



UNIVERSIDAD PERUANA  
**CAYETANO HEREDIA**

“ASOCIACIÓN ENTRE LA SECUENCIA  
CCG Y EL MICROSATÉLITE CAG EN  
EL GEN HTT DE UNA POBLACIÓN  
PERUANA ATENDIDA EN EL  
INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS  
NEUROLÓGICAS DURANTE EL  
PERÍODO 2000-2013”

TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE  
MAESTRA EN GENÉTICA HUMANA

INDIRA ESTHER TIRADO HURTADO

LIMA – PERÚ

2024



**ASESOR**

Dr. Jorge Enrique Rodríguez Bailón

**CO-ASESOR**

Med. Esp. Mario Reynaldo Cornejo Olivas

**JURADO DE TESIS**

Mg. José Luis Rojas Vilca

PRESIDENTE

Mg. Jorge Enrique Osada Liy

VOCAL

Mg. Yasser Sullcahuaman Allende

SECRETARIO (A)

## **DEDICATORIA.**

A mi hijo, Martín, por ser mi mayor motivación.

A mi familia, en especial a mis padres,  
César y Mabel, por todo su apoyo  
y ejemplos de perseverancia.

A mis mentores y amigos, Dra. Pilar Mazzetti y Dr. Mario Cornejo,  
por los consejos brindados y por haberme enseñado  
el mundo de la Neurogenética.

A mis compañeros y amigos del Centro  
de Investigación Básica en Neurogenética.

## **AGRADECIMIENTOS.**

Al Centro de Investigación Básica en Neurogenética del  
Instituto Nacional de Ciencias Neurológicas – Perú.

Al Centre for Molecular Medicine and Therapeutics, Child and Family Research  
Institute, University of British Columbia – Canadá.

A los pacientes y familias afectados con la enfermedad de Huntington atendidos  
en el Instituto Nacional de Ciencias Neurológicas que participaron en el presente  
estudio.

A la comunidad amerindia quechua de Puno  
que participó en el presente estudio.

**FUENTES DE FINANCIAMIENTO.**

Tesis autofinanciada

# ASOCIACIÓN ENTRE LA SECUENCIA CCG Y EL MICROSATÉLITE CAG EN EL GEN HTT DE UNA POBLACIÓN PERUANA ATENDIDA EN EL INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS NEUROLÓGICAS DURANTE EL PERÍODO 2000-2013

## ORIGINALITY REPORT



## PRIMARY SOURCES

1	<a href="http://open.library.ubc.ca">open.library.ubc.ca</a> Internet Source	2%
2	<a href="http://open.uct.ac.za">open.uct.ac.za</a> Internet Source	1%
3	<a href="http://www.degruyter.com">www.degruyter.com</a> Internet Source	1%
4	<a href="http://www.researchgate.net">www.researchgate.net</a> Internet Source	1%
5	<a href="http://repositorio-aberto.up.pt">repositorio-aberto.up.pt</a> Internet Source	1%
6	<a href="http://www.researchsquare.com">www.researchsquare.com</a> Internet Source	<1%
7	<a href="http://www.scielo.org">www.scielo.org</a> Internet Source	<1%
8	Submitted to The University of Manchester Student Paper	<1%

## TABLA DE CONTENIDOS

RESUMEN

ABSTRACT

I. INTRODUCCIÓN .....	1
II. OBJETIVOS .....	4
1. Objetivo General.....	4
2. Objetivos específicos .....	4
III. HIPÓTESIS.....	5
IV. MARCO TEÓRICO.....	6
1. Epidemiología de la enfermedad de Huntington .....	6
2. La enfermedad de Huntington en Perú .....	7
3. Características clínicas de la enfermedad de Huntington .....	9
4. Características moleculares del gen <i>HTT</i> .....	10
5. Polimorfismos en el gen <i>HTT</i> .....	12
6. Polimorfismo CCG en el gen <i>HTT</i> .....	13
V. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	18
VI. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO .....	20
VII. METODOLOGÍA .....	22
1. Diseño de la investigación.....	22
2. Población .....	22
3. Criterios de selección.....	23
4. Operacionalización de las variables .....	24
5. Definición conceptual y operacional de las variables .....	25
6. Procedimientos .....	27

7.	Plan de análisis .....	29
8.	Consideraciones éticas.....	30
VIII.	RESULTADOS .....	32
1.	Distribución alélica del microsatélite CAG en el gen <i>HTT</i> .....	32
2.	Distribución alélica y análisis del polimorfismo CCG en el gen <i>HTT</i> ..	33
3.	Haplotipos del gen <i>HTT</i> .....	36
IX.	DISCUSIÓN .....	39
X.	CONCLUSIONES .....	45
XI.	RECOMENDACIONES .....	46
XII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	47
XIII.	ANEXOS	

## RESUMEN

**Introducción.** La expansión anormal del microsatélite CAG en el gen *HTT* es la causa de la enfermedad de Huntington (EH), pero el papel potencial del polimorfismo CCG (adyacente al microsatélite CAG) como factor modificador de esta enfermedad aún no se ha resuelto. **Objetivo.** Determinar la asociación entre el polimorfismo CCG y la expansión del microsatélite CAG en el gen *HTT* de una población peruana atendida en el Instituto Nacional de Ciencias Neurológicas durante el período 2000-2013. **Métodos.** Se analizó al polimorfismo CCG y el microsatélite CAG en 63 alelos expandidos (AE) no relacionados de origen étnico mestizo y en 218 alelos controles (AC) no relacionados pertenecientes a dos grupos étnicos diferentes de Perú (132 alelos de origen mestizo y 86 de origen amerindio). **Resultados.** En los AE se identificaron tres tipos de repeticiones CCG: (CCG)<sub>4</sub>, (CCG)<sub>7</sub> y (CCG)<sub>10</sub>; siendo la repetición (CCG)<sub>7</sub> la más frecuente (84,13%). En los AC se identificaron las repeticiones (CCG)<sub>7</sub>, (CCG)<sub>9</sub>, (CCG)<sub>10</sub> y (CCG)<sub>11</sub>, siendo en ambas poblaciones (CCG)<sub>7</sub> la más frecuente (65,91% en alelos de origen mestizo y 59,30% de origen amerindio). En los AC y los AE, los haplogrupos A y B estuvieron asociados con la repetición (CCG)<sub>7</sub>. El haplogrupo C estuvo asociado con las repeticiones (CCG)<sub>9</sub>, (CCG)<sub>10</sub> y (CCG)<sub>11</sub>. **Conclusiones.** El polimorfismo CCG está asociado a la expansión del microsatélite CAG en el gen *HTT*.

**Palabras clave:** *Enfermedad de Huntington, microsatélite CAG, polimorfismo CCG, haplotipos.*

## ABSTRACT

**Background.** Abnormal expansion of the CAG microsatellite in the *HTT* gene is the cause of Huntington's disease (HD), but the potential role of the CCG polymorphism (adjacent to CAG microsatellite) as a modifying factor of this disease has not yet been resolved. **Aim.** To determine the association between the CCG polymorphism and the expansion of the CAG microsatellite in the *HTT* gene of a Peruvian population treated at the Instituto Nacional de Ciencias Neurológicas during the period 2000-2013. **Methods.** CCG polymorphism and CAG microsatellite were analyzed in 63 unrelated expanded alleles (EA) of mestizo ethnic origin and in 218 unrelated control alleles (CA) belonging to two different ethnic groups from Peru (132 alleles of mestizo origin and 86 of Amerindian origin). **Results.** In the EA, three types of CCG repeats were identified: (CCG)<sub>4</sub>, (CCG)<sub>7</sub>, and (CCG)<sub>10</sub>; the (CCG)<sub>7</sub> repeat was the most frequent (84.13%). In CA, (CCG)<sub>7</sub>, (CCG)<sub>9</sub>, (CCG)<sub>10</sub>, and (CCG)<sub>11</sub> repeats were identified, the (CCG)<sub>7</sub> was the most frequent in both populations (65.91% in alleles of mestizo and 59.30% of Amerindian origin). In CA and EA, haplogroups A and B were associated with the (CCG)<sub>7</sub> repeat. Haplogroup C was associated with the (CCG)<sub>9</sub>, (CCG)<sub>10</sub>, and (CCG)<sub>11</sub> repeats. **Conclusions.** The CCG polymorphism is associated with the expansion of the CAG microsatellite in the *HTT* gene.

**Keywords:** *Huntington's disease, CAG microsatellite, CCG polymorphism, haplotypes.*

## I. INTRODUCCIÓN

La enfermedad de Huntington (EH) es una enfermedad neurodegenerativa progresiva de herencia autosómica dominante producida por la expansión anormal del microsatélite CAG (citosina-adenina-guanina) en el gen *HTT* (con 36 a más repeticiones de CAG) (1). Algunos estudios han sugerido que hay secuencias intra o flanqueantes del gen *HTT* que influyen en la inestabilidad del microsatélite CAG, causando así las diferentes tasas de prevalencia de la EH (2–4).

En 1993, Andrew *et al.* (5) descubrieron una secuencia repetitiva conformada por el triplete CCG (citosina-citosina-guanina) que se encuentra hacia el extremo 3' del microsatélite CAG (a tan sólo 12pb del microsatélite CAG). Estudios posteriores demostraron que esta secuencia es polimórfica, puede tener entre 4 a 12 repeticiones del triplete CCG; y ha sido relacionada con la variabilidad de la longitud del microsatélite CAG, el fenotipo, la prevalencia y el origen de la EH en poblaciones de diferentes regiones geográficas (6). Sin embargo, su rol como factor modificador de esta enfermedad aún no se ha resuelto satisfactoriamente.

La mayoría de los estudios sobre la distribución alélica del polimorfismo CCG han demostrado que en poblaciones de Europa Occidental, donde se reportan las prevalencias más altas de la EH (hasta 13,5 casos por 100 000 habitantes) (7), la repetición (CCG)<sub>7</sub> está fuertemente asociado con los alelos expandidos (AE) del gen *HTT*, alelos con 36 a más repeticiones de CAG en el gen *HTT*; además, es el más frecuente tanto en la población sana como afectada (6,8,9).

