



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
Maestría en Ciencias Bioquímicas

EFFECTO FUNDADOR EN FAMILIAS CON ATAXIA ESPINOCEREBELOSA
TIPO 7

TESIS
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

MAESTRA EN CIENCIAS

PRESENTA:

Q.F.B. LIZBETH ESMERALDA GARCÍA VELÁZQUEZ

DIRECTOR DE TESIS
SAMUEL CANIZALES QUINTEROS
FACULTAD DE QUIMICA

COMITÉ TUTOR
DRA. PETRA YESCAS GÓMEZ
Maestría en Ciencias Bioquímicas
DR. JULIO MORÁN ANDRADE
INSTITUTO DE FISIOLÓGÍA CELULAR, UNAM

MÉXICO, D. F. Enero de 2014



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

EFFECTO FUNDADOR EN FAMILIAS CON ATAXIA ESPINOCEREBELOSA TIPO 7

Reconocimientos

Esta tesis se realizó bajo la dirección del Doctor Samuel Canizales Quinteros en el Departamento de Genómica de Poblaciones Aplicada a la Salud de la Facultad de Química, UNAM, en su Unidad periférica del Instituto Nacional de Medicina Genómica.

Se reconoce la colaboración y asesoría de la Doctora Petra Yescas Gómez, del Departamento de Genética y Biología Molecular del Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía “Manuel Velasco Suárez”, en cuyo departamento se llevaron a cabo experimentos esenciales.

El Comité Tutorial que asesoró el desarrollo de esta tesis estuvo conformado por:

Doctor Samuel Canizales Quinteros	Facultad de Química, UNAM.
Doctora Petra Yescas Gómez	Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía “Manuel Velasco Suárez”
Doctor Julio Morán Andrade	Instituto de Fisiología Celular, UNAM.

El proyecto fue apoyado por CONACYT (Fondo 69210). Durante los estudios de Maestría la sustentante tuvo goce de beca otorgada por CONACYT.

Esta tesis fue defendida en el examen de grado presentado el día:

El jurado del examen de obtención de grado estuvo conformado por:

Presidente	Dra. Marta Menjívar Iraheta
Secretaria	Dra. Clorinda Arias Álvarez
Vocal	Dra. Lourdes Massieu Trigo
Vocal	Dra. María Eugenia Gonsebatt Bonaparte
Vocal	Dr. Emilio Rojas del Castillo

Agradecimientos

Esta meta es el resultado de esfuerzo en combinación con el respaldo, cariño y compañía de personas maravillosas.

Agradezco a mis padres por el apoyo incondicional que me han brindado en todo momento, gracias por su confianza, cariño y por el ejemplo que nos han dado, son un orgullo para mí.

A mis hermanos, por acompañarme desde siempre mostrándome su cariño y apoyo, así como a mis sobrinas cuya alegría contagia y llena.

A la Doctora Petra y al Doctor Samuel, de quienes he aprendido enormemente, gracias por su tiempo y conocimientos, me siento afortunada de haber estado con ustedes.

Al departamento de Neurogenética, gracias por el apoyo recibido durante esta etapa, agradezco particularmente a la Doctora Alonso por la confianza y el apoyo brindados. Agradezco también a la Doctora Nancy Monroy, por sus conocimientos, tiempo y ejemplo.

A Ricardo, gracias por ayudarme a concluir una etapa más, gracias por el invaluable cariño y apoyo que me has mostrado a cada momento.

A mis amigos de la facultad, me llena de alegría el seguirlos teniendo cerca y reunirme con ustedes.

A mis amigos del INNN, ustedes hicieron de mi estancia en ese lugar algo muy grato, gracias por tantos buenos recuerdos y por la amistad que seguimos conservando.

Índice

Índice de figuras	iii
Índice de tablas.....	iv
Abreviaturas	v
I. Resumen	1
II. Introducción.....	3
2.1 Ataxias	3
2.1.1 Ataxias espinocerebelosas (SCAs)	4
2.2 Ataxia espinocerebelosa tipo 7 (SCA7)	5
2.2.1 El gen <i>ATXN7</i>	5
2.2.1.1 Regulación del gen <i>ATXN7</i>	8
2.2.2 La Ataxina-7	10
2.2.2.1 La Ataxina-7 forma parte del complejo STAGA	11
2.2.2.2 Toxicidad de la ataxina-7 mutante.....	13
2.2.3 Relación genotipo-fenotipo en la SCA7	15
2.2.4 Epidemiología y prevalencia	18
III. Planteamiento del problema	21
IV. Hipótesis	22
V. Objetivos	22
VI. Estrategia experimental.....	23
6.1 Procedimiento general	23
6.2 Población de estudio	23
6.3 Toma de muestra biológica.....	25
6.4 Extracción de DNA.	25
6.5 Cuantificación y análisis de integridad del DNA.	25

6.6	Análisis de la región (CAG) _n en <i>ATXN7</i>	25
6.7	Selección de marcadores moleculares.	26
6.8	Genotipificación de los microsatélites D3S1287 y D3S1600.....	27
6.9	Genotipificación de los microsatélites D3S3698 y D3S3566.....	27
6.10	Genotipificación del polimorfismo rs3774729.	27
6.11	Análisis de ancestría del genoma.	27
6.12	Análisis de ancestría local.....	29
6.13	Análisis de componentes principales.	29
VII.	Resultados.....	30
7.2	Análisis del repetido (CAG) _n	30
7.2.1	Determinación del número de repetidos.....	30
7.2.2	Secuenciación de (CAG) _n	32
7.3	Análisis del efecto de fundador.....	33
7.3.6	Generación de un haplotipo en común.	36
7.4	Análisis de ancestría	37
7.5	Análisis de componentes principales.....	40
VIII.	Análisis de resultados.....	41
IX.	Conclusiones.....	46
X.	Bibliografía.....	47
XI.	Apéndice	55
11.1	Genealogías de las familias analizadas.....	55
11.2.	Reactivos y condiciones de reacción empleadas.....	60
11.3	Distribución de los alelos identificados en los marcadores moleculares	62
XII.	Artículo publicado.....	65

Índice de figuras

Figura 1. Distribución de las ataxias a nivel mundial.....	4
Figura 2. Del gen <i>ATXN7</i> a la ataxina-7	6
Figura 3. Clasificación del número de repetidos CAG.....	7
Figura 4. Modelo de regulación del gen <i>ATXN7</i>	9
Figura 5. Estructura del dominio SCA7 de la ataxina-7	10
Figura 6. Mecanismo de patogenicidad de la ataxina-7 con poliQ.....	11
Figura 7. Red de interacción de ataxinas.	13
Figura 8. Resonancia magnética y fundoscopia en pacientes con SCA7 y controles.	17
Figura 9. Procedimiento general.....	23
Figura 10. Lugar de procedencia de los individuos en riesgo.....	24
Figura 11. Localización física de los marcadores seleccionados.	26
Figura 12. Árbol genealógico de una de las familias estudiadas (familia 7).....	28
Figura 13. Autorradiografía de amplicones de la región CAG de controles y pacientes. ...	30
Figura 14. Individuos portadores de la mutación causante de SCA7.....	30
Figura 15. Número de repetidos CAG en los individuos mutados.....	31
Figura 16. Relación entre el número de repetidos CAG y la edad de inicio de la enfermedad.	31
Figura 17. Número de repetidos CAG en individuos control.....	32
Figura 18. Secuencia de la región de repetidos CAG	33
Figura 19. Autorradiografía del marcador D3S1600.....	34
Figura 20. RFLP del rs3774729.....	34
Figura 21. Análisis de fragmentos de los marcadores D3S3698 y D3S3566.....	35
Figura 22. Haplotipo que segrega con la mutación de SCA7	37
Figura 23. Análisis de ancestría local del cromosoma 3.....	39
Figura 24. Análisis de componentes principales	40

Índice de tablas

Tabla 1. Prevalencia de la SCA7 en diversos países.....	18
Tabla 2. Posición física y genética de los marcadores seleccionados.	26
Tabla 3. Alelos más frecuentes en la población estudiada.....	35
Tabla 4. Ancestría global del genoma.....	38
Tabla 5. Ancestría del cromosoma 3.....	38

Abreviaturas

aa	Aminoácido
ADCA	Ataxia cerebelosa autosómico dominante
CAG	Trinucleótido citosina-adenina-guanina
cDNA	Ácido desoxirribonucleico complementario
CTCF	Factor de transcripción de unión a CCCTC
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DRPLA	Atrofia dentado-rubro-palidolusiana
EA	Ataxia episódica
EEG	Electroencefalograma
EQMN	Red europea de la calidad en genética molecular
LCR	Líquido cefalorraquídeo
PAGE	Electroforesis en geles de poliacrilamida
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa
poliQ	Poliglutaminas
	Análisis de repetidos por aislamiento y detección de
RAPID	conjuntos de clonas
RFLP	Polimorfismos de longitud de fragmentos de restricción
SAGA	Complejo acetilasa Stp/Ada/Gcn5
SCA	Ataxia espinocerebelosa
SNP	Polimorfismo de un solo nucleótido
STAGA	complejo acetiltransferasa SPT3/TAF9/GCN5
SUMO1	Proteína tipo ubiquitina pequeña 1
TBP	Proteína de unión a caja TATA
TFIID	Factor de transcripción II D
UPS	Sistema ubiquitina-proteasoma

I. Resumen

La ataxia espinocerebelosa tipo 7 (SCA7) es un padecimiento neurológico progresivo e incurable que clínicamente se caracteriza por la falta de coordinación de los movimientos y la degeneración progresiva de la retina que conlleva a ceguera, siendo éste último un signo que la distingue del resto de las ataxias. Esta enfermedad es resultado de la expansión de trinucleótidos repetidos CAG en el gen *ATXN7* y se hereda con un patrón autosómico dominante.

La prevalencia de este padecimiento es baja, generalmente menor a un caso en un millón de habitantes. No obstante, existe una gran variabilidad en la frecuencia de esta enfermedad entre regiones geográficas; hay países en los cuales no se han descrito casos de SCA7 y otros en donde esta enfermedad representa hasta el 20.5% de los casos de SCAs, cuya frecuencia en conjunto es de 0.3 a 2 casos en 100 000 habitantes.

Un estudio previo realizado en población mexicana mostró que la SCA7 es la cuarta ataxia autosómico dominante más frecuente en nuestra población al representar el 7.4% de los casos. Resalta el hecho de que la gran mayoría de las familias con SCA7 provienen de una misma región geográfica localizada al centro del estado de Veracruz.

La alta incidencia de casos de una enfermedad hereditaria restringida a una región geográfica puede ser debida a fenómenos de la genética de poblaciones, tales como los efectos de fundador, los cuales implican que un individuo o un grupo muy pequeño de individuos dio origen a toda una población. Es por ello que el presente trabajo tuvo por objetivo evaluar un posible efecto de fundador en 20 familias con SCA7 provenientes del estado de Veracruz.

Para lograr estos fines, se colectó una muestra de 181 individuos que padecen o tienen riesgo de desarrollar SCA7, así como un grupo control de 150 individuos proveniente de la misma región geográfica que los pacientes y un segundo grupo control de 150 individuos proveniente de la Ciudad de México y la zona metropolitana.

Previo consentimiento informado se realizó una toma de muestra de sangre periférica a cada individuo, a partir de la cual se extrajo el DNA genómico. Se realizó el diagnóstico molecular de SCA7 mediante PCR-autorradiografía y posteriormente, para comprobar el efecto de fundador en aquellos individuos portadores de la mutación, se realizó el análisis de 4 marcadores moleculares tipo microsatélite y un polimorfismo de un solo nucleótido que flanquean la región de repetidos CAG. La mutación causante de SCA7 estuvo presente en 90 individuos. De manera interesante, todos los portadores de la mutación presentaron también los mismos alelos en cada uno de los marcadores moleculares analizados, confirmando así la presencia de un efecto de fundador.

Con el fin de conocer el origen ancestral de la región que comprende la mutación, se realizó un análisis de ancestría local en una familia nuclear (padre, madre e hija). Los resultados mostraron un componente indígena alto, tanto del genoma completo como del cromosoma 3, en el cual se encuentra el gen *ATXN7*. Sin embargo, la región específica en la cual se localiza la mutación se encontró en un segmento con ancestría europea. El análisis de componentes principales mostró que dicho segmento presenta una alta similitud con la población finlandesa, en la cual ha sido reportado un efecto de fundador para SCA7.

En conclusión, la alta frecuencia de casos de SCA7 en el estado de Veracruz es explicada por un efecto de fundador. Se sugiere que dicho efecto de fundador tiene un origen europeo y muestra una mayor similitud con la población finlandesa.

II. Introducción

2.1 Ataxias

Las ataxias son un conjunto de padecimientos clínica, patológica y genéticamente heterogéneos, todos ellos caracterizados por una falta de coordinación de los movimientos o ataxia (del griego a- “sin” y taxia- “orden”).

Actualmente se estima que existen al menos 50 ataxias distintas, cada una con una causa molecular o genética diferente. La prevalencia global de estos padecimientos es de 15 a 20 individuos por cada 100 000 habitantes, y con base en su etiología se pueden clasificar en tres tipos: ataxias adquiridas, ataxias esporádicas y ataxias hereditarias.¹

Las ataxias adquiridas pueden deberse a causas exógenas o endógenas no genéticas, tales como el alcoholismo, el consumo de drogas, la exposición a metales pesados, la deficiencia crónica de vitaminas, traumatismos, eventos vasculares o infecciones.^{1,2}

Las ataxias esporádicas incluyen aquellas en las cuales no existe una causa genética conocida ni una causa adquirida. Éstas incluyen a la atrofia sistémica múltiple (MSA-C) y ataxias esporádicas de inicio en la edad adulta distintas a MSA-C (SAOAs).^{1,3}

Las ataxias hereditarias incluyen aquellas con un patrón de herencia autosómico dominante, autosómico recesivo o ligado al cromosoma X. La prevalencia de este tipo de ataxias ha sido estimada como menor a 6 en 100 000 habitantes, pero cabe destacar que existe una gran variabilidad entre grupos étnicos o regiones geográficas, como ejemplo, en Portugal la prevalencia de las ataxias hereditarias es de 7.9:100 000, mientras que en Honshu, Japón es de 22:100 000.⁴

Las ataxias hereditarias autosómico dominantes incluyen a las ataxias espinocerebelosas (SCAs) y a las ataxias episódicas (EAs). A diferencia de las SCAs, en las EAs los síntomas se presentan como episodios recurrentes de ataxia acompañados de migraña, náuseas y vértigo, además generalmente presentan buena respuesta a fármacos.⁵

2.1.1 Ataxias espinocerebelosas (SCAs)

Las SCAs son un conjunto de padecimientos neurológicos caracterizados por una ataxia progresiva e incurable, se presentan generalmente durante la tercera o cuarta década de la vida y son el resultado de una atrofia del cerebelo y del tallo cerebral principalmente, no obstante, otras regiones cerebrales pueden ser afectadas también generando toda una gama de fenotipos.⁶

Estos padecimientos pueden deberse a tres tipos de mutaciones distintas:

- > Expansión de trinucleótidos repetidos CAG codificantes de poliglutaminas (poliQ).
- > Expansión de secuencias repetidas en regiones no codificantes.
- > Mutaciones convencionales (deleciones, inserciones, mutaciones de sentido erróneo o sin sentido).⁷

El comité de nomenclatura de los genes (HGNC) ha nombrado a estos padecimientos como SCAs seguidos de un número que denota un *locus* asociado a cada ataxia en el orden en que éstos han sido identificados, existiendo actualmente desde la SCA1 hasta la SCA36.^{8,9}

La prevalencia de las SCAs varía notablemente entre poblaciones, pero se ha estimado de 0.3 a 2 por cada 100 000 habitantes de manera global. En Europa esta cifra aumenta a 3 individuos por cada 100 000 habitantes.¹⁰ Distintos países han estimado su prevalencia, describiendo por cada 100 000 habitantes: 5.5 individuos en Portugal,¹¹ 2.8 a 3.8 en Holanda,¹² 3.7 en Singapur,¹³ 3.2 en el oeste de Noruega, 2.4 en Italia,¹⁴ 2 en el sur de Brasil¹⁵ y 1.6 en Cantabria, España.¹⁶

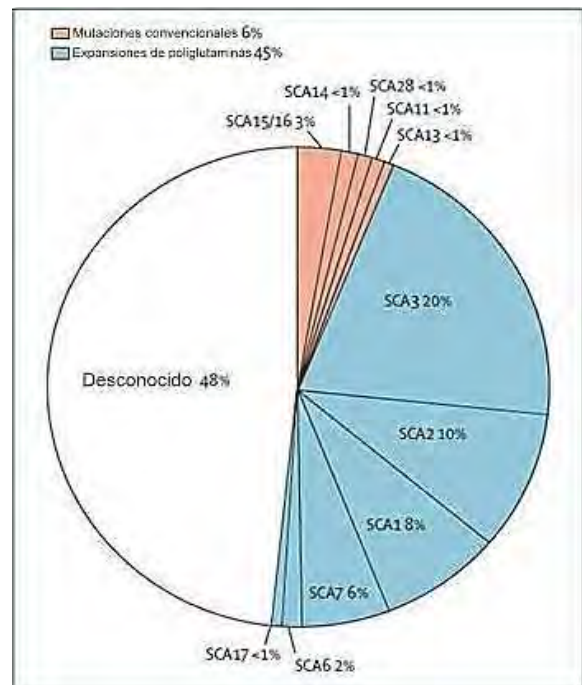


Figura 1. Distribución de las ataxias a nivel mundial. Prevalen las SCAs causadas por poliglutaminas. La SCA3 es la más frecuente, seguida de la SCA2, la cual es la más frecuente en población mexicana.^{6,17}

La SCA más frecuente a nivel mundial es la SCA3, seguida de la SCA2, en tercer lugar se encuentra la SCA1 mientras que la SCA7 ocupa la cuarta posición (Figura1).

En México, un estudio sobre la distribución de las ataxias mostró que en una cohorte de 108 familias (558 individuos) con ataxia autosómico dominante, la SCA2 es la más frecuente (45.4% de los casos), seguida de la SCA10 (13.9%), en tercer lugar se encontró la SCA3 (12%), mientras que la SCA7 ocupó el cuarto lugar (7.4%) y la SCA17 el quinto (2.8%). En este estudio no se encontraron mutaciones causantes de SCA1, SCA6, SCA8, SCA12, ni DRLPA y en el 18.5% de los casos no se identificó la causa.¹⁷

De manera interesante, sobresale el hecho de que las familias con SCA7 provenían de una misma región geográfica, lo cual era sugestivo de un efecto de fundador y cuyo estudio se amplía y desarrolla en este trabajo.

2.2 Ataxia espinocerebelosa tipo 7 (SCA7)

La ataxia espinocerebelosa tipo 7, antes llamada ataxia cerebelosa autosómico dominante tipo II (ADCA II), es la única ataxia hereditaria que además de cursar con ataxia presenta una degeneración progresiva de la retina que conlleva a ceguera.

Este padecimiento fue descrito clínicamente por Froment en 1937, sin embargo su etiología fue descubierta sesenta años después.¹⁸

2.2.1 El gen *ATXN7*

En 1997 David y colaboradores estudiaron dos familias con características fenotípicas similares, una originaria de Brasil y otra del Reino Unido; ambas presentaban ataxia cerebelosa, degeneración progresiva de la retina y un patrón de herencia autosómico dominante.¹⁹ El análisis de ligamiento en estas familias, confirmó que se trataba de una misma entidad: ADCA II. Ellos mostraron evidencias de ligamiento a una región de 5cM

en 3p13-p12 y por clonación posicional identificaron el gen responsable de la ataxia espinocerebelosa tipo 7, el gen *ATXN7*.²⁰

El gen *ATXN7* está compuesto por 138 906 pb, contiene 18 exones y a partir de él se generan 15 transcritos, de los cuales 8 codifican para proteínas. La más importante de estas proteínas es la ataxina-7, la cual es una proteína constituida por 892 aminoácidos y que se forma a partir de un transcrito que contiene 13 exones. (véase Figura 2).

El codón de inicio de la traducción se encuentra en la posición 12 del exón 3 y la región codificante se extiende hasta los primeros 5 codones del exón 13. En el exón 3 de este transcrito se localiza una región de repetidos de CAG que codifican para una secuencia de poliglutaminas, empezando en el codón 30.²¹ La ataxia espinocerebelosa tipo 7 es resultado de la expansión de esta secuencia de repetidos CAG.¹⁰

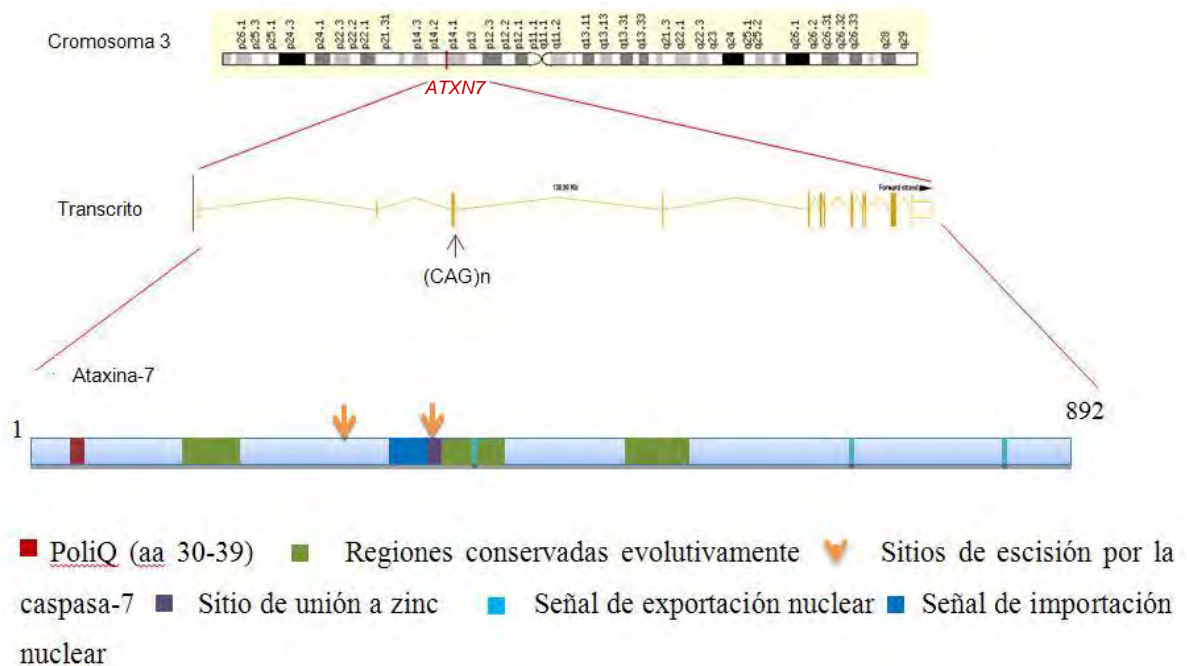


Figura 2. Del gen *ATXN7* a la ataxina-7. La figura muestra el locus del gen *ATXN7*, a partir del cual se genera un transcrito de 13 exones que al traducirse da origen a una proteína de 892aa, la ataxina-7.

