empieza en el triplete 18 corriente abajo del primer codon de ATG. Los repetidos (CAG)<sub>n</sub> inestables se encuentran inmediatamente corriente arriba de un tracto moderadamente polimórfico de (CCG)<sub>n</sub> que codifica para poliprolina. Los repetidos (CCG)<sub>n</sub> de poliprolina pueden variar en tamaño, entre 7 y 12 repetidos, tanto en afectados como en individuos normales. Para evitar el riesgo de amplificar los repetidos CCG en lugar de los de CAG que podría llevar a un error diagnóstico, se emplea una serie de 3 reacciones de PCR<sup>71</sup>:

1. la amplificación del (CAG)<sub>n</sub> exclusivamente.
2. la amplificación del tracto de (CCG)<sub>n</sub> exclusivamente.
3. la amplificación de la región completa que contiene ambas series de repetidos.

### 1.2.7 Consejo genético

La HD se hereda con un patrón autosómico dominante. La descendencia de individuos afectados tiene 50% de riesgo de heredar la mutación causante de la enfermedad sin distinción de sexo y por cada concepción. La probabilidad de que una persona asintomática de un grupo de riesgo sea portador de la mutación, sigue siendo de 50% durante las etapas de infancia y adulto-joven, pero gradualmente disminuye con la edad creciente<sup>72</sup> (**Tabla 2**).

Tabla 2. Probabilidad de que una persona con un riesgo a priori de 50% para HD sea positiva a una prueba de detección de una mutación de HD, si la persona permanece asintomática a una edad dada.<sup>72</sup>

Edad (años)	Probabilidad de una mutación de HD (%)
20	49.6
22.5	49.3
25	49
27.5	48.4
30	47.6
32.5	46.6
35	45.5
37.5	44.2
40	42.5
42.5	40.3
45	37.8
47.5	34.8
50	31.5
52.5	27.8
55	24.8
57.5	22.1
60	22.1
62.5	18.7
65	12.8
67.5	10.8
70	6.2
72.5	4.6

La mayoría de los individuos diagnosticados con HD tienen un padre afectado, aunque en ocasiones la historia familiar será negativa. La historia familiar puede ser "negativa" debido a la adopción, muerte temprana de un padre, el fracaso para reconocer síntomas de HD en miembros de la familia, inicio tardío de la enfermedad en un padre, la presencia de un alelo intermedio (rango de 27 a 35 repetidos) (**Fig. 6**) o el alelo con penetrancia reducida (rango de 36 a 41 repetidos) en un padre asintomático, o una mutación de *novo* para HD. Mutaciones de *novo* que causan HD son raras.<sup>73</sup> No ha sido demostrado que un alelo en el rango de 27 a 35 repetidos se expanda hasta el rango de la enfermedad cuando es transmitido por la madre; mientras el riesgo de expansión en el rango de la enfermedad cuando el alelo intermedio es transmitido por el padre es aproximadamente de 2.5%.<sup>74</sup> Alelos intermedios se presentan en más de 1% en individuos de algunas poblaciones.<sup>75</sup> El mecanismo de impronta en la enfermedad de Huntington cuando el padre hereda el gen mutante no es bien entendido, probablemente la susceptibilidad alélica en células germinales paternas que constantemente entran a meiosis, predisponga selectivamente la expansión de un alelo desde un rango normal de repetidos hasta un rango de premutación o bien desde una premutación hasta el rango de enfermedad.<sup>74,75</sup>

### **Pruebas en individuos asintomáticos en riesgo.**

Las pruebas en adultos asintomáticos en riesgo para HD han estado disponibles durante más de 10 años. Al probar a los individuos de riesgo para HD, es útil realizar una prueba molecular para verificar la expansión de CAG en un familiar afectado y confirmar que el desorden en la familia realmente es HD. Los protocolos para pruebas predictivas usualmente implican entrevistas pre-prueba para analizar las razones de solicitarla, el grado

de conocimiento individual de la HD, el posible impacto de un resultado positivo y negativo y evaluar el funcionamiento neuropsicológico. También se realizan entrevistas post-prueba.<sup>76-79</sup> Las demandas de padres para pruebas en niños asintomáticos en riesgo, requieren consejo sensible y comprensivo. Existe un acuerdo general internacional que menciona que en niños asintomáticos no deben realizarse pruebas. Las razones principales contra la prueba en estos son: abolición de la opción a elegir, aumenta la posibilidad de estigmatización dentro de la familia y en otras escenas sociales y además de tener serias implicaciones educativas y de desarrollo como individuo.<sup>80,81</sup>

Un problema a considerar en las pruebas de individuos asintomáticos en riesgo es la anticipación de la enfermedad, fenómeno en el cual el padecimiento inicia a edades más tempranas en generaciones sucesivas. La anticipación ocurre comúnmente por transmisión paterna del alelo mutado.<sup>82,83</sup> El fenómeno de la anticipación proviene de la inestabilidad del repetido CAG durante la espermatogénesis.<sup>84,85</sup> Las expansiones grandes en el tamaño del repetido CAG (>7 CAG) ocurren casi exclusivamente a través de la transmisión paterna. Frecuentemente los niños con la HD juvenil han heredado el alelo expandido de sus padres. Datos acerca de la probabilidad de que un individuo con un tamaño particular del repetido CAG este afectado a una edad específica, pueden ser útiles en los programas de pruebas predictivas.<sup>53</sup>

En 1999 se reportó un estudio internacional multicéntrico en el que se realizaron pruebas predictivas para Enfermedad de Huntington con la intención de encontrar la frecuencia de suicidio, intento de suicidio y hospitalización psiquiátrica definidas globalmente como evento catastrófico (EC). Participaron 4527 individuos de 100 centros en 21 países. De los 4527 participantes 44 (0.97%) fueron reportados tener un EC después de recibir el

resultado de las pruebas predictivas: 5 participantes, todas mujeres, se suicidaron; 21 (13 mujeres y 8 hombres) hicieron intento de suicidio y 18 (13 mujeres y 5 hombres) fueron hospitalizados por razones psiquiátricas. Varias implicaciones clínicas emergen de este estudio. 24 participantes (54.5%) con un EC fueron sintomáticos al tiempo del evento lo que refleja la vulnerabilidad de este grupo particular en riesgo. La mayoría, 11 de 13 (84.6%) de los individuos asintomáticos experimentaron un EC a 12 meses después de recibir un resultado positivo. En contraste, 4 de 7 (57.1%) participantes ocurrió un EC al año después de haber recibido un resultado negativo. Lo anterior sugiere que factores adicionales pudieran estar participando en un EC.<sup>86</sup>

## 1.3 Biología Molecular del Gen

### 1.3.1 Defecto genético en la enfermedad de Huntington

El gen HD humano fue clonado en 1993 de la región 4p16.3 del cromosoma 4 por el Grupo de Investigación Colaborativo HD.<sup>9</sup> El gen también llamado IT15 (transcrito importante 15) incluye 180-200kb y consiste de 67 exones. La región polimórfica de repetidos CAG se encuentra en el primer exón y el gen codifica para una proteína grande de 348kd llamada huntingtina.<sup>9,87</sup>

El gen HD se transcribe a mRNA con un segmento CAG expandido y por consiguiente una proteína con un alargamiento de residuos consecutivos de glutamina.

El mRNA de HD es producto de splicing alternativo dando por resultado dos formas de proteínas poliadeniladas de 13.5 y 10.5 kb con el CAG repetido localizado cerca de los codones 5 y 17 corriente abajo del iniciador AUG.<sup>88,89</sup> La proteína huntingtina (**Fig. 5**) no tiene similitud con otra secuencia informada excepto en la poca complejidad de la región poliglutamina-poliprolina (codificada por CAG y un repetido degenerado CCG). Cerca de la región NH<sub>2</sub>-terminal existe un motivo, "HEAT", implicado en el transporte de la proteína celular "HEAT". Repetidos HEAT se encuentran en varias proteínas reguladoras citoplasmáticas con funciones conocidas en procesos de transporte. Los primeros 17 aminoácidos de la huntingtina y el resto de la proteína corriente abajo del segmento de poliglutamina-poliprolina son altamente conservados en la evolución, contrariamente el segmento de poliglutamina-poliprolina puede ser requerido para funciones aun no conocidas de la huntingtina.<sup>90</sup>

La expansión del repetido CAG es la única mutación responsable para todos los casos heredados y esporádicos de la HD.<sup>13</sup>



**Figura 5.** Representación gráfica de la Huntingtina

De 10 a 34 repetidos CAG están presentes en individuos normales.<sup>14,44,91</sup> (Figura 6).

Alelos con 27 a 35 repetidos, están considerados como intermedios.

El número de repetidos CAG incide sobre la edad de inicio y la progresión de la enfermedad.

La mayoría de los casos de HD inician en la vida adulta y esta asociada con longitudes CAG de 40-50 repetidos. Expansiones del repetido CAG en el rango de 35-41, muestran un inicio tardío del padecimiento.<sup>53</sup> Individuos con más de 60 repetidos manifiestan típicamente la forma juvenil de la HD.<sup>44</sup> Expansiones del codon CAG por debajo de 27 repetidos son estables en meiosis y mitosis y sobre este umbral llegan a ser inestables y tienen el potencial para sufrir expansión extensa durante las generaciones sucesivas. Esto puede llevar al fenómeno de anticipación que describe la mayor severidad y el inicio de la enfermedad en edades más tempranas en generaciones sucesivas dentro de una familia. La expansión CAG en la región 5' traducida del gen HD en cromosomas paternos en meiosis es considerada de alto riesgo para HD juvenil. Aunque los repetidos CAG pueden contraerse o expandirse, hay una propensión hacia la expansión.<sup>74</sup>

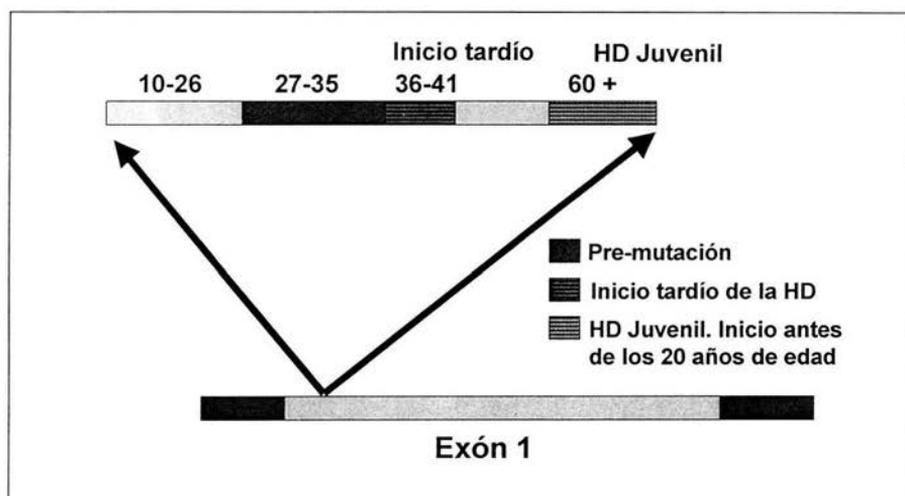


Figura 6. Rangos del repetido CAG.

