



## **FACULTAD DE MEDICINA**

Estado de la mutación del gen IT-15 (HTT) en familias ecuatorianas con  
enfermedad de Huntington

Trabajo de Titulación presentado en conformidad a los requisitos  
establecidos para optar por el título de Médico Cirujano

Profesor Guía  
Dr. Cesar A. PazyMiño  
Autor  
Víctor Hugo Pavón Realpe

Año  
2015

## DECLARACIÓN PROFESOR GUÍA

“Declaro haber dirigido este trabajo a través de reuniones periódicas con la estudiante, orientando sus conocimientos y competencias para un eficiente desarrollo del tema escogido y dando cumplimiento a todas las disposiciones vigentes que regulan los Trabajos de Titulación”

---

Cesar A. Pazymiño

C.I: 1704345097

DECLARACIÓN DE AUTORÍA DEL ESTUDIANTE

“Declaro que este trabajo es original, de mi autoría, que se han citado las fuentes correspondientes y que en su ejecución, se respetaron las disposiciones legales que protegen los derechos de autor vigentes”

---

Víctor Hugo Pavón Realpe

C.I.: 1002956983

**AGRADECIMIENTOS**

Al Gran Arquitecto del universo, por haberme llenado de vida y darme el reto de ponerme en el camino de esta maravillosa profesión, llena de pasión, sed y amor por el prójimo y el conocimiento.

A mis padres por saberme guiar por el camino correcto y enseñarme valores necesarios en la vida como la perseverancia, el honor, el respeto, la verdad, y sobre todo el amor a tu familia y profesión. A mis hermanos por ser mi apoyo emocional y de lucha.

A todo el equipo del Instituto de Investigaciones Biomédicas de la Universidad de las Américas, por su paciencia y enseñanzas sin ustedes no habría sido posible lograr esta investigación-

A mi profesor guía Cesar Pazymiño por haberme dado la oportunidad de ser parte de su equipo .

## RESUMEN

La Enfermedad de Huntington (EH) es un trastorno neurodegenerativo autosómico dominante que afecta a 1 de cada 10.000 habitantes. Es causada por una expansión inestable del triplete (CAG) en el primer exón del gen IT-15 ubicado en el cromosoma 4p16.3. Dicha región codifica un dominio poliglutamina en la huntingtina que al estar aumentado promueve neurodegeneración. Este primer estudio descriptivo se enfocó en valorar la expansión del trinucleótido CAG en población ecuatoriana afecta y sus familiares en riesgo con el fin de tener la primera aproximación del estado de la enfermedad en el Ecuador. Se estudió, mediante PCR, PCR anidada y secuenciación automática, a 42 individuos de nueve familias ecuatorianas clínicamente diagnosticadas con EH. Veinte y ocho personas resultaron positivas para la mutación con un promedio de CAG del alelo expandido de  $57 \pm 7.9$  (49-78), siete de los cuales no presentaron aún corea. El promedio de alelos normales fue de  $24 \pm 8.4$  (15-28). Dos individuos mostraron alelos medianamente expandidos con 32 y 37 repeticiones y un solo caso resultó ser de novo. Se observó relación inversa entre el número de repeticiones y la edad de aparición de los síntomas y existió inestabilidad al paso generacional en 21,4% de los casos con notable inestabilidad por vía paterna en un caso. El diagnóstico genético del gen IT-15 es sumamente importante, estudios más extensos en las diferentes regiones y etnias del país son necesarios para conocer de mejor manera el comportamiento de la enfermedad de Huntington en el Ecuador.