El número de repetidos CAG varía naturalmente a manera de polimorfismo, cada individuo posee un par de alelos con un número de repetidos CAG que se conservará invariable a lo largo de la vida. En individuos sanos el número de repetidos va de 4 a 27, de los cuales el alelo más frecuente es de 10 repetidos, seguido del alelo de 12.^{10,22}

El intervalo de 28 a 35 repetidos corresponde a un rango intermedio o de riesgo, en el cual el individuo no presentará la enfermedad pero es proclive a generar mutaciones *de novo* en su progenie; ante este fenómeno se ha sugerido que secuencias de repetidos de estas longitudes son especialmente inestables durante la meiosis, por lo cual pueden expandirse de una generación a otra, sin embargo se desconoce el mecanismo específico por el cual ocurre dicha expansión. Como resultado de la expansión la progenie puede presentar alelos con un tamaño patogénico.^{10,22}



Figura 3. Clasificación del número de repetidos CAG.

La red europea de la calidad en genética molecular (EMQN), ha determinado estos rangos basados en evidencia a nivel mundial sobre el inicio de la SCA7, de acuerdo con ello el número de repetidos CAG mínimo para que se presente la enfermedad es de 36, sin embargo algunos autores se refieren a los alelos de 34-35 repetidos como alelos de penetrancia incompleta.

El intervalo patogénico contempla 36 o más repetidos; el alelo más grande identificado consta en 460 repetidos CAG.^{22,68}

En el año de 2003 se identificó una de las variantes de corte y empalme en *ATXN7* que difiere en los exones 12 y 13 y genera una proteína de 945 aa, a este producto proteico se le denominó ataxina-7b, designando entonces ataxina-7a a la estructura canónica, la cual es también por mucho, la más abundante.²⁴ Posteriormente se describió una variante más de corte y empalme que usa un codón de inicio distinto, difiere en la región N-terminal y es más pequeña que la isoforma a, a ésta se le denominó ataxina-7c.²⁵

En el gen *ATXN7* se han descrito hasta el momento más de 3500 variantes, de las cuales aproximadamente 46 están en región codificante, y aunque algunas de ellas se han relacionado con el volumen de materia gris en el cerebelo, sólo la presencia de 36 o más repetidos CAG en el exón 3 es responsable de la presencia de SCA7.^{21,26}

ATXN7 es un gen ampliamente conservado en una gran variedad de levaduras, aves, reptiles, primates y otros cordados. Hasta el momento se han descrito 57 genes ortólogos al gen *ATXN7* y 3 genes parálogos, siendo éstos *ATXN7L1*, *ATXN7L2* y *ATXN7L3*.^{21,27}

El gen *Sca7* de ratón muestra un 88.7% de homología con el humano, sin embargo en este organismo la proteína contiene 867 aa y la región CAG en el ratón consiste en sólo 5 repetidos en tres líneas diferentes examinadas.²⁸

2.2.1.1 Regulación del gen *ATXN7*

De acuerdo con el buscador genómico de la Universidad de California y aplicaciones de SABiosciences, el gen *ATXN7* tiene sitios de unión para los factores de transcripción TBP y TFIID.²⁹⁻³¹ No obstante, recientemente se describió un mecanismo de regulación del gen *ATXN7*, en el cual es dependiente de CTCF, una proteína ampliamente conservada constituida por 11 dedos de zinc y que media una gran variedad de funciones, incluyendo la activación y la represión de la transcripción, así como la formación de dominios vecinos aislantes y la impronta genómica.^{32,33}

De acuerdo con este modelo existen dos sitios de unión a CTCF, tanto en la región 5' como 3' de la secuencia de repetidos CAG. También se identificó un RNA no codificante antisentido llamado SCAANT1 asociado a la regulación del gen. De acuerdo con este modelo existe una relación inversa entre la expresión de SCAANT1 y la expresión del transcrito que da origen a la ataxina-7. Siendo más específicos, es la transcripción convergente de SCAANT1 en *cis* la que conlleva a la represión, acompañada de la modificación post-traducciona de histonas. Dicho modelo se explica en la figura 4.³²

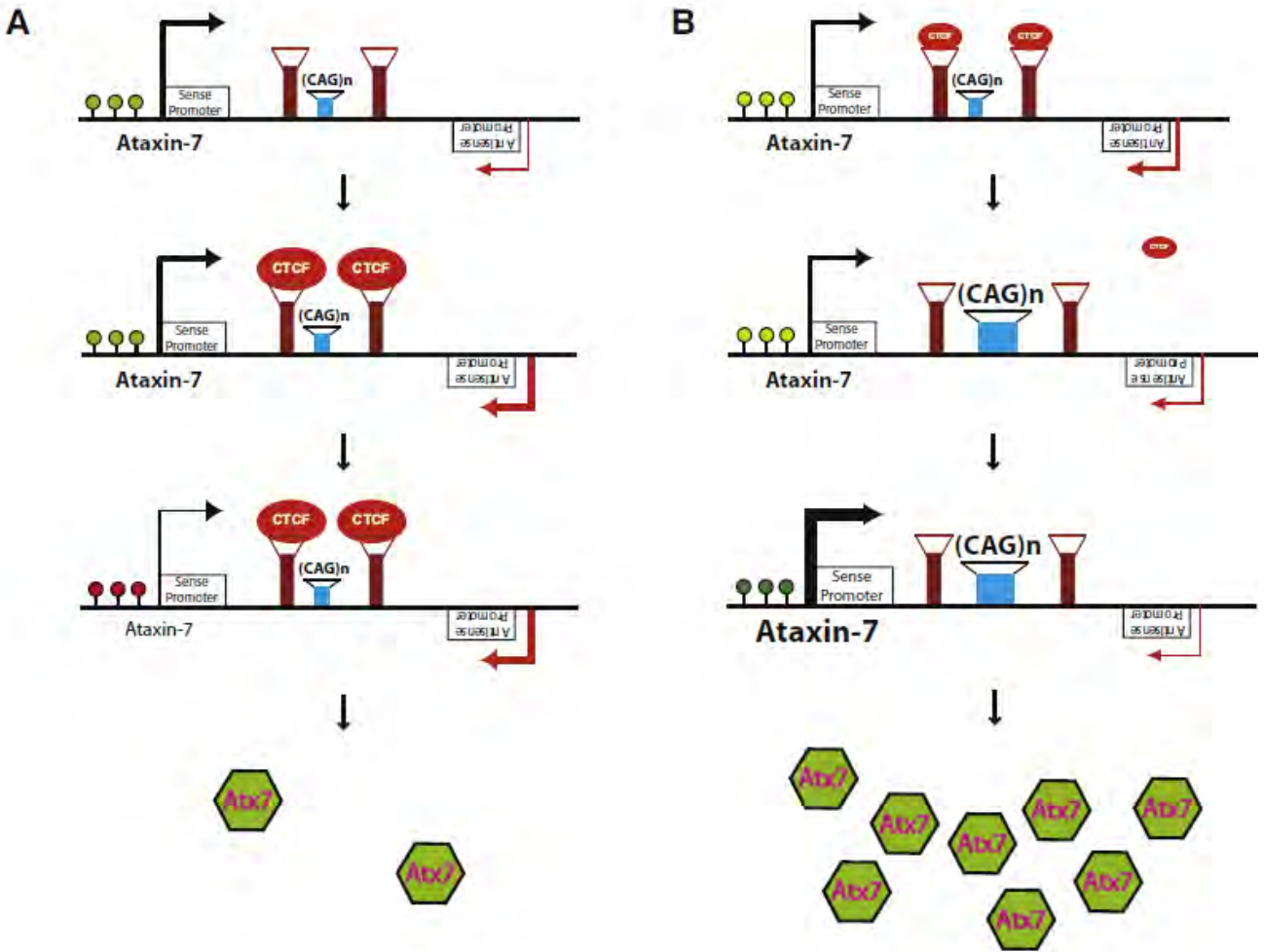


Figura 4. Modelo de regulación del gen ATXN7.

La región de repetidos CAG está flanqueada por sitios de unión a CTCF. Cuando estos sitios de unión están desocupados, el promotor de la ataxina-7 adyacente está activo, y una modificación covalente de las histonas en la región promotora es consistente con la activación (círculos verdes). Cuando los niveles de CTCF se incrementan y CTCF se une, el promotor antisentido del RNA no codificante SCAANT1 se activa, conllevando a la transcripción de éste. Esto es acompañado por una transición de la conformación activa de la cromatina a un estado reprimido (círculos rojos), silenciando la expresión de la ataxina-7 desde el promotor sentido P2A. Bajo condiciones de una expresión modesta de CTCF, el promotor sentido de la ataxina-7 está moderadamente activo (círculos verde claro). Sin embargo, si hay expansión de repetidos CAG o los niveles de CTCF disminuyen, los sitios de unión a CTCF flanqueantes se desocupan, resultando en una actividad reducida del promotor de SCAANT1. Bajo estas condiciones, el promotor sentido está completamente desreprimido, con una conformación de la cromatina consistente con transcripción altamente activa (círculos verdes), conllevando a una expresión más alta de la ataxina-7 mutada.³²

2.2.2 La Ataxina-7

La ataxina-7 (O15265) es una proteína de 892 aminoácidos cuyo peso molecular es de 95,451 kDa. La predicción de la estructura secundaria de la ataxina-7 indica la formación de dos hélices alfa, dos giros y varias láminas beta-plegadas.^{34,35}

Esta proteína posee un dominio principal conocido como el dominio SCA7 que incluye un motivo cys-3-his conservado que se une a zinc, este motivo también lo comparten otras proteínas de la misma familia y abarca del residuo 334 al 401.

Hasta el momento no se ha elucidado la estructura completa de la ataxina-7, únicamente se ha descrito la estructura del dominio SCA7 (figura 5).

Esta molécula se presenta normalmente a manera de monómero y tiene una señal de localización nuclear.³⁵

En su secuencia consenso de cDNA, hay una secuencia de 10 repetidos CAG que codifican para un tracto de poliglutamina en los residuos 30-39. Río arriba de la secuencia de repetidos se encuentra una región codificante de poliprolinas y una región de polialaninas, incluso llama la atención la abundancia de secuencias repetidas en este cDNA, pues río abajo contiene cuatro secuencias codificantes para poliprolinas y regiones ricas en serina.^{37,38}

La ataxina-7 se presenta de manera ubicua en el organismo, sin embargo es más abundante en el cerebro, la retina y algunos tejidos periféricos como el músculo estriado, los testículos y la glándula de la tiroides.³⁹ A nivel celular, la ataxina-7 se localiza principalmente en el núcleo, distribuida tanto de manera difusa como asociada con la matriz nuclear y en el nucleólo; también se ha localizado en el citoplasma aunque en menor proporción.⁴⁰

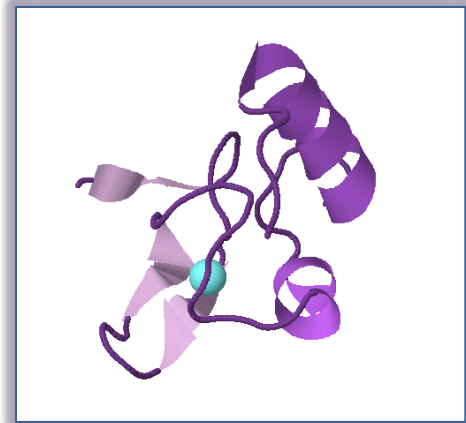


Figura 5. Estructura del dominio SCA7 de la ataxina-7 obtenida por resonancia magnética nuclear.³⁶ El dominio SCA7 tiene un sitio de unión a zinc (esfera azul).

2.2.2.1 La Ataxina-7 forma parte del complejo STAGA

En el año 2002 Sanders S, et al., mostró que SGF73 es un componente del complejo SAGA (acetilasa Stp/Ada/Gcn5) en levadura. El complejo SAGA es un coactivador requerido para la transcripción de un subconjunto de genes dependientes de la RNA polimesasa II.^{41,42} La ataxina-7 es el ortólogo en el humano de la subunidad SGF73 y es un componente integral de los complejos TFTC (complejo contenedor de TAF y libre de proteínas de unión a caja TATA) y STAGA (complejo acetiltransferasa SPT3/TAF9/GCN5) en mamíferos. El dominio SCA7 en la ataxina-7 es requerido para la interacción con subunidades de estos complejos y se encuentra altamente conservado a lo largo de la evolución.⁴³

STAGA regula la transcripción a través de la acetilación de histonas y su actividad de desubiquitinación.⁴³⁻⁴⁵ Sin embargo, existe controversia en cuanto al papel exacto de la ataxina-7 en STAGA y cómo esta función se ve afectada por la expansión de poliglutaminas.⁴⁴

Palhan y colaboradores plantearon un modelo que explica las posibles consecuencias de las expansiones de poliglutaminas de la ataxina-7. De acuerdo con este modelo, la ataxina-7 mutante interfiere con la función de GCN5 e impide la incorporación de otros componentes del complejo STAGA (figura 6).⁴⁵

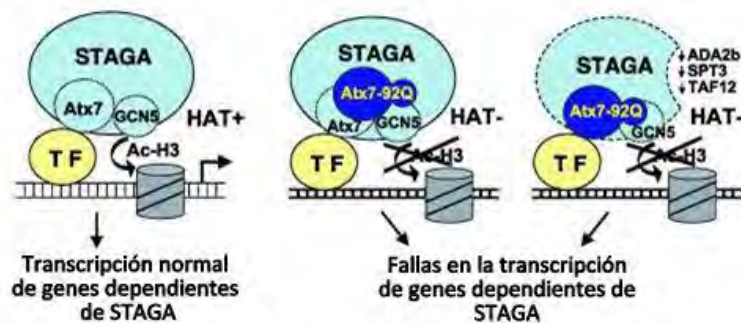


Figura 6. Mecanismo de patogenicidad de la ataxina-7 con poliQ.

Modelos indicando (i) la función normal de la ataxina-7 (Atx7) como una subunidad integral de STAGA. La ataxina-7 interactúa con GCN5, facilitando el reclutamiento de todos los integrantes del complejo STAGA y la acetilación de la histona H3 mediada por GCN5, el complejo puede interaccionar con un

factor de transcripción (TF) unido al promotor, tal como CRX (izquierda). En (ii) la ataxina-7 expandida genera una inhibición dominante negativa de la función de GCN5 (acetilación de histonas) al momento de la unión al promotor, con esto se ve reducida la incorporación de ADA2b, SPT3 y TAF12, componentes de STAGA(derecha).⁴⁵

Sin embargo, en un modelo de ratón con 266 glutaminas se mostró que los complejos TFTC/STAGA purificados presentan niveles normales de TRRAP, GCN5, TAF12 y SPT3 y sus actividades de acetilación nucleosomal o de histonas no se ven afectadas. No obstante, los fotoreceptores de estos ratones muestran una severa descondensación de la cromatina.⁴⁶ Se ha sugerido que en este modelo, la ataxina-7 con poliQ puede llevar a cabo sus efectos patogénicos en el núcleo alterando la estructura de la matriz nuclear asociada a proteínas y/o disrumpiendo la función nucleolar.⁴⁰ Por otra parte, algunos autores sugieren que la ataxina-7 normal y la ataxina-7 con poliQ reprimen la transcripción a niveles similares.⁴⁷

En un modelo de ratón que expresaba ataxina-7 con 92 glutaminas en la retina, se demostró que había una distrofia tanto de conos como de bastones. En este modelo se demostró también una interacción entre la ataxina-7 y la proteína CRX, la cual es un factor de transcripción nuclear que se expresa en células fotoreceptoras de la retina y controla los niveles de expresión de numerosos genes específicos de fotoreceptores, incluyendo las rodopsinas y las opsinas del color. Se observó una reducción de la unión a CRX, así como una disminución en la expresión de los genes regulados por este complejo, por lo cual se sugirió que la expansión de poliQ interfiere en la interacción del complejo con CRX y con ello se provee una explicación sobre cómo se lleva a cabo la especificidad celular en la SCA7 a nivel de retina.⁴⁸

Conjuntamente, se sugiere que los dominios con expansiones de poliglutamina alteran la conformación de la proteína resultando en interacciones aberrantes con proteínas que se expresan selectivamente en las neuronas. Muchas de las proteínas con las que interacciona la ataxina-7, se localizan en el núcleo y también contienen pequeños trectos de poliglutaminas o dominios ricos en glutaminas que median la interacción.⁴⁷

Estudios *in silico* sobre la interacción de la ataxina-7 con otras proteínas indican que ésta participa en un interactoma de moléculas relacionadas con ataxias, que incluyen a la ataxina-1 y a la ataxina-17 entre otras (figura 7).

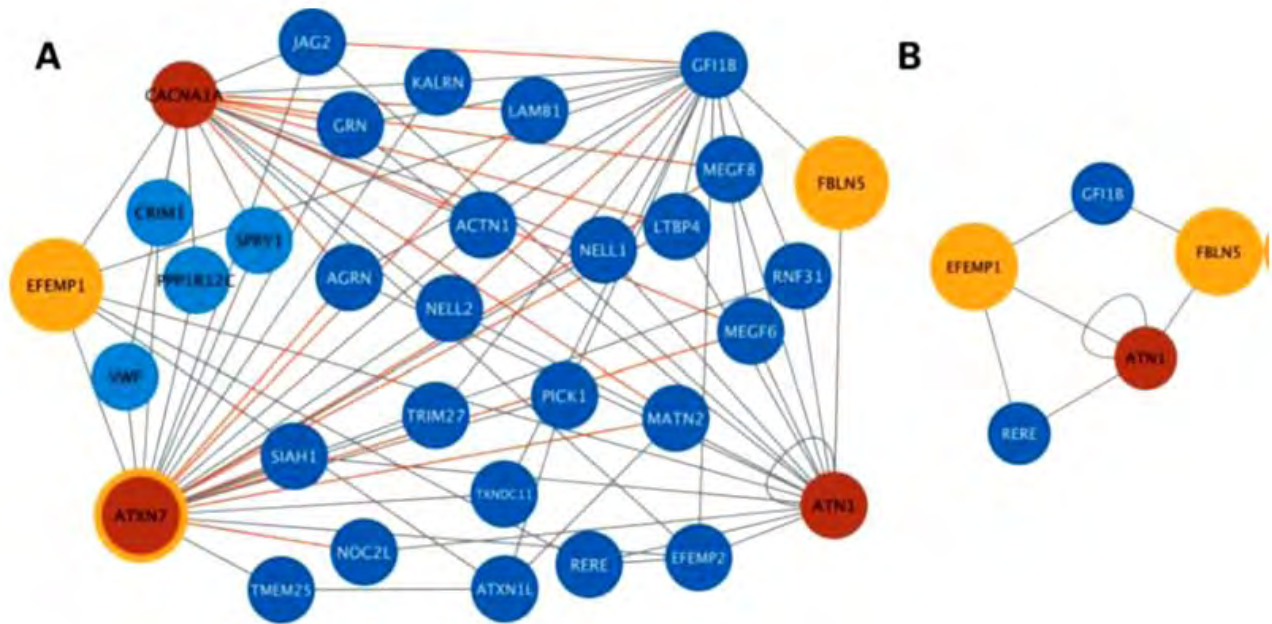


Figura 7. Red de interacción de ataxinas.48

A) Los puntos finales de una sub-red de interacción de degeneración macular son *ATXN7*, *EFEMP1* y *FBLN5* indicados en color naranja. Las proteínas causantes de ataxia se presentan en color rojo.⁴⁸ Hay 80 cuadrupolos involucrando 32 proteínas. Todas las interacciones binarias están señaladas por líneas color rojo. B) Sub-red de interacción de degeneración macular, ésta es altamente dependiente de *ATXN7*, pues al remover el nodo de *ATXN7* toda la sub-red se colapsa.⁵⁰

Cabe señalar que algunas interacciones predichas *in silico* han sido demostradas por inmunoprecipitación, lo cual demuestra el potencial de este tipo de estudios. Uno de los ejemplos más importantes fue la predicción de la interacción de la ataxina-7 con CRX, la cual además de haber sido comprobada ha contribuido a comprender la relación de la ataxina-7 mutada con la degeneración retiniana.⁵¹

2.2.2.2 Toxicidad de la ataxina-7 mutante

Se ha sugerido que las proteínas que contienen dominios de expandidos de poliQ se pliegan de manera incorrecta y asumen una conformación anormal de hoja β -plegada que facilita su agregación, promoviendo una mayor toxicidad. Sin embargo aún no está claro si las especies más tóxicas son monómeros mal plegados, oligómeros, o inclusiones grandes.^{52,53}

Los sistemas de degradación de proteínas son cruciales para degradar proteínas dañadas y mal plegadas que podrían causar toxicidad celular. El sistema ubiquitina-proteasoma (UPS) y la autofagia son las dos principales vías de degradación de proteínas en células de mamífero.⁵⁴ Tanto el sistema ubiquitina-proteasoma como la degradación por autofagia son importantes para reducir la toxicidad en la SCA7.⁵⁵ Sin embargo, se ha descrito que las proteínas mutantes con poliglutaminas son resistentes al procesamiento por el UPS e incluso interrumpen su actividad.⁵⁶⁻⁵⁹ No obstante, otros estudios han cuestionado estos hallazgos.^{60,61}

Algunos autores sugieren que la escisión proteolítica de proteínas con poliglutaminas por caspasas genera fragmentos pequeños que contienen poliglutaminas con una toxicidad celular incrementada.^{62,63} Refuerza esta idea la demostración de que los productos escindidos son frecuentemente encontrados en inclusiones de agregados en modelos de enfermedad por poliglutaminas tanto *in vivo* como *in vitro* y en tejido de pacientes postmortem.^{64,65}

Se ha mostrado que la ataxina-7 es escindida por la caspasa-7 en las posiciones de los aminoácidos D266 y D344, una región que involucra la señal de localización nuclear. El tránsito de la ataxina-7 entre el núcleo y el citoplasma puede ser una manera de controlar los niveles de ataxina-7 en el núcleo y regular la actividad del complejo STAGA. La escisión de la ataxina-7 por la caspasa-7 irrumpe la exportación del núcleo, conllevando a la acumulación de fragmentos tóxicos N-terminales de la ataxina-7 y alterando la función del complejo STAGA.⁶⁶

Mediante modelos *in vitro* utilizando cultivos celulares de neuronas de cerebelo, se ha demostrado que la ataxina-7 mutante activa una cascada apoptótica mediada por la mitocondria e induce la muerte neuronal por la sobreexpresión de Bax y la disminución de la expresión de Bcl-x_L.⁶⁷

En general la expresión de expansiones de polyQ en cultivos celulares y organismos modelo puede alterar una amplia gama de procesos celulares, que incluyen la degradación de proteínas dependiente del proteasoma, el transporte axonal/vesicular, la función mitocondrial y la transcripción.⁴⁵

2.2.3 Relación genotipo-fenotipo en la SCA7

La expresión fenotípica de la SCA7 depende del número de trinucleótidos repetidos CAG; a mayor número, la edad de inicio de la enfermedad es más temprana, la severidad de los síntomas es mayor y su progresión es más rápida.⁶⁸⁻⁷⁰

En la mayoría de los casos, la edad de inicio de la SCA7 es entre la segunda y cuarta década de la vida, pero puede variar iniciando desde los primeros meses hasta posterior a los 70 años de edad.⁷¹ Los síntomas principales son una ataxia progresiva, degeneración de la retina, hiperreflexia, signos piramidales, pérdida de sensibilidad, disartria y disfagia.^{10,72}

Los casos infantiles se observan cuando existen 100 o más repetidos CAG y en algunos casos excepcionales hasta entre 300 y 400 repetidos.²³ Estos casos se presentan como resultado de un fenómeno de anticipación extremo y generalmente provienen de alelos paternos. El fenómeno de anticipación hace referencia al hecho de que la progenie tiene un inicio más temprano de la enfermedad que los progenitores, esto como resultado de una expansión del número de repetidos de una generación a otra. Tanto el fenómeno de anticipación evidente como la inestabilidad especialmente por vía paterna son características muy frecuentes en la SCA7 en comparación con otras SCAs.