Por el contrario, en la mayoría de los estudios realizados en las poblaciones con las más bajas prevalencias de la EH, tales como las poblaciones de Asia Oriental (0,1-0,7 por 100 000) (10), la repetición (CCG)<sub>10</sub> está fuertemente asociada con los AE, mientras que la repetición (CCG)<sub>7</sub> es la más frecuente en la población sana (11,12). Las diferentes distribuciones alélicas del polimorfismo CCG sugieren que es un factor genético que podría estar contribuyendo a la expansión del microsatélite de CAG, por lo que también podría estar involucrada en la variación de la prevalencia de la EH en el mundo.

En América Latina, se han realizado muy pocos estudios sobre la distribución alélica del polimorfismo CCG (13–16). En Perú, en un estudio colaborativo entre el Centro de Investigación Básica en Neurogenética (CIBN) del Instituto Nacional de Ciencias Neurológicas (INCN) y el *Centre for Molecular Medicine and Therapeutics, Child and Family Research Institute, University of British Columbia* - Canadá (CMMT, centro de investigación de la EH mundialmente reconocido), se demostró que la mayoría de las mutaciones causantes de la EH en América Latina ocurren en haplotipos del gen *HTT* de ascendencia amerindia (haplotipo A1 variante amerindia) en lugar de en haplotipos resultantes de la ascendencia europea, lo cual muestra la importancia de estudiar otros factores genéticos que modifiquen la heredabilidad de la EH (17).

Durante la ejecución de ese estudio, se realizó el secuenciamiento del polimorfismo CCG del gen *HTT*, por lo que brindó una oportunidad para estudiar la relación que existe entre el polimorfismo CCG y la EH. Es por ello que el presente trabajo tiene como objetivo determinar la asociación entre el

polimorfismo CCG y la expansión del microsatélite CAG en el gen *HTT* de una población peruana afectada con la EH.

## **II. OBJETIVOS**

### **1. Objetivo General**

Determinar la asociación entre el polimorfismo CCG y la expansión del microsatélite CAG en el gen *HTT* de una población peruana atendida en el Instituto Nacional de Ciencias Neurológicas durante el período 2000-2013

### **2. Objetivos específicos**

- Describir las distribuciones alélicas del polimorfismo CCG y el microsatélite CAG en el gen *HTT* en los alelos controles y expandidos.
- Comparar las frecuencias de las repeticiones CCG en el gen *HTT* en los alelos controles y expandidos.
- Determinar la asociación entre el polimorfismo CCG y los haplotipos del gen *HTT* definidos por Kay *et al.* (17) en los alelos controles y expandidos.

### **III. HIPÓTESIS**

Existe una asociación entre el polimorfismo CCG y la expansión del microsatélite CAG en el gen *HTT* de una población peruana atendida en el Instituto Nacional de Ciencias Neurológicas durante el período 2000-2013.

#### **IV. MARCO TEÓRICO**

La EH es una enfermedad neurodegenerativa progresiva de herencia autosómica dominante. Está caracterizada por trastornos del movimiento, deterioro cognitivo y alteraciones del comportamiento (18). Esta enfermedad monogénica es causada por una mutación en el primer exón del gen *HTT* en el cromosoma 4, que consiste en la expansión anormal del microsatélite CAG (1).

##### **1. Epidemiología de la enfermedad de Huntington**

La EH ha sido descrita en todas las poblaciones a nivel mundial, pero con diferencias geográficas significativas en su prevalencia. Diversos estudios sugieren que la EH se habría originado en Europa Occidental y posteriormente se extendió a otros continentes debido a la migración, por lo que la prevalencia de la enfermedad variaría principalmente según su origen ancestral (19,20).

Actualmente, esta enfermedad es mucho más frecuente en poblaciones de Europa Occidental (hasta 13,5 casos por 100 000 habitantes); y debido a fenómenos de migración, también es muy frecuente en poblaciones de ascendencia europea (Estados Unidos, Canadá, Sudáfrica, Australia, el Caribe, India y Venezuela) (7). Por el contrario, se ha reportado que las poblaciones de Asia Oriental (0,1-0,7 por 100 000 habitantes) y la subpoblación negra de Sudáfrica (0,02 por 100 000) tienen las prevalencias más bajas en todo el mundo. Sin embargo, es probable que en la subpoblación negra de Sudáfrica se haya subestimado la prevalencia debido a la detección de pocos casos (10).

En América Latina aún no hay reportes formales de la prevalencia de la EH, pero se conoce que el estado Zulia (localizado alrededor del lago Maracaibo en Venezuela) es el principal foco de esta enfermedad en América Latina y el mundo. Se estima que la prevalencia de la EH en Zulia es más de 10 veces que la prevalencia promedio de Europa (7). Diversos estudios han demostrado que la mayoría de las familias venezolanas afectadas con la EH son descendientes de uno o muy pocos individuos de ascendencia europea que tenían la EH y que vivieron alrededor del lago Maracaibo a principios del siglo XIX (21).

## **2. La enfermedad de Huntington en Perú**

Los primeros reportes de la EH en Perú datan desde 1950 cuando Saavedra *et al.* (22) comunicaron el primer caso en un paciente de 39 años que era procedente de Cotahuasi - La Unión (Arequipa), el cual tenía nueve familiares afectados con la misma enfermedad. En 1983, un grupo de neurólogos dirigidos por el Profesor Juan M. Cuba Rodríguez, comunicaron una gran ocurrencia de casos de la EH en el Valle de Cañete (con una prevalencia igual a 31 por 100 000 habitantes), con pocos casos dispersos en el resto del país. En 1986, se realizaron los primeros estudios genealógicos en Perú de la EH, identificando al Valle de Cañete como el principal foco de esta enfermedad en el país (23).

El Valle de Cañete está localizado a 140 km al sur de la ciudad de Lima, y está conformado por una población variada desde el punto de vista étnico. Desde los siglos XVI y XVII, los europeos (principalmente españoles) trajeron consigo “esclavos negros” provenientes de África al Valle de Cañete para que trabajen en las plantaciones (24). Asimismo, desde 1849 también comenzó la

inmigración de chinos (25); así como, desde 1899, la inmigración de japoneses para que del mismo modo ellos trabajen en dichas plantaciones (26). Además, en el siglo pasado, el Valle de Cañete sufrió por varios flujos migratorios (intracuencas o hacia otras regiones del país) siendo cinco las principales tendencias migratorias: Yauyos/Cañete, Sierra sur/Cañete, Yauyos/Lima, Cañete/Lima, y Yauyos/Huancayo/Satipo. El flujo migratorio de Cañete a Lima es el más importante de toda la zona, debido a la gran cantidad de personas y su incesante tendencia a migrar a Lima (27). Esta información es valiosa para un mejor conocimiento de la migración de la EH en Perú.

Por medio de estudios clínicos y genealógicos en una gran familia conformada por 30 miembros afectados con la EH (esta correspondía a una de las 14 familias estudiadas hasta ese entonces), se propuso que la mutación que causa esta enfermedad habría aparecido en una familia del Valle de Cañete hace aproximadamente 120 a 150 años atrás, diseminándose posteriormente en todo el país. Sin embargo, a pesar de la presencia de diversas etnias en el Valle de Cañete, los primeros casos que se reportaron de la EH fueron aparentemente individuos mestizos de ascendencia hispánica, sin antecedentes africanos puros ni asiáticos (28,29).

Desde el 2003, Torres *et al.* (30,31) han estado realizando un seguimiento minucioso de las familias con la EH del Valle de Cañete y han estimado una prevalencia mínima de esta enfermedad igual a 45,1 por 100 000 habitantes, un valor muy alto en comparación con la prevalencia de la EH en poblaciones de Europa Occidental (hasta 13,5 casos por 100 000 habitantes). Basado en este

estudio, Cañete podría ser la segunda población con la prevalencia de la EH más grande de América Latina y una de las más grandes del mundo.

### **3. Características clínicas de la enfermedad de Huntington**

Las primeras manifestaciones de los síntomas de la EH son variables y pueden desarrollarse desde la primera a la novena década de vida (32). La edad promedio del inicio de la enfermedad se encuentra entre la cuarta y quinta década, y se caracteriza por movimientos involuntarios tipo coreicos en cara y extremidades que suelen estar ausentes en el reposo (33), deterioro cognitivo progresivo de inicio subcortical y síntomas psiquiátricos (problemas afectivos y cambio de personalidad, irritabilidad, agresividad, brotes psicóticos, deseo de suicidio) que posteriormente conducen a la demencia (34). Además, a lo largo de la evolución de la enfermedad, los pacientes presentan disartria, disfagia, ataxia, distonía, mioclonías, rigidez extrapiramidal, y deterioro neurológico global que los lleva a la postración. El tiempo de vida media de los pacientes es de alrededor de 17 años a partir de la edad de aparición de los primeros síntomas (35), siendo la causa principal de muerte la neumonía por aspiración ocasionada por dificultades al deglutir (36).