**PALABRAS CLAVE:** Enfermedad de Huntington, neurodegeneración, autosómica dominante, trinucleótido..

## ABSTRACT

Huntington disease (HD) is a progressive neurodegenerative disorder with an autosomal dominant inheritance that affects 1 per 10.000 individuals. It is caused by the IT-15 gene on chromosome 4p16.3 that has, in its first exon, an unstable expansion of (CAG) $n$  trinucleotide which encodes a polyglutamine region in huntingtin; the expansion promotes neurodegeneration. This first descriptive study was focused on evaluating the CAG trinucleotide expansion in Ecuadorian affected individuals and their family members at risk in order to enclose the first approximation of the disease status in Ecuador. Through PCR, nested PCR and automatic sequencing, we have genotyped 42 individuals from nine Ecuadorian families clinically diagnosed with HD. Twenty-eight people tested positive for the mutation with an average CAG number of the expanded allele of  $57 \pm 7.9$  (49-78), seven of which have not thus far presented chorea. The average repeats of the normal alleles were  $24 \pm 8.4$  (15-28). Two individuals with 32 and 37 repeats showed moderately expanded alleles while a single case was found to be de novo with 53 CAG. An inverse relationship between the number of repeats and age of onset of symptoms was observed. Generational instability was transmitted in 21.4% of the cases with notable instability in paternal inheritance in one case. Genetic diagnosis of the IT-15 gene is extremely important, larger studies in different regions and ethnic groups are needed to better know the behavior of Huntington's disease in Ecuador.

**KEYWORDS:** Huntington's disease, neurodegeneration, autosomal dominant, trinucleotide..

## INTRODUCCIÓN

Existen aproximadamente 30 enfermedades genéticas hereditarias asociadas con el aumento del número de repeticiones en diferentes regiones del ADN, las cuales al tener características estructurales particulares que burlan a los sistemas de reparación de errores de replicación, predisponen su expansión y alteran la expresión genética en las células humanas. La mayoría de estas enfermedades son provocadas por aumento de repeticiones en regiones no codificantes del ADN, pocas de ellas se relacionan por afecciones dentro de los exones de un gen y todas siguen un tipo de herencia mendeliana clásica <sup>1</sup>.

La Enfermedad de Huntington (EH) es un trastorno neurodegenerativo hereditario, autosómico dominante caracterizado por síntomas neuropsiquiátricos, cognitivos y psicomotores progresivos cuya principal connotación en etapas avanzadas, es la presencia de espasmos musculares involuntarios tipo corea, <sup>2</sup>. Afecta especialmente el cuerpo estriado y el putamen en la corteza cerebral y se relaciona con la ganancia de repeticiones del triplete (CAG)<sub>n</sub> en el exón 1 del gen *IT-15* o *HTT* (OMIM: 613004). Este gen, localizado en 4p16.3, codifica la proteína neuronal huntingtina, relacionada con la vía de transporte de electrones a nivel mitocondrial implicada en funciones de protección y neurotransmisión<sup>3</sup>. (CAG)<sub>n</sub> codifica un dominio de poliglutaminas en huntingtina; al estar expandido, induce aglomerados proteicos en citoplasma provocando falla en la asociación normal a factores de neurotransmisión activando específicamente la vía de caspasas a nivel mitocondrial <sup>4,5</sup>.

El número de repeticiones de CAG es variable. Alelos con hasta 28CAG se consideran normales, con hasta 35 repeticiones son estimadas mutables sin presentar síntomas aunque con posibilidades de expansión hacia las siguientes generaciones. Con 36 a 39 repeticiones, la penetrancia es incompleta, presentando mayor probabilidad de pasar mayor número de repeticiones a su

progenie gracias a la inestabilidad meiótica de los gametos y con posibilidad de mostrar sintomatología tardía. Y por último, alelos con más de 40 repeticiones con penetrancia completa, provocarán inminentemente la enfermedad entre la tercera y cuarta década de vida con una esperanza de supervivencia de 10-15 años después de su diagnóstico<sup>6</sup>. El número de repeticiones CAG ha demostrado ser inversamente proporcional a la edad de inicio de los síntomas, con lo cual, a mayor número de repeticiones más temprana será la manifestación clínica<sup>7</sup>.