El fenotipo de pacientes con inicio en la infancia es muy severo, en ellos la ataxia cerebelosa se acompaña tempranamente de disfunción visual, la progresión de los síntomas es muy rápida y puede involucrar daño sistémico.¹⁰ En estos pacientes se han descrito convulsiones, mioclonías, signos piramidales, disfagia, reflejo de la tos ausente, hipotonía severa, afectación cardíaca, hepatomegalia, síndrome de extravasación capilar, hemangioma múltiple, defecto del tabique interauricular, conducto arterioso persistente e insuficiencia cardíaca congestiva.^{23,68,73,74} Generalmente los pacientes sobreviven pocos meses o años y pueden fallecer por anomalías cardíacas.⁷

El fenotipo de SCA7 clásico es el que corresponde a 50-55 repetidos. Los síntomas comienzan en la adolescencia y la duración de la enfermedad varía desde los 20 hasta los 40 años. Se caracteriza por la combinación de perturbaciones en la visión y ataxia. Los defectos en la visión de colores y anormalidades electroretinográficas pueden sugerir el diagnóstico tempranamente, a veces incluso cuando el paciente refiere perfecta visión, los primeros estudios oftalmológicos pueden detectar anormalidades en la retina, como lo muestra la figura 8.¹⁰ La pérdida temprana de discriminación de color debida a alteraciones en los fotorreceptores de la mácula es seguida por una disminución progresiva de la visión, disfunción cerebelosa y el desarrollo de signos piramidales.⁸⁰ Posteriormente se presenta disfagia y disartria. En algunas ocasiones se presentan también movimientos sacádicos oculares lentos, oftalmoplejía externa, ptosis palpebral, atrofia lingual, y desgaste muscular de las extremidades; algunos autores han descrito también hipoacusia.^{70,75} Otros autores han descrito psicosis, alucinaciones auditivas, delirios y alteraciones del comportamiento en asociación con características extrapiramidales. La demencia ha sido mencionada en casos excepcionales.⁶⁷ Debido a la combinación de una ceguera progresiva y la desactivación de funciones cerebelares y piramidales, los pacientes se vuelven progresivamente discapacitados y la disfagia y la bronconeumonía son la causa de muerte más frecuente entre las edades de 30 y 55 años.

Cuando el número de repetidos varía entre 36 y 43, los síntomas ocurren de manera más tardía, y se caracterizan principalmente por disartria y ataxia, mientras que hay pocas anormalidades en la retina. Los estudios de imagen en estos pacientes generalmente muestran características normales y es el análisis de DNA el que apoya el diagnóstico. Los síntomas se vuelven más pronunciados conforme aumenta la edad, presentándose los síntomas clásicos sobre todo después de los 60 años de edad.¹⁰

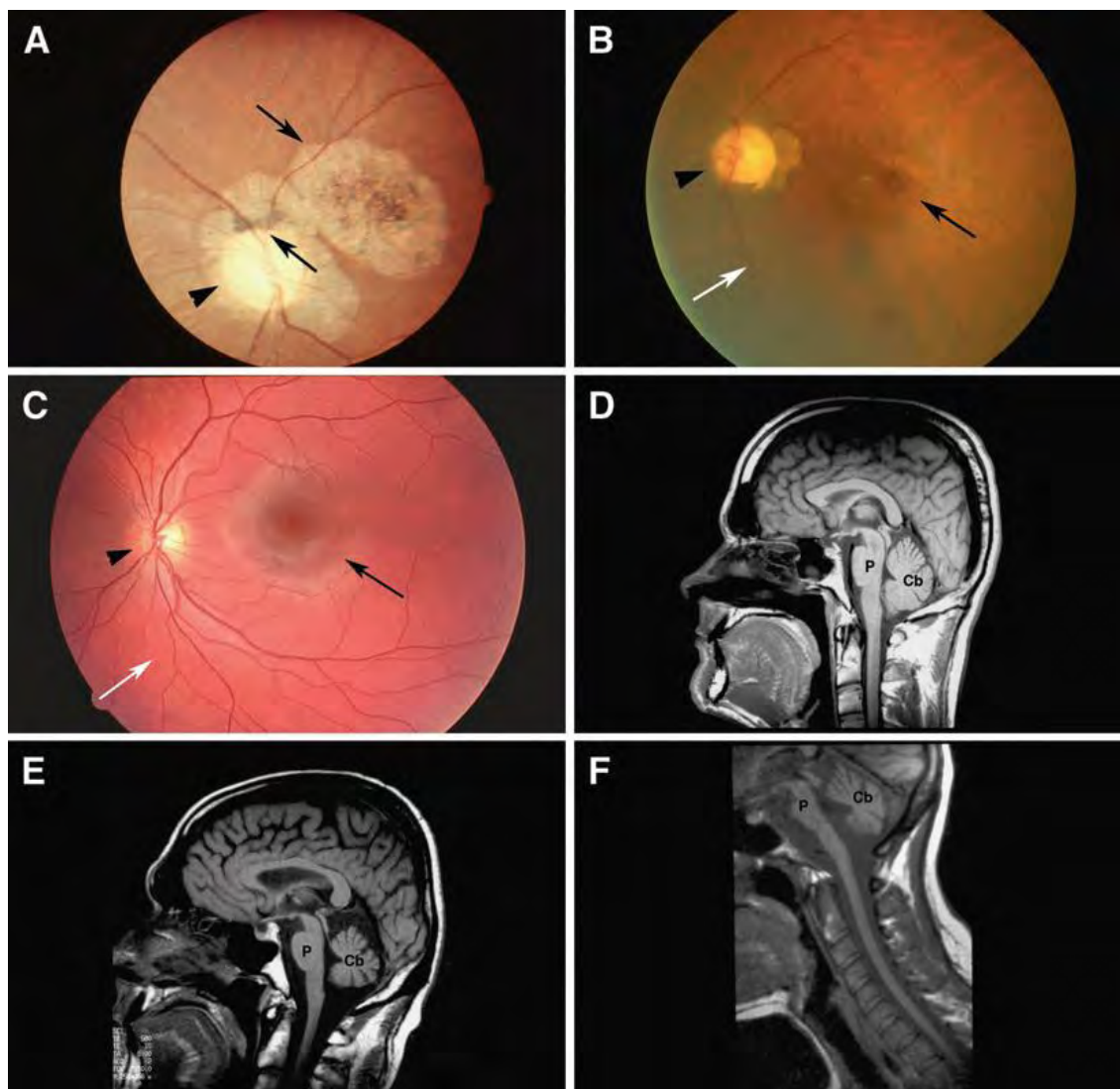


Figura 8. Resonancia magnética y fundoscopia en pacientes con SCA7 y controles.

(A–C) Fundoscopia de dos individuos afectados (A,B) y de un individuo control (C). El panel (A) muestra un disco óptico pálido (punta de la flecha) y atrofia del epitelio pigmentario y la capa coroidea (flechas). Ello concierne a un paciente que falleció a los 28 años de edad, se desconoce el número de repetidos CAG. (B) Fundoscopia en un paciente a la edad de 40 años que portaba 52 repetidos; muestra una mácula atrofiada (flecha negra), un disco óptico extremadamente pálido (señalado con flechas), y una vasculatura enrarecida (flecha blanca). (C) Retina de un individuo control con una mácula normal (flecha negra), un disco óptico normal (punta de flecha), y una vasculatura normal (flecha blanca). (D) Imagen de resonancia magnética de un individuo sano. Cerebelo (Cb) y protuberancia (P) tienen un volumen normal. (E) La imagen de resonancia magnética de un paciente levemente afectado con SCA7 con 43 repetidos. Existe una atrofia cerebelar (Cb) pero la protuberancia (P) permanece en gran parte sin daños. (F) Imagen de resonancia magnética de un paciente severamente afectado con SCA7 con 52 repetidos. Hay una atrofia cerebelar (Cb) y una atrofia pontina (P).¹⁰

A pesar de los numerosos esfuerzos que se realizan alrededor del mundo en la búsqueda de terapias para las enfermedades por poliglutaminas, aún no existe un

tratamiento capaz de prevenir, detener o revertir los síntomas de estos padecimientos. Se han desarrollado diversas estrategias terapéuticas con este fin, incluyendo péptidos inhibidores de agregación, terapia génica e implantación de células madre, sin embargo estas estrategias que han mostrado resultados favorables han sido llevadas a cabo en modelos animales o *in vitro*.⁷⁶⁻⁷⁸ Se espera que en un futuro se obtengan resultados más favorables que ofrezcan alternativas a las familias con SCA7, pues hasta el momento, sólo se recomienda terapia de lenguaje, fisioterapia, terapia ocupacional y medicamentos paliativos.⁷⁹

2.2.4 Epidemiología y prevalencia

La SCA7 representa del 1 al 11.7% de las SCAs a nivel mundial, lo cual corresponde a una frecuencia menor a 1 por cada 100 000 ó 1 000 000 de habitantes, sin embargo existe una gran variabilidad en la prevalencia de esta enfermedad entre regiones geográficas y grupos étnicos.¹⁰ Este padecimiento ha sido descrito en familias de alrededor de 20 países (tabla 1).

Tabla 1. Prevalencia de la SCA7 en diversos países (Modificada de Martin JJ, 2012).¹⁰

Autores	País	% de SCAs identificadas /Total AD-SCAs*	%SCA7/SCAs identificadas	SCAs más frecuentes
Moseley, et al. 1998	EUA	49.3	4.5	SCA3/SCA2/SCA6
Pujana, et al. 1999	España	42	3	SCA2/SCA3
Storey, et al. 2000	Australia	53	2	SCA6/SCA1
Tang, et al. 2000	China	59	0	SCA3
Filla, et al. 2000	Italia	76	2	SCA2/SCA1
Basu, et al. † 2000	India	61.5	0	SCA2/SCA1
Sasaki, et al. 2000	Japón	72.9	0	SCA3
Hsieh, et al. 2000	Taiwán	39.7	1.4	SCA3
Kim, et al. 2001	Corea	75	2.6	SCA3/SCA2
Jardim, et al. 2001	Brasil	94	2	SCA3
Soong, et al. 2001	Taiwán	78.4	2.7	SCA3
Silveira, et al. 2002	Portugal/Brasil	89	1	SCA3

Van de Warrenburg, et al. 2002	Holanda	64	11.7	SCA3/SCA6
Bryer, et al. † 2002	Sudáfrica	81.5	22.2	SCA1/SCA7
Bang, et al. † 2003	Corea	54	16	SCA7/ SCA3/SCA6
Lee, et al. † 2003	Corea	20.6	8	SCA2/SCA3
Brusco, et al. 2004	Italia	58.9	1	SCA2/SCA1
Shimizu, et al. 2004	Japón (Nagano)	35	0	SCA6/DRPLA
Juvonen, et al. † 2005	Finlandia	39	20.5	SCA8/SCA7
Alonso, et al. † 2007	México	80.6	7.4	SCA2/SCA10

*La tabla presenta el porcentaje de SCAs identificadas relativas a la cantidad total de SCAs autosómico dominantes.

†Expresadas en función del número de pacientes y no de familias.

Como lo muestra la tabla 1, países como Sudáfrica, Finlandia y Holanda presentan una alta prevalencia de esta enfermedad, y de acuerdo con estos datos, México ocupa la quinta posición en prevalencia de SCA7, sin embargo concierne a este trabajo la profundización del estudio.¹⁰

Stevanin y colaboradores estudiaron los haplotipos que segregaron con la mutación en familias del Reino Unido, Alemania, Korea, Jamaica, Filipinas y Brasil, llegando a la conclusión de que existen múltiples orígenes para la SCA7, pues estas familias presentaron haplotipos con la mutación distintos.^{10,80}

La alta prevalencia de una enfermedad genética en una zona geográfica delimitada es muchas veces explicada por la presencia de un efecto de fundador. El efecto de fundador es un fenómeno de la genética de poblaciones que implica que un individuo o un grupo muy pequeño de individuos dio origen a toda una población, de tal manera que individuos de la población actual tienen un ancestro en común.⁸¹ Este fenómeno ha provisto la explicación sobre la alta frecuencia de enfermedades mendelianas en poblaciones aisladas, incluyendo los casos de SCA7 en las poblaciones Finlandesas y Sudafricanas.^{82,83}

En el año 2000, Jonasson J y colaboradores identificaron 15 familias (37 pacientes) con SCA7 provenientes de Finlandia y Suecia. El análisis de estas familias utilizando nueve marcadores moleculares tipo microsatélite y un SNP demostró que todas las familias

compartían un haplotipo en común que abarcaba 1.9cM, sugiriendo fuertemente un efecto de fundador para estas familias.⁸²

Posteriormente, en el 2006, Greenberg J y colaboradores describieron la presencia de SCA7 en 13 familias (42 pacientes) indígenas provenientes de Sudáfrica. Después de estudiar cuatro marcadores moleculares tipo microsatélite y un SNP encontraron que todas las familias comparten un haplotipo en común que comprende tres de los marcadores analizados, ante lo cual sugirieron un efecto de fundador en estas familias.⁸³

Dados los antecedentes de familias mexicanas con SCA7,^{17,84} y la evidencia de que varias de ellas son originarias de una misma región geográfica,¹⁷ surgieron interrogantes acerca de la incidencia de este padecimiento en nuestro país y la posibilidad de un efecto de fundador en la población estudiada. Conciérne a este trabajo el estudio de estas cuestiones.

III. Planteamiento del problema

En nuestro país la SCA7 es la cuarta SCA más frecuente, representando el 7.4% de las ataxias autosómico dominantes, y llama la atención que la gran mayoría de las familias diagnosticadas con SCA7 son originarias del estado de Veracruz. La alta incidencia de una enfermedad hereditaria restringida a una zona geográfica es resultado en muchas ocasiones de un efecto de fundador, el cual implica que un individuo o un grupo muy pequeño de individuos dio origen a toda una población. El hecho de que las familias con SCA7 en nuestro país sean provenientes de una misma región geográfica sugiere un efecto de fundador como causa. Asimismo, los efectos de fundador son importantes para comprender el comportamiento de genes en familias, poblaciones e incluso a lo largo de la evolución.

Debido a que existe un gran traslape de síntomas entre las diferentes ataxias, el diagnóstico de estas enfermedades basado en las características clínicas se dificulta y es necesario recurrir al diagnóstico molecular. Sin embargo, el realizar el diagnóstico molecular para las distintas SCAs puede resultar tardado y costoso. El conocer la presencia de efectos de fundador para enfermedades específicas en una población permite realizar un diagnóstico más dirigido, menos costoso y tardado que contribuye al buen manejo del paciente y a un asesoramiento genético asertivo.

Por otra parte, en las enfermedades por expansión de microsatélites, como la SCA7, es de especial importancia conocer la distribución y características de alelos normales y mutados, puesto que pueden variar entre poblaciones. De igual manera es de importancia la identificación de alelos intermedios, el fenómeno de anticipación y la identificación de casos de *novo*, pues estos factores aportan información valiosa para el asesoramiento genético respectivo.

IV. Hipótesis

La alta frecuencia de casos reportados con SCA7 provenientes del estado de Veracruz es explicada por un efecto de fundador.

V. Objetivos

Objetivo general

Evaluar un posible efecto de fundador en familias con SCA7 provenientes del estado de Veracruz.

Objetivos particulares

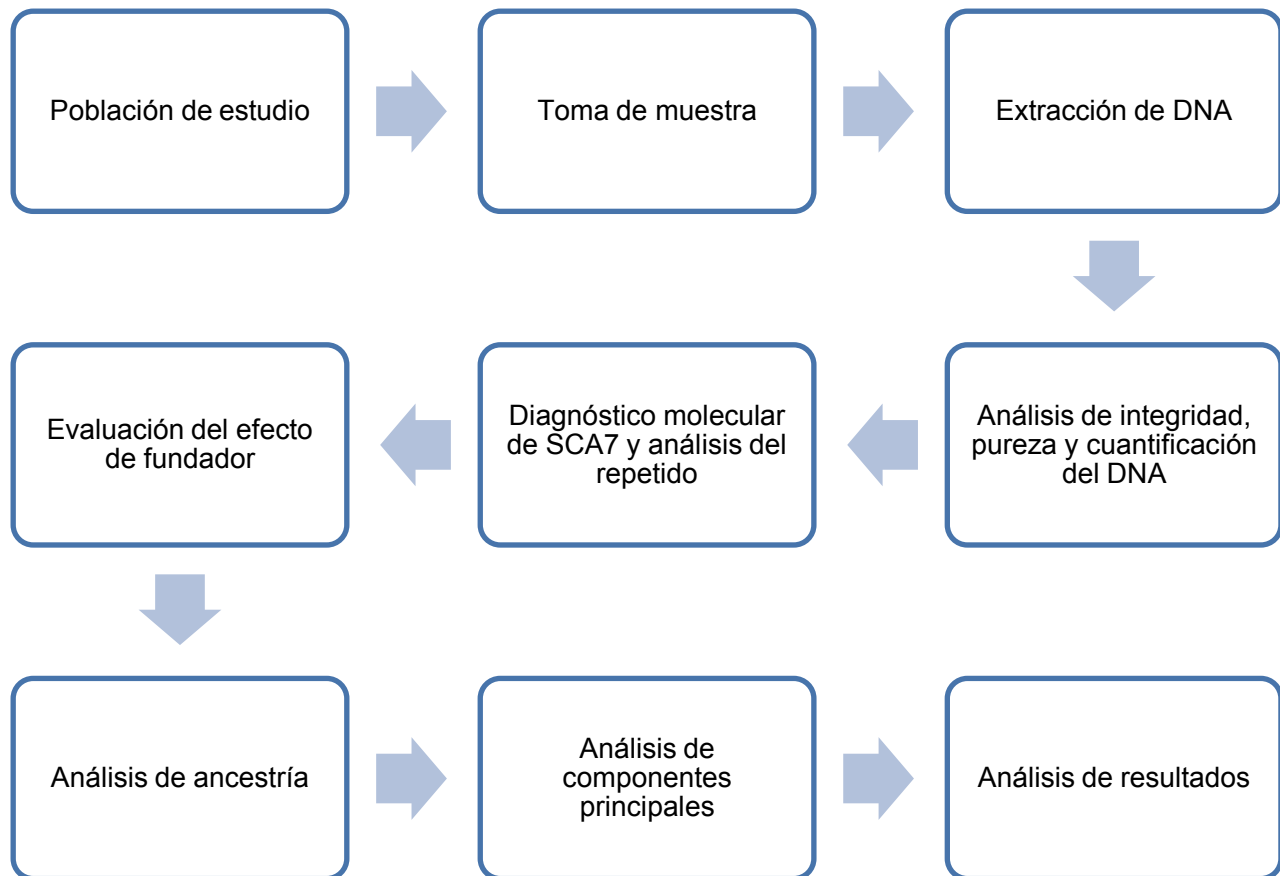
- Establecer el intervalo de repetidos CAG de alelos normales en individuos mestizo-mexicanos sanos sin antecedentes neurológicos.
- Determinar la conformación de los repetidos (secuencia) en la muestra de pacientes mexicanos con SCA7.
- Evaluar el origen ancestral de la mutación causante de SCA7 en esta población.

VI. Estrategia experimental

6.1 Procedimiento general

Este estudio fue aprobado por el comité de ética del Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía “Manuel Velasco Suárez”. La figura 9 muestra el procedimiento general realizado para este estudio, posteriormente se describen cada uno de los análisis realizados.

Figura 9. Procedimiento general



6.2 Población de estudio

La población en estudio contempla un grupo de individuos en riesgo y dos grupos control que se describen a continuación. Todos los individuos participantes firmaron una carta de consentimiento informado para participar en el estudio.

Grupo de individuos en riesgo.

Comprende 181 individuos que presentan síntomas de SCA7 o tienen riesgo de desarrollarlo (familiares en primer grado). De los 181 individuos 88 son mujeres y 93 hombres con un rango de edad de 2 a 88 años y una media de 34.6 años. Estos individuos conforman 20 familias, todas ellas son provenientes de las comunidades que se muestran en la figura 10 en el estado de Veracruz.



Figura 10. Lugar de procedencia de los individuos en riesgo. La figura muestra el mapa de México, destacando el estado de Veracruz y los 6 municipios de donde provienen el grupo de individuos en riesgo y el grupo control CV. La región cuenta con una población de 626 420 individuos.⁸⁵

Los árboles genealógicos fueron elaborados con el programa Cyrillic v2.02 y se muestran en el apéndice.

Grupo control CV.

Consiste en 150 individuos sanos, no relacionados y sin antecedentes neurológicos. De los 150 individuos, 100 son mujeres y 50 hombres con un rango de edad de 18 a 84 años y una media de 41.6 años. Todos ellos son provenientes de las mismas

localidades que el grupo de individuos en riesgo y tienen ascendencia mexicana por al menos tres generaciones.

Grupo control CM.

Consiste en 150 individuos mestizos, sanos, no relacionados y sin antecedentes neurológicos. De los 150 individuos, 90 son mujeres y 60 hombres con un rango de edad de 41 a 93 años y una media de 56.9 años. Todos ellos son originarios de la Ciudad de México y zona metropolitana y tienen ascendencia mexicana por al menos tres generaciones.

6.3 Toma de muestra biológica.

Se obtuvo mediante venopunción una muestra de 12mL de sangre periférica en tubos Vacutainer[®] con citrato de sodio y dextrosa como anticoagulantes.