Un pequeño porcentaje de pacientes (aproximadamente 10%) desarrolla los síntomas de la EH antes de los 20 años. Esta es una variante juvenil de la enfermedad, usualmente resultante de la transmisión paterna y al muy elevado número de repeticiones de CAG (más de 65 repeticiones de CAG). El inicio temprano de la EH está asociado con el incremento de la severidad y una rápida progresión de la enfermedad. Los individuos con un inicio tardío de la EH (con

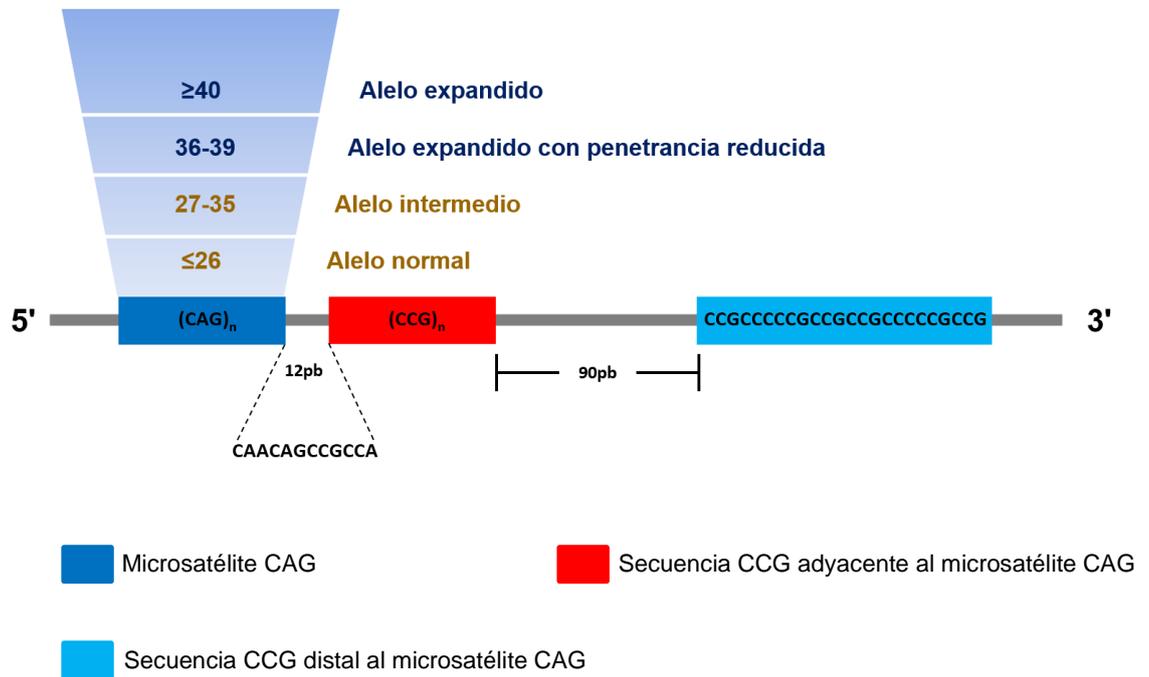
edad de inicio después de los de 60 años a más) representan un 10-25% de todos los casos y suelen tener un bajo número de repeticiones de CAG. Sus características clínicas son similares a las características generales, pero tienen un deterioro funcional menor y la progresión de la enfermedad es lenta (37).

#### **4. Características moleculares del gen *HTT***

El gen *HTT* está localizado en el extremo más distal del brazo corto (p) del cromosoma 4 (4p16.3), tiene una longitud de 180 kb y contiene 67 exones, los cuales tienen una longitud de 48 a 341 pb con un promedio de 138 pb (38). Este gen codifica una proteína llamada Huntingtina, cuya localización es nuclear, de expresión ubicua y regula varios factores de transcripción (39). Su función aún no está totalmente definida, aunque estaría implicada en el desarrollo embrionario normal, la hematopoyesis y la neurogénesis (40,41).

El primer exón del gen *HTT* contiene una secuencia de ADN repetitiva conformada por el triplete CAG (microsatélite CAG) que codifica al aminoácido glutamina (1). Existen variantes alélicas del gen *HTT* en la población en general, lo cual indica que es altamente polimórfico. La población sana puede tener alelos normales (AN) o alelos intermedios (AI); los AN son aquellos que tienen entre 9 a 26 repeticiones de CAG (42), mientras que los AI tienen de 27 a 35 repeticiones de CAG y están caracterizados por no desarrollar la EH por sí solos, pero presentan predisposición a expandirse anormalmente en las siguientes generaciones (43). La población afectada con la EH es portadora de los alelos expandidos (AE), los cuales tienen de 36 a más repeticiones de CAG (18) (**Figura 1**).

## Exón 1 del Gen *HTT*



**Figura 1.** Diagrama del exón 1 del gen *HTT* y localización del microsatélite CAG.

Fuente: Figura modificada de *ACMG 2014* (44).

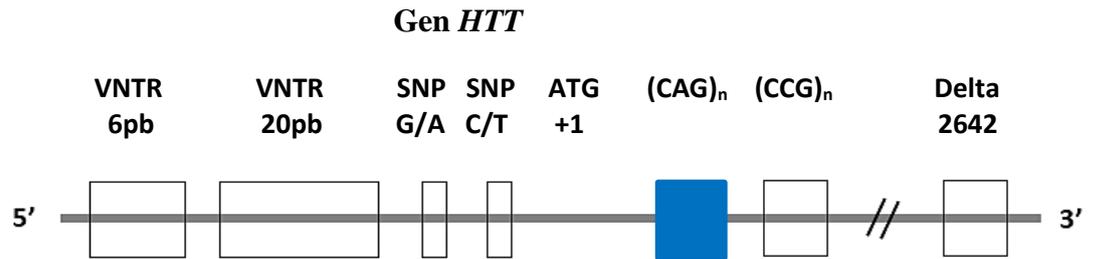
Esta característica polimórfica del gen *HTT* afecta la secuencia codificante de la Huntingtina en el dominio amino terminal, causando que las repeticiones de glutamina (poliglutamina o poliQ) varíen en longitud. La Huntingtina presenta normalmente hasta 35 residuos de glutamina, mientras que la variación mutante presenta 36 o más residuos, la cual forma agregados neurotóxicos que conllevan a la muerte neuronal por apoptosis (45).

La EH se transmite de forma autosómica dominante. Si uno de los progenitores está afectado, independientemente del sexo, sus hijos o hijas tendrán 50% de probabilidad de heredar la mutación que causa la enfermedad. En el gen *HTT*

mutado, el número de repeticiones de CAG suele aumentar de una generación a la siguiente. Un mayor número de repeticiones se asocia generalmente con un inicio más temprano de los signos y síntomas de la enfermedad. Individuos con un inicio tardío de la EH suelen tener de 40 a 50 repeticiones, mientras que los individuos con la variante juvenil tienden a tener más de 60 repeticiones. Existe una relación inversa entre el número de repeticiones y la edad de aparición de las manifestaciones de la enfermedad, lo cual puede producir un fenómeno llamado "anticipación génica", donde los descendientes presentan los síntomas a una edad más temprana y de manera más severa que la del progenitor afectado (46). Además de la longitud del microsatélite CAG, se han descrito otros factores que contribuirían a su inestabilidad, incluyendo: la presencia de interrupciones en el microsatélite CAG, el sexo y edad de transmisión de los padres, elementos reguladores *cis* y *trans* del ADN, así como también las influencias ambientales (4,47–50).

### **5. Polimorfismos en el gen *HTT***

Diversos estudios reportan que el fenotipo, la prevalencia y el origen de la EH en poblaciones de diferentes regiones geográficas, no solo están asociados con la variabilidad de la longitud del microsatélite CAG; sino también, estarían implicados con un conjunto de polimorfismos que flanquean a dicho microsatélite. Como por ejemplo: la secuencia CCG, la delección del codón Delta 2642 en el exón 58, polimorfismos de longitud de fragmentos de restricción (RFLPs), número variable de repeticiones en tándem (VNTRs), y varios polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs) que se encuentran tanto dentro como flanqueando el gen *HTT* (4,9,51) (**Figura 2**).



Características	VNTR unidad 6pb	VNTR unidad 20pb	SNP	SNP	Inicio de la traducción	n	n	Inserción/ delección
<b>Alelos</b>	1 ó 2 copias	1,2 ó 3 copias	G/A	C/T		6 - 35	4 - 12	A(delección) B(insersión)
<b>Posición</b>	-292 hasta - 287	-213 hasta -174	-148	-103	+1	Exón 1	Exón 1	Exón 58

**Figura 2.** Ilustración esquemática de algunos polimorfismos que se encuentran a lo largo del gen *HTT*. Fuente: Figura modificada de Paradisi *et al.*, 2008 (14).

## 6. Polimorfismo CCG en el gen *HTT*

Entre los polimorfismos del gen *HTT* destaca la secuencia CCG, la cual se ubica hacia el extremo 3' (*downstream*) del microsatélite CAG (a tan sólo 12pb del microsatélite CAG). Esta secuencia está conformada por una serie de repeticiones del triplete CCG que codifica una región rica en prolina (poliprolina o poliP) que está adyacente al tracto polyQ (5) (**Figura 1**). La región poliP está involucrada en la localización citoplasmática de un polipéptido amino terminal patogénico de la Huntingtina (Httex1p) y posiblemente también está relacionada con la estabilidad y agregación de esta proteína (52,53).

Antes de descubrir que la secuencia CCG es polimórfica, para estimar el tamaño del microsatélite CAG mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) se usaban cebadores que no solo abarcaban al microsatélite, sino que algunos

incluían también a la secuencia CCG adyacente a este mientras que otros incluían incluso a una secuencia CCG distal (ubicada aproximadamente a 90pb del extremo 3' del microsatélite CAG). Esto sucedió debido a que se pensaba que la secuencia CCG adyacente tenía un número de repeticiones estable (7 repeticiones de CCG) (1,54–56).

En 1993, en un esfuerzo por saber si la secuencia CCG es polimórfica o no, Andrew *et al.* (5) utilizaron tres pares de cebadores para la PCR, un par flanqueaba únicamente al microsatélite CAG, un segundo par flanqueaba solamente a la secuencia CCG adyacente, y un tercero flanqueaba tanto al microsatélite CAG como a la secuencia CCG adyacente. Mediante este procedimiento, ellos reportaron que los AN del gen *HTT* podían tener desde 7 hasta 12 repeticiones de CCG, siendo la repetición (CCG)<sub>7</sub> la más frecuente y (CCG)<sub>10</sub> la segunda más frecuente. En los AE, ellos encontraron que la mayoría presentaban la repetición (CCG)<sub>7</sub>, mientras que los pocos alelos restantes presentaban la repetición (CCG)<sub>10</sub>.