### **1.3.2 La patogénesis en la HD se debe a ganancia de función.**

Hay evidencia considerable de que la expansión de CAG en la HD origina una “ganancia tóxica de función” más que “la pérdida de función” como ocurre en la mayoría de los padecimientos autosómico dominantes.<sup>92-94</sup>

Lo anterior se apoya en los siguientes datos<sup>92-94</sup> :

- Los pacientes con deleciones cromosómicas que incluyen al gen HD no manifiestan la enfermedad.
- Han sido identificados individuos fenotípicamente normales portadores de translocaciones con punto de ruptura en el gen HD sin desarrollar la enfermedad.
- Los individuos homocigotos son clínicamente idénticos a los heterocigotos.
- El fenotipo dominante sugiere que el mRNA o la proteína han adquirido una nueva propiedad o se han expresado inadecuadamente.
- No se han encontrado mutaciones de sentido equivocado, sin sentido, errores en el marco de lectura o mutaciones por splicing en el gen HD.

### **1.3.3 Mecanismos de patogénesis en la HD**

En años recientes, se ha puesto interés especial en conocer los mecanismos por los cuales los tripletes CAG se repiten y como la htt mutante puede provocar degeneración de la célula neuronal en la HD. Las investigaciones se han enfocado a identificar los substratos bioquímicos involucrados en la ganancia tóxica de función.

Se han encontrado inclusiones intranucleares (NII) en neuronas de la corteza y del cuerpo estriado en pacientes con HD. Estas inclusiones nucleares conformadas principalmente por fragmentos amino-terminales de la huntingtina mutante, se han observado en las neuronas de la corteza y el estriado, siendo la longitud del tracto de poliglutamina la causa de la

magnitud de la acumulación de la htt en estas estructuras. La presencia de NIs en neuronas vulnerables en desórdenes humanos y su asociación con lesiones en ratones transgénicos ha llevado a la teoría que estos depósitos son tóxicos y por consiguiente patogénicos.<sup>95,96</sup> Varias observaciones apoyan la teoría que la muerte celular neuronal asociada con la HD se debe a la apoptosis<sup>97-103</sup>:

- Los núcleos de neuronas del estriado en HD muestran rasgos morfológicos característicos asociados con apoptosis.
- Componentes antiapoptóticos o factores neurotróficos protegen a las neuronas contra la huntingtina mutante.
- En ratones bloqueando la localización nuclear de la huntingtina mutante se suprimió la habilidad para formar inclusiones nucleares e inducir neurodegeneración.
- La Huntingtina demuestra sitios de división para la apopaina o caspasa-3.<sup>104</sup>
- La apopaina o caspasa-3, es una proteína nuclear importante implicada en la división proteolítica de enzimas nucleares relacionadas con la apoptosis. Cuando in vitro la huntingtina, que contiene trectos de poliglutamina extendidos, se incubó con apopaina, se encontró que la cantidad de htt cortada aumentó dramáticamente con relación a la longitud creciente de poliglutamina, es decir, que mientras más largo sea el segmento de poliglutamina mayor será la cantidad cortada por la apopaina. El producto obtenido es una poliglutamina que contiene un fragmento amino-terminal de 50-60 kD. La Caspasa-3 es un efector importante de la apoptosis neuronal. La Huntingtina es específicamente cortada por la caspasa 3 y esto aumenta por la longitud de poliglutamina.<sup>104-106</sup>

#### **1.3.4 Proteínas entrelazadas**

Debido a que la huntingtina se expresa en diversos tejidos, y en orden de construir modelos que expliquen cómo las proteínas con tripletes CAG expandidos conducen a la

neurodegeneración, se ha tratado de identificar proteínas que actúan recíprocamente con la huntingtina para explicar la muy específica y selectiva pérdida neuronal en la HD. Los repetidos de poliglutamina inducen cambios conformacionales en la proteína htt que podrían exponer sitios de unión normalmente inaccesibles. Además, se han identificado varias proteínas que actúan directamente con la huntingtina:

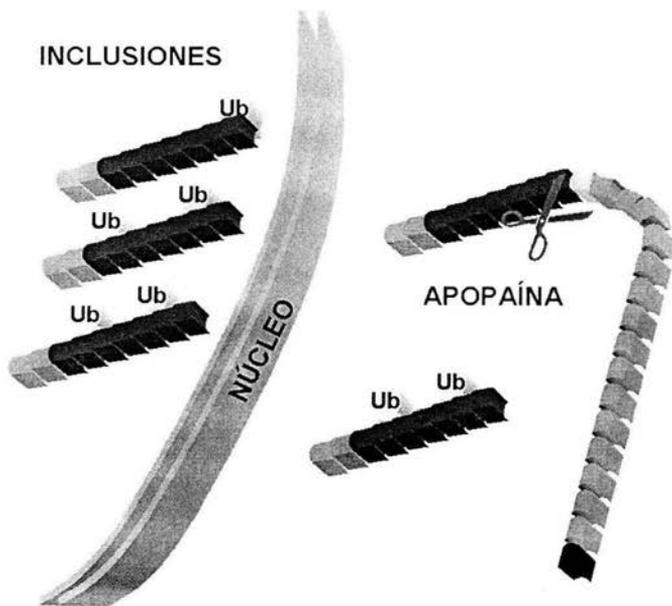
- La proteína asociada a huntingtina (HAP1), es una proteína citoplasmática asociada con la membrana del citoesqueleto que se expresa predominantemente en el cerebro. HAP1 es expresada en muchas neuronas que también producen óxido nítrico sintetasa. Los tractos de poliglutamina expandidos en la htt muestran una incrementada unión a HAP1. Esto podría aumentar la producción de óxido nítrico dejando a ciertas poblaciones celulares más susceptibles a daño excitotóxico.<sup>87,107</sup>
- La gliceraldehidofosfato deshidrogenasa (GAPDH), una proteína multifuncional crucial para la glicólisis celular, interactúa con las proteínas que contienen repetidos de poliglutamina expandidos en trastornos neurodegenerativos como la HD. Se ha demostrado que GAPDH es sobre-expresada en la apoptosis neuronal cerebelar en cultivo y que la regulación corriente abajo de GAPDH esta asociada con disminución de la apoptosis neuronal. La interacción de GAPDH es reforzada a través de la longitud de los tractos de poliglutamina. Tanto Htt y GAPDH tienen localización citoplasmática. Además GAPDH actúa preferencialmente con las longitudes más pequeñas de htt. El corte de las htt en células que sufren apoptosis podría generar más fragmentos amino-terminales produciendo una mayor interacción de la proteína truncada con GAPDH que lleva al refuerzo de la apoptosis a la neurodegeneración.<sup>108</sup>
- La proteína HIP-2 (Human Interacting Protein-2) o enzima que conjuga ubiquitina humana (hE2-25) interactúa con la htt normal y se ha descrito una función en la degradación de

esta proteína. La propia Huntingtina es ubiquitinada y por consiguiente podría participar en la toxicidad de los fragmentos de htt que contienen repetidos de poliglutamina.<sup>109</sup>

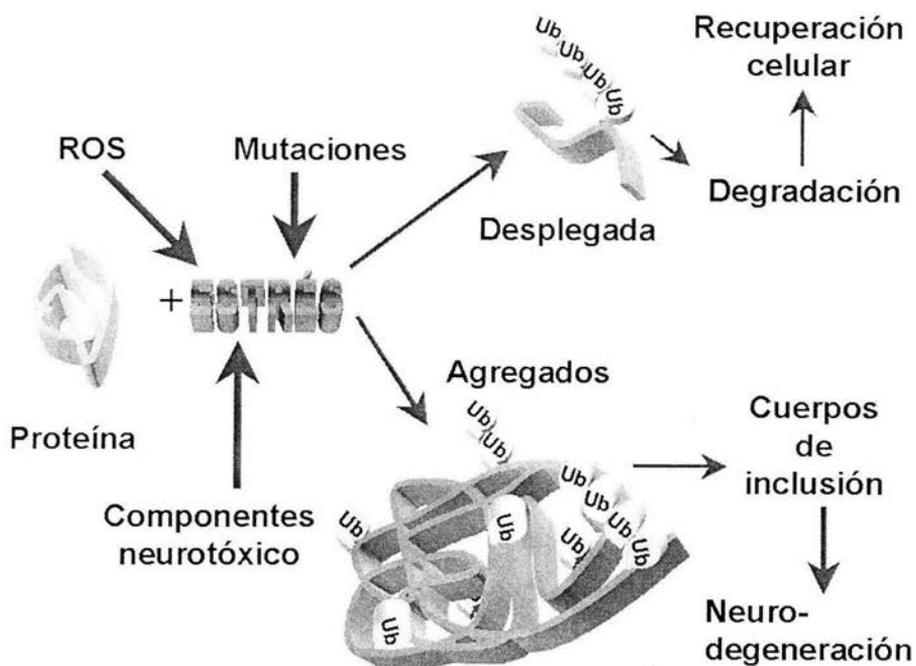
- HIP-1 es una proteína interactiva recientemente identificada. HIP-1 es una proteína asociada a membrana que interactúa recíprocamente con el citoesqueleto. Forma las asociaciones más fuertes con la proteína htt normal y por consiguiente podría ser importante en el funcionamiento celular de la huntingtina.<sup>87</sup> Los repetidos HEAT localizados corriente abajo del tracto de poliglutamina de la huntingtina, fortalecen la interacción HIP-1-htt. HIP-1 puede ayudar en el transporte de htt.<sup>90</sup>