6.4 Extracción de DNA.

Se realizó una separación de células nucleadas a partir de la muestra sanguínea. El DNA genómico fue obtenido por el método de sales modificado de Miller y cols.⁸⁶

6.5 Cuantificación y análisis de integridad del DNA.

Se determinó la concentración y pureza del DNA obtenido mediante espectrofotometría, basada en la ley de Lambert y Beer. Las lecturas se obtuvieron a 260 y 280 nanómetros utilizando el equipo Nanodrop 2000 (Thermo Scientific[®]). Se prepararon alícuotas de cada una de las muestras a una concentración final de 100ng/ μ L.

La integridad del DNA fue analizada mediante electroforesis horizontal en geles de agarosa 1%/TBE0.5X teñidos con bromuro de etidio. La migración se efectuó a 100 volts durante 45 minutos.

6.6 Análisis de la región (CAG)_n en ATXN7.

El diagnóstico se realizó cumpliendo los lineamientos de la EMGQ.^{22,87} El método empleado fue PCR-autorradiografía, para lo cual se llevó a cabo la amplificación del repetido CAG incorporando α^{32} -dCTP. La secuencia de los oligonucleótidos empleados, los reactivos utilizados y las condiciones de reacción de todos los procedimientos se describen en el apéndice.

Los productos de PCR fueron resueltos en geles de poliacrilamida al 6% tipo secuenciación, utilizando la secuencia del plásmido *pGEM* a manera de marcador de peso molecular. La migración se realizó durante 5 horas a 1700v, posteriormente el gel fue transferido y sometido a autorradiografía. El tamaño del repetido se determinó comparando el peso del producto obtenido con la secuencia del plásmido y aplicando la fórmula:

$$\# \text{ CAG} = (\text{p.b.} - 250) / 3$$

Adicionalmente, se amplificó por PCR de punto final un subconjunto de 40 muestras (15 alelos normales y 25 mutados). Éstos fueron analizados mediante secuenciación automatizada en un secuenciador ABI PRISM 3130 de Applied Biosystems®. El análisis de las secuencias se realizó con el programa Sequencing Analysis v.5.3.

6.7 Selección de marcadores moleculares.

Con el fin de evaluar la presencia de un efecto de fundador en los individuos mutados, se seleccionaron los marcadores moleculares altamente polimórficos más cercanos al gen *ATXN7* utilizando la herramienta MapViewer del Centro Nacional para la Información Biotecnológica (NCBI).²⁵ La posición de los marcadores utilizados se ilustra en la figura 11 y se describe en la tabla 2.

Tabla 2. Posición física y genética de los marcadores seleccionados. La región abarcada por los microsatélites seleccionados es de 1 664 312 pb; 4.49cM.

Marcador	Posición física	Posición genética
D3S3566	6248644-62482875	84.11cM
D3S3698	63059785 - 63060054	84.92 (cM)
D3S1600	63260067-63260264	85.97cM
Gen ATXN7	63850233 - 63989138	
Repetidos CAG	63898384	
rs3774729	63922082 G>A	
D3S1287	64146956-64147215	88.6cM

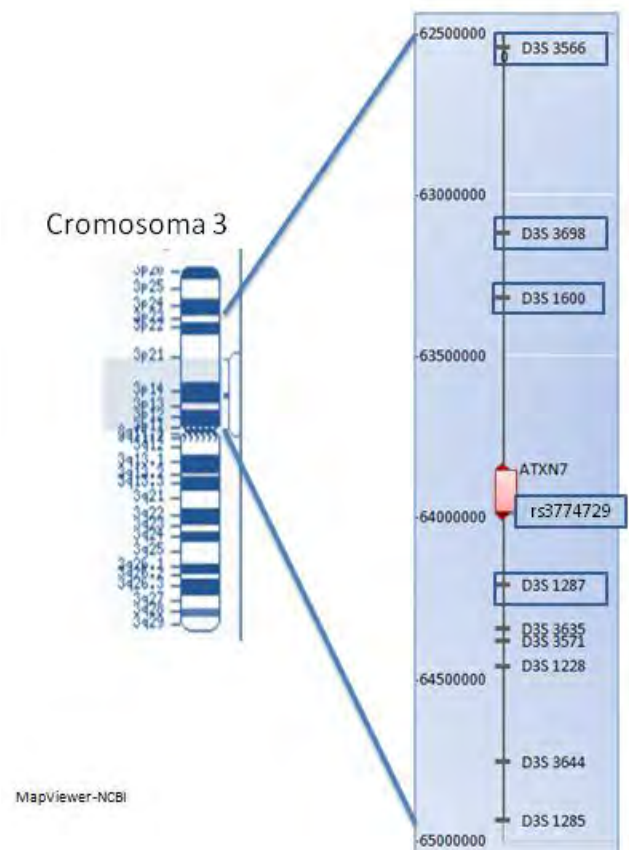


Figura 11. Localización física de los marcadores seleccionados. La figura muestra el cromosoma 3, en cuyo brazo corto se localiza el gen *ATXN7* (rojo). Los microsatélites seleccionados para el estudio se muestran en recuadros azules.

6.8 Genotipificación de los microsatélites D3S1287 y D3S1600.

La genotipificación de los marcadores moleculares tipo microsatélite D3S1287 (UniSTS: 30381) y D3S1600 (UniSTS: 18193) se realizó mediante PCR-autorradiografía utilizando el método anteriormente descrito para el análisis de (CAG)_n en *ATXN7*. La migración se llevó a cabo durante 4.5 horas a una potencia de 1700v.

6.9 Genotipificación de los microsatélites D3S3698 y D3S3566.

La genotipificación de los marcadores moleculares tipo microsatélite D3S3698 (UniSTS: 55643) y D3S3566 (UniSTS:13319) se realizó mediante análisis de fragmentos. En esta metodología se llevó a cabo la amplificación de los marcadores mediante PCR empleando el oligonucleótido sentido marcado con un fluoróforo. Los amplicones fueron sometidos a electroforesis capilar en un secuenciador ABIPRISM 3130. El tamaño del peso fue calculado por el equipo realizando una regresión y un ajuste basado en la detección del paso del fluoróforo y su relación con el marcador de peso molecular LIZ500[®].

6.10 Genotipificación del polimorfismo rs3774729.

El SNP rs3774729 representa un cambio de adenina por guanina. La genotipificación de este SNP se realizó por medio de PCR-RFLPs utilizando la enzima *NlaIII* de acuerdo al método previamente descrito por Stevanin G y cols.⁸⁰

6.11 Análisis de ancestría del genoma.

Se realizó la genotipificación de 3 muestras seleccionadas a partir de una familia nuclear: padre afectado, madre sana e hija afectada (véase figura 12) utilizando el microarreglo SNP 6.0 de Affymetrix[®] que incluye 906 703 polimorfismos de un solo nucleótido.

Utilizando la herramienta bioinformática PLINK se aplicaron controles de calidad a los datos para verificar la consistencia de género, errores mendelianos y confirmar el parentesco de los individuos.⁸⁸



Figura 12. Árbol genealógico de una de las familias estudiadas (familia 7). En este árbol genealógico se muestra el patrón de herencia autosómico dominante de una familia con SCA7 de siete generaciones, aunque en algunos casos los individuos portadores aún no presentan o no presentaron síntomas debido a que aún no alcanzan la edad de inicio o al fallecimiento previo al inicio de la enfermedad. Los individuos señalados en rojo fueron seleccionados para el análisis de ancestría. Estos individuos fueron seleccionados por tratarse de una familia nuclear con los síntomas clásicos y características típicas de SCA7, incluyendo el fenómeno de anticipación, así como por la alta calidad de las muestras de DNA obtenido.

Para estimar la proporción global de ancestría indígena, europea y africana, se utilizaron los datos de 50 individuos no relacionados de cada una de las poblaciones ancestrales, es decir indígena, europea y africana. Los datos de la población europea y africana fueron obtenidos del proyecto del HapMap fase 3, mientras que los datos de la población indígena incluyen datos de población totonaca, nahua y zapoteca.⁸⁹ Para este análisis se utilizaron 576,805 SNPs, que son los que permanecieron después de los controles de calidad y la fusión de las bases de datos.

La estimación de la proporción de ancestría indígena, europea y africana se realizó utilizando la herramienta bioinformática ADMIXTURE con $K=3$, donde K representa el número de poblaciones ancestrales para el genoma completo y para el cromosoma 3 de manera individual.⁹⁰

6.12 Análisis de ancestría local.

Se estimó la ancestría local para cada uno de los cromosomas empleando el programa PCAdmix. PCAdmix se basa en un análisis de componentes principales utilizando como referencia haplotipos faseados cromosoma por cromosoma.⁹¹ Derivado de lo anterior, para realizar este análisis se eligieron 10 tríos de cada una de las poblaciones ancestrales; indígena, europea y africana utilizando la misma fuente de datos que en el caso de la ancestría global. Los datos fueron faseados utilizando el programa Beagle.⁹² Para este análisis se utilizaron 368,715 SNPs.

6.13 Análisis de componentes principales.

Se llevó a cabo el análisis de componentes principales del segmento europeo identificado en el cromosoma 3, el cual comprende 13.65Mb y contiene a la mutación. El análisis se realizó empleando el programa EIGENSTRAT,⁹³ con el cual se realizó la comparación de dicho segmento del padre afectado con datos de 375 individuos con ancestría europea provenientes del proyecto de los 1000 genomas.⁹⁴ Los 375 individuos provienen de poblaciones: ibérica de España (IBS), finlandesa de Finlandia (FIN), británica de Inglaterra y Escocia (GBR), toscana de Italia (TSI) y residentes de Utah con ancestría del norte y oeste de Europa (CEPH, CEU).

VII. Resultados

7.2 Análisis del repetido (CAG)_n

7.2.1 Determinación del número de repetidos.

A través del análisis de PCR-autorradiografía se determinó el número de repetidos (CAG)_n en *ATXN7* en el grupo de individuos en riesgo y en los grupos control CV y CM. La figura 13 muestra de manera representativa la autorradiografía de un conjunto de muestras analizadas.

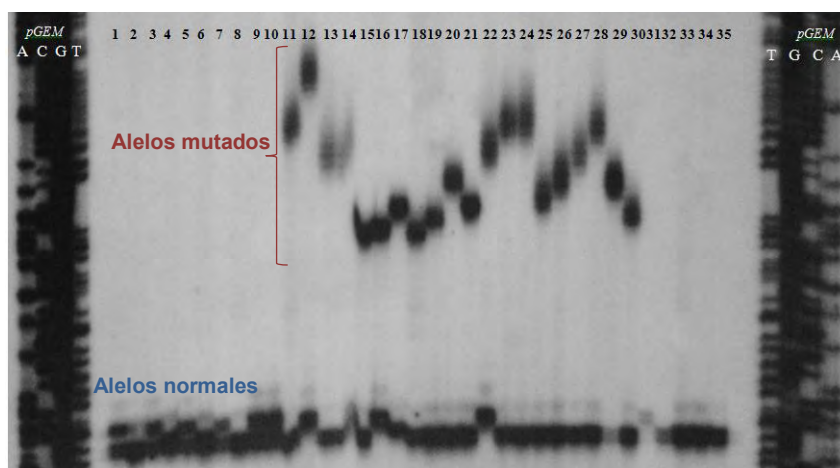


Figura 13. Autorradiografía de amplicones de la región CAG de controles y pacientes.

La imagen muestra a los extremos 4 carriles correspondientes a la secuencia del plásmido *pGEM* por el método de Sanger, cada carril corresponde a un didesoxinucleótido marcado. Esta secuencia se utilizó a manera de marcador de peso molecular. Los carriles 1 a 10 y 31 a 35 muestran productos de PCR correspondientes a controles, en ellos se observan bandas de 280p.b. en la mayoría de los casos que corresponden a 10 repetidos CAG. En los carriles 11 a 30 se muestran productos de PCR de individuos mutados, los cuales presentan un alelo de tamaño normal, similar a los controles y otro de peso molecular mayor a 358pb.

Noventa individuos (35 mujeres y 55 hombres) de los 181 individuos en riesgo presentaron la mutación causante de SCA7, lo cual representa el 49.7% de la población estudiada como se ilustra en la figura 14.

Los individuos portadores de la mutación pertenecen a 19 de las 20 familias estudiadas.



Figura 14. Individuos portadores de la mutación causante de SCA7.

A la familia restante (familia 20) se le realizó el diagnóstico molecular de SCA2, resultando positivo con alelos mutados de 37 y 42 repetidos CAG y alelos normales de 22 repetidos.

No se encontraron individuos homocigotos para la mutación causante de SCA7, de manera que todos los individuos portaron un alelo normal y uno mutado. El número de repetidos del alelo mutado fue de 36 a 100, siendo el alelo de 48 repetidos el más frecuente (10% de los casos) como lo muestra la figura 15. Predominan alelos menores a 56 repetidos, los cuales se relacionan con un inicio tardío de los síntomas (alrededor de la cuarta década de vida). El rango del alelo normal fue de 8 a 12 repetidos siendo el alelo de 10 el más frecuente en estos individuos.

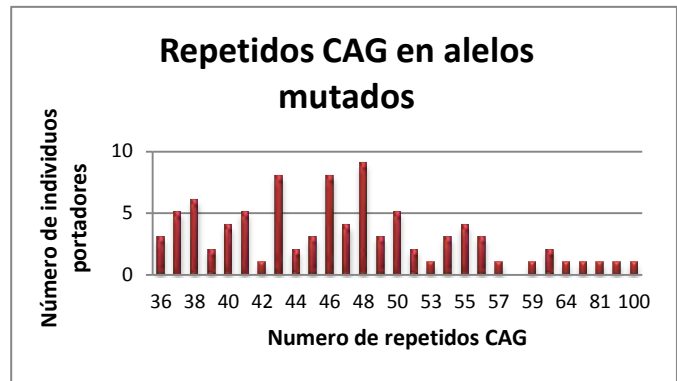


Figura 15. Número de repetidos CAG en los individuos mutados.

Este estudio permitió también observar una relación inversa entre la edad de inicio de la enfermedad y el número de repetidos CAG; mostrando que a mayor número de repetidos menor es la edad de inicio de los síntomas, tal como se ilustra en la figura 16, en la cual se muestra que un individuo con 100 repetidos tuvo un inicio de la enfermedad a los dos años de edad, mientras que individuos con 40 repetidos tuvieron un inicio hasta los 60 años e incluso individuos con 36 repetidos permanecen asintomáticos.

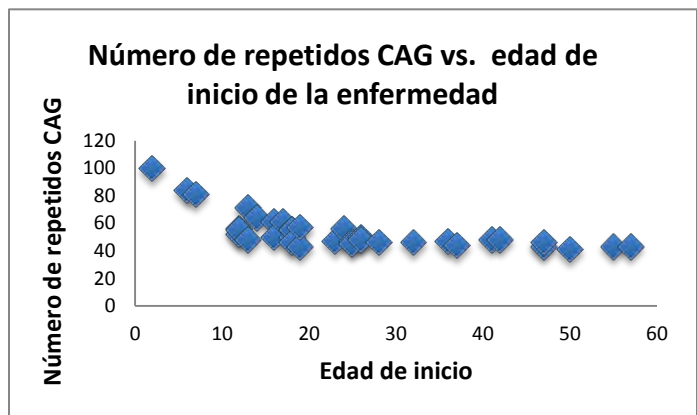


Figura 16. Relación entre el número de repetidos CAG y la edad de inicio de la enfermedad.

En 33 transmisiones se observó un fenómeno de anticipación, es decir una expansión en el número de repetidos de una generación a otra. De éstos, 21 casos fueron por herencia paterna, mientras que 12 casos fueron por herencia materna. El número de repetidos incrementados fue de 2 a 38 en los casos paternos, con una media de 9.1. En los casos maternos la expansión producida fue de 1 a 16 repetidos, con una media de 6.2.

El número de repetidos CAG tanto en el grupo control CV como en el CM fue de 7 a 15, siendo el alelo de 10 repetidos el más frecuente en ambos casos como se puede observar en la figura 17.

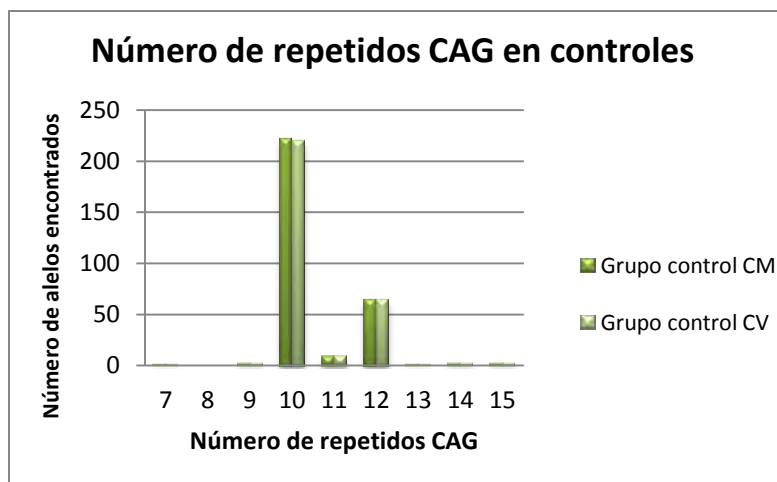


Figura 17. Número de repetidos CAG en individuos control.

Los grupos control tienen un comportamiento similar. Prevalece el alelo de 10 repetidos (73%), seguido del de 12 (21.5%) y en ninguno de los grupos se encontraron alelos de tamaño intermedio (28 a 35 repetidos).

7.2.2 Secuenciación de (CAG)_n

Se secuenciaron 25 alelos mutados y 15 normales, cuyo número de repetidos CAG ya había sido determinado por autorradiografía. El número de repetidos obtenido por ambas técnicas fue el mismo en el 87.5% de los casos, en los casos restantes la diferencia no excedió 3 repetidos.

No se encontraron interrupciones entre los repetidos, tal como se observa en la figura 18, las secuencias de los alelos mostraron repetidos CAG puros, es decir, sin interrupciones por otras secuencias como suele ocurrir con otras ataxias.

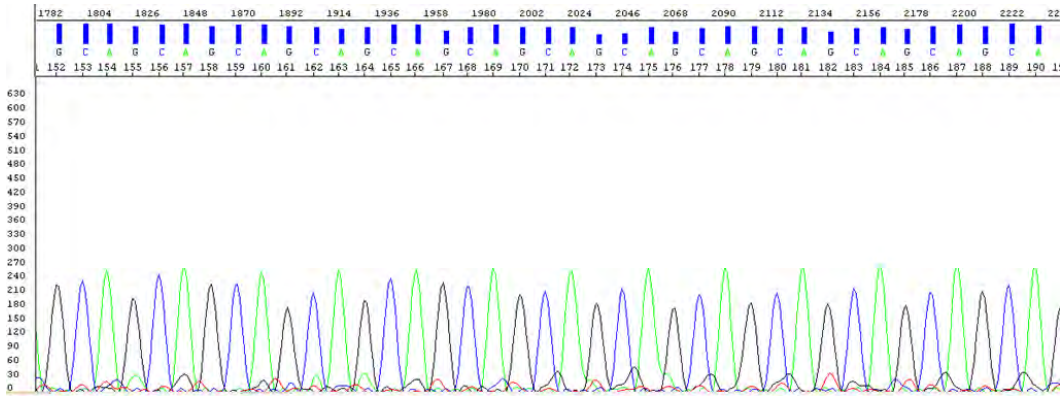


Figura 18. Secuencia de la región de repetidos CAG. La imagen muestra un segmento de electroferograma de repetidos CAG presentes en un paciente que presentó 42 repetidos.

7.3 Análisis del efecto de fundador

Una vez identificados los casos positivos de SCA7, se evaluó un posible efecto de fundador en ellos. Con este fin, se genotipificaron los marcadores moleculares tipo microsatélite D3S3566, D3S3698, D3S1600, D3S1287 y el SNP rs3774729. Los marcadores moleculares tipo microsatélite tienen la ventaja de ser los marcadores más polimórficos del genoma, esto los convierte en una herramienta poderosa en la identificación de individuos y como es el caso, el estudio de efectos de fundador, pues al estudiarse varios marcadores las combinaciones de alelos que se pueden generar es inmensa.

Para demostrar un efecto de fundador en poblaciones humanas, es necesario que al emplear varios marcadores moleculares, preferentemente de tipo microsatélite y analizar la segregación de los genotipos encontrados, los individuos posean un haplotipo en común.

No existe un número mínimo de marcadores a emplear, sin embargo en la literatura se han descrito efectos de fundador empleando cuatro marcadores. En este trabajo se utilizaron cinco marcadores y el número de alelos encontrados en cada uno se describe a continuación.

Se identificaron 12 alelos distintos para el marcador D3S1600 y 8 para el marcador D3S1287 mediante autorradiografía. La figura 19 muestra de manera representativa los alelos presentes en el marcador D3S1600 en 7 individuos control y 7 individuos con la mutación.

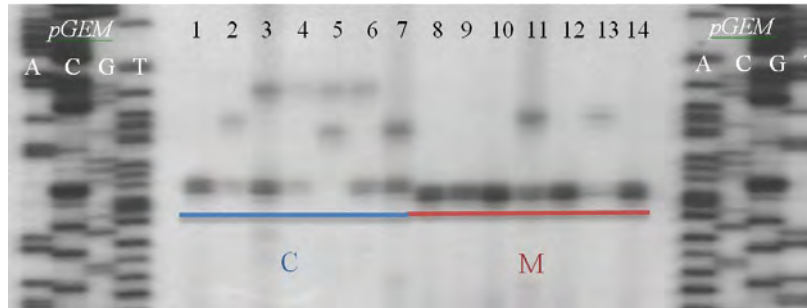


Figura 19. Autorradiografía del marcador D3S1600.

A los costados se muestra la secuencia del plásmido *pGEM* utilizado a manera de marcador de peso molecular. Los carriles 1 a 7 corresponden a muestras provenientes de individuos control, los carriles 8 a 14 corresponden a muestras provenientes de individuos mutados. Todos los individuos mutados (M) presentan de manera homocigota u heterocigota un alelo 182pb, mientras que en los individuos control (C) prevalece un alelo de 184pb.

En el caso del SNP rs3774729, que representa un cambio de adenina por guanina, el análisis mediante PCR-RFLP mostró que todos los individuos portadores de la mutación son portadores también del alelo 1 (adenina), a diferencia de los controles en los cuales prevalece el alelo 2 (guanina).

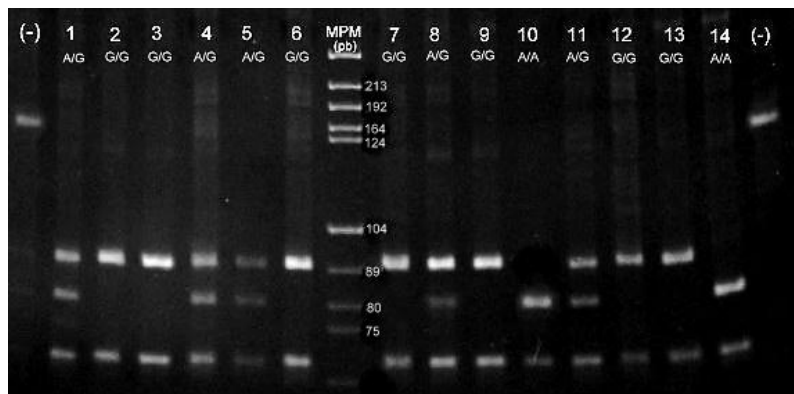


Figura 20. RFLP del rs3774729.