A partir del descubrimiento de Andrew *et al.* (5), muchas investigaciones encontraron los mismos resultados incluso con otras metodologías. A pesar de la evidencia que tanto el microsatélite CAG y la secuencia CCG son polimórficos en los AN y AE, estudios posteriores han demostrado hasta ahora que solo el microsatélite CAG tiene un impacto significativo en el inicio de los síntomas de la EH.

En 1994, Squitieri *et al.* (9) realizaron un análisis de haplotipos de ADN utilizando marcadores fuertemente asociados con la EH, tres marcadores

intragénicos ( $\Delta$  ácido glutámico, GT170 y la secuencia CCG) y dos extragénicos (D4S127 y D4S95), siendo la secuencia CCG el marcador que se encuentra en mayor desequilibrio de ligamento con la EH. Los resultados mostraron que la EH se presenta con mayor frecuencia en cromosomas con haplotipos específicos que contengan un alto número de repeticiones de CAG, proponiendo que AN con un número de repeticiones de CAG alto tienen más probabilidad a ser más inestables y a expandirse hasta el rango patogénico. Asimismo, se observó que en poblaciones con altas tasas de prevalencia para la EH, el número de repeticiones de CAG en AN es significativamente mayor que en las poblaciones con bajas tasas de prevalencia para la EH, sugiriendo que los AN con diferente ascendencia tienen diferentes distribuciones alélicas del microsatélite CAG.

Además, este estudio reportó una relación inversa entre la longitud del microsatélite CAG y el polimorfismo CCG en AN, donde un alelo con un número de repeticiones de CAG alto está mayormente asociado a la repetición (CCG)<sub>7</sub>; por lo que la transición de un AN a AE ocurriría preferentemente en aquellos alelos con un alto número de repeticiones CAG, los cuales generalmente presentan un número de repeticiones CCG bajo (9).

Desde entonces, diversos estudios a nivel mundial han investigado la distribución alélica del polimorfismo CCG, reportando que esta puede variar entre 4 a 12 repeticiones, siendo siempre las repeticiones más comunes (CCG)<sub>7</sub> o (CCG)<sub>10</sub> tanto en la población sana como afectada (6). Se ha encontrado que en poblaciones con prevalencias altas de la EH como Europa Occidental, la repetición (CCG)<sub>7</sub> está fuertemente asociada con los AE, y es el más frecuente

tanto en la población sana como afectada (6,8,9). Por el contrario, en la mayoría de los estudios realizados en las poblaciones con las más bajas prevalencias de la EH como Asia Oriental, la repetición (CCG)<sub>10</sub> está fuertemente asociada con los AE, mientras que la repetición (CCG)<sub>7</sub> es la más frecuente en la población sana (11,12).

En América Latina, se han realizado muy pocos estudios que hayan involucrado el análisis de la distribución alélica del polimorfismo CCG; entre ellos destacan los ejecutados en Venezuela y Brasil, donde obtuvieron resultados similares a los realizados en Europa Occidental (13–16).

Por otro lado, desde el 2009 se han estudiado diferentes categorías de haplotipos del gen *HTT* (definidos por un conjunto específico de SNPs) en diferentes poblaciones con y sin la EH; obteniéndose principalmente tres haplogrupos (grupo de haplotipos similares): El haplogrupo A (subtipos A1 - A7), B (B1 - B2) y C (C1 - C8). En las poblaciones europeas, los AE están fuertemente asociados a los haplotipos A1 (variante europea) y A2; mientras que los AE de las poblaciones de Asia Oriental y la subpoblación negra de Sudáfrica, se asocian al haplogrupo C y al subtipo B2, respectivamente. Al mismo tiempo, en estos estudios se encontraron que los haplogrupos A y B generalmente están asociados con la repetición (CCG)<sub>7</sub> y el haplogrupo C está asociado con las repeticiones (CCG)<sub>8, 9, 10</sub> (3,4,50,57).

En América Latina solo se ha realizado un estudio sobre haplotipos (principalmente en la población peruana), en el cual se demostró que los AE están asociados al haplotipo A1 (variante amerindia) (17). Estos estudios

sugieren que los haplotipos del gen *HTT* podrían estar asociados a la prevalencia de la EH. Los haplotipos pueden contener elementos *cis* que aumenten la inestabilidad del microsatélite CAG en el gen *HTT*.

## V. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La EH es una enfermedad genética hereditaria causada por la expansión anormal del microsatélite CAG en el gen *HTT* (1). Sus síntomas pueden manifestarse a una edad cada vez más temprana y severa dentro de una familia afectada (anticipación génica) (46). Además, a pesar de que la EH ha sido descrita en todo el mundo, hay grandes diferencias geográficas en su prevalencia que tienen una causa aún no definida (50).

En Perú, el Valle de Cañete (localizado al sur de Lima) es el principal foco de esta enfermedad, con una prevalencia mínima de 45,1 por 100 000 habitantes (31), un valor muy alto en comparación con la prevalencia de la EH en poblaciones de Europa Occidental (hasta 13,5 casos por 100 000 habitantes) (58). Si bien todavía hay un número significativo de casos clínicos en Cañete, actualmente se encuentra diseminada en diversas regiones del Perú (especialmente en Lima), incluso en comunidades nativas provenientes de la selva amazónica (59,60).

Los aspectos genéticos de la EH en Perú aún no están claros a pesar de que ya han pasado 70 años desde que el primer caso fue reportado por Saavedra *et al.* (22). Diversos estudios a nivel mundial han reportado que la variabilidad de la longitud del microsatélite CAG, el fenotipo de la EH y su origen en poblaciones de diferentes regiones geográficas podrían estar asociadas con el polimorfismo CCG, secuencia adyacente a la mutación causante de la EH (el microsatélite CAG del gen *HTT*). Lamentablemente, en América Latina se han realizado muy pocos estudios que hayan involucrado el análisis de este polimorfismo (13–16),

y en Perú no hay ninguno. Es por ello, que en el presente trabajo se planteó la siguiente pregunta de investigación: ¿Cuál es la asociación entre el polimorfismo CCG y la expansión del microsatélite CAG en el gen *HTT* de una población peruana atendida en el Instituto Nacional de Ciencias Neurológicas durante el período 2000-2013?

## VI. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

Desde el año 2000, el CIBN realiza el diagnóstico clínico-molecular de la EH; y con el fin de investigar más sobre esta y otras enfermedades raras, ha creado un banco de ADN conformado por más de 350 muestras agrupadas en 182 familias afectadas con la EH procedentes de diferentes regiones del Perú. Actualmente, el CIBN trabaja en colaboración con el CMMT (centro de investigación de la EH mundialmente reconocido), pudiéndose de esta manera investigar más profundamente el gen *HTT* de la población peruana afectada. Gracias a un estudio que se realizó con el CMMT (17), se logró secuenciar el gen *HTT* de 62 familias mestizas peruanas afectadas con la EH, obteniendo no solo información del genotipo del microsatélite CAG; sino también, de otros polimorfismos que están dentro y flanqueando el gen, entre ellos la secuencia CCG.

Diversos estudios han demostrado que los tamaños y la frecuencia de los alelos CCG varían según la prevalencia de la EH del área geográfica de estudio. Las diferentes distribuciones alélicas del polimorfismo CCG sugieren que es un factor genético que podría estar contribuyendo a la expansión del microsatélite de CAG, por lo que también podría estar involucrada en la variación de la prevalencia de la EH en el mundo. Es por ello, que mediante la genotipificación del polimorfismo CCG y del microsatélite CAG en una población peruana con EH; este estudio tiene como objetivo determinar la asociación entre el polimorfismo CCG y la expansión del microsatélite CAG en el gen *HTT*. Los resultados que se obtengan servirán de base a otros estudios que tienen como objetivo conocer mejor el mecanismo de expansión del microsatélite CAG, así

como también conocer el origen de la EH, la razón de las diferencias de las tasas de prevalencia de la EH en el mundo, y el desarrollo de enfoques terapéuticos destinados a prevenir la expansión del microsatélite CAG.

## VII. METODOLOGÍA

### 1. Diseño de la investigación

Estudio observacional, analítico, y retrospectivo.

### 2. Población

- **Población de interés:** Información clínico-molecular de las muestras de ADN de individuos afectados y familiares de pacientes con EH de la población peruana.
- **Población elegible:** Información clínico-molecular de las muestras de ADN de individuos afectados y familiares de pacientes con EH del INCN y otros centros derivados por los médicos tratantes.
- **Marco muestral:** Registro de la EH del CIBN que tiene almacenado hasta el 2013 información clínico-molecular de un total de 389 muestras de ADN agrupadas en 182 familias afectadas con la EH.
- **Muestreo:** No aleatorio por conveniencia, a partir de la información clínico-molecular de las muestras de ADN más informativas de las familias afectadas con la EH (con 2 a más muestras por familia) que cumplieron con los criterios de selección para el estudio.
- **Tamaño muestral:** Se incluyó la información clínico-molecular de todas las muestras de ADN analizadas en el proyecto denominado “Determinación del origen de la enfermedad de Huntington basado en haplotipos de una población peruana atendida en el Instituto Nacional de Ciencias Neurológicas durante el período 2000-2013” (**Anexo 1**). En ese estudio se analizó a 62 familias mestizas peruanas afectadas con la EH, de

ellos se analizaron 63 AE no relacionados (uno de los individuos es homocigoto para la EH, y se contó como dos alelos heredados independientemente) y 132 alelos controles (AC, alelos con menos de 36 repeticiones de CAG) no relacionados de los familiares de los pacientes previamente mencionados. Asimismo, se analizaron 86 AC de 43 individuos sanos de una comunidad amerindia quechua de Puno debido a su diferente origen étnico. Estas muestras de ADN fueron recolectadas originalmente como parte de un estudio genético de la enfermedad de Parkinson, mediante el cual se otorgó a los participantes un consentimiento informado para su uso en estudios adicionales relacionados con enfermedades neurodegenerativas (**Anexo 2**).