La EH afecta a 1 de cada 10000 personas a nivel mundial y es más común en caucásicos que en otras etnias<sup>8</sup>. Existen regiones geográficas aisladas donde la incidencia es mucho mayor como es el caso del Lago Maracaibo en Venezuela con cinco veces más casos que el resto del mundo<sup>9</sup>. En el Ecuador, no se conoce a ciencia cierta la prevalencia ni el estado del gen *IT-15* en los pacientes diagnosticados y sus familias, y se estima que pudieran existir más de 1500 casos de EH si las tasas mundiales serían extrapoladas a esta población.

El presente se trata de un estudio descriptivo del estado general del número de repeticiones CAG del gen *IT-15* en población ecuatoriana con el fin de determinar su comportamiento y la patogenia de la EH en el Ecuador.

## **SUJETOS Y MÉTODOS**

### **Criterios de selección y características del estudio:**

Para este estudio, fueron escogidas familias donde al menos un individuo haya sido diagnosticado clínicamente con EH y hayan sido referidas para asesoramiento genético al Instituto de Investigaciones Biomédicas de la Universidad de las Américas en Quito-Ecuador entre enero de 2012 y septiembre de 2013. Fueron clasificados como sintomáticos a aquellos pacientes con movimientos coreicos al momento de la entrevista y como asintomáticos en quienes la corea no fue detectable. Como herramienta diagnóstica molecular confirmatoria se utilizó la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) y PCR

anidada según parámetros anteriormente descritos <sup>10</sup> y Secuenciación de ADN para corroborar y validar los resultados. El estudio fue previamente aceptado por el comité de bioética (Universidad de las Américas) y todos los individuos estuvieron de acuerdo con ser diagnosticados y firmaron un consentimiento informado para el procedimiento. Se obtuvo una ficha biomédica con datos personales generales, tratamiento y seguimiento familiar mediante pedigree.

#### **Recolección y tratamiento de la muestra:**

Las muestras de sangre periférica fueron obtenidas mediante punción venosa y tratada con ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) como anticoagulante. 200µl de muestra fueron utilizados para la extracción de ADN utilizando el kit comercial Pure Link Genomic DNA de Invitrogen® (Life Technologies, USA). La concentración y pureza del material genético se valoró utilizando NanoDrop 2000c Spectrophotometer (Thermo Fisher Scientific Inc. USA).

#### **Amplificación y análisis del número de tripletes CAG:**

En la primera ronda de PCR, 2 µl de ADN fueron amplificados en un volumen total de 20µl, con 1x/ buffer; 1Mmol/ MgCl<sub>2</sub>; 0,2Mmol/ dNTP's (dideoxinucleótidos); 0,8µmol/ primer sentido y antisentido; 5%/DMSO y 1U/ Taq Platinum ADN Polimerasa. Las condiciones de termociclado fueron 94°C - 5 minutos, seguido por 35 ciclos de 94°C - 30 segundos, 64°C - 45 segundos, 72°C - 1 minuto, con una extensión final de 72°C - 10 minutos. Una PCR anidada fue realizada con 2.5µl de material de PCR 1:50 y las mismas condiciones previas. El resultado fue evaluado en gel de agarosa de alta resolución al 3% con bromuro de etidio y el tamaño de fragmento fue determinado por comparación con marcadores de peso molecular de 50pb y 100pb.

El amplicón fue purificado mediante Agencourt® AMPure® XP (Beckman Coulter, Alemania). 3µl de producto de PCR fueron amplificados para la secuencia con BigDye® Terminator v3.1 (Life Technologies, USA) según estándares del

fabricante. La reacción fue purificada con Agencourt® CleanSeq® XP (Beckman Coulter, Alemania). Una electroforesis capilar fue realizada en el secuenciador automático 3130 Genetic Analyzer Applied Biosystems (Life Technologies, USA) y el análisis fue realizado con el software Sequencing Analysis Software v5.2 Applied Biosystems (Life Technologies, USA) (Figura 1). Una relación entre el tamaño de fragmento de PCR y el número de repeticiones CAG determinados por secuenciación automática fue verificada. El punto de corte para la clasificación de los pacientes según el número de repeticiones fue el siguiente:  $\leq 28$ , individuos normales; 29- 35, alelos mutables; 36-39, individuos en transición,  $\geq 40$  pacientes positivos. Y según la clínica: pacientes sintomáticos o asintomáticos por presencia o ausencia de movimientos coreicos. Datos generales y sobre el tratamiento sintomático fueron recolectados en fichas médicas.