La fotografía muestra el resultado de una electroforesis de productos de PCR-RFLPs. El producto presenta dos sitios de restricción, el primero realiza un corte generando un producto de 68pb y otro de 98

pb. El segundo corte sólo lo realiza en presencia del alelo 1, que corresponde a la presencia de adenina, cortando el fragmento de 98pb en uno de 84pb y otro de 14 pb. Los carriles de los costados corresponden a productos de PCR sin digerir, que tienen un peso de 166pb; los genotipos de cada muestra se indican en la parte superior.

Finalmente, el análisis de los marcadores D3S3698 y D3S3566 a través de electroforesis capilar permitió la identificación de 6 alelos distintos para el marcador D3S3698 y 13 para el marcador D3S3566 en la población estudiada.

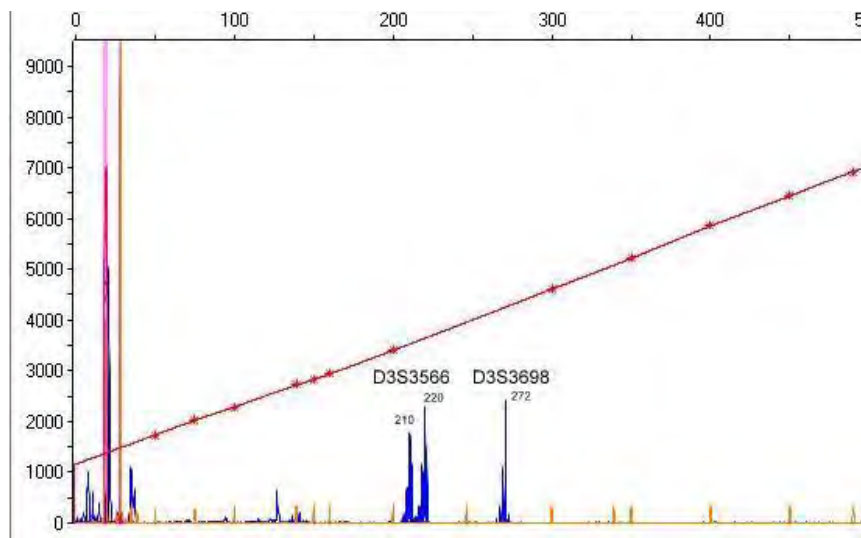


Figura 21. Análisis de fragmentos de los marcadores D3S3698 y D3S3566.

La gráfica muestra los resultados obtenidos de la electroforesis capilar de productos de PCR correspondientes a los marcadores D3S3566 y D3S3698 en un paciente. Las señales de mayor intensidad corresponden a alelos, cuyo tamaño se indica junto a cada pico.

Al haberse genotipado marcadores altamente polimórficos la información generada es vasta, la distribución completa de todos los alelos para cada marcador se muestra en el apéndice. Para fines prácticos, la siguiente tabla resume los alelos prevalentes en cada marcador analizado.

Tabla 3. Alelos más frecuentes en la población estudiada. La tabla muestra el alelo prevalente en los individuos mutados para cada marcador molecular (segunda columna). Se muestra también el número de individuos que porta dicho alelo ya sea de manera homocigota u

heterocigota, así como el porcentaje al cual corresponde ese número de individuos en cada grupo.

Marcador	Alelo prevalente	Individuos mutados *	CV*	CM *	P vs CV		P vs CM	
		(n=90)	(n=150)	(n=150)	X ²	Valor de p	X ²	Valor de p
D3S3566	6	90 (100%)	145 (96.7%)	146 (97.3%)	1.648	0.1993	1.085	0.2976
D3S3698	3	87 (96.7%)	68 (45.3%)	69 (46%)	62.57	<0.0001	61.27	<0.0001
D3S1600	1	90 (100%)	73 (48.7%)	74 (49.3%)	65.69	<0.0001	65.69	<0.0001
rs3774729	1	90 (100%)	60 (40%)	81 (54%)	83.86	<0.0001	55.88	<0.0001
D3S1287	6	90 (100%)	104 (69.3%)	110 (73.3%)	32.19	<0.0001	26.91	<0.0001

VC: Individuos control provenientes de Veracruz.

MC: Individuos control de la ciudad de México y sus alrededores.

Únicamente para el marcador D3S3566 no hay diferencias significativas entre los individuos mutados y los grupos control, tomando como valor significativo una $p < 0.01$. Un valor de p menor de 0.01 sugiere fuertemente el ligamiento del alelo a la mutación, siempre y cuando la segregación sea congruente.

7.3.6 Generación de un haplotipo en común.

Se analizó la segregación de los genotipos a lo largo de las genealogías, encontrándose, de manera congruente con los resultados mostrados en la tabla 3, que en los individuos existe un alelo que segrega de manera conjunta con la mutación para cada marcador, formando entonces un haplotipo en común, el cual es 6-3-1-(CAG)_n-1-6 en el orden D3S3566-D3S3698-D3S1600-(CAG)_n-rs3774729 como lo muestra la figura 21.

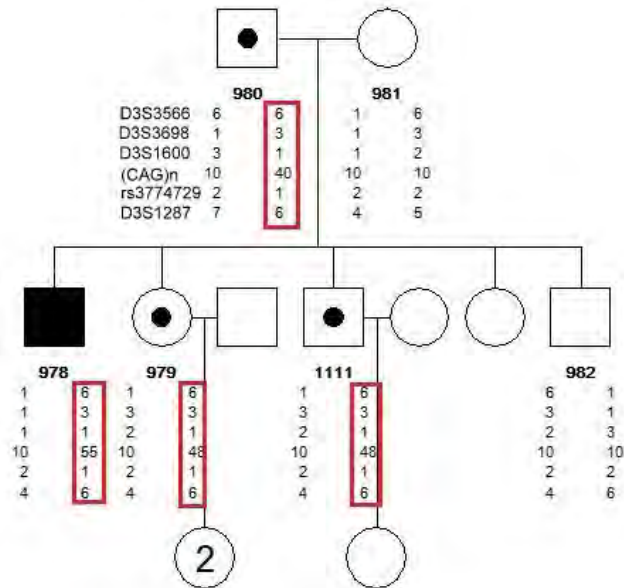


Figura 22. Haplotipo que segrega con la mutación de SCA7. La figura muestra una parte de la familia 8, en la cual es posible apreciar la segregación de los alelos asociados a la mutación.

El haplotipo identificado segregó con la mutación en 87 de los 90 pacientes de SCA7. Los tres individuos restantes difieren únicamente en el marcador D3S3698 y pertenecen a una misma familia. El haplotipo identificado en los individuos mutados no fue hallado en individuos no mutados analizados.

El identificar un haplotipo que segrega con la mutación causante de SCA7 en esta población, evidencia un efecto de fundador en ésta.

7.4 Análisis de ancestría

Una vez demostrado el efecto de fundador, es posible inferir que al seleccionar individuos de esa población, la información genética que ellos posean dentro del haplotipo, será la misma que la del resto de los individuos. Bajo esta premisa, se seleccionaron tres individuos para realizar el análisis de ancestría. Los individuos seleccionados se muestran en la figura 12 y forman una familia nuclear (madre sana y padre e hija afectados). El análisis de ancestría del genoma completo mostró que la proporción de componente indígena es la más elevada en los tres individuos (>66%) como se aprecia en la tabla 4.

Tabla 4. Ancestría global del genoma.

	% Componente africano	% Componente indígena	% Componente europeo
Padre	4.1	75.2	20.6
Madre	5.0	66.9	28.0
Hija	5.1	70.0	24.7

Sin embargo, el gen *ATXN7* se localiza en el brazo corto del cromosoma 3 (3p13-p12), y tras analizar la ancestría de este cromosoma en particular, similar a lo obtenido para el genoma completo, este cromosoma mostró tener una mayor proporción de componente indígena como lo muestra la tabla 5.

Tabla 5. Ancestría del cromosoma 3.

	% Componente africano	% Componente indígena	% Componente europeo
Padre	1.8	70.2	27.9
Madre	6.8	56.9	36.3
Hija	5.9	61.8	32.1

A pesar de que resulta interesante el conocer tanto la ancestría del genoma completo como del cromosoma, no son suficientes para conocer el origen ancestral de la mutación de *SCA7*. Para este fin, fue necesario un acercamiento más fino al cromosoma, un análisis de ancestría local que nos permitiera conocer la ancestría de este cromosoma segmento a segmento.

De manera interesante, aún cuando el componente indígena es alto en los tres individuos analizados, el análisis de ancestría local mostró que la región específica en la cual se localiza el gen *ATXN7* mutado, y que es heredada del padre a la hija afectada es de origen europeo como se puede apreciar en la figura 23.

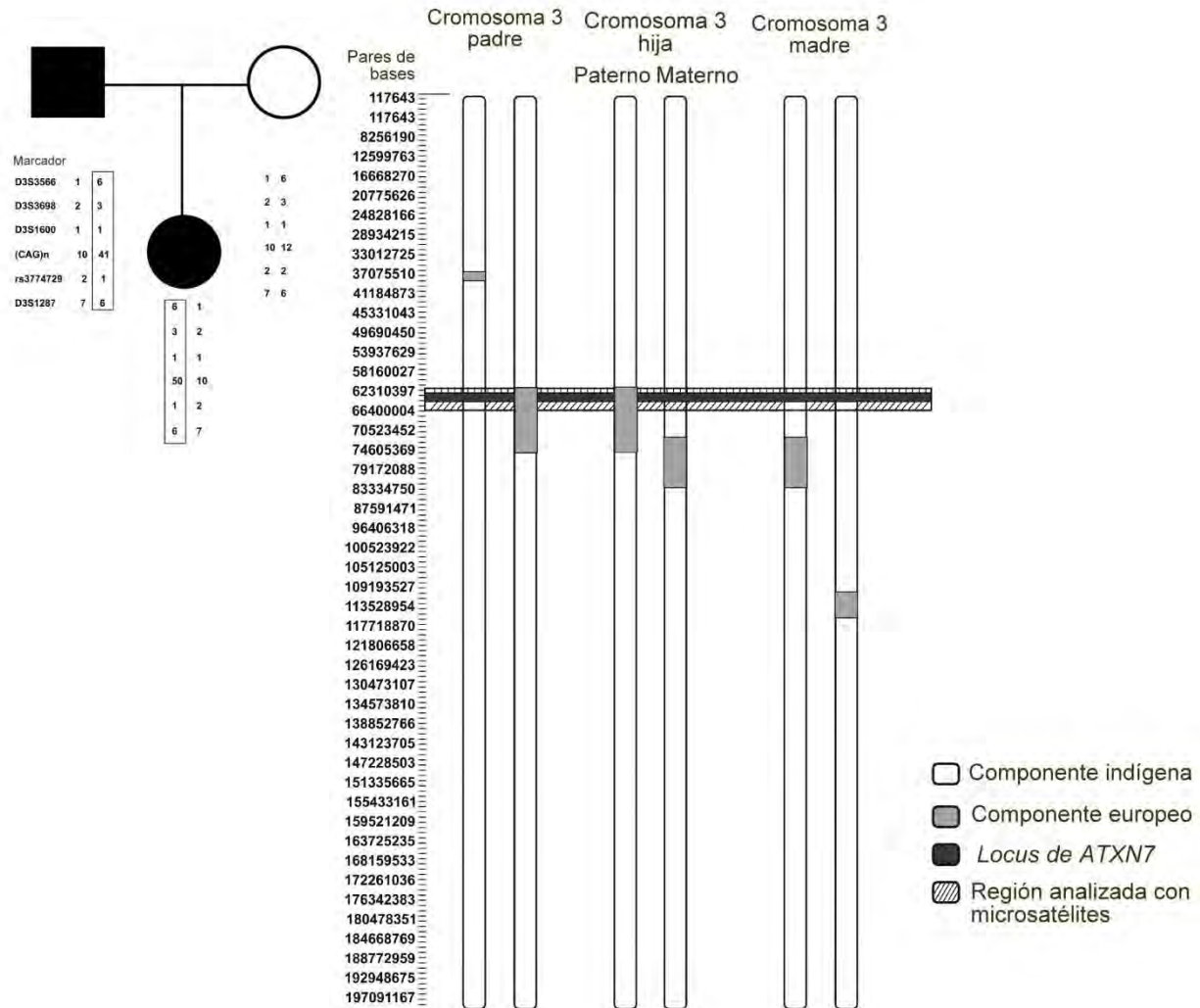


Figura 23. Análisis de ancestría local del cromosoma 3.

La imagen está elaborada a escala y representa las dos copias del cromosoma 3 de los padres y la hija estudiados y cuya genealogía se muestra a la izquierda. Como se aprecia en la gráfica, no se identificaron regiones considerables de origen africano en estos cromosomas, y de manera interesante, el gen *ATXN7* (y con ello la mutación de SCA7) se encuentra contenido en un bloque de origen europeo en los individuos mutados.

El bloque con ancestría europea identificado comprende 13 650 097pb, y al incluir en el la mutación causante de SCA7, se sugiere un origen europeo para esta mutación en la población estudiada.

7.5 Análisis de componentes principales

Con el fin de evaluar el origen particular de este bloque europeo, se realizó un análisis de componentes principales a partir de los datos obtenidos de los microarreglos para este segmento en particular, el resultado se ilustra en la figura 24.

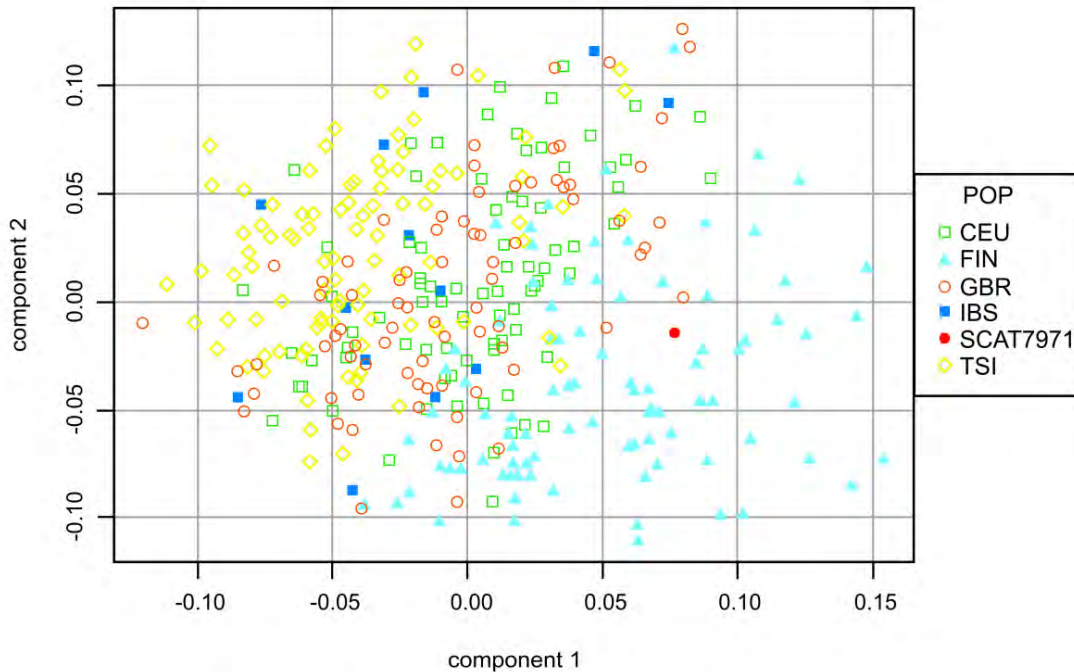


Figura 24. Análisis de componentes principales del bloque de origen europeo identificado.

Se muestra la comparación del paciente SCAT7971 con datos del proyecto de los 1000 genomas de diversas poblaciones, incluyendo ibérica de España (IBS), finlandesa de Finlandia (FIN), británica de Inglaterra y Escocia (GBR), toscana de Italia (TSI) y residentes de Utah con ascendencia del norte y oeste de Europa (CEPH, CEU).

Como se puede observar en la gráfica, el análisis reveló que este segmento tiene un mayor parecido con la población finlandesa que con las demás poblaciones estudiadas, lo cual resulta interesante al recordar que previamente se ha descrito un efecto de fundador de SCA7 para esta población.

VIII. Análisis de resultados

La ataxia espinocerebelosa tipo 7 es un padecimiento muy poco frecuente a nivel mundial, su incidencia es menor a 1 en 100 000 individuos y representa la cuarta SCA más frecuente tanto a nivel mundial como en nuestro país.^{4,17} En un estudio previo realizado por el mismo grupo de trabajo se determinó que la SCA7 representa el 7.4% de las ataxias autosómico dominantes en México, llamando la atención que mayoría de las familias analizadas provenían de una misma región geográfica localizada en la zona centro del estado de Veracruz.¹⁷ En este trabajo la muestra fue ampliada a un total de 20 familias en estudio, contemplando 181 individuos afectados o en riesgo de desarrollar la enfermedad. El 49.7% de los individuos presentó la mutación causante de SCA7, es decir, 90 de los 181 individuos estudiados, lo cual incluso refleja el carácter autosómico dominante de la enfermedad, en el cual un individuo afectado tiene el 50% de probabilidad de heredar el padecimiento a la progenie.

Estos 90 individuos mutados son provenientes de 19 de las 20 familias analizadas, la familia restante no presentó la mutación causante de SCA7, sino la mutación causante de SCA2, la cual es la SCA más frecuente en la población mexicana y ha sido previamente descrita en esta región.^{17,95} Ambos padecimientos se caracterizan por una ataxia progresiva, disartria, disfagia, signos piramidales, entre otros, sin embargo, un signo que las distingue es la pérdida progresiva de la visión en los casos de SCA7.¹ En este caso, la familia 20 presentaba además de las características en común, una disminución en la agudeza visual, sin embargo esta fue debida a miopía.

No se encontraron individuos homocigotos para la mutación causante de SCA7, esto es debido a que en ninguna de las familias se presentaron casos donde ambos progenitores estuviesen afectados. De esta manera, todos los individuos mutados presentaron un alelo normal y uno mutado.

Los alelos mutados tuvieron un rango de repetidos CAG de 36 a 100, prevaleciendo el alelo de 48 repetidos (10% de los casos). En esta serie predominaron alelos menores a 56 repetidos, lo cual implica un inicio tardío de los síntomas, es decir, posterior a la

cuarta década de la vida. Esto se vio reflejado en el hecho de que 22 individuos permanecieran aún asintomáticos al momento del estudio.

En aquellos individuos sintomáticos, la edad de inicio de los síntomas mostró una relación inversa con el número de repetidos, similar a lo descrito en otras poblaciones.⁹⁶ El individuo con mayor número de repetidos (CAG)₁₀₀ tuvo un inicio a los dos años de edad, mientras que individuos con (CAG)₄₀ presentaron síntomas hasta los 60 o 70 años.

La SCA7 es la ataxia con el fenómeno de anticipación más pronunciado, principalmente cuando el alelo mutado proviene del padre;¹⁰ este hecho se corroboró en este estudio, en el cual se observó que en 33 transmisiones hubo un incremento en el número de repetidos en el alelo mutado. Este aumento en el número de repetidos fue mayor en los casos de transmisión por vía paterna, algunos autores sugieren que este fenómeno es debido a la inestabilidad de la secuencia durante la meiosis.⁹⁷

El número de repetidos del alelo normal en estos individuos fue de 8 a 12, mientras que en ambos grupos control fue de 7 a 15, prevaleciendo el alelo de 10 repetidos (73% de los casos) y seguido del de 12 (21.5%), similar a lo descrito para otras poblaciones.⁹⁸

La secuenciación automatizada de un subconjunto de muestras confirmó el número de repetidos obtenidos por autorradiografía, y mostró que los repetidos CAG son puros, es decir, no presentan interrupciones por otras secuencias como ocurre con algunas otras ataxias espinocerebelosas, en donde se ha encontrado que la presencia de interrupciones confiere estabilidad a los repetidos durante la transmisión a la descendencia.⁹⁹

Llama la atención que en una población de 626,420 habitantes se presenten 90 casos positivos de SCA7, pues al extrapolar el número de casos positivos se tienen 14.4 casos por cada 100 000 habitantes, cuando la cifra consenso a nivel mundial es de menos de 1 caso por cada 100 000.

Comparando los resultados obtenidos en este estudio con los datos descritos en la literatura, esta es la serie más grande de casos de SCA7 a nivel mundial, seguida de

Sudáfrica y los países escandinavos, donde se han descrito series de 42 y 37 pacientes respectivamente.

La alta incidencia de padecimientos hereditarios restringidos a regiones geográficas es en muchos casos resultado de fenómenos de la genética de poblaciones, entre los cuales se encuentra el efecto de fundador, el cual implica que un individuo o un grupo muy pequeño de individuos dio origen a toda una población.

Con el fin de evaluar si los numerosos casos de SCA7 en esta población son debidos a un efecto de fundador se genotipificaron cuatro marcadores moleculares tipo microsatélite cercanos al gen *ATXN7* y un SNP intragénico. Los microsatélites son secuencias repetitivas de 2 a 5 nucleótidos cuyo número de repeticiones varía ampliamente a manera de polimorfismo. En este estudio se encontraron entre 6 a 13 alelos distintos en los marcadores tipo microsatélite empleados, lo cual nos muestra que son marcadores altamente polimórficos, y su distribución y segregación nos mostró que fueron también informativos.

Pese a la gran cantidad de combinaciones que es posible formar con los marcadores utilizados y los alelos encontrados en ellos, la segregación de los genotipos a lo largo de las genealogías permitió identificar un haplotipo en común en los individuos mutados, el cual es 6-3-1-(CAG)_n-1-6 en el orden D3S3566-D3S3698-D3S1600-(CAG)_n-rs3774729-D3S1287.

El hecho de que todos los individuos mutados presenten el mismo haplotipo, aún cuando cada uno de los marcadores es tan polimórfico confirma la existencia de un efecto de fundador en esta población.

Únicamente tres individuos de una misma familia difieren en el marcador D3S3698, lo cual puede deberse a un evento de recombinación, pues conforme el paso del tiempo y las generaciones este haplotipo se irá rompiendo, acercándose a un equilibrio de ligamiento.