### **3. Criterios de selección**

#### **a. Criterios de inclusión**

- Muestras de ADN con genotipificación del polimorfismo CCG y del microsatélite CAG.
- Muestras de ADN con datos de haplotipos del gen *HTT* basados en el estudio de Kay *et al.* (17).
- Muestras de ADN de individuos que cuenten con consentimiento informado para participar en estudios posteriores sobre la EH.

#### **b. Criterios de exclusión**

- Muestras de ADN con datos incompletos.
- Muestras de ADN de individuos que no hayan consentido su participación en estudios posteriores sobre la EH.

#### 4. Operacionalización de las variables

**Tabla 1.** Definición operacional de la variable principal

Variable	Dimensiones	Categoría	Tipo	Escala de medición	Indicador
<b>Gen HTT</b>	Alelo CAG	Control ( $9 \leq CAG \leq 35$ ) Expandido ( $36 \leq CAG$ )	Cuantitativa Discreta	Intervalo	N° de repeticiones CAG
	Alelo CCG	4 - 12 repeticiones de CCG	Cuantitativa Discreta	Intervalo	N° de repeticiones CCG

**Tabla 2.** Definición operacional de las variables secundarias

Variable	Dimensiones	Categoría	Tipo	Escala de medición	Indicador
<b>Haplogrupo</b>	A	A1 - A7	Cualitativa	Ordinal	N°/%
	B	B1 - B2	Cualitativa	Ordinal	N°/%
	C	C1 - C8	Cualitativa	Ordinal	N°/%
<b>Origen étnico</b>	Mestizo	-	Cualitativa	Nominal	N°/%
	Amerindio	-	Cualitativa	Nominal	N°/%

## 5. Definición conceptual y operacional de las variables

- a. **Gen *HTT*:** Gen localizado en el cromosoma 4 (4p16.3), contiene 67 exones y codifica una proteína llamada Huntingtina; la mutación del microsatélite CAG en el primer exón del gen *HTT* es la principal causa de la EH.
- **Alelo CAG:** Una de las versiones alternativas del gen *HTT*, portadora del microsatélite CAG, el cual tiene un rango de número de repeticiones de CAG que puede variar desde aproximadamente 9 repeticiones a más.
    - o **Alelo control (AC):** Alelo del gen *HTT* con un rango que varía entre 9 a 35 repeticiones de CAG en el microsatélite.
    - o **Alelo expandido (AE):** Forma mutante del gen *HTT* que tiene un número igual o mayor a 36 repeticiones de CAG en el microsatélite.
  - **Alelo CCG:** Una de las versiones alternativas del gen *HTT*, portadora de la secuencia CCG adyacente al microsatélite CAG. El alelo CCG tiene un rango de número de repeticiones de CCG que puede variar desde 4 hasta 12 repeticiones.
- b. **Haplotipo:** Grupo de alelos en un cromosoma que se heredan juntos a partir de uno de los padres; esto ocurre debido a un fenómeno llamado ligamiento genético, por el cual los genes que están cerca uno del otro en el mismo cromosoma son heredados juntos. El presente estudio se

basó en la selección de haplotipos del gen *HTT* definidos por Kay *et al.* (3,17).

- **Haplogrupo A:** Definido por 10 tag SNPs del gen *HTT*, polimorfismos con alto desequilibrio de ligamiento con la expansión del microsatélite CAG. Fue dividido inicialmente en cinco subtipos (A1-A5), distinguidos uno del otro por los restantes tag SNPs (12 tag SNPs) que no fueron usados para definirlo; posteriormente se descubrieron los subtipos africanos A6 y A7. A1, A2 y A3 son los subtipos más comunes en los AE. A1 está definido por tres polimorfismos: rs72239206, rs149109767 y rs362307; sin embargo, su variante amerindia está definida adicionalmente por tres SNPs: rs12508079, rs188072823 y rs186719032. A2 (compuesto por los subtipos A2a y A2b estrechamente relacionados) está definido por cinco SNPs: rs2798235, rs363080, rs363107, rs362313, y rs2530595. A3 está específicamente definido por el SNP rs113407847.
- **Haplogrupo B:** Su agrupación fue realizada manualmente entre los haplotipos diferentes al haplogrupo A. Predomina en los AE de la subpoblación negra de Sudáfrica. Está dividido en dos subtipos: B1 y B2.
- **Haplogrupo C:** Su agrupación también fue realizada manualmente entre los haplotipos diferentes al haplogrupo A. Se han reportado 8 subtipos (C1 - C8), siendo C1 el subtipo más común en este haplogrupo. En Sudáfrica, se reportó la nueva variante denominada

C-Sudáfrica (C-SA), la cual incluye haplotipos que no fueron previamente identificados en las poblaciones de europeas o asiáticas.

- **Haplogrupo “Otro”:** Conformado por los haplotipos no clasificados en los haplogrupos anteriormente definidos. Incluye a los haplotipos únicos o raros, los cuales no están necesariamente relacionados el uno con el otro.

c. **Origen étnico:** Etnia ancestral a la que un individuo pertenece.

- **Mestizo:** De padre y madre de linaje diferente.
- **Amerindio:** Originario de América.

## 6. Procedimientos

**1º Proceso de la obtención de los datos:** Se solicitó al Comité Institucional de Ética en Investigación del INCN una extensión de la aprobación del proyecto denominado “Determinación del origen de la enfermedad de Huntington basado en haplotipos de una población peruana atendida en el Instituto Nacional de Ciencias Neurológicas durante el período 2000-2013” (**Anexo 1**). Posterior a su aprobación, se solicitó permiso al CIBN para revisar la base de datos obtenida en dicho proyecto.

Se seleccionaron los datos de las muestras de ADN que cumplieron con los criterios de selección para el estudio. Los datos seleccionados se adjuntaron en una base de datos Excel, organizándolos con identificadores numéricos por familia e identificadores numéricos de posición dentro cada familia.

**2º Base de Datos:** Contiene la información del origen étnico de cada muestra de ADN, los genotipos de los alelos CCG y CAG del gen *HTT*, y los haplotipos del gen *HTT*.

- El origen étnico de cada muestra se obtuvo por medio de su historia clínica, y fue confirmado por medio de un análisis de ancestría usando la información de las muestras del proyecto 1000 Genomas fase 3 como referencia (17).
- La genotipificación del microsatélite CAG se realizó en el CIBN. El microsatélite fue amplificado mediante la PCR con los cebadores sentido HD3: 5'CCTTCGAGTCCCTCAAGTCCTTC'3 y antisentido HD5: 5' CGGCTGAGGCAGCAGCGGCTGT'3 mediante la metodología propuesta por Goldberg *et al.* (54). Para determinar el número de repeticiones de CAG de los productos amplificados, estos fueron corridos en geles de poliacrilamida denaturante junto con marcadores de pesos moleculares conocidos.
- Los resultados de la genotipificación del microsatélite CAG fueron verificados en el CMMT. Asimismo, ahí se realizó la genotipificación del polimorfismo CCG. Las secuencias se amplificaron por PCR usando tres pares de cebadores marcados con fluorescencia: un par flanqueaba al microsatélite CAG (HD344F\_HEX, 5'-HEX-CCTTCGAGTCCCTCAAGTCCTTC-3' y HD450R\_PT, 5'-GTTTGGCGGCGGTGGCGGCTGTTG-3'), el otro par a la secuencia CCG (HD419F\_NED, 5'-NED-AGCAGCAGCAGCAACAGCC-3' y HD482R\_PT, 5'-

GTTTGGCTGAGGAAGCTGAGGAG-3'), y el último flanqueaba tanto al microsatélite CAG como a la secuencia CCG (HD344F\_6FAM, 5'-6FAM-CCTTCGAGTCCCTCAAGTCCTTC-3' y HD482R\_PT, 5'-GTTTGGCTGAGGAAGCTGAGGAG-3'). Para confirmar su amplificación y tamaño aproximado, los productos de PCR fueron corridos en geles de agarosa seguido de un análisis de fragmentos por electroforesis capilar (15).

- Todas las muestras fueron genotipificadas en 92 SNPs y 77 SNPs que abarcan la región del gen *HTT* mediante el ensayo protocolizado de Illumina GoldenGate en la plataforma BeadArray ([www.illumina.com](http://www.illumina.com)). Los haplotipos fueron inferidos por un algoritmo Bayesiano mediante el programa PHASE v2.1. Los tag SNPs del gen *HTT*, fueron usados para definir los tres haplogrupos principales (A, B y C) y sus respectivas variantes. Los haplotipos se confirmaron mediante segregación familiar y por asociación con los alelos CCG (3).

## 7. Plan de análisis

- **Para la estadística descriptiva:** Las variables cuantitativas se presentan en tablas con medias  $\pm$  desviación estándar (DE), y las variables cualitativas se presentan como frecuencias (porcentajes).
- **Para la estadística inferencial:** Se utilizó la prueba de chi-cuadrado ( $X^2$ ) para comparar las frecuencias de las repeticiones CCG entre los AC y los AE, mientras que la prueba exacta de Fisher se utilizó para

comparar las frecuencias de las repeticiones CCG entre los haplogrupos. La prueba de  $t$  de Student o la prueba  $t$  de Welch (en el caso que las varianzas fueron desiguales) fueron utilizadas para comparar el número promedio de repeticiones de CAG en cada tipo de repetición CCG. Los análisis estadísticos se realizaron con el software "R" ([www.r-project.org](http://www.r-project.org)). Un  $p$ -value menor de 0,05 se consideró estadísticamente significativo.