### 1.3.5 La hipótesis del fragmento tóxico

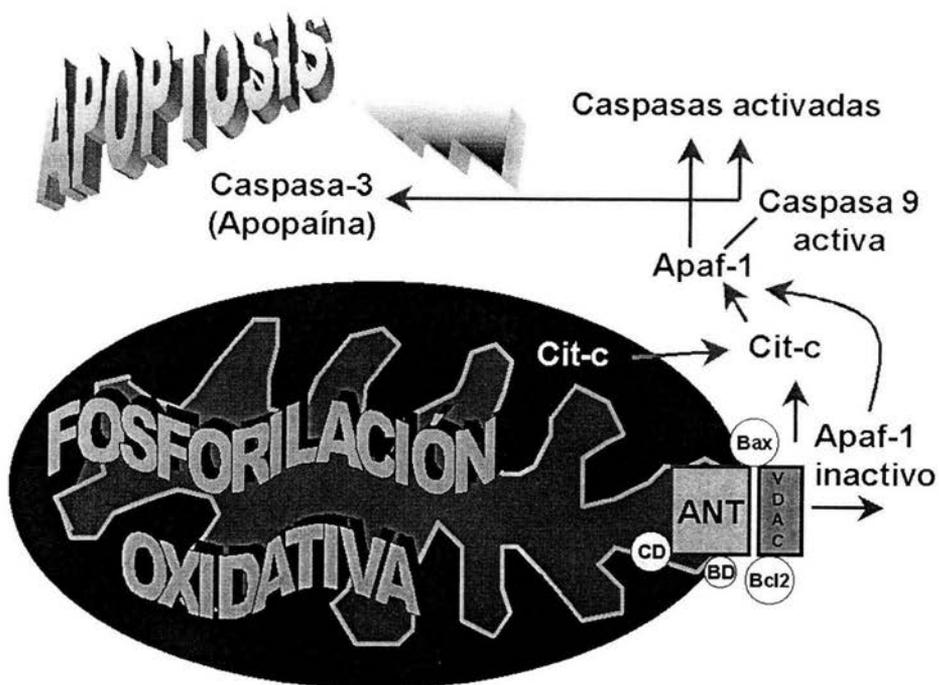
Hay evidencia que los tractos de poliglutamina por si mismos y los fragmentos de proteína con tractos de poliglutamina expandidos pueden ser tóxicos para las células. Se piensa que la htt mutante sufre proteólisis en el citoplasma por las interacciones con las proteínas celulares para generar fragmentos amino-terminales que contienen las expansiones de glutamina tóxicas (**Figuras 7 y 8**). Estos fragmentos serían entonces lo bastante pequeños para ganar acceso al núcleo donde pudieran provocar la apoptosis. Un nivel bajo de la actividad de las caspasas (en una célula bajo tensión moderada), genera cantidades pequeñas del substrato. La Huntingtina con los tractos de poliglutamina expandidos promueve la activación de la caspasa-3, la cual puede iniciar la producción de un fragmento amino-terminal tóxico de huntingtina que agrega tensión adicional a la célula y podría causar activación extensa de las caspasas, corte y apoptosis eventual<sup>104-106,111</sup> (**Fig 9**).



**Figura 7.** Corte de la apopáina o caspasa-3 y transporte del fragmento de poliglutamina por la ubiquitina al núcleo celular.



**Figura 8.**<sup>110</sup> Vía proteolítica de una proteína celular sujeta a condiciones de estrés. Una vez que la proteína es ubiquitinada la proteína es degradada, permitiendo a la célula recuperar sus componentes, sin embargo si la proteína es modificada, ésta no es degradada y se acumula como agregados ubiquitinados o cuerpos de inclusión condicionando la degeneración celular. ROS, reactive oxygen stress, producido por estrés oxidativo



**Figura 9.** La acumulación intracelular de la proteína huntingtina, desencadena la activación de la vía proteolítica de las caspasas, con la finalidad principal de cortar el fragmento expandido de poliglutamina por la caspasa-3, sin embargo, la no-degradación del fragmento, no desactiva la vía proteolítica conduciendo a la activación de otras caspasas dirigidas por la caspasa-9, que tienen un papel demostrado en la degradación del DNA, tanto nuclear como mitocondrial, precipitando a las células a la apoptosis.<sup>111</sup>

## 1.4 Tratamiento

El tratamiento de la enfermedad de Huntington se ha limitado a terapéuticas sintomáticas y de sostén. Se han introducido varios medicamentos para tratar la corea, depresión, ansiedad y psicosis. Mientras algunos de ellos son lo bastante eficaces para aliviar los síntomas y tienen un papel esencial en el manejo de la HD, estos no detienen el propio proceso de la enfermedad. Simplemente, enmascaran los síntomas. Terapias de sostén como cuidados de enfermería, ajustes psicológicos, terapia física y del lenguaje, modificaciones de dieta, etc. llegan a ser fundamentales conforme progresa la enfermedad. Los pacientes con HD avanzada requieren de la prevención y tratamiento de varias complicaciones médicas. Los tratamientos actualmente disponibles no pueden revertir, detener o incluso retrasar el proceso de la enfermedad. Con el mayor entendimiento de la enfermedad en los años recientes ha habido discusiones en nuevas estrategias terapéuticas. Algunas de ellas llegaron a estar disponibles para los ensayos clínicos, mientras que otras requieren de un desarrollo más extenso para su factibilidad en la terapia clínica.

Hay evidencia sustancial que la vía final de la muerte celular en el cerebro de pacientes con HD es debida a la excitotoxicidad. La pérdida excitotóxica de neuronas es mediada por la unión de aminoácidos excitadores a sus receptores. Entre estos aminoácidos, el glutamato parece producir excitotoxicidad por unión a un tipo de receptor glutaminérgico llamado receptor N-metil-D-aspartato (NMDA) en HD.<sup>112</sup> Las drogas que inhiben la transmisión glutaminérgica pueden ser útiles para tratar a los pacientes de HD. Éstos incluyen bloqueadores del receptor de glutamato, como la remacemide<sup>113</sup>, y drogas que inhiben liberación o síntesis de glutamato, como el riluzole (Rilutek)<sup>114</sup>, lamotrigine (Lamictal)<sup>115</sup> y gabapentin (Neurontin).<sup>116</sup> Uno de estos medicamentos, el riluzole, tiene un

ligero beneficio (10%) sobre la esperanza de vida de pacientes con la enfermedad de Lou Gehrig (otra enfermedad neurológica conocida como esclerosis lateral amiotrófica, en la cual la excitotoxicidad parece contribuir a la enfermedad). El lamotrigine no ha mostrado eficacia en el tratamiento de pacientes con HD.<sup>115</sup>

Desde que se conoce que las anomalías del metabolismo de energía pueden jugar un papel importante en la muerte celular excitotóxica en la HD, drogas que mejoran el metabolismo de energía, como la coenzima Q10 (CoQ10)<sup>(117)</sup> y la nicotinamida<sup>118</sup>, pueden ser de interés en el tratamiento de la HD. Antioxidantes como el alfa-tocoferol (vitamina E)<sup>119</sup> y el ácido tióctico<sup>120</sup> también pueden ser utilizados. La excitotoxicidad aumenta la concentración de calcio en las células. Varios bloqueadores del canal de calcio, inhibidores de la unión del calcio con proteínas e inhibidores de la activación enzimática por calcio como el óxido nítrico sintetasa (NOS) pueden ser incluidos en las estrategias para la prevención de la muerte celular neuronal.<sup>121</sup> NOS produce radicales libres que dañan los tejidos y sus isoformas neuronales (nNOS) están relacionadas con la neurotoxicidad.<sup>122</sup>

Los procedimientos Neuroquirúrgicos han mostrado resultados prometedores en el tratamiento de la enfermedad de Parkinson (PD). Estos procedimientos incluyen la palidotomía, talamotomía y el estímulo eléctrico crónico del tálamo. Cortando una parte del globus pallidus (palidotomía posteroventral) se reducen significativamente la hipoquinesia y la hiperquinesia de la PD. Cortando una parte del tálamo (talamotomía ventrolateral) se demostró una mejoría significativa del temblor en pacientes con PD y el temblor esencial.<sup>123</sup> El estímulo eléctrico crónico de los núcleos del sensorio talámico (tálamo ventrolateral-ventroposterolateral) por dispositivos programables implantados, los temblores y la rigidez

mejoraron en la PD, y el control perfecto del hemibalismo (movimientos involuntarios violentos en un lado del cuerpo) en un caso.<sup>124</sup> Adicionalmente, algunos investigadores ven al núcleo subtalámico como un nuevo blanco potencial para la intervención quirúrgica. Debido al desarrollo de técnicas neuroquirúrgicas estereotácticas guiadas por TAC, los procedimientos se han vuelto mucho menos invasivos.<sup>125</sup> Si estos procedimientos son eficaces en la HD todavía está por verse, pero existe optimismo para el tratamiento quirúrgico de la corea en la HD. Si bien no se espera que los procedimientos quirúrgicos detengan el propio proceso de la enfermedad, estos se diseñan para aliviar los síntomas. Se debe ser consciente que el desorden del movimiento es sólo una parte de los problemas en la HD, por lo que la pérdida de las funciones intelectuales y las manifestaciones psiquiátricas son improbables de mejorar con estos procedimientos, no obstante, estos procedimientos neuroquirúrgicos estereotácticos ofrecen una nueva modalidad de tratamiento para los pacientes de HD.<sup>126</sup>

En PD, el trasplante de tejido cerebral fetal ha mostrado algún éxito restaurando las funciones de las neuronas perdidas. Similares acercamientos pueden ser utilizados en la HD. En Massachussets, se han trasplantado tejidos del estriado de cerdos fetales en algunos pacientes con HD.<sup>127</sup> También pueden considerarse fuentes de tejido alternativas. Si se puede identificar factores neurotróficos que mantengan la supervivencia de las células en degeneración en el estriado, el trasplante de líneas celulares genéticamente diseñadas, produciría los factores neurotróficos necesarios. Esto sin duda alguna puede ser otro acercamiento interesante.<sup>128</sup>

El creciente entendimiento de los mecanismos moleculares de la enfermedad, ha permitido desarrollar un nuevo acercamiento terapéutico racional que pueda interferir con el mecanismo de la enfermedad en una fase más temprana que la vía final de la muerte celular. La intervención más temprana puede ser más eficaz desde el punto de vista de prevenir a las neuronas de la lesión, en lugar de intentar rescatarlas después de la alteración.<sup>129</sup> La proteína huntingtina mutante con un tracto repetido de glutamina largo causa HD por la ganancia de una nueva función en lugar de la pérdida de la función. Así, complementando la proteína huntingtina normal por medio de la terapia génica convencional, es improbable resolver el problema en la HD. El acercamiento racional sería (1) eliminar la proteína huntingtina mutante o (2) impedir a la proteína huntingtina mutante producir sus efectos por ganancia de función. En la HD, los repetidos CAG expandidos en el gen son transcritos hasta repetidos CAG expandidos en el mRNA, el cual se traduce en un tracto de glutaminas expandidas en la proteína huntingtina. En la actualidad, la inhibición selectiva de la transcripción y traducción del gen HD mutante no es factible.<sup>130</sup> Se sabe que la proteína huntingtina actúa recíprocamente con otras proteínas. Así, los moduladores de tales interacciones pueden disminuir el efecto de la ganancia de función y pueden llevar a un efecto terapéutico. Los esfuerzos para encontrar tales moduladores están siendo actualmente investigados.<sup>131</sup>

## 2.- PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN

---

La corea de Huntington es una enfermedad neurodegenerativa hereditaria, que por su inicio clínico tardío representa un serio problema al paciente y a sus familiares por lo que es importante que conozcan el alto riesgo de recurrencia en sus descendientes.