El haplotipo que presentan los individuos mutados en común no puede ser comparado con los haplotipos reportados en otras publicaciones, ya que los alelos de cada

marcador son nombrados de manera arbitraria y no se especifica el tamaño exacto de cada alelo, el único polimorfismo comparable es el SNP, para el cual todos los individuos mutados presentan el alelo correspondiente a adenina tanto en este estudio como en otras publicaciones.^{82,83}

Previamente se han reportado efectos de fundador en países escandinavos y en Sudáfrica.^{82,83} Históricamente la región geográfica en la que se presentan los casos de este estudio fue una zona de paso de migrantes que arribaban al puerto de Veracruz y viajaban hacia la Ciudad de México; no se conoce alguna población migrante en particular que se haya asentado ahí. Como poblaciones nativas las regiones aledañas eran habitadas por individuos totonacas y nahuas, principalmente.¹⁰⁰

Con el fin de evaluar el origen ancestral de la región en la cual está incluida la mutación se realizó un análisis de ancestría, utilizando como poblaciones parentales individuos europeos, africanos e indígenas. El análisis mostró un alto componente indígena en estos individuos (60-70%), tanto del genoma completo como del cromosoma 3, lo cual sería sugestivo de un origen nativo para esta mutación, sin embargo, al hacer el análisis de ancestría local destaca un bloque de origen europeo heredado por el padre, tal como se observa en la figura 23. Dicho bloque contiene al gen *ATXN7* y a la mutación causante de SCA7, por lo cual se sugiere fuertemente que la mutación causante de SCA7 en estos individuos es de origen europeo.

Con el fin de realizar un acercamiento y evaluar la población europea en particular que dio origen a esta mutación se realizó un análisis de componentes principales, para el cual se utilizaron datos de poblaciones española, francesa, italiana, inglesa, finlandesa y estadounidense con ancestría europea. Es bien sabido que desde el siglo XVI han habido migraciones importantes de poblaciones europeas a nuestro país, siendo la más importante por parte de poblaciones españolas durante la época de la conquista. Además de estos eventos ha habido migración bien documentada de poblaciones francesas y estadounidenses.

De manera interesante, este análisis mostró que el segmento europeo presente en estos individuos presenta una mayor similitud con la población finlandesa, lo cual

resulta interesante puesto que previamente se ha descrito una alta incidencia de SCA7 en esa población.

No se han descrito en la literatura eventos de migración entre Finlandia y México. Existe la posibilidad de que los casos de SCA7 en México sean derivados de los casos en esta población escandinava, sin embargo se requeriría una comparación entre los pacientes con SCA7 mexicanos y finlandeses para confirmar que ambas poblaciones de SCA7 tienen un origen común. Es probable también que aún si la mutación surgió en la población escandinava haya habido posteriores eventos de recombinación y el individuo que la introdujo a nuestra población era de ancestría europea.

IX. Conclusiones

Este estudio muestra la serie más grande de pacientes con SCA7 descrita hasta el momento.

La alta frecuencia de casos de SCA7 en Veracruz es explicada por un efecto de fundador.

Los resultados de este estudio sugieren fuertemente que dicho efecto de fundador tiene un origen europeo, mostrando una mayor similitud con la población finlandesa.

X. Bibliografía

1. Klockgether T, Paulson H. Milestones in Ataxia. *Mov Dis.* 2011; 26(6): 1134-41.
2. Perlman S. Ataxias. *Clin Geriatr Med.* 2006; 22(4): 859-77.
3. Abele M, Bürk K, Schöls L, et al. The aetiology of sporadic adult-onset ataxia. *Brain.* 2002; 125(5): 961-8.
4. Sequeiros J, Martins S, Silveira I. Epidemiology and population genetics of degenerative ataxias. *Handb Clin Neurol.* 2012; 103: 227-51.
5. Sailer A, Houlden H. Recent advances in the genetics of cerebellar ataxias. *Curr Neurol Neurosci Rep.* 2012; 12(3): 227-36.
6. Durr A. Autosomal dominant cerebellar ataxias: polyglutamine expansions and beyond. *Lancet Neurol.* 2010; 9(9): 885-94.
7. Paulson H. The spinocerebellar ataxias. *J Neuroophthalmol.* 2009; 29(3): 227-37.
8. HUGO Gene Nomenclature Committee (HGNC). 2013. www.genenames.org
9. OMIM, Online Mendelian Inheritance in Man. 2013. www.ncbi.nlm.nih.gov/omim
10. Martin JJ. Spinocerebellar ataxia type 7. *Handb Clin Neurol.* 2012; 103:475-91.
11. Coutinho P, Silva MC, Goncalves AF, et al. Epidemiologia da doença de Machado-Joseph em Portugal. *Rev Port Neurol.* 1994; 3(1): 69–76.
12. van de Warrenburg BP, Sinke RJ, Verschuuren-Bemelmans CC, et al. Spinocerebellar ataxias in the Netherlands: prevalence and age at onset variance analysis. *Neurology.* 2002; 58(5): 702-8.
13. Zhao Y, Tan EK, Law HY, et al. Prevalence and ethnic differences of autosomal-dominant cerebellar ataxia in Singapore. *Clin Genet.* 2002; 62(6): 478-81.
14. Zortea M, Armani M, Pastorello E, et al. Prevalence of inherited ataxias in the province of Padua, Italy. *Neuroepidemiology.* 2004; 23(6): 275-80.
15. Jardim LB, Silveira I, Pereira ML, et al. A survey of spinocerebellar ataxia in South Brazil - 66 new cases with Machado-Joseph disease, SCA7, SCA8, or unidentified disease-causing mutations. *J Neurol.* 2001; 248(10): 870-6.
16. Infante J, Combarros O, Volpini V, et al. Autosomal dominant cerebellar ataxias in Spain: molecular and clinical correlations, prevalence estimation and survival analysis. *Acta Neurol Scand.* 2005; 111(6): 391-9.

17. Alonso E, Martínez-Ruano L, De Biase I, et al. Distinct Distribution of Autosomal Dominant Spinocerebellar Ataxia in the Mexican Population. *Mov Disord.* 2007; 22(7): 1050-3.
18. Froment, J., Bonnet, P., Colrat, A. Heredo-degenerations retinienne et spino-cerebelleuse: variantes ophtalmoscopiques et neurologiques presentees par trois generations successives. *J. Med. Lyon* 1937: 153-163,.
19. David G, Giunti P, Abbas N, et al. The gene for autosomal dominant cerebellar ataxia type II is located in a 5-cM region in 3p12-p13: genetic and physical mapping of the SCA7 locus. *Am J Hum Genet.* 1996; 59(6): 1328-36.
20. David G, Abbas N, Stevanin G, et al. Cloning of the SCA7 gene reveals a highly unstable CAG repeat expansion. *Nat Genet.* 1997; 17(1): 65-70.
21. Ensembl Genome Browser. 2013. www.ensembl.org
22. Sequeiros J, Seneca S, Martindale J. Consensus and controversies in best practices for molecular genetic testing of spinocerebellar ataxias. *Eu J Hum Genet.* 2010; 18: 1188-95.
23. van de Warrenburg BP, Frenken CW, Ausems MG, et al. Striking anticipation in spinocerebellar ataxia type 7: the infantile phenotype. *J Neurol.* 2001; 248(10): 911-4.
24. Einum DD, Clark AM, Townsend JJ, et al. A novel central nervous system-enriched spinocerebellar ataxia type 7 gene product. *Arch Neurol.* 2003; 60(1): 97-103.
25. NCBI National Center for Biotechnology Information. 2013. www.ncbi.nlm.nih.gov
26. van der Heijden CD, Rijpkema M, Arias-Vásquez A, et al. Genetic variation in ataxia gene *ATXN7* influences cerebellar grey matter volume in healthy adults. *Cerebellum.* 2013; 12(3): 390-5.
27. Scheel H, Tomiuk S, Hofmann K. Elucidation of ataxin-3 and ataxin-7 function by integrative bioinformatics. *Hum Mol Genet.* 2003; 12(21): 2845-52.
28. Ström AL, Jonasson J, Hart P, et al. Cloning and expression analysis of the murine homolog of the spinocerebellar ataxia type 7 (SCA7) gene. *Gene.* 2002; 285(1-2): 91-9.
29. GeneCards - The Human Gene Compendium. 2013. www.genecards.org

30. SABiosciences' Text Mining Application. 2013. www.sabiosciences.com
31. UCSC Genome Bioinformatics. 2013. genome.ucsc.edu/
32. Sopher BL, Ladd PD, Pineda VV, et al. CTCF regulates ataxin-7 expression through promotion of a convergently transcribed, antisense noncoding RNA. *Neuron*. 2011; 70(6): 1071-84.
33. Phillips JE, Corces VG. CTCF: master weaver of the genome. *Cell*. 2009; 137(7): 1194–1211.
34. Phosphosite Plus. 2013. www.phosphosite.org
35. UniProtKB, Protein knowledge base. 2013. www.uniprot.org
36. PDBe Protein Data Bank Europe. 2013. www.ebi.ac.uk/pdbe
37. Latouche M, Fragner P, Martin E, et al. Polyglutamine and polyalanine expansions in ataxin-7 result in different types of aggregation and levels of toxicity. *Mol Cell Neurosci*. 2006; 31(3): 438-445.
38. Lebre AS, Jamot L, Takahashi J, et al. Ataxin-7 interacts with a Cbl-associated protein that it recruits into neuronal intranuclear inclusions. *Hum Mol Genet*. 2011; 10(11): 1201-13.
39. Cancel G, Duyckaerts C, Holmberg M, et al. Distribution of ataxin-7 in normal human brain and retina. *Brain*. 2000; 123 (12): 2519-2530.
40. Kaytor MD, Duvick LA, Skinner PJ, et al. Nuclear localization of the spinocerebellar ataxia type 7 protein, ataxin-7. *Hum Mol Genet*. 1999; 8(9): 1657-64.
41. Gavin AC, Bösch M, Krause R, et al. Functional organization of the yeast proteome by systematic analysis of protein complexes. *Nature*. 2002; 415(6868): 141-7.
42. Sanders SL, Jennings J, Canutescu A, et al. Proteomics of the eukaryotic transcription machinery: identification of proteins associated with components of yeast TFIID by multidimensional mass spectrometry. *Mol Cell Biol*. 2002; 22(13): 4723-38.
43. Helmlinger D, Hardy S, Sasorith S, et al. Ataxin-7 is a subunit of GCN5 histone acetyltransferase-containing complexes. *Hum Mol Genet*. 2004; 13(12): 1257-65.

44. McCullough SD, Grant PA. Histone acetylation, acetyltransferases, and ataxia-- alteration of histone acetylation and chromatin dynamics is implicated in the pathogenesis of polyglutamine-expansion disorders. *Adv Protein Chem Struct Biol.* 2010; 79(1): 165-203.
45. Palhan VB, Chen S, Peng GH, et al. Polyglutamine-expanded ataxin-7 inhibits STAGA histone acetyltransferase activity to produce retinal degeneration. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2005; 102(24): 8472-7.
46. Helmlinger D, Hardy S, Abou-Sleymane G, et al. Glutamine-Expanded Ataxin-7 Alters TFTC/STAGA Recruitment and Chromatin Structure Leading to Photoreceptor Dysfunction. *PLoS Biol.* 2006; 4(3): e67.
47. Ström AL, Forsgren L, Holmberg M. A role for both wild-type and expanded ataxin-7 in transcriptional regulation. *Neurobiol Dis.* 2005; 20(5): 646-55.
48. La Spada AR, Fu YH, Sopher BL, et al. Polyglutamine-expanded ataxin-7 antagonizes CRX function and induces cone-rod dystrophy in a mouse model of SCA7. *Neuron.* 2001; 31(6): 913-27.
49. STRING - Known and Predicted Protein-Protein Interactions. 2013. string-db.org
50. Kahle JJ, Gulbahce N, Shaw CA, et al. Comparison of an extended ataxia interactome with patient medical records reveals a relationship between macular degeneration and ataxia. *Hum Mol Genet.* 2011; 20(3): 510-27.
51. Lim J, Hao T, Shaw C, et al. A protein-protein interaction network for human inherited ataxias and disorders of Purkinje cell degeneration. *Cell.* 2006; 125(4): 801-14.
52. Hands SL, Wytenbach A. Neurotoxic protein oligomerisation associated with polyglutamine diseases. *Acta Neuropathol.* 2010; 120(4): 419-37.
53. Scherzinger E, Sittler A, Schweiger K, et al. Self-assembly of polyglutamine-containing huntingtin fragments into amyloid-like fibrils: implications for Huntington's disease pathology. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1999; 96(8): 4604-9.
54. Wong E, Cuervo AM. Integration of clearance mechanisms: the proteasome and autophagy. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2010; 2(12): Epub : a006734.

55. Yu X, Ajayi A, Boga NR, et al. Differential Degradation of Full-length and Cleaved Ataxin-7 Fragments in a Novel Stable Inducible SCA7 Model. *J Mol Neurosci*. 2012; 47(2): 219-33.
56. Bennett EJ, Bence NF, Jayakumar R, et al. Global impairment of the ubiquitin-proteasome system by nuclear or cytoplasmic protein aggregates precedes inclusion body formation. *Mol Cell*. 2005; 17(3): 351-65.
57. Holmberg CI, Staniszewski KE, Mensah KN, et al. Inefficient degradation of truncated polyglutamine proteins by the proteasome. *EMBO J*. 2004; 23(21): 4307-18.
58. Matilla A, Gorbea C, Einum DD, et al. Association of ataxin-7 with the proteasome subunit S4 of the 19S regulatory complex. *Hum Mol Genet*. 2001; 10(24): 2821-31.
59. Wang HL, He CY, Chou AH, et al. Polyglutamine-expanded ataxin-7 decreases nuclear translocation of NF-kappaB p65 and impairs NF-kappaB activity by inhibiting proteasome activity of cerebellar neurons. *Cell Signal*. 2007; 19(3): 573-81.
60. Michalik A, Van Broeckhoven C. Proteasome degrades soluble expanded polyglutamine completely and efficiently. *Neurobiol Dis*. 2004; 16(1): 202-11.
61. Pratt G, Rechsteiner M. Proteasomes cleave at multiple sites within polyglutamine tracts: activation by PA28gamma (K188E). *J Biol Chem*. 2008; 283(19): 12919-25.
62. Wellington CL, Ellerby LM, Hackam AS, et al. Caspase cleavage of gene products associated with triplet expansion disorders generates truncated fragments containing the polyglutamine tract. *J Biol Chem*. 1998; 273(15): 9158-67.
63. Ellerby LM, Andrusiak RL, Wellington CL, et al. Cleavage of atrophin-1 at caspase site aspartic acid 109 modulates cytotoxicity. *J Biol Chem*. 1999; 274(13): 8730-6.
64. Zhou H, Cao F, Wang Z, et al. Huntingtin forms toxic NH2-terminal fragment complexes that are promoted by the age-dependent decrease in proteasome activity. *J Cell Biol*. 2003; 163(1): 109-18.

65. Wellington CL, Ellerby LM, Gutekunst CA, et al. Caspase cleavage of mutant huntingtin precedes neurodegeneration in Huntington's disease. *J Neurosci.* 2002; 22(18): 7862-72.
66. Young JE, Gouw L, Propp S, et al. Proteolytic cleavage of ataxin-7 by caspase-7 modulates cellular toxicity and transcriptional dysregulation. *J Biol Chem.* 2007; 282(41): 30150-60.
67. Wang HL, Yeh TH, Chou AH, et al. Polyglutamine-expanded ataxin-7 activates mitochondrial apoptotic pathway of cerebellar neurons by upregulating Bax and downregulating Bcl-xL. *Cell Signal.* 2006; 18(4): 541-52.
68. Johansson J, Forsgren L, Sandgren O, et al. Expanded CAG repeats in Swedish spinocerebellar ataxia type 7 (SCA7) patients: effect of CAG repeat length on the clinical manifestation. *Hum Mol Genet.* 1998; 7(2): 171-6.
69. Gouw LG, Castañeda MA, McKenna CK, et al. Analysis of the dynamic mutation in the SCA7 gene shows marked parental effects on CAG repeat transmission. *Hum Mol Genet.* 1998; 7(32): 525-32.
70. David G, Dürr A, Stevanin G, et al. Molecular and clinical correlations in autosomal dominant cerebellar ataxia with progressive macular dystrophy (SCA7). *Hum Mol Genet.* 1998; 7(2): 165-70.
71. Michalik A, Martin JJ, Van Broeckhoven C. Spinocerebellar ataxia type 7 associated with pigmentary retinal dystrophy. *Eur J Hum Genet.* 2004; 12(1): 2-15.
72. Horton LC, Frosch MP, Vangel MG, et al. Spinocerebellar Ataxia Type 7: Clinical Course, Phenotype-Genotype Correlations, and Neuropathology. *Cerebellum.* 2012; 12(2):176-93.
73. Benton CS, de Silva R, Rutledge SL, et al. Molecular and clinical studies in SCA-7 define a broad clinical spectrum and the infantile phenotype. *Neurology.* 1998; 51(4): 1081-6.
74. Ansorge O, Giunti P, Michalik A, et al. Ataxin-7 aggregation and ubiquitination in infantile SCA7 with 180 CAG repeats. *Ann Neurol.* 2004; 56(3): 448-52.
75. Jöbsis GJ, Weber JW, Barth PG, et al. Autosomal dominant cerebellar ataxia with retinal degeneration (ADCA II): clinical and neuropathological findings in two

- pedigrees and genetic linkage to 3p12-p21.1. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1997; 62(4): 367-71.
76. Popiel HA, Burke J, Strittmatter W, et al. The Aggregation Inhibitor Peptide QBP1 as a Therapeutic Molecule for the Polyglutamine Neurodegenerative Diseases. *J Amino Acids*. 2011; Epub: ID 265084.
77. Scholefield J, Wood MJ. Therapeutic gene silencing strategies for polyglutamine disorders. *Trends Genet*. 2010; 26(1): 29-38.
78. Chang YK, Chen MH, Chiang YH, et al. Mesenchymal stem cell transplantation ameliorates motor function deterioration of spinocerebellar ataxia by rescuing cerebellar Purkinje cells. *J Biomed Sci*. 2011; 18: 54-63.
79. Marmolino D, Manto M. Past, Present and Future Therapeutics for Cerebellar Ataxias. *Curr Neuropharmacol*. 2010; 8(1): 41-61.
80. Stevanin G, David G, Dürr A, et al. Multiple origins of the spinocerebellar ataxia 7 (SCA7) mutation revealed by linkage disequilibrium studies with closely flanking markers, including an intragenic polymorphism (G3145TG/A3145TG). *Eur J Hum Genet*. 1999; 7(8): 889-96.
81. Genetics Home Reference, 2013. <http://ghr.nlm.nih.gov>.
82. Jonasson J, Juvonen V, Sistonen P, et al. Evidence for a common Spinocerebellar ataxia type 7 (SCA7) founder mutation in Scandinavia. *Eur J Hum Genet*. 2000; 8(12): 918-922.
83. Greenberg J, Solomon GA, Vorster AA, et al. Origin of the SCA7 gene mutation in South Africa: implications for molecular diagnostics. *Clin Genet*. 2006; 70(5): 415-7.
84. Hernandez-Castillo CR, Alcauter S, Galvez V, et al. Disruption of visual and motor connectivity in spinocerebellar ataxia type 7. *Mov Disord*. 2013; 28(12):1708-16.
85. Instituto Nacional de Estadística y Geografía. 2010. www.inegi.org.mx
86. Sequeiros J, Martindale J, Seneca, et al. EMQN Best Practice Guidelines for molecular genetic testing of SCAs. *Eu J Human Genet*. 2010; 18(11): 1173-77.
87. Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res*. 1988; 16(3):1215

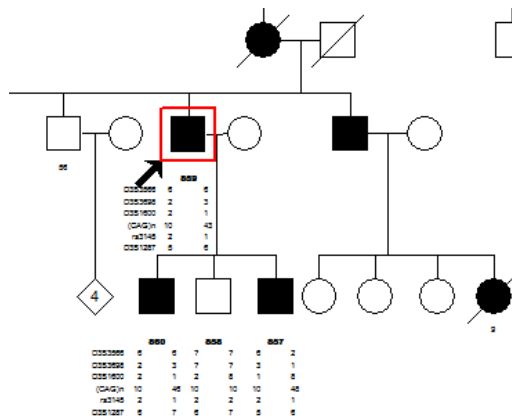
88. Purcell S, Neale B, Todd-Brown K, et al. PLINK: a tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses. *Am J Hum Genet.* 2007; 81(3): 559-75.
89. International HapMap Project. 2013. hapmap.ncbi.nlm.nih.gov
90. Alexander DH, Novembre J, Lange K. Fast model-based estimation of ancestry in unrelated individuals. *Genome Res.* 2009; 19(9): 1655-64.
91. Brisbin A, Bryc K, Byrnes J, et al. PCAdmix: principal components-based assignment of ancestry from two or more populations. *Hum. Biol.* 2012; 84(4):343-64.
92. Browning BL, Browning SR. A unified approach to genotype imputation and haplotype phase inference for large data sets of trios and unrelated individuals. *Am J Hum Genet.* 2009; 84(2): 210-23.
93. Price AL, Patterson NJ, Plenge RM, et al. Principal components analysis corrects for stratification in genome-wide association studies. *Nat Genet* 2006; 38(8):904-9.
94. 1000 Genomes. A deep catalog of human variation. 2013. www.1000genomes.org
95. Magaña J, Tapia-Guerrero Y, Velázquez-Pérez L, et al. Analysis of CAG repeats in five SCA loci in Mexican population: Epidemiological evidence of a SCA7 founder effect. *Clin Genet.* 2013. [Epub ahead of print]
96. Schöls L, Bauer P, Schmidt T, et al. Autosomal dominant cerebellar ataxias: clinical features, genetics, and pathogenesis. *Lancet Neurol.* 2004;3(5):291-304.
97. Monckton DG, Cayuela ML, Gould FK, et al. Very large (CAG)(n) DNA repeat expansions in the sperm of two spinocerebellar ataxia type 7 males. *Hum Mol Genet.* 1999;8(13):2473-8.
98. Majounie E, Wardle M, Muzaimi M, et al. Case control analysis of repeat expansion size in ataxia. *Neurosci Lett.* 2007;429(1):28-32.
99. Rasmussen A, De Biase I, Fragos-Benítez M, et al. Anticipation and intergenerational repeat instability in spinocerebellar ataxia type 17. *Ann Neurol.* 2007; 61(6): 607-10.