La prueba no paramétrica U de Mann Whitney fue aplicada al número de repeticiones versus la edad, género y tipo de herencia. El grado de relación entre la edad de aparición de síntomas y el número de repeticiones fue calculado según el coeficiente de correlación de Pearson.

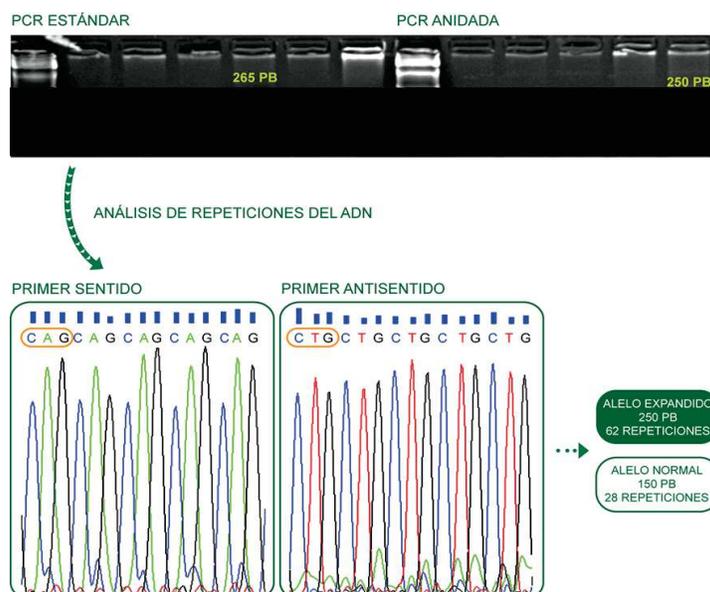
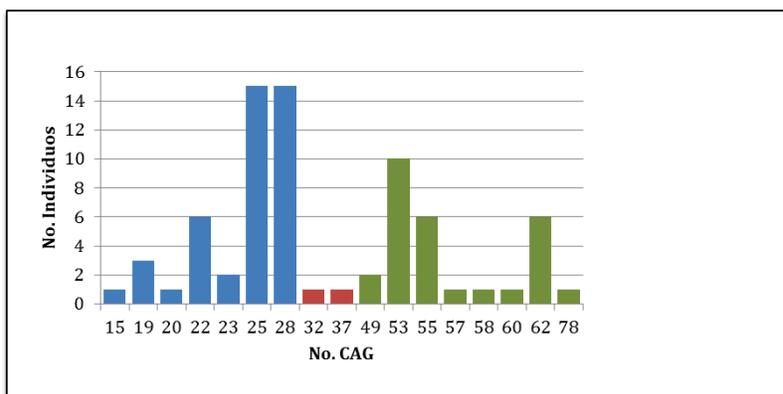


Figura 1: Interpretación de los resultados según las técnicas utilizadas. Análisis del tamaño de amplicones según la PCR, PCR anidada y posterior conteo de tripletes por secuenciación directa de ADN para su correlación.