Actualmente existe la posibilidad de realizar el diagnóstico de certeza tanto en pacientes como en familiares en riesgo de presentar la enfermedad.

En el presente trabajo se analizan las características clínicas en 3 familias no relacionadas correlacionándolas con los hallazgos moleculares para proporcionar un asesoramiento genético adecuado.

## 3.- OBJETIVOS

---

Analizar clínica y molecularmente a 3 familias con 8 miembros afectados con enfermedad de Huntington.

## 4.- DISEÑO DEL ESTUDIO

---

El estudio es descriptivo y transversal

## 5.- MATERIAL Y MÉTODOS

---

Se estudiarán 3 familias, con un total de 8 enfermos, los cuales fueron enviados al servicio de genética con diagnóstico clínico de enfermedad de Huntington.

### 5.1 Criterios de inclusión

- 1.- Contar con el consentimiento del paciente o en su caso de los padres o familiares del paciente para la realización del estudio.
- 2.- Pacientes con al menos 2 de las siguientes características clínicas: corea, anormalidades psiquiátricas y demencia.
- 3.- TAC, RMI o PET compatible con enfermedad de Huntington.

### 5.2 Criterios de exclusión

- 1.- Pacientes o familiares que por algún motivo estén en desacuerdo con la realización del estudio.

### 5.3 Criterios de eliminación

- 1.- Aquellos pacientes que fueron referidos con diagnóstico de enfermedad de Huntington y que no cumplan con los criterios de inclusión.

## 5.4 Metodología

Mediante la historia clínica genética se recabarán los datos más importantes de los pacientes que acuden con diagnóstico de enfermedad de Huntington al servicio de genética del Hospital General de México.

Se solicitará a la unidad de imagen, la realización de TAC o RMI de cráneo y en forma externa el estudio de PET, según sea el caso.

Previa explicación y consentimiento del paciente y familiares, se procederá a la extracción de 4 mL de sangre periférica. Mediante metodología estándar se procederá a la extracción del DNA. Se realizará la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa, PCR (del inglés, Polymerase Chain Reaction) flanqueando a la región polimórfica con oligonucleótidos descritos por The Huntington's Disease Collaborative Research Group. (5'-ATG AAG GCC TTC GAG TCC CTC AAG TCC TTC-3') y (5'-AAA CTC ACG GTC GGT GCA GCG GCT CCT CAG-3'). La amplificación por PCR se realizará en un volumen de reacción de 25  $\mu$ l conteniendo 200 ng de DNA genómico, 1  $\mu$ g de cada primer, 10 mM Tris-HCl (pH 8.3), 5 mM KCl, 2.5 mM MgCl<sub>2</sub>, 200  $\mu$ M de cada dNTP's, 10% dimetilsulfoxido, 1.5  $\mu$ Ci de <sup>32</sup>P-dCTP y 2.0 U de Taq polimerasa. Las reacciones de PCR se llevarán a cabo en el termociclador bajo las siguientes características: Previo a los ciclos el aparato es calentado a 94° C por 7 min, posteriormente la reacción fue ciclada de acuerdo al siguiente programa: 40 ciclos a 94° C, 1 min; 60° C, 1 min; 72° C, 2 min; y 72° C, 10 min para la extensión final. Los fragmentos de DNA amplificados serán separados en gel de poliacrilamida bajo condiciones estándar, cargando 5  $\mu$ l de cada reacción de PCR y a un volumen igual de formamida al 95%. Los geles serán expuestos a films de Rayos X por 1 a 3 días. El tamaño del triplete será determinado por comparación de los productos de PCR a una reacción de secuenciación pBSMB corriendo a ambos lados del gel.

La metodología molecular se realizará en el departamento de genética del Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía "Manuel Velasco Suárez" por las químicas Petra Yescas y Rosario Macías.

La recolección de los datos clínicos se realizará con el formato de historia clínica existente en el servicio de genética del Hospital General de México.

## RESULTADOS

---

Se estudiaron 8 pacientes con diagnóstico clínico de enfermedad de Huntington, los datos clínicos más importantes de los propósitos se señalan en la tabla 3. En todos los pacientes se realizaron estudios de gabinete, resonancia magnética en las familias 1 y 3 y tomografía axial computarizada en la 2. Los hallazgos se resumen en la tabla 4. Finalmente a todos los pacientes se les practicó estudio molecular para identificar el número de repetidos CAG y tratar de establecer una correlación con la edad de inicio. Los hallazgos moleculares se observan en la tabla 5 y las imágenes de los geles de poliacrilamida bajo los árboles genealógicos corresponden a cada paciente estudiado.

Tabla 3. Manifestaciones Clínicas.

	Familia 1			Familia 2				Familia 3
	II.1	II.2	II.10	III.1	III.2	III.5	III.8	III.3
Edad de inicio	29	32	19	70	66	62	60	7
Edad al momento del estudio	36	35	19	78	74	72	66	13
Corea	+	+	-	+	+	+	+	+
Bradiquinesia	+	+	-	+	+	+	+	+
Rigidez	+	+	-	+	+	+	+	+
Distonía	+	+	-	+	+	+	+	+
Marcha inestable	+	+	-	+	+	+	+	+
Disartria	+	+	-	+	+	+	+	+
Disfagia	+	+	-	+	+	+	+	+
Hiperreflexia	+	+	+	+	+	+	+	+
Alteraciones en la fijación de la mirada	+	+	-	+	+	+	+	+
Alteraciones cognitivas*	+	+	+	+	+	+	+	+
Alteraciones psiquiátricas**	+	+	-	+	+	+	-	+

\* Déficit de memoria, disminución en la capacidad de manipular el conocimiento adquirido.

En la familia 2, las alteraciones cognitivas iniciaron después de las alteraciones del movimiento.

\*\* Principalmente depresión y apatía.

Tabla 4. Estudios de gabinete.

	Familia 1 RM			Familia 2 TAC				Familia 3 RM
	II.1	II.2	II.10	III.1	III.2	III.5	III.8	III.3
Atrofia del n. Caudado	+++	+++	+	+++	+++	+++	+++	+++
Atrofia del putamen	+++	++	+	+++	+++	++	++	++
Atrofia del n. Lenticular	+++	++	+	++	++	++	++	+++
Atrofia del g. palidum	++	++	+	++	++	++	+	++
Atrofia cortical y sub-cortical	++	++	+	++	++	++	++	++

RM= Resonancia Magnética. TAC= Tomografía Axial Computarizada

+ Leve

++ Moderado

+++ Severo

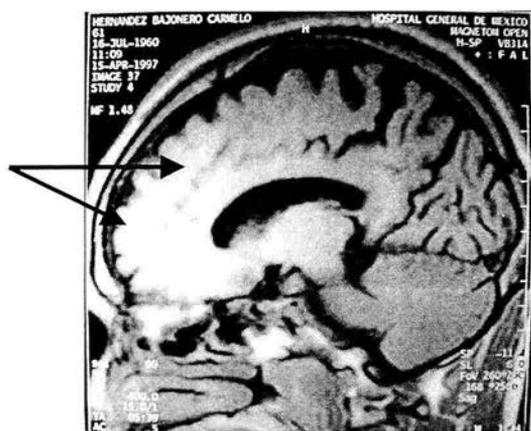


Figura 10. Resonancia magnética de cráneo, corte sagital (paciente II.1, familia 1). Se señala con flechas la atrofia moderada de corteza y sub-corteza cerebral.



Figura 11. Resonancia magnética de cráneo, corte coronal (paciente II.1, familia 1). Se muestra la atrofia del núcleo caudado.

Tabla 5. Estudio molecular de repetidos CAG.

	Familia 1			Familia 2				Familia 3
	II.1	II.2	II.10	III.1	III.2	III.5	III.8	III.3
Edad de inicio	29	32	19	70	66	62	60	7
Repetidos CAG				38	39	39	41	
36-41								
42-59	54	52	56					
60 +								74

FE DE ERRATAS:  
 EN LA TABLA 5, FAMILIA 2 EL PROPOSITO III.1  
 PRESENTO 39 REPETIDOS Y EL III.5,38.