100. Bermúdez Gilberto. Historia de Jalapa siglo XVII. Universidad Veracruzana, 1995: 11-147.

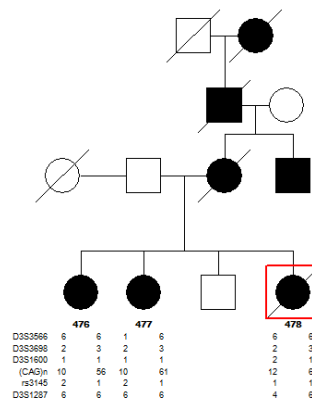
XI. Apéndice

11.1 Genealogías de las familias analizadas.

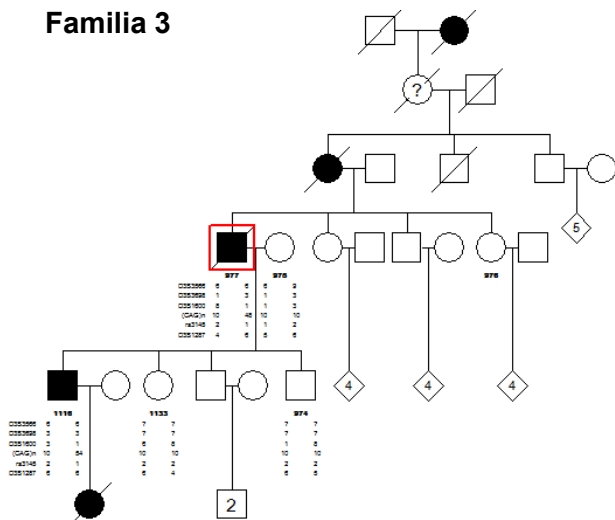
Familia 1.



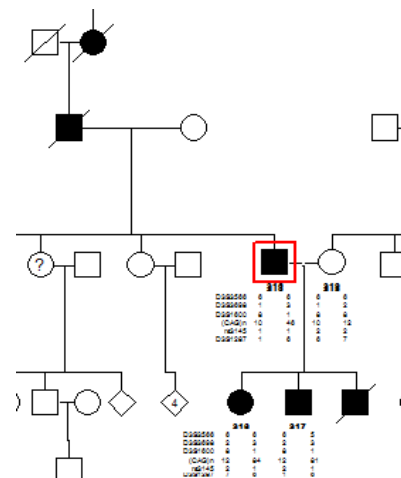
Familia 2



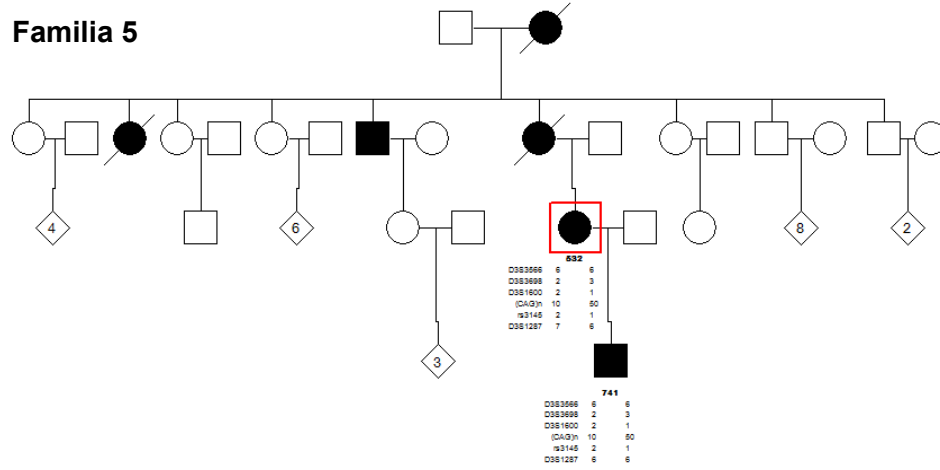
Familia 3



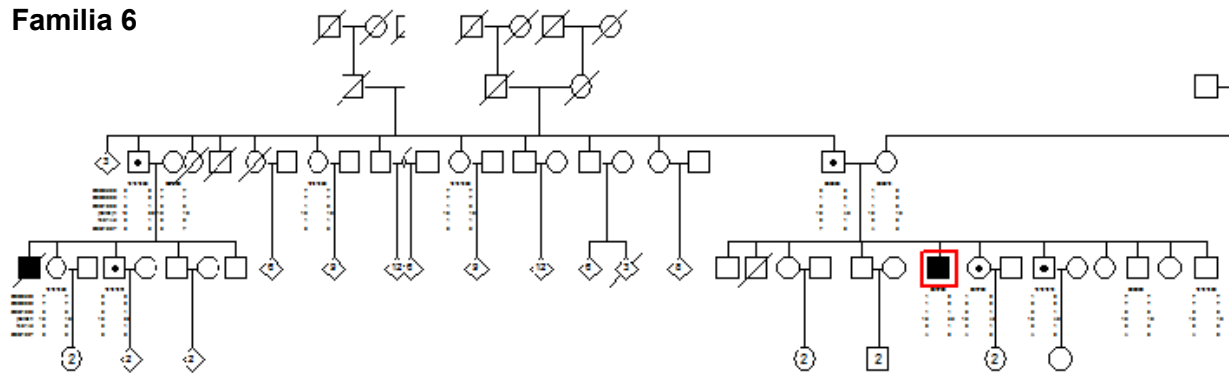
Familia 4



Familia 5



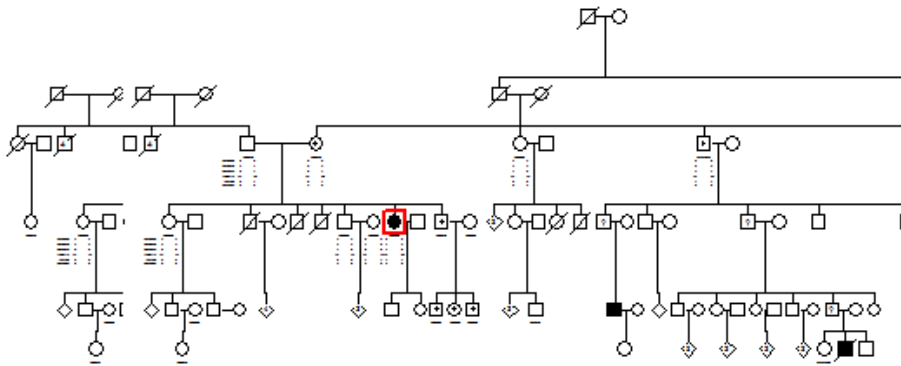
Familia 6



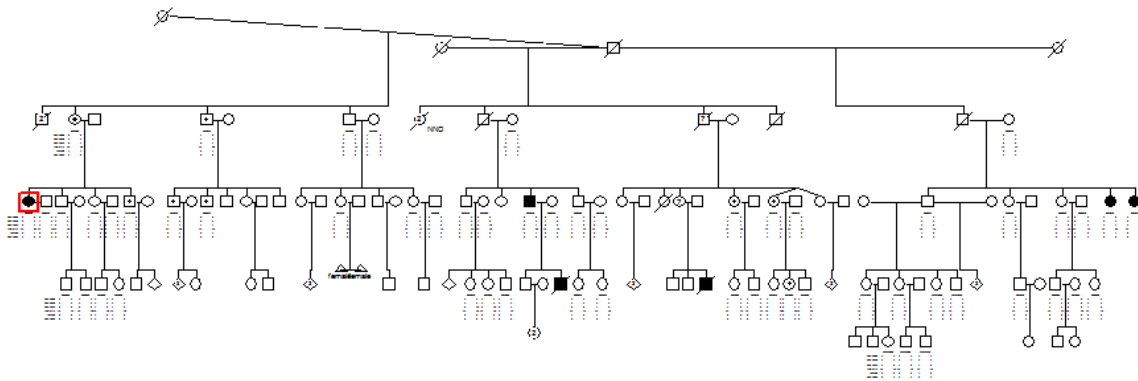
Familia 7



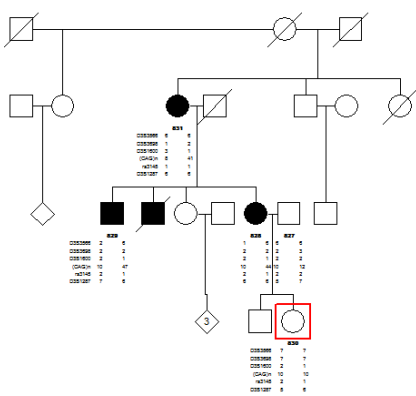
Familia 8.



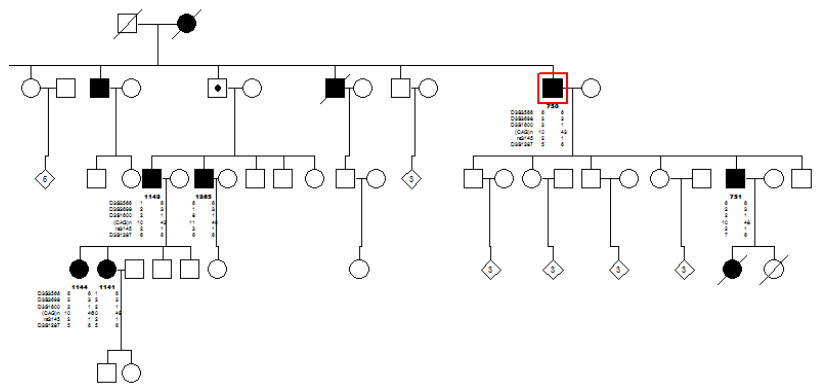
Familia 9



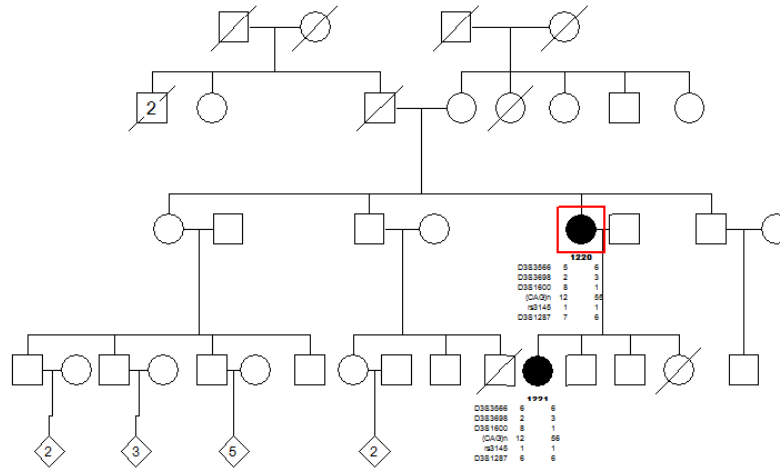
Familia 10



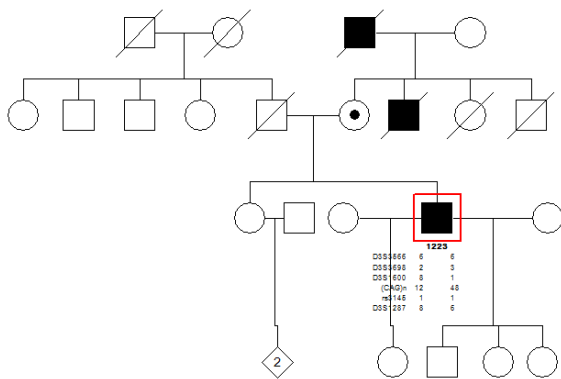
Familia 11



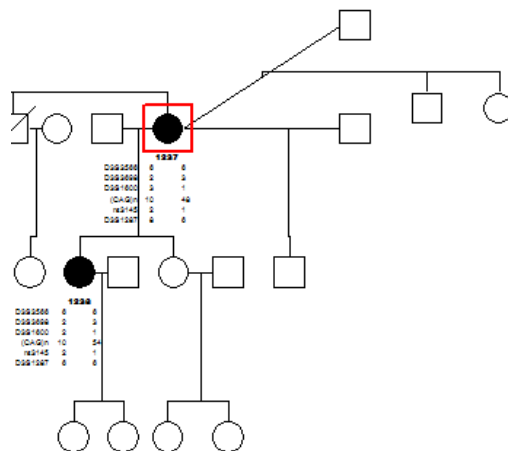
Familia 12.



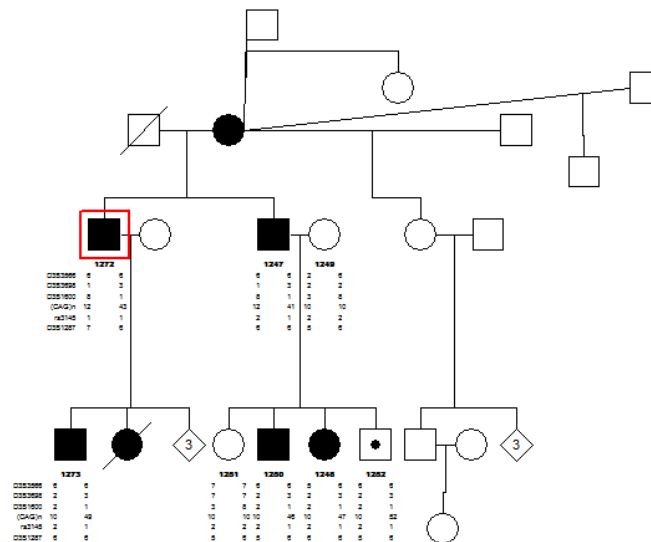
Familia 13.



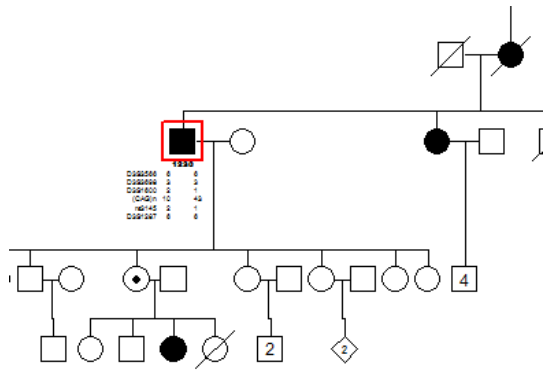
Familia 14



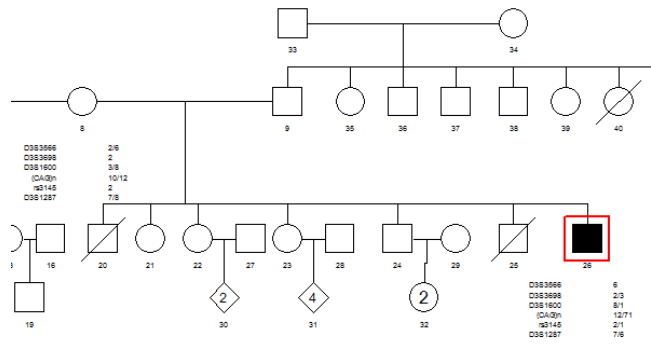
Familia 15



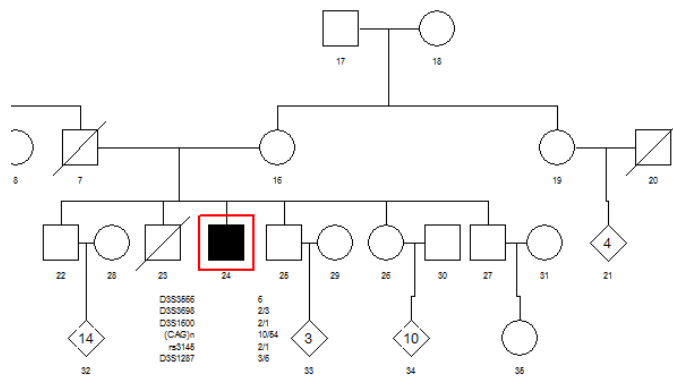
Familia 16.



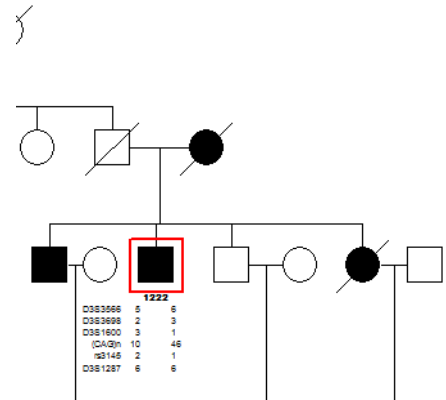
Familia 17.



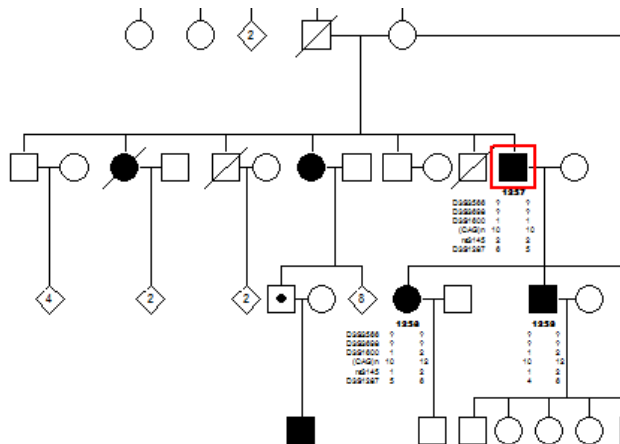
Familia 18.



Familia 19.



Familia 20.



11.2. Reactivos y condiciones de reacción empleadas.

Tabla 1. Oligonucleótidos utilizados.

Región blanco	Secuencia	Tamaño del producto esperado
(CAG)n	5'- TAGGAGCGGAAAGAATGTCGG-3'	280 pb
	5'- ACTTCAGGACTGGGCAGAGG-3'	
D3S1287	5'-ATAACACAACAAGCAAGCCTATGGT-3'	255-263 pb
	5'-GAGTGACATTTGCCCTTTG-3'	
D3S1600	5'-ATCACCATCATCTGCCTGTC-3'	182-198 pb
	5'-TGCTTGCCTTGGGATTTA-3'	
rs3774729	5'-AGGAAAGAAAAGAAAGTG-3'	166 pb
	5'-TGGCTGATGAAGGAGGGA-3'	
D3S3698	5'-6FAM-GGTTACCAGGGTCTGGG-3'	270-278 pb
	5'-GAAGAGATTACCATAATGAAGCC-3'	
D3S3566	5'-6FAM-AGCCCACACATCACTGGT-3'	218-234 pb
	5'-TGGTTTTACTCAAGGGATTCTC-3'	

Tabla 2. Reactivos utilizados en PCRs de punto final (monoplex).

Reactivo	(CAG)n	D3S1287	D3S1600	rs3774729
DNA [100ng/μL]	4 μL	2 μL	2 μL	2 μL
Oligonucleótido sentido [10 μM]	1 μL	2 μL	2 μL	1 μL
Oligonucleótido antisentido [10 μM]	1 μL	2 μL	2 μL	1 μL
Master Mix	10 μL	10 μL	10 μL	10 μL
DMSO	2 μL	-	-	-
α32-dCTP	0.05 μL	0.1 μL	0.1 μL	-
H₂O	1.95 μL	3.9 μL	3.9 μL	6 μL
Volumen final	20 μL	20 μL	20 μL	20 μL

Tabla 3. Reactivos y volúmenes utilizados por cada PCR empleando oligonucleótidos marcados con fluorescencia (multiplex).

Reactivo		Volumen
DNA	[60ng/ μ L]	1 μ L
Oligonucleótido sentido D3S3698	[5 μ M]	1 μ L
Oligonucleótido antisentido D3S3698	[5 μ M]	1 μ L
Oligonucleótido sentido D3S3566	[5 μ M]	1 μ L
Oligonucleótido antisentido D3S3566	[5 μ M]	1 μ L
True Allele Premix		9 μ L
H ₂ O		2 μ L
Volumen final		16 μL

Tabla 4. Reactivos y volúmenes empleados en la reacción de secuenciación.

Reactivo	Volumen	
Producto de PCR	[~100 ng/ μ L]	2 μ L
Oligonucleótido sentido	[10 ng/ μ L]	1 μ L
Amortiguador	[5 x]	3.5 μ L
Big Dye		1.5 μ L
H ₂ O libre de RNAsas		12 μ L
Volumen final		20 μL

Tabla 5. Condiciones de reacción

Región blanco	(CAG)n		D3S1287		D3S1600		rs3774729		Secuenciación	
	T°C	t(s)	T°C	t(s)	T°C	t(s)	T°C	t(s)	T°C	t(s)
Desnaturalización inicial	94	600	94	600	94	600	94	600	96	30
Desnaturalización	94	60	94	60	94	60	94	60	95	30
Hibridación	58	60	60.5	60	58	60	56	60	50	10
Extensión	72	120	72	120	72	120	72	120	60	240
Extensión final	72	300	72	300	72	300	72	300	72	60
No. ciclos	25		25		25		25		25	

Tabla 6. Condiciones de reacción para los marcadores D3S3698 y D3S3566.

Fase	T	t	Ciclos
Desnaturalización inicial	95°C	12 min	1
Desnaturalización	94°C	15s	10
Hibridación	55°C	15s	
Extensión	72°C	30s	
Desnaturalización	89°C	15s	20
Hibridación	55°C	15s	
Extensión	72°C	30s	
Extensión final	72°C	10 min	1

11.3 Distribución de los alelos identificados en los marcadores moleculares

Los alelos encontrados en cada marcador fueron nombrados de acuerdo a su tamaño, siendo el alelo 1 el más pequeño. En el caso del SNP rs3774729 el alelo 1 corresponde a la presencia de adenina, mientras que el alelo dos representa al alelo de guanina.

Las tablas muestra el número de individuos que porta cada alelo ya sea de manera homocigota o heterocigota. Entre paréntesis se muestra el porcentaje al que corresponde ese número de individuos para cada grupo de estudio.

Tabla 1. Alelos presentes para el marcador D3S1600.

Alelo	Tamaño (p.b.)	Individuos mutados,(%)	Individuos CV, (%)	Individuos CM, (%)
		n=90	n=150	n=150
1	182	90 (100%)	73 (48.67%)	74 (49.33%)
2	184	39 (43.33%)	92 (61.33%)	76 (50.67%)
3	186	10 (11.11%)	30 (20%)	36 (24.0%)
4	188	0 (0%)	1 (0.67%)	1 (0.67%)
5	190	0 (0%)	3 (2%)	0 (0%)
6	192	0 (0%)	2 (1.33%)	1 (0.67%)
7	194	0 (0%)	2 (1.33%)	10 (6.67%)
8	196	21 (23.33%)	57 (38%)	59 (39.33%)
9	198	0 (0%)	1 (0.67%)	2 (1.33%)
10	200	0 (0%)	1 (0.67%)	6 (4.0%)
11	202	0 (0%)	1 (0.67%)	4 (2.66%)

12	204	0 (0%)	3 (2%)	0 (0%)
----	-----	--------	--------	--------

Tabla 2. Alelos presentes para el marcador D3S1287.

Alelo	Tamaño (p.b.)	Individuos mutados, (%)	Individuos CV, (%)	Individuos CM, (%)
		n=90	n=150	n=150
1	243 pb	2 (2.22%)	0 (0%)	0 (0%)
2	245 pb	1(1.11%)	1 (0.67%)	0 (0%)
3	247 pb	3 (3.33%)	3 (2%)	1 (0.67%)
4	249 pb	9 (10%)	23 (15.33%)	15 (10%)
5	251 pb	12 (13.33%)	62 (41.33%)	37 (24.67%)
6	253 pb	90 (100%)	104 (69.33%)	110 (73.33%)
7	255 pb	20 (22.22%)	62 (41.33%)	76 (50.67%)
8	257 pb	7 (7.78)	5 (3.33)	11 (7.33%)

Tabla 3. Alelos del SNP rs3774729.