## **8. Consideraciones éticas**

- El proyecto fue aprobado por el Comité de Ética del INCN y de la Universidad Peruana Cayetano Heredia (UPCH).
- La información de identificación personal de los pacientes y familiares participantes en el estudio fue almacenada en una base de datos independiente de acceso restringido al personal del CIBN. Los investigadores no tienen acceso a esta información.
- Todo investigador del CIBN, se compromete por escrito sobre la confidencialidad de los datos a los que accede, desde el inicio hasta el término de su trabajo de investigación.
- Los resultados globales obtenidos del estudio se informarán a la comunidad participante a través de reuniones informativas coordinadas con las autoridades respectivas, en un lenguaje comprensible resaltando los resultados más relevantes del estudio.

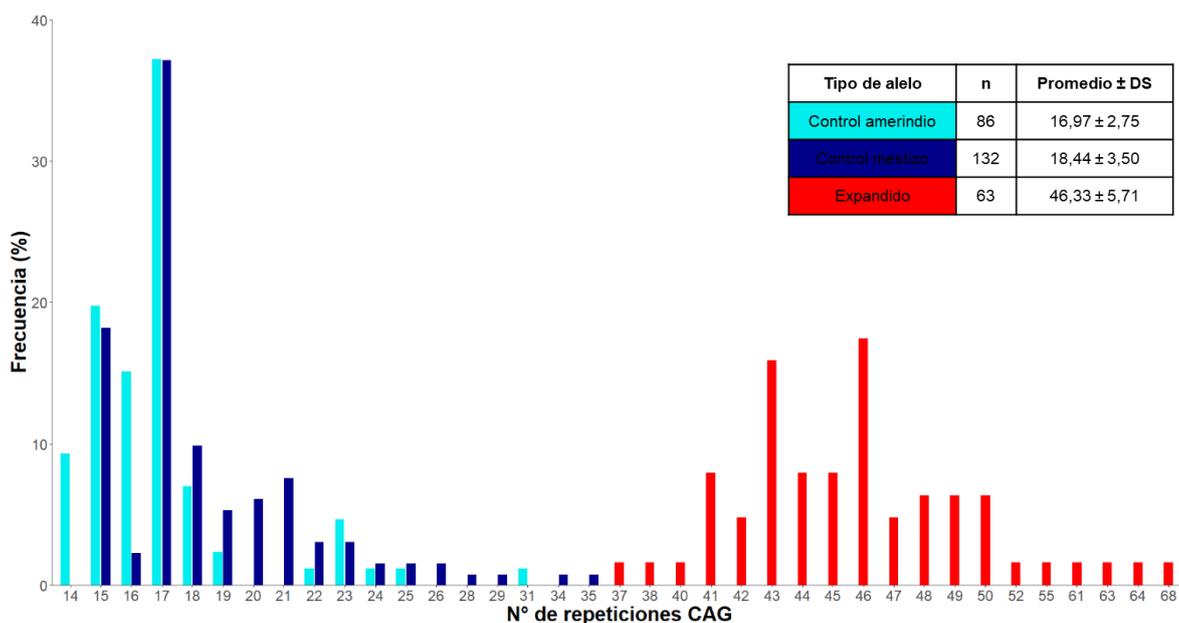
- Todas las muestras utilizadas en el estudio cuentan con consentimiento informado que permite su uso en estudios posteriores sobre la EH **(Anexo 3)**.

## VIII. RESULTADOS

### 1. Distribución alélica del microsatélite CAG en el gen *HTT*

En la **Figura 3** se muestra la distribución alélica del microsatélite CAG en 63 AE no relacionados de origen étnico mestizo y 218 AC no relacionados pertenecientes a dos grupos étnicos diferentes de Perú (132 alelos de origen mestizo y 86 de origen amerindio). Los AE tuvieron un rango que varió de 37 a 68 repeticiones de CAG con un promedio de  $46,33 \pm 5,71$  y mediana igual a 46. El alelo (CAG)<sub>46</sub> fue el más frecuente en este grupo (17,46%).

Los AC de origen mestizo tuvieron un rango que varió de 15 a 35 repeticiones de CAG con un promedio de  $18,44 \pm 3,50$ ; mientras que los de origen amerindio tuvieron un rango de 14 a 31 repeticiones de CAG con un promedio de  $16,97 \pm 2,75$ . En ambos grupos, la mediana fue igual a 17 y el alelo (CAG)<sub>17</sub> fue el más frecuente (aproximadamente 37%). Asimismo, la frecuencia de los AI fue 2,29% (5/218): los alelos (CAG)<sub>28</sub>, (CAG)<sub>29</sub>, (CAG)<sub>34</sub> y (CAG)<sub>35</sub> de origen mestizo; y un alelo (CAG)<sub>31</sub> de origen amerindio.



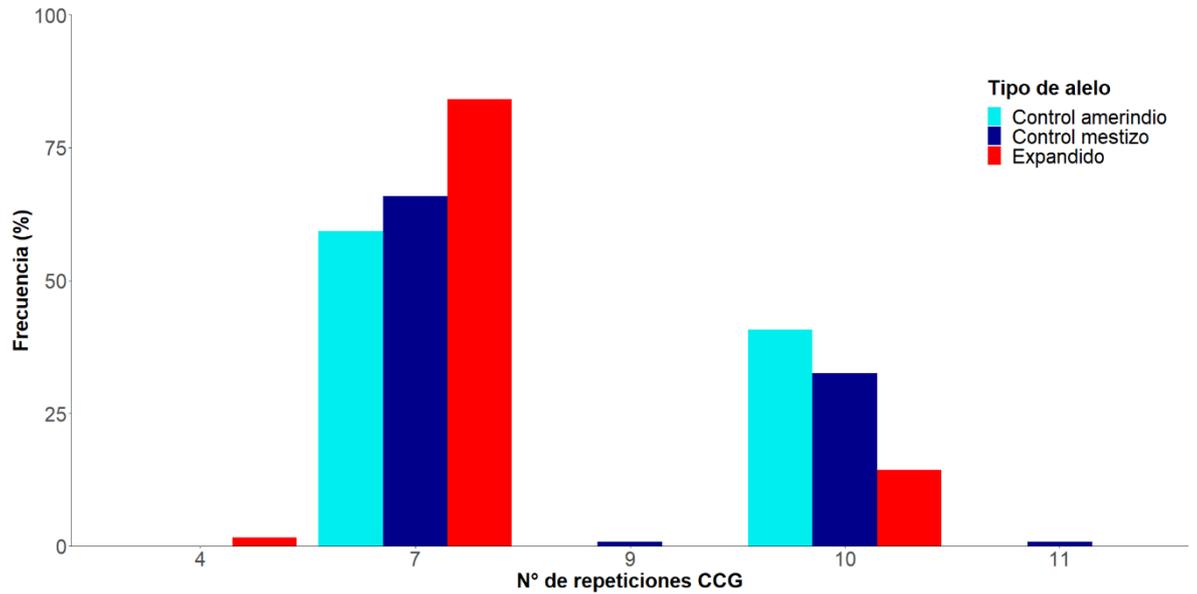
**Figura 3.** Distribución alélica del microsatélite CAG en los AC y AE del gen *HTT*. Nótese que, en los AC de ambos grupos étnicos, el alelo (CAG)<sub>17</sub> fue el más frecuente. En los AE, el alelo (CAG)<sub>46</sub> fue el más frecuente.

## 2. Distribución alélica y análisis del polimorfismo CCG en el gen *HTT*

La distribución alélica del polimorfismo CCG también fue analizada en todos los alelos descritos anteriormente (**Figura 4**). En los AE se identificaron tres tipos de repeticiones CCG: (CCG)<sub>4</sub>, (CCG)<sub>7</sub> y (CCG)<sub>10</sub>; siendo (CCG)<sub>7</sub> la más frecuente (84,13%), seguida por (CCG)<sub>10</sub> (14,29%). Solo se encontró una repetición (CCG)<sub>4</sub>.

En los AC de origen mestizo se identificaron cuatro tipos de repeticiones CCG: (CCG)<sub>7</sub>, (CCG)<sub>9</sub>, (CCG)<sub>10</sub> y (CCG)<sub>11</sub>; siendo (CCG)<sub>7</sub> la más frecuente (65,91%), seguido por (CCG)<sub>10</sub> (32,58%). Los otros tipos de alelos restantes solo representan a un tipo de repetición CCG cada uno. En los AC de origen

amerindio se identificaron solo a las repeticiones (CCG)<sub>7</sub> y (CCG)<sub>10</sub>; siendo también la repetición (CCG)<sub>7</sub> la más frecuente (59,30%).



**Figura 4.** Distribución alélica del polimorfismo CCG en los AC y AE del gen *HTT*. Nótese las diferencias en las frecuencias del número de repeticiones de CCG en los diferentes tipos de alelos.

Se encontró que las frecuencias de las repeticiones (CCG)<sub>7</sub> y (CCG)<sub>10</sub> muestran una diferencia estadísticamente significativa entre los AE y los AC (tanto con alelos de origen amerindio como mestizo) (**Tablas 3 y 4**). La repetición (CCG)<sub>7</sub> está asociada a los AE mientras que (CCG)<sub>10</sub> está asociada a los AC.

**Tabla 3.** Frecuencias de las repeticiones (CCG)<sub>7</sub> y (CCG)<sub>10</sub> en los AC de origen amerindio y AE del gen *HTT*

N° de repeticiones CCG	AC (%)	AE (%)	<i>p-value*</i>
7	51 (59,30%)	53 (84,13%)	<b>0,0011</b>
10	35 (40,70%)	9 (14,29%)	<b>0,0005</b>

AC, alelo control; AE, alelo expandido.

\* Prueba de X<sup>2</sup>

**Tabla 4.** Frecuencias de las repeticiones (CCG)<sub>7</sub> y (CCG)<sub>10</sub> en los AC de origen mestizo y AE del gen *HTT*

N° de repeticiones CCG	AC (%)	AE (%)	<i>p-value*</i>
7	87 (65,91%)	53 (84,13%)	<b>0,0082</b>
10	43 (32,58%)	9 (14,29%)	<b>0,0069</b>

AC, alelo control; AE, alelo expandido.