Familia 1

Árbol Genealógico

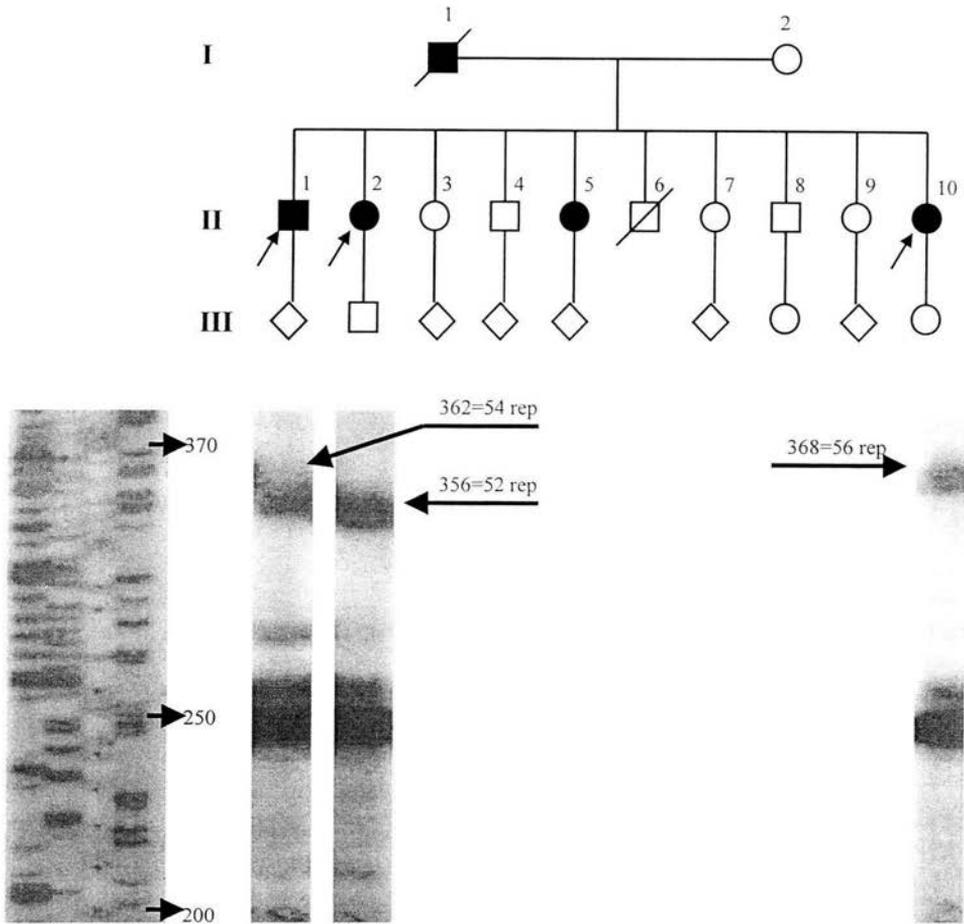


Figura 12. Árbol genealógico y los hallazgos moleculares en la familia 1. Al comparar las bandas encontradas en los pacientes con la reacción de secuenciación pBSMB a la izquierda, encontramos que los pacientes II.1, II.2 y II.10 presentaron 54 (362-200/3), 52 (356-200/3) y 56 (368-200/3) repetidos respectivamente. Los repetidos CAG, normalmente inician en la posición 200 a partir del codon de iniciación AUG. Para obtener el número de repetidos, se resta la posición de la banda de interés menos la posición inicial del repetido CAG, finalmente el producto obtenido se divide entre 3.

Familia 2

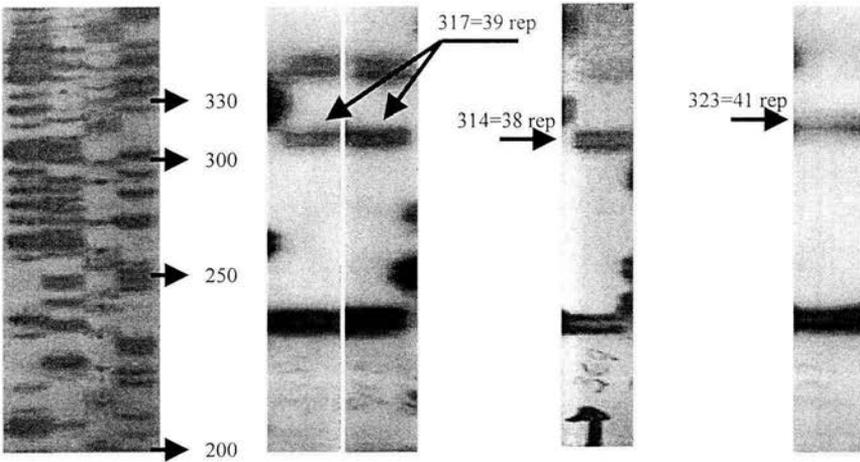
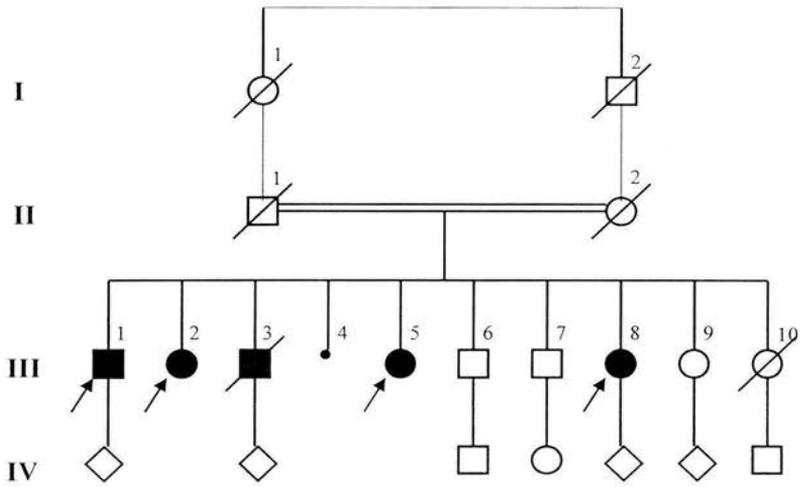


Figura 13. Árbol genealógico y los hallazgos moleculares en la familia 2. Al comparar las bandas encontradas en los pacientes con la reacción de secuenciación pBSMB a la izquierda, encontramos que los pacientes III.1, III.2, III.5 y III.8 presentaron 39 (317-200/3), 39, 38 (314-200/3) y 41 (323-200/3) repetidos respectivamente.

Familia 3

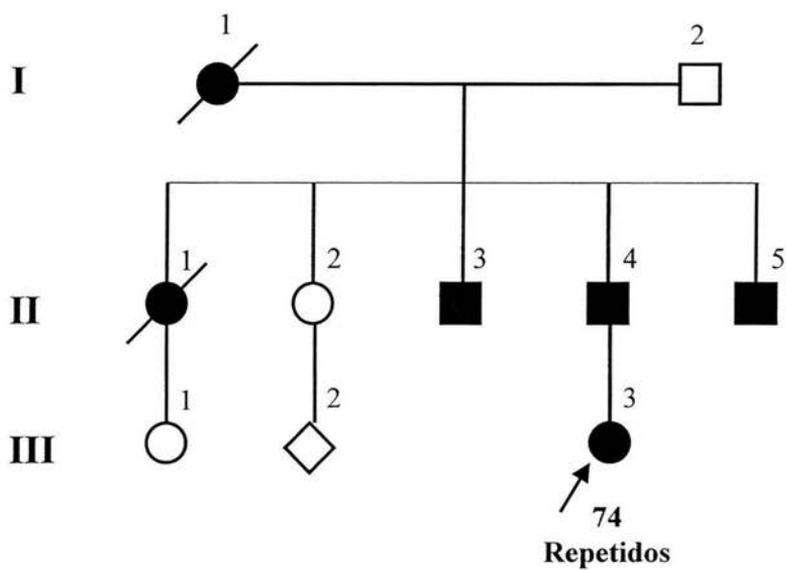


Figura 14. Árbol genealógico de la familia 3. La propósita III.3, presentó 74 repetidos CAG.

## DISCUSIÓN.

---

La enfermedad de Huntington (HD) es una enfermedad neurodegenerativa con patrón hereditario autosómico dominante, que consiste en alteraciones motor-progresivas con perturbaciones cognoscitivas y psiquiátricas. La edad promedio de inicio en los individuos afectados es de los 35 a 44 años y el tiempo de supervivencia promedio es de 15 a 18 años después de la aparición de los síntomas.<sup>12, 20</sup>

El diagnóstico de HD se basa en la historia familiar positiva, manifestaciones clínicas e imágenes características y la confirmación a nivel molecular de la expansión del codon CAG/poliglutamina en el gen HD localizado en el cromosoma 4p16.3. El número de repetidos CAG en pacientes con HD va de 36 a 121. La prueba molecular es 100 % sensible.<sup>53</sup>

La descendencia de individuos afectados tiene 50% de riesgo de heredar el gen mutado y por lo tanto presentar la enfermedad. Actualmente existen pruebas moleculares predictivas disponibles para adultos asintomáticos en riesgo, pero se requiere de un manejo cuidadoso, que incluye asesoramiento pre-prueba y post-prueba. En niños asintomáticos en riesgo, no se debe realizar una prueba predictiva por el riesgo de estigmatización. El diagnóstico prenatal está disponible para realizarse en fetos con riesgo, aunque raramente se solicita.<sup>81,82</sup>

El orden de aparición de las manifestaciones clínicas en pacientes con enfermedad de Huntington es muy variable, la mayoría empieza con alteraciones neurológicas, como la corea, progresivamente otras alteraciones del movimiento se suman al padecimiento tales como la bradiquinesia, distonía y alteraciones en la fijación de la mirada. A consecuencia de la distonía en músculos oro-faríngeos, la mayoría de los pacientes tienen disfagia y disartria. Dentro de las alteraciones neurológicas, las cognoscitivas se pueden presentar en cualquier etapa de la historia natural de la enfermedad. En 1/3 de los pacientes, las alteraciones psiquiátricas preceden a las anomalías neurológicas.<sup>12, 20</sup>

La corea, signo mayor de la enfermedad, estuvo presente en las 3 familias sujetas a estudio. En cuanto a los movimientos involuntarios como bradiquinesia, rigidez y distonía se observaron en 7 de los 8 pacientes. La alteración en la deambulación, la dificultad en la fijación de la mirada (reportada en la literatura en más de 75% de los individuos sintomáticos)<sup>13</sup>, la disartria, la disfagia y la hiperreflexia se observaron en 7 de 8 pacientes. En 2 de las 3 familias estudiadas, las manifestaciones neurológicas precedieron a los cambios psiquiátricos.

Un declive global en las capacidades cognoscitivas se presenta en todos los pacientes con HD.<sup>23</sup> Los cambios cognoscitivos en todos nuestros pacientes incluyen olvido, lentitud de los procesos del pensamiento y daño a la habilidad de manipular el conocimiento adquirido. En varios estudios se ha identificado el déficit cognoscitivo previo a los síntomas motores<sup>26, 27</sup> aunque no en otros.<sup>28</sup> En los 4 pacientes de la familia 2 el déficit cognoscitivo y las alteraciones psiquiátricas se presentaron tardíamente lo que esta de acuerdo con algunos reportes.<sup>23, 28</sup> Es importante mencionar que esta heterogeneidad clínica no guarda relación con el número de repetidos.

Los estudios de imagen como TAC y RMI demostraron en nuestros pacientes variables grados de atrofia del putamen, núcleo caudado, núcleo lenticular y corteza cerebral. La variabilidad clínica observada en los estudios de imagen de nuestros pacientes, se debe sustancialmente al tiempo de evolución del padecimiento al momento de realizar dicho estudio.