Alelo	Nucleótido	Individuos mutados (%),	Individuos CV (%),	Individuos CM (%),
		n=90	n=150	n=150
1	A	90 (100%)	60 (40%)	81 (54%)
2	G	70 (77.78%)	143 (95.33%)	140 (93.33%)

Tabla 4. Alelos presentes en el marcador D3S3698.

Alelo	Tamaño	Individuos mutados (%),	Individuos CV (%),	Individuos CM (%),
		n=90	n=150	n=150
1	268	21 (23.33%)	75 (50.0%)	71 (47.33%)
2	270	56 (62.22%)	105 (70.0%)	113 (75.33%)
3	272	87 (96.67%)	68 (45.33%)	69 (46%)
4	274	0 (0%)	4 (2.67%)	5 (3.33%)
5	276	0 (0%)	2 (1.33%)	1 (0.67%)
6	278	0 (0%)	0 (0%)	1 (0.67%)

Tabla 5. Alelos presentes en el marcador D3S3566.

Alelo	Tamaño	Individuos mutados (%), n=90	Individuos CV (%), n=150	Individuos CM (%), n=150
1	206	16 (17.78%)	7 (4.67%)	15 (10%)
2	210	3 (3.33%)	27 (18.0%)	30 (20%)
3	212	0 (0%)	0 (0%)	2 (1.33%)
4	216	0 (0%)	8 (5.33%)	4 (2.67%)
5	218	4 (4.44%)	13 (8.67%)	31 (20.67%)
6	220	90 (100%)	145 (96.67%)	146 (97.33%)
7	222	2 (2.22%)	3 (2%)	6 (4%)
8	224	0 (0%)	4 (2.67%)	3 (2%)
9	226	1 (1.11%)	2 (1.33%)	2 (1.33%)
10	228	1 (1.11%)	2 (1.33%)	0 (0%)
11	230	0 (0%)	1 (0.67%)	1 (0.67%)
12	232	0 (0%)	0 (0%)	2 (1.33%)
13	234	0 (0%)	6 (4%)	2 (1.33%)

Founder effect and ancestral origin of the spinocerebellar ataxia type 7 (SCA7) mutation in Mexican families

Lizbeth E. García-Velázquez · Samuel Canizales-Quinteros · Sandra Romero-Hidalgo · Adriana Ochoa-Morales · Leticia Martínez-Ruano · Carla Márquez-Luna · Víctor Acuña-Alonzo · M. Teresa Villarreal-Molina · M. Elisa Alonso-Vilatelá · Petra Yescas-Gómez

Received: 19 November 2013 / Accepted: 4 December 2013
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2013

Abstract Spinocerebellar ataxia type 7 (SCA7) is an autosomal dominant disease characterized by progressive cerebellar ataxia and macular degeneration causing progressive blindness. It accounts for 1 to 11.6 % of spinocerebellar ataxias (SCAs) cases worldwide and for 7.4 % of SCA7 cases in Mexico. We identified a cluster of SCA7 families who resided in a circumscribed area of Veracruz and investigated whether the high incidence of the disease in this region was due to a founder effect. A total of 181 individuals from 20 families were studied. Four microsatellite markers and one SNP flanking the *ATXN7* gene were

genotyped and the ancestral origin and local ancestry analysis of the SCA7 mutation were evaluated. Ninety individuals from 19 families had the SCA7 mutation; all were found to share a common haplotype, suggesting that the mutation in these families originated from a common ancestor. Ancestral origin and local ancestry analysis of SCA7 showed that the chromosomal segment containing the mutation was of European origin. We here present evidence strongly suggesting that the high frequency of SCA7 in Veracruz is due to a founder effect and that the mutation is most likely of European origin with greatest resemblance to the Finnish population.

Keywords Spinocerebellar ataxia type 7 (SCA7) · *ATXN7* · Founder effect · Ancestral origin · Mexican population

L. E. García-Velázquez · A. Ochoa-Morales · L. Martínez-Ruano · M. E. Alonso-Vilatelá
Departamento de Neurogenética, Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía “Manuel Velasco Suárez”, Insurgentes Sur 3877, Col. La Fama Tlalpan Mexico City 14269, Mexico

L. E. García-Velázquez · S. Canizales-Quinteros
Unidad de Genómica de Poblaciones Aplicada a la Salud, Facultad de Química, UNAM - Instituto Nacional de Medicina Genómica, Mexico City, PC 14610, Mexico

S. Romero-Hidalgo · C. Márquez-Luna
Consortio Genómica Computacional, Instituto Nacional de Medicina Genómica, Mexico City, PC 14610, Mexico

V. Acuña-Alonzo
Escuela Nacional de Antropología e Historia (ENAH), Molecular Genetics Laboratory, Mexico City, PC 14030, Mexico

M. T. Villarreal-Molina
Consortio de Enfermedades Cardiovasculares y Óseas, Instituto Nacional de Medicina Genómica, Mexico City, PC 14610, Mexico

Present Address:
P. Yescas-Gómez (✉)
Departamento de Neurogenética, Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía “Manuel Velasco Suárez”, Insurgentes Sur 3877, Col. La Fama Tlalpan Mexico City 14269, Mexico
e-mail: yescasp@gmail.com

Introduction

Spinocerebellar ataxia type 7 (SCA7, OMIM#164500) is an autosomal dominant disease characterized by progressive cerebellar ataxia, including dysarthria, dysphagia, and cone-rod dystrophy with progressive central visual loss and is the only spinocerebellar ataxia (SCA) where patients suffer visual acuity decline [1]. SCA7 is caused by an abnormal cytosine-adenine-guanine (CAG) repeat expansion in the *ATXN7* gene [2, 3]. The number of CAG repeats is highly polymorphic, normally ranging from 4 to 27, while the pathogenic range is 36 to more than 300 repeats [4–6]. An intermediate range of 28 to 35 repeats does not cause the phenotype but shows predisposition to expansion [4]. SCA7 prevalence varies among populations, representing 1 to 11.7 % of SCA cases [7]. Stevanin et al. [8] described multiple origins for SCA7-causing CAG expansions in very varied ethnic groups. Evidence of a founder effect may explain the high prevalence of SCA7 observed in some populations such as Scandinavia and South Africa [9, 10]. In Mexico, SCA7 represents 7.4 % of

SCA cases and most affected individuals live in the same geographic area in the State of Veracruz, near the city of Jalapa [11]. In the present study, we analyzed a cluster of 20 SCA7 families from this region and found evidence that the SCA7 mutation in these Mexican families originated from a common ancestor, suggesting a founder effect.

Methods

Patients and families

A total of 181 individuals from 20 families were studied, including symptomatic patients and their first degree relatives. All individuals live within the region shown in Fig. 1. A sample of 300 control chromosomes was collected from unrelated normal individuals living within the same geographical region and 300 control chromosomes from unrelated Mexican-mestizo individuals from Mexico City. Informed consent was obtained from all subjects, genetic testing was performed as per guidelines of the Institutional Review Board at National Institute of Neurology and Neurosurgery.

Mutational analysis of *ATXN7*

Genomic DNA was isolated from peripheral blood leukocytes using a salting-out/salt chloroform protocol. Polymerase chain reaction incorporating α^{32} -dCTP and polyacrylamide gel electrophoresis was carried out to determine the size of the intragenic CAG repeat-containing regions using 5'-taggagcggaaagaatgctg-3' and 5'-acttcaggactggcagagg-3' primers. A subset of 40 randomly selected alleles was sequenced using ABI PRISM BigDye Terminators version 3.1 on an ABI3130 automated sequencer according to the

manufacturer's protocol, in order to confirm the CAG repeat number and to identify possible repeat interruptions.

Genotyping of polymorphisms flanking *SCA7*

Four highly polymorphic microsatellites markers (D3S1287, D3S1600, D3S3698 and D3S3566) and one *ATXN7* intragenic polymorphism (rs3774729) were genotyped in all individuals as previously described [8, 12]. The analyzed region comprises 4.49 cM. The smallest allele for each marker was denoted by 1, the next by 2, and so forth.

Ancestral origin analysis

Genotypes from Affymetrix SNP 6.0 of one trio (unaffected mother, affected father and daughter) were used to evaluate the ancestral origin of SCA7 mutation. Relatedness between individuals was confirmed using pairwise identity-by-descent (IBD) estimation using PLINK [13]. We estimated global ancestry of these three individuals using ADMIXTURE software [14]. Data from 50 indigenous individuals (zapotecos, nahuas, and tonacas), 50 European individuals, and 50 African (CEU and YRI, respectively from the HapMap project) were included as parental populations. Local ancestry estimation for chromosome 3 was performed using PCAdmix software [15]. We used phased-trio data from the same parental populations to increase accuracy. Principal component analysis (PCA) was performed in the European segment identified in chromosome 3. The length of the segment was 13.65 Mb. Principal component analysis (PCA) was performed using EIGENSTRAT software including the corresponding segment for the affected father and for European populations from the 1,000 Genomes project Phase 1 version 3 [16]. A total of 375 individuals of European ancestry were included: 84 Utah residents (CEPH) with Northern and Western

Fig. 1 Map of Mexico, State of Veracruz is pointed out. The geographic origin of 20 SCA7 families is indicated; this area has a total population of 626,420 inhabitants



Table 1 Comparison of the frequency of alleles segregating with *ATXN7* mutation in CAG expansion carriers and controls

Marker	Position	Allele segregating with the CAG expansion	CAG expansion carriers* (n=90)	Veracruz control group* (n=150)	Mexico City control group* (n=150)	p vs. VC		p vs. MC	
						X ²	p value	X ²	p value
D3S3566	62482644 pb 84.11 cM	6	90	145	146	1.648	0.1993	1.085	0.2976
D3S3698	63059785 pb 84.92 cM	3	87	68	69	62.578	<0.0001	61.265	<0.0001
D3S1600	63260067 pb 85.87 cM	1	90	73	74	65.689	<0.0001	65.689	<0.0001
rs3774729	63922082 pb	1	90	60	81	83.859	<0.0001	55.881	<0.0001
D3S1287	64146956 pb 88.60 cM	6	90	104	110	32.194	<0.0001	26.912	<0.0001

VC: Control individuals from Veracruz

MC: Control individuals from Mexico City and its surroundings

*Data represent the number of individuals showing the allele segregating with the CAG expansion.

European ancestry (CEU), 97 Tuscany in Italia (TSI), 88 British from England and Scotland (GBR), 92 Finnish from Finland (FIN), and 14 from Iberian populations in Spain (IBS).

Results

A total of 90 individuals from 19 families showed heterozygous SCA7 gene CAG expansions (54 men and 36 women, aged 5 to 84 years). Expanded alleles ranged from 36 to 100 CAG repeats, the most common containing 48 repeats. Sixty-six of these individuals were symptomatic, showing ataxia, dysarthria, and various degrees of visual impairment. Only nine of these individuals were attended at the INNN and had complete clinical records, showing retinal degeneration and cerebellar atrophy on magnetic resonance imaging, while 57 symptomatic mutation carriers were assessed in their communities where specialized medical services are not available. The remainder 24 SCA7 mutation carriers were asymptomatic when the sample was drawn. Unexpectedly, three individuals from a family with dysarthria, ataxia, and myopia did not have SCA7 mutations, but were found to carry SCA2 CAG expansions.

Since all SCA7 cases resided in a circumscribed area in the State of Veracruz in Southeast Mexico, we investigated the possibility of a founder effect. For this purpose, we studied four highly polymorphic microsatellite markers flanking the *ATXN7* gene (D3S1287, D3S1600, D3S3698, and D3S3566) and the intragenic rs3774729 SNP. Eight different D3S1287 marker alleles, 12 D3S1600 alleles, 6 D3S3698 alleles, and 13 D3S3566 alleles were identified, indicating a high variability of genotypes.

Genealogy analyses showed that 96.67% mutation carriers (18 families) share the 6-3-1-(CAG)_n-1-6 haplotype

(D3S3566-D3S3698-D3S1600-(CAG)_n-rs3774729-D3S1287). The remainder three individuals belong to the same family, whose haplotype only differs in marker D3S3698 (Table 1).

Once a common haplotype was identified, a trio was selected to determine the ancestral origin of the SCA7 mutation-containing region (Fig. 2). Overall, Native American ancestry was greater than 60–70% in these three individuals, European ancestry ranged from 20–30%, and African ancestry from 4–5%. Similar ancestry proportions were observed in chromosome 3. However, a 13.65 Mb region which includes the *ATXN7* gene was found to be of European ancestry, suggesting a European origin for the SCA7 mutation in our series. PCA including the sample of the affected father was performed to assess whether this segment derived from a specific region of Europe. Figure 3 shows that this segment has greater resemblance to that observed in the Finnish population.

Discussion

Although SCAs are very infrequent, with a worldwide prevalence of 0.3 to 2 per 100,000 individuals, in the present study, we found 90 SCA7 mutation carriers in six towns of central Veracruz with a total population of 626,420 inhabitants. To our knowledge, this study comprehends the largest SCA7 series to date, including 19 affected families. The remainder family included three individuals with ataxia and myopia, suggesting the diagnosis of SCA7; however, they were found to carry SCA type 2 (SCA2), and not SCA7 expansions. SCA2 is the most frequent SCA in the Mexican population [11].

The 10 CAG repeat allele was the most frequent in control chromosomes, ranging from 8 to 13. No intermediate alleles were found. All symptomatic individuals showed SCA7 CAG

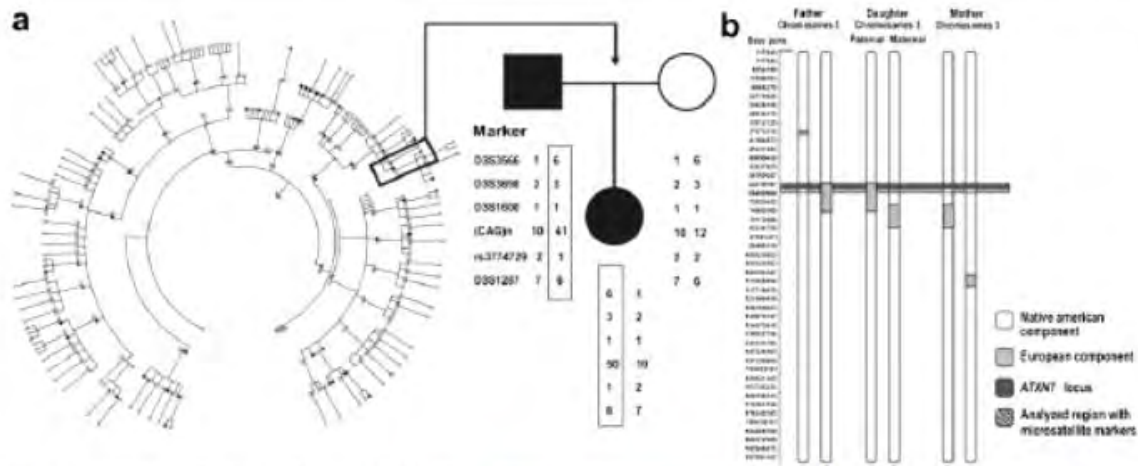


Fig. 2 Local ancestry analysis. **a** Pedigree of a SCA7 family. Three individuals (amplified) were selected for the ancestry analysis, including the unaffected mother, and the affected father and daughter. **b** Ancestry mapping of chromosome 3

expansions ranging from 36 to 100: those under 15 years of age carried expansions between 38 and 100 repeats, those aged 16 to 25 years carried 37 to 71 repeats, and those aged above 26 years carried 36 to 61 repeats. This is in accordance with the well-known inverse relationship between the number of repeats and age of onset [17]. Automated sequencing of a subset of samples confirmed the repeat numbers and showed no sequence interruptions as has been reported in other ataxias [18].

The presence of a common haplotype in the vast majority of samples using highly polymorphic molecular markers is strong evidence of a founder effect for SCA7 in central Veracruz, as previously suggested by Alonso et al. [11] and Magaña et al. [19]. Moreover, this founder effect explains the unusually high incidence of SCA7 in this region of Mexico. Only three

individuals from one family did not share the same D3S3698 allele, most likely due to a recombination event.

Linkage disequilibrium studies have proven multiple origins of the SCA7 mutation which indicate regional founder effects [8]. Founder effects for this disease have also been reported in Scandinavia and South Africa [9, 10]. To further investigate the SCA7 founder effect in central Veracruz, ancestry analysis of two affected and one non-affected individuals was performed. Although all three individuals showed a high indigenous component of the whole genome, local ancestry analysis highlighted that the chromosomal segment containing the *ATXN7* gene was of European origin only in the affected daughter and father (Fig. 2). It is noteworthy that PCA revealed that this segment showed the greatest resemblance to the Finnish population. Historically, the port of Veracruz was the entryway of the Spanish conquerors in the XVI century and of several invasions of both the French and the US armies during the nineteenth century. Moreover, the towns of central Veracruz have been the passage of migrants heading toward Mexico City since the sixteenth century. Although there is no historical evidence of Scandinavian migrations to Veracruz, it is likely that this SCA7 mutation was introduced to Mexico by an individual of European ancestry.

Founder effects play an important role in the prevalence of genetic disorders restricted to geographical areas. We here present evidence strongly suggesting that the high frequency of SCA7 in Veracruz is due to a founder effect and that the mutation is most likely of European origin, with greater resemblance to the Finnish population.

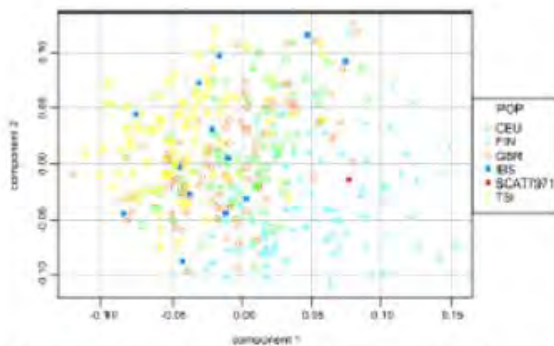


Fig. 3 Principal component analysis of the *ATXN7* region identified as of European origin. Five populations from the 1,000 Genome project were used, including CEU: Utah residents (CEPH) with Northern and Western European ancestry; TSI: Tuscans from Italy; GBR: British from England and Scotland; FIN: Finnish from Finland; and IBS: Iberians from Spain. SCA7T971 represents the affected father, whose principal component showed the greatest resemblance with the Finnish population

Acknowledgments We are grateful to the members of the families for their kind cooperation, especially to Shirley Rojano by her valuable support. Funding for this research was provided by CONACYT 69210. LEGV was supported by MSc fellowship from CONACYT in the

Program from Ciencias Bioquímicas at Universidad Nacional Autónoma de México, UNAM.

Conflicts of interest All authors declare themselves to have no conflict of interest.

Ethical standards Informed consent was obtained from all subjects, genetic testing was performed as per guidelines of the Institutional Review Board at the National Institute of Neurology and Neurosurgery.

References

- Horton LC, Frosch MP, Vangel MG, Weigel-DiFranco C, Berson EL, Schmahmann JD (2013) Spinocerebellar ataxia type 7: clinical course, phenotype-genotype correlations, and neuropathology. *Cerebellum* 12:176–193
- David G, Abbas N, Stevanin G et al (1997) Cloning of the SCA7 gene reveals a highly unstable CAG repeat expansion. *Nat Genet* 17:65–70
- Del-Favero J, Krols L, Michalik A et al (1998) Molecular genetic analysis of autosomal dominant cerebellar ataxia with retinal degeneration (ADCA type II) caused by CAG triplet repeat expansion. *Hum Mol Genet* 7:177–186
- Giunti P, Stevanin G, Worth PF, David G, Brice A, Wood NW (1999) Molecular and clinical study of 18 families with ADCA type II: evidence for genetic heterogeneity and de novo mutation. *Am J Hum Genet* 64:1594–1603
- Benton CS, de Silva R, Ratladge SL, Bohlega S, Ashizawa T, Zoghbi HY (1998) Molecular and clinical studies in SCA-7 define a broad clinical spectrum and the infertile phenotype. *Neurology* 51:1081–1086
- Stevanin G, Giunti P, Belal GD et al (1998) De novo expansion of intermediate alleles in spinocerebellar ataxia 7. *Hum Mol Genet* 7:1809–1813
- Martin J (2012) Spinocerebellar ataxia type 7. *Handb Clin Neuro* 103:475–491
- Stevanin G, David G, Dürr A et al (1999) Multiple origins of the spinocerebellar ataxia type 7 (SCA7) mutation revealed by linkage disequilibrium studies with closely flanking markers, including an intragenic polymorphism (G3145GT/A3145GT). *Eu J Hum Gen* 7:889–896
- Jonasson J, Juvonen V, Sistonen P et al (2000) Evidence for a common spinocerebellar ataxia type 7 (SCA7). *Eu J Hum Gen* 8:918–922
- Greenberg J, Solomon GA, Vorster AA, Heckmann J, Bryer A (2006) Origin of the SCA7 gene mutation in South Africa: implications for molecular diagnostics. *Clin Genet* 70:415–417
- Alonso E, Martínez-Ruano L, De Bisse I et al (2007) Distinct distribution of autosomal dominant cerebellar ataxias in the Mexican population. *Mov Dis* 22:1050–1053
- Yescas P, Huertas-Vazquez A, Villarreal-Molina MT et al (2006) Founder effect for the Ala431Glu mutation of the presenilin 1 gene causing early-onset Alzheimer's disease in Mexican families. *Neurogenetics* 7:195–200
- Purcell S, Neale B, Todd-Brown K et al (2007) PLINK: a tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses. *Am J Hum Genet* 81:559–575
- Alexander DH, Novembre J, Lange K (2009) Fast model-based estimation of ancestry in unrelated individuals. *Genome Res* 19:1655–1664
- Brisbin A, Bryc K, Byrnes J et al (2012) PCAdmix: principal components-based assignment of ancestry along each chromosome in individuals with admixed ancestry from two or more populations. *Hum Biol* 84:343–364
- Price AL, Patterson NJ, Plenge RM et al (2006) Principal components analysis corrects for stratification in genome-wide association studies. *Nat Genet* 38:904–909
- Schöls L, Bauer P, Schmidt T, Schulte T, Riess O (2004) Autosomal dominant cerebellar ataxias: clinical features, genetics, and pathogenesis. *Lancet Neurol* 3:291–304
- McFarland KN, Liu J, Landrian I et al (2013) Paradoxical effects of repeat interruptions on spinocerebellar ataxia type 10 expansions and repeat instability. *Eur J Hum Genet*. doi: 10.1038/ejhg.2013.32
- Magaña JJ, Tapia Guerrero YS, Velázquez Pérez L et al (2013) Analysis of CAG repeats in five SCA loci in Mexican population: epidemiological evidence of a SCA7 founder effect. *Clin Genet*. doi: 10.1111/cge.12114