## RESULTADOS

La muestra consistió de un total de 42 individuos, 23 hombres (54,8%) y 19 mujeres (45,2%), pertenecientes a 9 familias ecuatorianas con al menos un caso diagnosticado clínicamente con EH. Todos los participantes fueron autodenominados mestizos ecuatorianos originarios del centro norte del país. Veinte y un pacientes, 15 hombres (71,4%) y 6 mujeres (28,6%), fueron clasificados como sintomáticos por presencia de movimientos coreicos al momento de la entrevista; los 21 participantes restantes fueron considerados asintomáticos. El promedio total de edad fue de  $36,5 \pm 15$  años,  $44,6 \pm 8,7$  años para los individuos sintomáticos y  $29 \pm 6$  para los asintomáticos.

El grupo de pacientes sintomáticos reflejó un promedio de repeticiones CAG de  $56 \pm 4,5$  (49-62) en el alelo expandido, con una edad promedio de aparición de síntomas de  $35 \pm 8,3$  años. Entre los 21 familiares asintomáticos se encontraron 7(33,3%) casos positivos para la expansión de CAG con promedio de  $57,8 \pm 9,06$  (53-78) repeticiones, 12 (57,1%) de los individuos restantes presentaron en ambos alelos un número repeticiones de 15 a 28 con una media de  $24 \pm 8,4$ . Del mismo grupo, dos (9,6%) sujetos presentaron uno de sus alelos normalmente expandido con 32 y 37 repeticiones respectivamente, clasificándolos como mutable e intermedio (Figura 2).



**Figura 2:** Distribución del número de repeticiones en la población de estudio.

El promedio total de repeticiones de los alelos expandidos fue de  $56 \pm 7,9$  (49-78). No se observó diferencias significativas entre el número de repeticiones y el género del afecto (U Mann Whitney  $p=0,2$ ), sin embargo existe una relación inversamente proporcional entre la edad de aparición de los síntomas y el número de repeticiones CAG del alelo expandido, a mayor número de CAG, más temprana la aparición de los síntomas ( $r=-4,85$  para la correlación del coeficiente de Pearson,  $p=0,026$ ). Herencia paterna de la enfermedad fue detectada en 12(46,2%) pacientes, y herencia materna en 16 (53,8%); no existe relación significativa entre el número de CAG y la herencia paterna o materna (U Mann Whitney  $p=0,8$ ). Se percibió inestabilidad en el número de repeticiones CAG al paso generacional tanto por vía materna como paterna en 6 (21,4%) casos (Tabla 1), la mayoría de los cambios corresponden a expansiones o contracciones pequeñas de 2 a 7 repeticiones con excepción de un caso particular de herencia paterna con ganancia de 23 repeticiones. Una sola paciente, hija única, refiere no tener historia familiar de la afección, siendo considerada como caso *de novo* con 53 CAG. No fue posible acceder al material genético de su padre y el ADN de su madre presentó dos alelos dentro de lo normal con 23 y 25 repeticiones respectivamente.

Datos sobre el tratamiento farmacológico fue accesible en 10 (47,6%) casos; 40% de los pacientes se encuentran bajo tratamiento sintomatológico con Haloperidol, 20% con Fluoxetina + Haloperidol y 40% con Risperidona.

Tabla 1. Inestabilidad del número de repeticiones CAG en el paso generacional			
Progenitor (CAG)n	Hijo (CAG)n	Ganancia o pérdida de repeticiones	Herencia
53	55	+2	Materna
53	57	+4	Materna
55	78	+23	Paterna
53	60	+7	Materna
55	53	-2	Paterna
55	53	-2	Materna

## DISCUSIÓN

La EH ha sido ampliamente estudiada a nivel mundial, sin embargo en el Ecuador no existen datos epidemiológicos ni genéticos claros. En este primer estudio descriptivo ecuatoriano del estado de las repeticiones CAG del gen *IT-15* en pacientes clínicamente diagnosticados con EH y sus familiares en riesgo, 42 personas pertenecientes a nueve familias provenientes del centro y norte del país fueron analizadas; un total de 28 individuos presentaron expansión en uno de sus alelos. El rango y el promedio de repeticiones en los alelos normales fue similar a lo reportado en algunas poblaciones como el caso de Brasil<sup>11</sup>, Estados Unidos y Australia<sup>12</sup>, sin embargo es ligeramente más alta que la presentada en otros países latinoamericanos como Costa Rica, Argentina y Venezuela<sup>13, 14, 15</sup>. En cuanto al alelo expandido los hallazgos fueron similares a los descritos en población argentina y brasilera<sup>11,14</sup> y ligeramente mayores a lo encontrado en Cuba, Eslovenia, Estados Unidos y Australia<sup>12,16, 17</sup> (Tabla 2). En concordancia con