\* Prueba de X<sup>2</sup>

Por otro lado, en los AE, a pesar de que se encontró una leve diferencia entre el número promedio de repeticiones de CAG en los alelos con repeticiones (CCG)<sub>7</sub> y (CCG)<sub>10</sub> ( $46,62 \pm 5,85$  vs.  $44,67 \pm 5,15$ ), esta no fue estadísticamente significativa ( $p = 0,35$ ). En los AC de origen mestizo, los alelos con repeticiones (CCG)<sub>7</sub> y (CCG)<sub>10</sub> presentaron un número promedio de repeticiones de CAG de  $18,92 \pm 3,93$  y  $17,58 \pm 2,27$ , respectivamente; observándose una diferencia significativa entre estos valores ( $p = 0,0155$ ). En los AC de origen amerindio, los alelos con repeticiones (CCG)<sub>7</sub> y (CCG)<sub>10</sub> presentaron un número promedio

de repeticiones de CAG de  $16,82 \pm 3,34$  y  $17,17 \pm 1,58$ , respectivamente; sin embargo, estos valores no fueron significativamente diferentes ( $p = 0,5202$ ) (Tabla 5). Además, se analizó a los AC sin discriminar su origen étnico; sin embargo, tampoco se encontró una diferencia significativa ( $p = 0,0613$ ) entre el número promedio de repeticiones de CAG que presentaba cada alelo CCG.

**Tabla 5.** Número promedio de repeticiones de CAG en los AC y AE del gen *HTT* con repeticiones (CCG)<sub>7</sub> y (CCG)<sub>10</sub>

Alelos	Origen étnico	(CCG) <sub>7</sub>	(CCG) <sub>10</sub>	<i>p-value</i>
AC	Amerindios	$16,82 \pm 3,34$	$17,17 \pm 1,58$	$0,5202^*$
	Mestizos	$18,92 \pm 3,93$	$17,58 \pm 2,27$	$0,0155^*$
AE	Mestizos	$46,62 \pm 5,85$	$44,67 \pm 5,15$	$0,35^{\wedge}$

AC, alelo control; AE, alelo expandido.

\* Prueba de *t* de Welch

<sup>^</sup> Prueba de *t* de Student

### 3. Haplotipos del gen *HTT*

Los haplotipos del gen *HTT* fueron identificados en 79 AC de origen amerindio, 125 de origen mestizo y en 62 AE; por lo tanto, no se pudieron asignar haplotipos en 15 alelos. Tanto en los AC como en los AE, los haplogrupos A y B siempre están asociados con la repetición (CCG)<sub>7</sub> sin importar su origen étnico, excepto por un AE con haplotipo A2a que está asociado con la repetición (CCG)<sub>4</sub>. Por el contrario, se observó que el haplogrupo C está asociado con las repeticiones (CCG)<sub>9</sub>, (CCG)<sub>10</sub> y (CCG)<sub>11</sub> ( $p < 0,001$ ). En los AC de origen amerindio se

observó que el haplotipo C1 es el que tiene el número promedio de repeticiones de CAG más alto en comparación de los haplogrupos A y B ( $p = 1,69 \times 10^{-5}$  y  $p = 0,0077$ , respectivamente). Por el contrario, en los AC de origen mestizo se puede visualizar que los haplogrupos A y B tienen los promedios más altos de repeticiones de CAG en comparación con el haplogrupo C ( $p = 0,4967$  y  $p = 0,0003$ , respectivamente) (Tablas 6 y 7).

**Tabla 6.** Frecuencias de las repeticiones (CCG)<sub>7</sub> y (CCG)<sub>10</sub> según su haplogrupo principal (A, B, C) del gen *HTT*

Alelos	Origen étnico	N° de repeticiones CCG	Haplogrupos			<i>p-value*</i>
			A	B	C	
AC	Amerindios (n=79)	7	31	18	-	< 0,001
		10	-	-	30	
	Mestizos (n=122)	7	71	13	-	
		10	-	-	38	
AE	Mestizos (n=61)	7	52	-	-	< 0,001
		10	-	-	9	

AC, alelo control; AE, alelo expandido.

\* Prueba exacta de Fisher: Se comparó las frecuencias de las repeticiones CCG entre los haplogrupos A y B vs. C.

**Tabla 7.** Haplotipos del gen *HTT* de una población peruana

Origen étnico	N° AC	N° AE	Haplotipo	N° de repeticiones CCG	Promedio de CAG en controles	Rango		
Amerindios	5		A1 amerindio	7	16,52 ± 3,93	14 - 31		
	3		A5a	7				
	23		A5b	7				
	18		B1a	7	16,67 ± 0,91	16 - 18		
	30		C1	10	17,43 ± 1,52	17 - 25		
Mestizos	21	44	A1 amerindio	7	18,68 ± 4,03	15 - 35		
	1	2	A1 europeo	7				
		1	A2a	4				
	2	5	A2a	7				
	4	1	A2b	7				
	2		A3	7				
	20		A5a	7				
	19		A5b	7				
	1		A6	7				
	1		A7a	7				
	10		B1a	7			19,15 ± 2,41	17 - 26
	1		B1b	7				
	1		B2a	7				
	1		B2b	7				
	35	9	C1	10			17,59 ± 2,32	15 - 28
1		C4a	9					
1		C5b	10					
2		C6	11					
1		C7a	10					
1		C7b	10					

AC, alelo control; AE, alelo expandido.

## IX. DISCUSIÓN

El gen *HTT* es complejo porque está conformado por una mezcla de polimorfismos que podrían estar asociados con el fenotipo, la prevalencia y el origen de la EH. Entre estos polimorfismos, destaca la secuencia CCG, ya que se ubica a tan sólo 12 pb del microsatélite CAG (la principal causa de la EH) (5). El polimorfismo CCG presenta 4 a 12 repeticiones del triplete CCG, siendo las repeticiones más comunes (CCG)<sub>7</sub> y (CCG)<sub>10</sub> (6). Además, diversos estudios han reportado que en las poblaciones con prevalencias altas de la EH, la repetición (CCG)<sub>7</sub> está fuertemente asociada con los AE, y es la más frecuente tanto en la población sana como afectada (6,8,9) Por el contrario, en la mayoría de los estudios realizados en las poblaciones con las más bajas prevalencias de la EH, la repetición (CCG)<sub>10</sub> está fuertemente asociada con los AE, mientras que la repetición (CCG)<sub>7</sub> es el más frecuente en la población sana (11,12).

En América Latina se han realizado muy pocos estudios que hayan involucrado el análisis del polimorfismo CCG (13–16), y en Perú no hay ninguno. Este estudio analiza por primera vez el polimorfismo CCG en el gen *HTT* en una población peruana y su asociación con la expansión del microsatélite CAG en 63 AE no relacionados de origen étnico mestizo y 218 AC no relacionados pertenecientes a dos grupos étnicos diferentes de Perú (132 alelos de origen mestizo y 86 de origen amerindio).

En el presente trabajo, como en otras poblaciones estudiadas (6,8,15,61,62), las repeticiones CCG más frecuentes en los AE fueron (CCG)<sub>7</sub> y (CCG)<sub>10</sub> (**Figura 4**). Con respecto a la repetición (CCG)<sub>7</sub>, fue la más frecuente tanto en los AE

(84,13%) como en los AC (59,30% de origen amerindio y 65,91% en los alelos de origen mestizo), encontrándose una diferencia estadísticamente significativa entre estas cantidades ( $p = 0,0011$  y  $p = 0,0082$ ; respectivamente). Asimismo, la distribución de la repetición (CCG)<sub>10</sub> también muestra diferencias significativas entre los AC de origen amerindio y mestizo, y los AE ( $p = 0,0005$  y  $p = 0,0069$ ) (**Tablas 3 y 4**). Este resultado es similar a lo reportado en poblaciones con prevalencias altas de la EH (6,8,9); y se explica mediante la hipótesis de que si un AN es portador de la repetición (CCG)<sub>7</sub>, tendrá una mayor inestabilidad por lo que tendrá mayor probabilidad de expandirse en el rango penetrante (9).

En los AE se encontró una repetición rara del polimorfismo CCG, la repetición (CCG)<sub>4</sub> (**Figura 4**), que solo se había reportado previamente dentro de los AC de una población India (6). Este hallazgo convierte a (CCG)<sub>4</sub> en la repetición más pequeña del polimorfismo CCG reportada en la población afectada con la EH a nivel mundial. En poblaciones como Portugal, Brasil y China, también se han reportado la presencia de las repeticiones (CCG)<sub>5, 6, 8, 9</sub> en los AE, pero en frecuencias muy bajas (0,7% - 7%) (13,62,63). El pequeño porcentaje de variación del polimorfismo CCG revela que se transmite de una manera estable a diferencia del microsatélite CAG. Por lo que a pesar de que estas dos secuencias están ligadas, se ha planteado la hipótesis de que entre ellas suceden eventos mutacionales independientes (64).

Diversos estudios respaldan que la mutación fundadora (expansión anormal del microsatélite CAG) de la EH se originó en Europa Occidental y se extendió a

otras regiones como resultado de la migración (19,20). Por lo que es posible, que previo a la aparición de esta mutación, el AN haya estado ligado con una repetición (CCG)<sub>7</sub>, la cual (en conjunto con otras mutaciones) le pudo haber brindado una mayor inestabilidad para expandirse al rango penetrante causando la EH (9). Esto podría explicar que las poblaciones con mayores frecuencias de la repetición (CCG)<sub>7</sub> en los AN y en los AE presenten altas prevalencias de la EH.