Existe una correlación inversa significativa entre el número de repetidos CAG y la edad de inicio.<sup>53</sup> En todos nuestros pacientes el número de repetidos observado (de 38 a 74 tripletes), estuvo dentro del rango de la enfermedad. En la familia 1, los repetidos en los pacientes fue de 54 (II.1), 52 (II.2) y 56 (II.10). La paciente que presentó 56 repetidos inició el padecimiento

a los 19 años, los otros dos a los 29 y 32 años respectivamente. Entre ellos es poca la diferencia en el número de repetidos, sin embargo, al relacionar el número de estos con la edad de inicio se encuentra que entre los pacientes II.1 y II.10, con solo 2 tripletes de diferencia existen 10 años de diferencia en la edad de inicio. Basados en estudios estadísticos que comparan la edad de inicio con el número de repetidos, en la paciente II.10 los datos corresponden a lo descrito en la literatura,<sup>19,53</sup> sin embargo en los pacientes II.1 y II.2 se hubiera esperado que la edad de presentación fuese mas temprana que lo observado para 54-52 repetidos encontrados en ellos. Aunque no fue posible realizar el análisis molecular en el padre de estos pacientes por haber fallecido (se desconoce la causa), consideramos que éste fue el transmisor del gen mutante, por los siguientes datos: ausencia de síntomas en la madre, la esposa refirió que su cónyuge presentó síntomas semejantes a los de sus hijos, la edad de presentación del padecimiento en los hijos y el número de repetidos encontrado en estos se correlaciona con lo descrito para alelos de segregación paterna.

En la familia 2, cuyos datos clínicos inician tardíamente, el número de repetidos observado en los 4 pacientes fue de 38 (III.1), 39 en dos (III.2 y III.5) y 41 (III.8) en otro. Aunque el inicio tardío del padecimiento en la familia se correlaciona con rangos reportados entre los 36 y 41 repetidos, el orden de aparición de síntomas cognoscitivos y psiquiátricos, 8 años después de las alteraciones motoras, no tiene relación en estos pacientes ya que la cantidad de poliglutamina celular no determina el espectro clínico del padecimiento, sino la localización del fragmento de poliglutamina acumulado en diferentes estructuras cerebrales es la que participa primordialmente en la heterogeneidad clínica.<sup>95,96,104-106,110</sup> Aunque no fue factible realizar el análisis molecular a los padres de los pacientes por deceso de causa desconocida, es muy probable que la madre haya sido la transmisora del gen mutante debido a las

siguientes razones: 1.- el padre de los pacientes falleció a los 80 años sin presentar síntomas de la enfermedad y la madre falleció a los 52 años probablemente antes de presentar el cuadro clínico, y 2.- el número de repetidos observado en los pacientes se encuentra dentro del rango de 36-41 tripletes, reportado en la literatura para alelos con inicio de la enfermedad por arriba de los 55 años y que en la mayoría de los casos son debidos a segregación materna.<sup>53</sup>

En la familia 3, el fenómeno de anticipación observado en la propósita III.3, en la que se encontraron 74 repetidos, está en relación con lo reportado en la literatura tanto por la transmisión paterna como por el número de repetidos arriba de los 60 tripletes. A pesar de no contar con el análisis molecular en el padre de la paciente, la esposa refirió que éste se encuentra internado en un Hospital Psiquiátrico con diagnóstico clínico de esquizofrenia. En la literatura se describe que 4-12% de los pacientes con enfermedad de Huntington inician con psicosis esquizofrénica varios años antes de las alteraciones motoras.<sup>29,31,36-38</sup> Es casi seguro que el cuadro clínico inicial en el padre de nuestra paciente es parte del fenotipo reportado en la enfermedad de Huntington.

En conclusión, se observa que en todos los casos presentados, existe una correlación inversa entre la edad de inicio y el número de repetidos, como ha sido reportado en la literatura<sup>53</sup>.

El asesoramiento genético en familias con enfermedad de Huntington trae consigo serias implicaciones psicológicas tanto para el afectado como para los familiares sanos que conviven con ellos. Las pruebas predictivas basadas en análisis de ligamiento no han demostrado aliviar el impacto psicológico en las familias ante cualquier grado de riesgo informado resultante de la prueba. Independientemente del resultado proporcionado, los pacientes experimentan estrés ante la posibilidad de desarrollar o no la enfermedad, debido

a que las pruebas predictivas basadas en análisis de ligamiento no son de certeza. En los casos en que se realizan pruebas directas, el panorama no es tan diferente, debido a que se han presentado eventos catastróficos antes y después del examen, sin embargo, en términos generales esta prueba brinda un mejor panorama tanto a los afectados como a individuos en riesgo desde el punto de vista que ofrece la oportunidad, bajo un diagnóstico de certeza, el planear o no hijos. También en la mayoría de los individuos en riesgo, la prueba ayuda a aliviar la ansiedad ante un resultado negativo. Por último, al proporcionar cualquier información a la familia debe asegurarse la continuidad del apoyo multidisciplinario, principalmente soporte psicológico.<sup>37,38,86</sup>

## REFERENCIAS

---

1. Huntington G., "On Chorea", *Medical and Surgical Reporter* 26:317-21, 1872).
2. Goldstein, J. L.; Brown, M. S. : Familial hypercholesterolemia: identification of a defect in the regulation of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase activity associated with overproduction of cholesterol. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 70: 2804-2808, 1973.
3. Goldstein, J. L.; Brown, M. S. : Familial hypercholesterolemia: pathogenesis of a receptor disease. *Johns Hopkins Med. J.* 143: 8-16, 1978.
4. Waldholz M, Bishop JE. Genome. *Wall Street Journal ED.* 1990.
5. Botstein D. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *Am J Hum Genet.* 1980 May;32(3):314-31.
6. Wyman AR, et al. A highly polymorphic locus in human DNA. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1980 Nov;77(11):6754-8.
7. Gusella, J.; Tanzi, R. E.; Bader, P. I.; Phelan, M. C.; Stevenson, R.; Hayden, M. R.; Hofman, K. J.; Faryniarz, A. G.; Gibbons, K. : Deletion of Huntington's disease linked G8 (D4S10) locus in Wolf-Hirschhorn syndrome. *Nature* 318: 75-78, 1985.
8. Buetow, K. H.; Shiang, R.; Yang, P.; Nakamura, Y.; Lathrop, G. M.; White, R.; Wasmuth, J. J.; Wood, S.; Berdahl, L. D.; Leysens, N. J.; Ritty, T. M.; Wise, M. E.; Murray, J. C. : A detailed multipoint map of human chromosome 4 provides evidence for linkage heterogeneity and position-specific recombination rates. *Am. J. Hum. Genet.* 48: 911-925, 1991.
9. Huntington's Disease Collaborative Research Group : A novel gene containing a trinucleotide repeat that is expanded and unstable on Huntington's disease chromosomes. *Cell* 72: 971-983, 1993.
10. Hayden MR, MacGregor JM, Beighton PH, et al (1980) The prevalence of Huntington's chorea in South Africa. *S Afr Med J* 58:193-6.
11. Hayden MR, Berkowicz AL, Beighton PH, et al (1981) Huntington's chorea on the island of Mauritius. *South African Med J* 60:1001-2
12. Harper PS (1996) Huntington Disease, WB Saunders, London.
13. Folstein SE (1989) Huntington's Disease. A Disorder of Families, John Hopkins University Press, Baltimore.
14. Kremer B, Goldberg P, Andrew SE, et al (1994) A worldwide study of the Huntington's disease mutation. The sensitivity and specificity of measuring CAG repeats. *N Engl J Med* 330:1401-6

15. Squitieri F, Andrew SE, Goldberg YP, et al (1994) DNA haplotype analysis of Huntington disease reveals clues to the origins and mechanisms of CAG expansion and reasons for geographic variations of prevalence. *Hum Mol Genet* 3:2103-14.
16. Watkins WS, Bamshad M, Jorde LB, et al (1995) Population genetics of trinucleotide repeat polymorphisms. *Hum Mol Genet* 4:1485-91.
17. Almqvist E, Spence N, Nichol K, et al (1995) Ancestral differences in the distribution of the delta 2642 glutamic acid polymorphism is associated with varying CAG repeat lengths on normal chromosomes: insights into the genetic evolution of Huntington disease. *Hum Mol Genet* 4:207-14.
18. Rubinsztein DC, Leggo J, Coles R, et al (1996) Phenotypic characterization of individuals with 30-40 CAG repeats in the Huntington disease [HD] gene reveals HD cases with 36 repeats and apparently normal elderly individuals with 36-39 repeats. *Am J Hum Genet* 59:16-22.
19. Alonso ME, Yescas P, Cisneros B, Martínez C, Silvia G, Ochoa A, Montañez C. Analysis of the (CAG)<sub>n</sub> repeat causing Huntington's disease in a Mexican population. *Clin Genet*. 1997; 51: 225-230.
20. Hayden M (1981) Huntington's Chorea, Springer-Verlag, Berlin.
21. Penney J Jr, Young AB, Shoulson I, et al (1990) Huntington's disease in Venezuela: 7 years of follow-up on symptomatic and asymptomatic individuals. *Mov Disord* 5:93-9.
22. Farrer LA, Conneally PM, Yu PL, et al (1984) The natural history of Huntington disease: possible role of "aging genes". *Am J Med Genet* 18:115-23.
23. Bruyn GW (1968) Huntington's chorea: historical, clinical and laboratory synopsis. In: Handbook of Clinical Neurology, pp. 298-378, North Holland Publishing Company, Amsterdam.
24. Diamond R, White RF, Myers RH, et al (1992) Evidence of presymptomatic cognitive decline in Huntington's disease. *J Clin Exp Neuropsychol* 14:961-75
25. Strauss ME & Brandt J (1990) Are there neuropsychologic manifestations of the gene for Huntington's disease in asymptomatic, at-risk individuals? *Arch Neurol* 47:905-8.
26. Hahn-Barma V, Deweer B, Durr A, et al (1998) Are cognitive changes the first symptoms of Huntington's disease? A study of gene carriers. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 64:172-7
27. Lawrence AD, Hodges JR, Rosser AE, et al (1998) Evidence for specific cognitive deficits in preclinical Huntington's disease. *Brain* 121:1329-41
28. de Boo, GM, Tibben A, Lanser JBK, et al (1997) Early cognitive and motor symptoms in identified carriers of the gene for Huntington disease. *Arch Neurol* 54:1353-7
29. Mayeux R, Stern Y, Herman A, et al (1986) Correlates of early disability in Huntington's disease. *Ann Neurol* 20:727-31