publicaciones previas, nuestro estudio demuestra una relación inversa entre la edad de aparición de síntomas y el número de repeticiones CAG, confirmando que a mayor número de repeticiones, menor será la edad de inicio de la sintomatología<sup>18, 19</sup>

**Tabla 2. Comparación de datos obtenidos en población afecta y no afecta en varios estudios a nivel mundial**

<b>Estudio (Autor, año)</b>	<b>N</b>	<b>Normal Rango (Promedio)</b>	<b>Expandido Rango (Promedio)</b>
Argentina (Gatto et al., 2012)	59	12-26 (17,8)	41-80 (53)
Brasil (Lima E Silva et al., 2000)	44	18-26 (22)	43-73 (50,6)
Costa Rica (Vázquez-Cerdas et al., 2012)	38	15-28 (17)	42-55 (46)
Cuba (Vázquez-Mojena et al., 2013)	130	13-29 (18,4)	39-73 (50,6)
Eslovenia (Peterlin et al., 2009)	281	N/D	37-59 (44,4)
Estados Unidos, Canadá y Australia (Dorsey, 2012)	1985	15-30 (20,2)	36-100 (44,2)
Venezuela (Paradisi et al., 2008)	279	11-31 (19)	35-112 (42)
<b>Ecuador (Presente estudio)</b>	<b>42</b>	<b>19-30 (24)</b>	<b>49-78 (57)</b>

Debido a la fluctuación descrita en el número de repeticiones CAG y el paso generacional por inestabilidad meiótica, se observan pequeñas ganancias y pérdidas de tripletes en el 21,4% de los casos analizados, sin embargo, al igual que en investigaciones previas no se encuentran diferencias significativas entre la transmisión materna o paterna<sup>13,20</sup>. Sin embargo, un solo paciente con 78 repeticiones en el alelo expandido, presenta una ganancia significativa de 23 tripletes frente a su progenitor. Existen reportes sobre mayor inestabilidad meiótica en espermatogénesis lo cual predispone a oscilaciones más extensas en

cuanto al número de tripletes heredados por vía paterna que por vía materna<sup>21</sup>, dicha situación se observa claramente en este caso al igual que en algunos reportados en literatura <sup>13, 16</sup>. En un estudio realizado en biopsias testiculares de pacientes con EH, se observó que las células en fase postmeiótica poseen el mayor número de repeticiones; así un mismo paciente puede presentar gran variabilidad en el número de repeticiones CAG entre gametos y la expansión de los tripletes ocurre independientemente de la fase de la meiosis <sup>9</sup>. Se ha demostrado además, en modelos celulares, que la inestabilidad de tripletes está relacionada con daños en la maquinaria de replicación y reparación del ADN lo que podría guiar hacia la razón por la que en ciertas familias se observa mayor inestabilidad que en otras <sup>22,23</sup>.

Dos individuos asintomáticos de dos familias distintas, presentaron alelos normales medianamente expandidos con 32 y 37 repeticiones respectivamente. Según modelos computarizados de cálculo de frecuencias, se ha determinado que la presencia de alelos intermedios y la posibilidad de pasar estos con mayor número de repeticiones a las generaciones subsiguientes es mayor en portadores masculinos que en femeninos <sup>24</sup>, sin embargo, es importante que estos pacientes, independientemente de su género, sean asesorados genéticamente. Además se ha demostrado en portadores de alelos normales expandidos, que el inicio de síntomas puede darse en edad avanzada, entre la sexta y séptima década de vida; el seguimiento neurológico y psiquiátrico es indispensable en estos pacientes <sup>25</sup>.

El tratamiento para la EH es en su mayoría de control sintomático. Hasta la fecha, la única droga aprobada por la FDA para el tratamiento de EH es la tetrabenazina <sup>26</sup>, se trata de una molécula huérfana que degrada prematuramente la dopamina y que ha demostrado disminuir la corea hasta en un 50% controlando la neurodegeneración <sup>27</sup>, esta droga es generalmente utilizada en combinación con otras moléculas con el fin de controlar los diversos síntomas neurológicos y psiquiátricos <sup>28</sup>. En el Ecuador, la tetrabenazina no se encuentra a disposición en

el mercado por lo que las alternativas terapéuticas para la EH se limitan al control sintomático psicótico y depresivo <sup>29</sup>.

En conclusión, el diagnóstico genético del gen *IT-15* en familias ecuatorianas con fenotipo sospechoso para EH es de vital importancia, estudios más extensos en las diferentes regiones y etnias del país son necesarios para llegar a conocer de mejor manera el comportamiento de la enfermedad de Huntington en el Ecuador. El número de repeticiones CAG en población ecuatoriana se acercan a los reportados en otros países de la región y así este primer reporte da una aproximación al conocimiento del estado de la enfermedad de Huntington en el país.

## REFERENCIAS

- Angoa-Pérez M, Rivas-Arancibia S. Estrés oxidativo y neurodegeneración: ¿causa o consecuencia?. *Arch Neurocién* 2007; 12(1):45-54
- Barron LH, Warner JP, Porteous M, Holloway S, Simpson S, Davidson R, et al. A study of the Huntington's disease associated trinucleotide repeat in the Scottish population. *J Med Genet* 1993; 30(12):1003–1007.
- Callahan JL, Andrews KJ, Zakian VA, Freudenreich CH. Mutations in Yeast Replication Proteins That Increase CAG / CTG Expansions Also Increase Repeat Fragility Mutations in Yeast Replication Proteins That Increase CAG / CTG Expansions Also Increase Repeat Fragility. *Molecular and Cellular Biology* 2003; 23(21):7849–7860.
- De Rooij KE, De Koning Gans PA, Skraastad MI, Belfroid RD, Vegter-Van Der Vlis M, Roos RA, et al. Dynamic mutation in Dutch Huntington's disease patients: increased paternal repeat instability extending to within the normal size range. *J Med Genet* 1993; 30(12):996–1002.
- Dorsey ER. Characterization of a large group of individuals with huntington disease and their relatives enrolled in the COHORT study. *PloS one* 2012; 7(2):29522. Vásquez-Cerdas M, Morales-Montero F, Fernández-Morales H, el Valle-Carazo G, Fornaguera-Trías, J, Cuenca-Berger P. Diagnóstico molecular de la EH en Costa Rica.pdf. *Acta Med Costarric* 2008; 50(1):35–41.
- Frank S. Tetrabenazine: the first approved drug for the treatment of chorea in US patients with Huntington disease. *Neuropsychiatr Dis Treat* 2010;6:657–65.
- Gatto E, Parisi V, Persi G, Converso DP, Etcheverry JL, Varela V, et al. Clinical and genetic characteristics in patients with Huntington's Disease from Argentina. *Parkinsonism Relat Disord* 2012; 18(2):166–169.
- Gudesblatt M, Tarsy D. Huntington's Disease: A Clinical Review. *Neurology Review* 2011; Supplement:1–8.