30. Morris M (1995) Dementia and cognitive changes in Huntington's disease. *Adv Neurol* 65:187-200
31. Folstein SE, Chase GA, Wahl, et al (1987) Huntington disease in Maryland: clinical aspects of racial variation. *Am J Hum Genet* 41:168-79
32. Folstein SE (1991) The psychopathology of Huntington's disease. *Res Publ Assoc Res Nerv Ment Dis* 69:181-91
33. Wilson RS, Como PG, Garron DC, et al (1987) Memory failure in Huntington's disease. *J Clin Exp Neuropsychol* 9:147-54.
34. Massman PJ, Delis DC, Butters N, et al (1990) Are all subcortical dementias alike? Verbal learning and memory in Parkinson's and Huntington's disease patients. *J Clin Exp Neuropsychol* 12:729-44.
35. Pillon B, Dubois B, Agid Y, et al (1991) Severity and specificity of cognitive impairment in Alzheimer's, Huntington's, and Parkinson's diseases and progressive supranuclear palsy. *Ann N Y Acad Sci* 640:224-7.
36. Mendez MF (1994) Huntington's disease: update and review of neuropsychiatric aspects. *Int J Psychiatry Med* 24:189-208.
37. Shiwach R (1994) Psychopathology in Huntington's disease patients. *Acta Psychiatr Scand* 90:241-6.
38. Cummings JL (1995) Behavioral and psychiatric symptoms associated with Huntington's disease. *Adv Neurol* 65:179-86.
39. Hansotia P, Wall R, Berendes J (1985) Sleep disturbances and severity of Huntington's disease. *Neurology* 35:1672-4.
40. Wheeler JS, Sax DS, Krane RJ, et al (1985) Vesico-urethral function in Huntington's chorea. *Br J Urol* 57:63-6.
41. Myers RH, Sax DS, Schoenfeld M, et al (1985) Late onset of Huntington's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 48:530-4.
42. Van Dijk JG, Van der Velde EA, Roos RA, et al (1986) Juvenile Huntington disease. *Hum Genet* 73:235-9.
43. Jervis (1963) Huntington's Chorea in Childhood. *Arch Neurol* 9:244.
44. Andrew SE, Goldberg YP, Hayden MR, et al (1997) Rethinking genotype and phenotype correlations in polyglutamine expansion disorders. *Hum Mol Genet* 6:2005-2010.
45. Myers RH, Sax DS, Koroshetz WJ, et al (1991) Factors associated with slow progression in Huntington's disease. *Arch Neurol* 48:800-4.
46. Ashizawa T, Wong LJ, Richards CS, et al (1994) CAG repeat size and clinical presentation in Huntington's disease. *Neurology* 44:1137-43.

47. Illarioshkin SN, Igarashi S, Onodera O, et al (1994) Trinucleotide repeat length and rate of progression of Huntington's disease. *Ann Neurol* 36:630-5.
48. Kiebertz K, MacDonald M, Shih C, et al (1994) Trinucleotide repeat length and progression of illness in Huntington's disease. *J Med Genet* 31:872-4.
49. Claes S, Van Zand K, Legius E, et al (1995) Correlations between triplet repeat expansion and clinical features in Huntington's disease. *Archives of Neurol* 52:749-53.
50. Brandt J, Bylsma FW, Gross R, et al (1996) Trinucleotide repeat length and clinical progression in Huntington's disease. *Neurology* 46:527-31.
51. Aylward EH, Li Q, Stine OC, et al (1997) Longitudinal change in basal ganglia volume in patients with Huntington's disease. *Neurology* 48:394-9.
52. Zhuchenko O, Bailey J, Bonnen P, et al (1997) Autosomal dominant cerebellar ataxia [SCA6] associated with small polyglutamine expansions in the alpha 1A-voltage-dependent calcium channel. *Nat Genet* 15:62-9.
53. Brinkman RR, Mezei MM, Theilmann J, et al (1997) The likelihood of being affected with Huntington disease by a particular age, for a specific CAG size. *Am J Hum Genet* 60:1202-10.
54. Andrew SE, Goldberg YP, Kremer B, et al (1994) Huntington disease without CAG expansion: phenocopies or errors in assignment? *Am J Hum Genet* 54:852-63
55. Rinne, J. O.; Daniel, S. E.; Scaravilli, F.; Harding, A. E.; Marsden, C. D. : Nigral degeneration in neuroacanthocytosis. *Neurology* 44: 1629-1632, 1994.
56. Bird, T. D.; Cederbaum, S.; Valpey, R. W.; Stahl, W. L. : Familial degeneration of the basal ganglia with acanthocytosis: a clinical, neuropathological and neurochemical study. *Ann. Neurol.* 3: 253-258, 1978.
57. Angelini, L.; Nardocci, N.; Rumi, V.; Zorzi, C.; Strada, L.; Savoiaro, M. : Hallervorden-Spatz disease: clinical and MRI study of 11 cases diagnosed in life. *J. Neurol.* 239: 417-425, 1992.
58. Orrell, R. W.; Amrolia, P. J.; Heald, A.; Cleland, P. G.; Owen, J. S.; Morgan-Hughes, J. A.; Harding, A. E.; Marsden, C. D. : Acanthocytosis, retinitis pigmentosa, and pallidal degeneration: a report of three patients, including the second reported case with hypoprebetalipoproteinemia (HARP syndrome). *Neurology* 45: 487-492, 1995
59. Scriver, C; Beaudet, A; Sly, W; Valle, D; The metabolic and molecular bases of inherited disease. 7<sup>th</sup> Ed, Vol III: 4486-4489. 1995.
60. MacMillan JC, Davies P, Harper PS, et al (1995) Molecular diagnostic analysis for Huntington's disease: a prospective evaluation. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 58:496-8.
61. Bird ED (1978) The brain in Huntington's chorea. *Psychol Med* 8:357-360.

62. Folstein SE, Leigh RJ, Parhad IM, et al (1986) The diagnosis of Huntington's disease. *Neurology* 36:1279-83.
63. Wardlaw JM, Sellar RJ, Abernethy LJ, et al (1991) Measurement of caudate nucleus area - a more accurate measurement for Huntington's disease? *Neuroradiology* 33:316-9.
64. Starkstein SE, Folstein SE, Brandt J, et al (1989) Brain atrophy in Huntington's disease. A CT-scan study. *Neuroradiology* 31:156-9.
65. Clark C, Hayden M, Hollenberg S, et al (1987) Controlling for cerebral atrophy in positron emission tomography data. *J Cereb Blood Flow Metab* 7:510-2.
66. Hayden MR, Martin WR, Stoessl AJ, et al (1986) Positron emission tomography in the early diagnosis of Huntington's disease. *Neurology* 36:888-94
67. Mazziotta JC, Phelps ME, Pahl JJ, et al (1987) Reduced cerebral glucose metabolism in asymptomatic subjects at risk for Huntington's disease. *N Engl J Med* 316:357-62
68. American College of Medical Genetics/American Society of Human Genetics Huntington Disease Genetic Testing Working Group.(1998) Laboratory guidelines for Huntington disease genetic testing. *Am J Hum Genet* 62:1243-7
69. Goldberg YP, Kremer B, Andrew SE, et al (1993) Molecular analysis of new mutations for Huntington's disease: intermediate alleles and sex of origin effects. *Nat Genet* 5:174-9.
70. McNeil SM, Novelletto A, Srinidhi J, et al (1997) Reduced penetrance of the Huntington's disease mutation. *Hum Mol Genet* 6:775-9.
71. Chapter 23 Huntington's Disease in "Genetic Instabilities and Hereditary Neurological Diseases", edited by RD Wells and ST Warren (Academic Press 1998).
72. Harper PS & Newcombe RG (1992) Age at onset and life table risks in genetic counseling for Huntington's disease. *J Med Genet* 29:239-42.
73. Harper P (1991) Huntington's Disease, WB Saunders, London
74. Goldberg YP, McMurray CT, Zeisler J, et al (1995) Increased instability of intermediate alleles in families with sporadic Huntington disease compared to similar sized intermediate alleles in the general population. *Hum Mol Genet* 4:1911-8.
75. Leeflang EP, Zhang L, Tavare S, et al (1995) Single sperm analysis of the trinucleotide repeats in the Huntington's disease gene: quantification of the mutation frequency spectrum. *Hum Mol Genet* 4:1519-26.
76. Wiggins S, Whyte P, Huggins M, et al (1992) The psychological consequences of predictive testing for Huntington's disease. Canadian Collaborative Study of Predictive Testing. *N Engl J Med* 327:1401-5.

77. Bloch M, Adam S, Wiggins S, et al (1992) Predictive testing for Huntington disease in Canada: the experience of those receiving an increased risk. *Am J Med Genet* 42:499-507.
78. Morris MJ, Tyler A, Lazarou L, et al (1989) Problems in genetic prediction for Huntington's disease. *Lancet* 2:601-3.
79. Lawson K, Wiggins S, Green T, et al (1996) Adverse psychological events occurring in the first year after predictive testing for Huntington's disease. The Canadian Collaborative Study of Predictive Testing. *J Med Genet* 33:856-62.
80. Bloch M & Hayden MR (1990) Opinion: predictive testing for Huntington disease in childhood: challenges and implications. *Am J Hum Genet* 46:1-4.
81. Harper PS & Clarke A (1990) Should we test children for "adult" genetic diseases? *Lancet* 335:1205-6.
82. Ridley RM, Frith CD, Crow TJ, et al (1988) Anticipation in Huntington's disease is inherited through the male line but may originate in the female. *J Med Genet* 25:589-95
83. Ridley RM, Frith CD, Farrer LA, et al (1991) Patterns of inheritance of the symptoms of Huntington's disease suggestive of an effect of genomic imprinting. *J Med Genet* 28:224-31.
84. Duyao M, Ambrose C, Myers R, et al (1993) Trinucleotide repeat length instability and age of onset in Huntington's disease. *Nat Genet* 4:387-92.
85. Telenius H, Almqvist E, Kremer B, et al (1995) Somatic mosaicism in sperm is associated with intergenerational [CAG]<sub>n</sub> changes in Huntington disease. *Hum Mol Genet* 4:189-95.
86. Almqvist EW, Bloch M, Brinkman R, Craufurd D, Hayden MR. A worldwide assessment of the frequency of suicide, suicide attempts, or psychiatric hospitalization after predictive testing for Huntington disease. *Am J Hum Genet* 1999 May;64(5):1293-304.
87. Ambrose CM, Duyao MP, Barnes G, et al (1994) Structure and expression of the Huntington's disease gene: evidence against simple inactivation due to an expanded CAG repeat. *Somat Cell Mol Genet* 20:27-38.
88. Lin B, Rommens JM, Graham RK, et al (1993) Differential 3' polyadenylation of the Huntington disease gene results in two mRNA species with variable tissue expression. *Hum Mol Genet* 2:1541-5.
89. Lin B, Nasir J, Kalchman MA, et al (1995) Structural analysis of the 5' region of mouse and human Huntington disease genes reveals conservation of putative promoter region and di- and trinucleotide polymorphisms. *Genomics* 25:707-15
90. Andrade MA & Bork P (1995) HEAT repeats in the Huntington's disease protein. *Nat Genet* 11:115-6.