- Hendricks AE, Latourelle JC, Lunetta KL, Cupples LA. Estimating the probability of de novo HD cases from transmissions of expanded penetrant CAG alleles in the Huntington disease gene from male carriers of high normal alleles. *Am J Hum Genet Part A* 2010; 149(7):1375–1381.
- Huntington Study Group. Tetrabenazine as antichorea therapy in Huntington disease. *Neurology* 2006; 66(3):366–372.
- Kirkwood SC, Su JL, Conneally P, Foroud T. Progression of symptoms in the early and middle stages of Huntington disease. *Arch neurol.* 2001; 58:273–278.
- Kovtun I V, Liu Y, Bjoras M, Klungland A, Wilson SH, McMurray CT. OGG1 initiates age-dependent CAG trinucleotide expansion in somatic cells. *Nature* 2007; 447(7143):447–452.
- Lee JM, Ramos EM, Lee JH, Gillis T, Mysore JS, Hayden MR, et al. CAG repeat expansion in Huntington disease determines age at onset in a fully dominant fashion. *Neurology* 2012; 78(10):690–695.
- Lima E Silva TC, Serra HG, Bertuzzo CS, Lopes-Cendes I. Molecular diagnosis of Huntington disease in Brazilian patients. *Arq Neuropsiquiatr* 2000; 58(1):11–17.
- Mattson MP. Accomplices to neuronal death. *Nature* 2002; 415:377–379.
- Ministerio de Salud Pública del Ecuador. Novena Revisión del Cuadro Nacional de Medicamentos Básicos. Ediciones legales 2013; ACUERDO No. 00004288.
- Mirkin SM. Expandable DNA repeats and human disease. *Nature* 2007; 447:932–940.
- Nance M, Paulsen JS. *A Physician's Guide to the Management of Huntington's Disease*. Third edition. USA: Huntington's Disease Society of America, 2011
- Nopoulos P, Epping E, Wassink T, Schlaggar BL, Perlmutter J. Correlation of CAG repeat length between the maternal and paternal allele of the Huntingtin gene: evidence for assortative mating. *Behav Brain Funct* 2011; 7(1):45.
- Paradisi I, Hernández A, Arias S. Huntington disease mutation in Venezuela: age of onset, haplotype analyses and geographic aggregation. *J Human Genet* 2008; 53(2):127–135.

- Peterlin B, Kobal J, Teran N, Flisar D, Lovrecić L. Epidemiology of Huntington's disease in Slovenia. *Acta Neurol Scand* 2009; 119(6):371–375.
- Quarrell OW, Rigby AS, Barron L, Crow Y, Dalton A, Dennis N, et al. Reduced penetrance alleles for Huntington's disease: a multi-centre direct observational study. *J Med Genet* 2007; 44(3):e68.
- Rosenblatt A, Kumar BV, Mo A, Welsh CS, Margolis RL, Ross CA. Age, CAG repeat length, and clinical progression in Huntington's disease. *Mov Disord* 2012; 27(2):272–276.
- Vázquez-Mojena Y, Laguna-Salvia L, Laffita-Mesa JM, González-Zaldívar Y, Almaguer-Mederos LE, Rodríguez-Labrada R, et al. Genetic features of Huntington disease in Cuban population: Implications for phenotype, epidemiology and predictive testing. *J Neurol Sci* 2013; 335(1-2):101–104.
- Videnovic A. Treatment of huntington disease. *Curr Treat Options Neurol* 2013; 15(4):424–438.
- Warby SC, Montpetit A, Hayden AR, Carroll JB, Butland SL, Visscher H, et al. CAG expansion in the Huntington disease gene is associated with a specific and targetable predisposing haplogroup. *Am J Hum Genet* 2009; 84(3):351–366.
- Warby SC, Visscher H, Collins JA, Doty CN, Carter C, Butland SL, et al. IT-15 haplotypes contribute to differences in Huntington disease prevalence between Europe and East Asia. *Eur J Hum Genet* 2011; 19(5):561–566.
- Yoon S-R, Dubeau L, de Young M, Wexler NS, Arnheim N. Huntington disease expansion mutations in humans can occur before meiosis is completed. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003; 100(15):8834–8838.