91. Andrew SE, Goldberg YP, Kremer B, et al (1993) The relationship between trinucleotide [CAG] repeat length and clinical features of Huntington's disease. *Nat Genet* 4:398-403
92. Martindale D, Hackam A, Wieczorek A, et al (1998) Length of huntingtin and its polyglutamine tract influences localization and frequency of intracellular aggregates. *Nat Genet* 18:150-4.
93. Housman, D. (1995) Gain of glutamines, gain of function? *Nature Genetics* 10:3-4.
94. Hackam AS, Singaraja R, Wellington CL, Metzler M, McCutcheon K, Zhang T, Kalchman M, Hayden MR (1998) The influence of huntingtin protein size on nuclear localization and cellular toxicity. *J Cell Biol* 141:1097-105.
95. Scherzinger E, Lurz R, Turmaine M, et al (1997) Huntingtin-encoded polyglutamine expansions form amyloid-like protein aggregates in vitro and in vivo. *Cell* 90:549-58
96. DiFiglia M, Sapp E, Chase KO, et al (1997) Aggregation of huntingtin in neuronal intranuclear inclusions and dystrophic neurites in brain. *Science* 277:1990-3
97. Ashley, C.T. and Warren, S.T. Trinucleotide repeat expansion and human disease. (1995) *Annual Reviews of Genetics* 29:703-728.
98. Bates, G. Expanded glutamines and neurodegeneration - a gain of insight. (1996) *BioEssays* 18:175-178.
99. Nasir, J. Goldberg, Y.P. and Hayden, M.R. (1996) Huntington disease: new insights into the relationship between CAG expansion and disease. *Human Molecular Genetics* 5:1431-1435.
100. Mitas, M. Trinucleotide repeats associated with human disease. (1997) *Nucleic Acids Research*, 25:2245-2253.
101. Gusella, J.F., Persichetti, F. and MacDonald, M.E. (1997) The genetic defect causing Huntington's Disease: repeated in other contexts? *Molecular Medicine* 3:238-246.
102. Wellington, C.L. and Hayden, M.R. (1997) Of molecular interactions, mice and mechanisms: new insights into Huntington's disease. *Current Opinion in Neurology* 10:291-298.
103. Sisodia, S.S.(1998) Nuclear inclusions in glutamine repeats disorders: are they pernicious, coincidental, or beneficial? *Cell* 95:1-4.
104. Cummings, C.J. et al.(1998) *Nature Genet.* 19: 148-154.
105. Nicholson, D. W.; Ali, A.; Thornberry, N. A.; Vaillancourt, J. P.; Ding, C. K.; Gallant, M.; Gareau, Y.; Griffin, P. R.; Labelle, M.; Lazebnik, Y. A.; Munday, N. A.; Raju, S. M.; Smulson, M. E.; Yamin, T.-T.; Yu, V. L.; Miller, D. K. : Identification and inhibition of the ICE/CED-3 protease necessary for mammalian apoptosis. *Nature* 376: 37-43, 1995. Goldberg, Y. P.; Nicholson, D. W.; Rasper, D. M.; Kalchman, M. A.; Koide, H. B.; Graham, R. K.; Bromm, M.; Kazemi-Esfarjani, P.; Thornberry, N. A.;

- Vaillancourt, J. P.; Hayden, M. R. : Cleavage of huntingtin by apopain, a proapoptotic cysteine protease, is modulated by the polyglutamine tract. *Nature Genet.* 13: 442-449, 1996.
106. Goldberg, Y. P.; Nicholson, D. W.; Rasper, D. M.; Kalchman, M. A.; Koide, H. B.; Graham, R. K.; Bromm, M.; Kazemi-Esfarjani, P.; Thornberry, N. A.; Vaillancourt, J. P.; Hayden, M. R. : Cleavage of huntingtin by apopain, a proapoptotic cysteine protease, is modulated by the polyglutamine tract. *Nature Genet.* 13: 442-449, 1996.
107. Li, X.-J.; Li, S.-H.; Sharp, A. H.; Nucifora, F. C., Jr.; Schilling, G.; Lanahan, A.; Worley, P.; Snyder, S. H.; Ross, C. A. : A huntingtin-associated protein enriched in brain and implications for pathology. *Nature* 378: 398-402, 1995.
108. Burke et al 1996.
109. Kalchman, M. A.; Graham, R. K.; Xia, G.; Koide, H. B.; Hodgson, J. G.; Graham, K. C.; Goldberg, Y. P.; Gietz, R. D.; Pickart, C. M.; Hayden, M. R. : Huntingtin is ubiquitinated and interacts with a specific ubiquitin-conjugating enzyme. *J. Biol. Chem.* 271: 19385-19394, 1996.
110. Alves-Rodrigues A, Gregori L. and Figueiredo-Pereira M.E: Ubiquitin, cellular inclusions and their role in neurodegeneration. *Trends Neurosci.* (1998) 21, 516–520.
111. Wallace D.C.(1999). Mitochondrial Diseases in Man and Mouse. **Science.** 283: 1482-1487.
112. Beal M.F. Aging, Energy, and Oxidative Stress in Neurodegenerative Diseases. *Ann Neurol.* (1995); 38: 357-366.
113. Kieburz K, Feigin A, McDermott M, Como P, Abwender D, Zimmerman C, Hickey C, Orme C, Claude K, Sotack J, Greenamyre JT, Dunn C, Shoulson I: Antigliutamate therapies in Huntington's disease. *J Neural Transm Suppl.* 1999;55:97-102.
114. Rosas HD, Koroshetz WJ, Jenkins BG, Chen YI, Hayden DL, Beal MF, Cudkowicz ME: Riluzole therapy in Huntington's disease (HD). *Mov Disord.* 1999 Mar;14(2):326-30.
115. Kremer B, Clark CM, Almqvist EW, Raymond LA, Graf P, Jacova C, Mezei M, Hardy MA, Snow B, Martin W, Hayden MR. Influence of lamotrigine on progression of early Huntington disease: a randomized clinical trial. *Neurology* 1999 Sep 22;53(5):1000-11.
116. Taylor CP. Mechanisms of action of gabapentin. *Rev Neurol (Paris).* 1997;153 Suppl 1:S39-45.
117. Beal MF. Coenzyme Q10 administration and its potential for treatment of neurodegenerative diseases. *Biofactors.* 1999;9(2-4):261-6.
118. Nakao N, Grasbon-Frodl EM, Widner H, Brundin P Antioxidant treatment protects striatal neurons against excitotoxic insults. *Neuroscience.* 1996 Jul;73(1):185-200.

119. Peyser CE, Folstein M, Chase GA, Starkstein S, Brandt J, Cockrell JR, Bylsma F, Coyle JT, McHugh PR, Folstein S. Trial of d-alpha-tocopherol in Huntington's disease. *Am J Psychiatry*. 1995 Dec;152(12):1771-5.
120. Packer L, Tritschler HJ, Wessel K. Neuroprotection by the metabolic antioxidant alpha-lipoic acid. *Free Radic Biol Med*. 1997; 22(1-2): 359-78.
121. Chabrier PE, Demerle-Pallardy C, Auguet M. Nitric oxide synthases: targets for therapeutic strategies in neurological diseases. *Cell Mol Life Sci*. 1999. Jul; 55(8-9): 1029-35.
122. Molina JA, Jimenez-Jimenez FJ, Orti-Pareja M, Navarro JA. The role of nitric oxide in neurodegeneration. Potential for pharmacological intervention. *Drugs Aging*. 1998. Apr; 12(4): 251-9.
123. Fields JA, Troster AI, Wilkinson SB, Pahwa R, Koller W. Cognitive outcome following staged bilateral pallidal stimulation for the treatment of Parkinson's disease. *Clin Neurol Neurosurg* 1999 Sep;101(3):182-8
124. Haris MI. Microelectrode recording during posteroventral pallidotomy: impact on target selection and complications. *Neurosurgery* 1999 Sep;45(3):675-6.
125. Bronstein JM, DeSalles A, DeLong MR. Stereotactic pallidotomy in the treatment of Parkinson disease: an expert opinion. *Arch Neurol* 1999 Sep;56(9):1064-9.
126. Schulz GM, Grant MK. Effects of speech therapy and pharmacologic and surgical treatments on voice and speech in Parkinson's disease: a review of the literature. *J Commun Disord* 2000 Jan-Feb;33(1):59-88.
127. Jacoby DB, Lindberg C, Ratliff J, Wunderlich M, Bousquet J, Wetzel K, Beaulieu L, Dinsmore J. Fetal pig neural cells as a restorative therapy for neurodegenerative disease. *Artif Organs*. 1997. Nov;21(11): 1192-8.
128. Kordower JH, Isacson O, Emerich DF. Cellular delivery of trophic factors for the treatment of Huntington's disease: is neuroprotection possible?. *Exp Neurol*. 1999. Sep; 159(1):4-20.
129. Alexi T, Borlongan CV, Faull RL, Williams CE, Clark RG, Gluckman PD, Hughes PE. Neuroprotective strategies for basal ganglia degeneration: Parkinson's and Huntington's diseases. *Prog Neurobiol*. 2000. Apr; 60(5): 409-70.
130. Haque N, Isacson O. Antisense gene therapy for neurodegenerative disease?. *Exp Neurol*. 1997. Mar; 144(1):139-46.
131. Rapoport SI. Modulation of blood-brain barrier permeability. *J Drug Target*. 1996; 3(6): 417-25.