En Perú aún no se ha reportado la prevalencia de la EH a nivel de todo el país, pero se presume que sería la segunda población con pacientes con la EH más grande de América del Sur (precedido por Venezuela) debido a que se ha reportado que el Valle de Cañete (el principal foco de esta enfermedad en el Perú) tiene una prevalencia mínima de 45,1 por 100 000 habitantes (31). Por todo lo mencionado anteriormente, se podría explicar la distribución del polimorfismo CCG en el Perú y la alta frecuencia de la repetición (CCG)<sub>7</sub> en AN y AE, como sucede en las otras poblaciones con prevalencias altas de la EH. Sin embargo, es importante resaltar que un estudio de haplotipos realizado previamente en Perú como en otros países de América Latina, se demostró que la mayoría de las mutaciones causantes de la EH en esta región ocurren en haplotipos del gen *HTT* de ascendencia amerindia (haplotipo A1 variante amerindia) en lugar de en haplotipos resultantes de la ascendencia europea (17). Por lo que probablemente los eventos mutacionales que hayan sucedido en el polimorfismo CCG en Perú también tengan un origen diferente al europeo.

Al analizar la inestabilidad de CAG según el tipo de repetición CCG tanto en los AC y AE mediante la comparación del número promedio de repeticiones de CAG, solo se encontró una diferencia significativa ( $p = 0,0155$ ) entre las repeticiones (CCG)<sub>7</sub> y (CCG)<sub>10</sub> de los AC de origen mestizo (**Tabla 5**). En un estudio realizado en China en el 2020 por Cheng *et al.* (62) se obtuvo un resultado similar, donde no encontraron diferencias significativas en el número promedio de CAG según el tipo de repetición CCG ni en los AC ni en lo AE. Por el contrario, en diversos estudios han demostrado que el número promedio de repeticiones de CAG en los AC que contenían la repetición (CCG)<sub>7</sub> fue mayor que en aquellos que contenían a (CCG)<sub>10</sub>, reforzando la hipótesis de que los AC portadores de la repetición (CCG)<sub>7</sub> son más propensos a la expansión del microsatélite CAG (6,13,63,65).

A pesar de que no se encontró diferencias significativas entre el número promedio de repeticiones de CAG según el tipo de repetición CCG. Al analizar a nivel de haplogrupos se encontró que, tanto en los AC como en los AE, los haplogrupos A y B siempre están asociados con la repetición (CCG)<sub>7</sub> sin importar su origen étnico, excepto por un AE con haplotipo A2a que está asociado con la repetición (CCG)<sub>4</sub>. Por el contrario, se observó que el haplogrupo C está asociado con las repeticiones (CCG)<sub>9</sub>, (CCG)<sub>10</sub> y (CCG)<sub>11</sub> (**Tablas 6 y 7**). Este resultado es similar a lo encontrado en estudios previos, donde han reportado que los haplogrupos A y B están asociados con la repetición (CCG)<sub>7</sub> y el haplogrupo C está asociado a las repeticiones menos frecuentes de CCG como (CCG)<sub>8</sub>, (CCG)<sub>9</sub> y (CCG)<sub>10</sub> (3,4,50,57).

Es importante resaltar que en estudios previos se ha demostrado que, dentro del grupo de los AN, los haplogrupos A y B están asociados a los promedios más altos de repeticiones de CAG. Asimismo, el número promedio de repeticiones de CAG de cada haplotipo asociado a la EH disminuye en el mismo orden de asociación con la mutación de la EH. Por lo tanto, el número promedio de repeticiones de CAG de cada haplotipo entre los AN está estrechamente relacionado con la frecuencia de ese haplotipo entre los AE (4,66).

Sin embargo, en el presente estudio en los AC de origen amerindio se observó que el haplotipo C1 es el que tiene el promedio más alto en comparación de los haplogrupos A y B ( $p = 1,69 \times 10^{-5}$  y  $p = 0,0077$ , respectivamente). Pero este resultado quizá se deba al número pequeño de muestra analizado. Por el contrario, en los AC de origen mestizo (cuyo tamaño de muestra es el doble que el de los AC de origen amerindio), si se puede visualizar que los haplogrupos A y B tienen los promedios más altos de repeticiones de CAG en comparación con el haplogrupo C, aunque la diferencia con A no es significativa ( $p = 0,4967$ ). Por lo tanto, en este estudio no se cumplió que si un haplogrupo de los AC está asociado la repetición (CCG)<sub>7</sub> necesariamente tendrá un promedio más alto de repeticiones de CAG (**Tabla 7**).

Otras investigaciones no han detectado una asociación entre el polimorfismo CCG y la expansión del microsatélite CAG (6,11,61,67–69). Estos resultados pueden explicarse en parte por las diferencias entre las poblaciones, en las que otros modificadores y el tipo de haplotipos que presentan pueden estar involucrados en el número de repeticiones de CAG.

La principal limitación de este estudio es que la muestra analizada no es representativa ya que se realizó un muestreo por conveniencia proveniente de un solo centro de investigación. Perú es un país conformado por diversas poblaciones mestizas de orígenes ancestrales diferentes (europeo, africano, asiático y amerindio) (70), por lo que se puede encontrar diferentes resultados según la etnia de la población que se estudia, así como se ha encontrado en este estudio diferentes resultados entre la población mestiza y amerindia. Asimismo, los tamaños de muestra de las poblaciones analizadas son pequeños en comparación con otros estudios similares. Esto ha podido generar un sesgo en los resultados ya que la asociación de las variables que se obtuvo en el presente estudio puede desaparecer si se aumenta el tamaño de muestra.

Sin embargo, a pesar de estas limitaciones, se destaca que la muestra analizada en este estudio proviene del CIBN, el cual tiene el banco de ADN más grande del Perú conformado por más de 182 familias afectadas con la EH procedentes de diferentes regiones del Perú. Asimismo, es la primera investigación en Perú sobre el polimorfismo CCG y su asociación con la expansión del microsatélite CAG y los haplotipos del gen *HTT*. Por lo que estos resultados servirán como base para otros estudios que tienen como objetivo conocer mejor el mecanismo de expansión del microsatélite CAG, así como también conocer el origen de la EH, la razón de las diferencias de las tasas de prevalencia de la EH en el mundo, y el desarrollo de enfoques terapéuticos destinados a prevenir la expansión del microsatélite CAG.

## X. CONCLUSIONES

- El polimorfismo CCG está asociado a la expansión del microsatélite CAG en el gen *HTT* de una población peruana atendida en el Instituto Nacional de Ciencias Neurológicas durante el período 2000-2013.
- En los AE y los AC, la repetición (CCG)<sub>7</sub> es la más frecuente.
- La repetición (CCG)<sub>7</sub> está asociada a los AE mientras que (CCG)<sub>10</sub> está asociada a los AC.
- En los AC y los AE, los haplogrupos A y B están asociados con la repetición (CCG)<sub>7</sub>, mientras que el haplogrupo C está asociado con las repeticiones (CCG)<sub>9</sub>, (CCG)<sub>10</sub> y (CCG)<sub>11</sub>.

## **XI. RECOMENDACIONES**

- Se recomienda que estudios futuros seleccionen a los participantes de manera aleatoria y con un tamaño muestral apropiado.
- Se requieren estudios de prevalencia de la EH en la población peruana para saber si hay una relación con las frecuencias de los haplogrupos en los cromosomas EH.

## **XII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

1. Marcy E. MacDonald, Christine M. Ambrose, Mabel P. Duyao, Richard H. Myers, Carol Lin, Lakshmi Srinidhi, Glenn Barnes, et al. A novel gene containing a trinucleotide repeat that is expanded and unstable on Huntington's disease chromosomes. *Cell*. 26 de marzo de 1993;72(6):971-83.
2. Li XY, Li HL, Dong Y, Gao B, Cheng HR, Ni W, et al. Haplotype analysis encompassing HTT gene in Chinese patients with Huntington's disease. *Eur J Neurol*. febrero de 2020;27(2):273-9.
3. Kay C, Collins JA, Skotte NH, Southwell AL, Warby SC, Caron NS, et al. Huntingtin Haplotypes Provide Prioritized Target Panels for Allele-specific Silencing in Huntington Disease Patients of European Ancestry. *Mol Ther J Am Soc Gene Ther*. 23 de julio de 2015;
4. 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*. marzo de 2009;84(3):351-66.
5. Andrew SE, Goldberg YP, Theilmann J, Zeisler J, Hayden MR. A CCG repeat polymorphism adjacent to the CAG repeat in the Huntington disease gene: implications for diagnostic accuracy and predictive testing. *Hum Mol Genet*. enero de 1994;3(1):65-7.

6. Pramanik S, Basu P, Gangopadhaya PK, Sinha KK, Jha DK, Sinha S, et al. Analysis of CAG and CCG repeats in Huntingtin gene among HD patients and normal populations of India. *Eur J Hum Genet EJHG*. septiembre de 2000;8(9):678-82.
7. Kay C, Hayden MR, Leavitt BR. Epidemiology of Huntington disease. *Handb Clin Neurol*. 2017;144:31-46.
8. Hećimović S, Klepac N, Vlasić J, Vojta A, Janko D, Skarpa-Prpić I, et al. Genetic background of Huntington disease in Croatia: Molecular analysis of CAG, CCG, and Delta2642 (E2642del) polymorphisms. *Hum Mutat*. septiembre de 2002;20(3):233.
9. Squitieri F, Andrew SE, Goldberg YP, Kremer B, Spence N, Zeisler J, et al. DNA haplotype analysis of Huntington disease reveals clues to the origins and mechanisms of CAG expansion and reasons for geographic variations of prevalence. *Hum Mol Genet*. diciembre de 1994;3(12):2103-14.
10. Rawlins MD, Wexler NS, Wexler AR, Tabrizi SJ, Douglas I, Evans SJW, et al. The Prevalence of Huntington's Disease. *Neuroepidemiology*. 2016;46(2):144-53.
11. Morovvati S, Nakagawa M, Osame M, Karami A. Analysis of CCG repeats in Huntingtin gene among HD patients and normal populations in Japan. *Arch Med Res*. enero de 2008;39(1):131-3.

12. Masuda N, Goto J, Murayama N, Watanabe M, Kondo I, Kanazawa I. Analysis of triplet repeats in the huntingtin gene in Japanese families affected with Huntington's disease. *J Med Genet.* septiembre de 1995;32(9):701-5.
13. Agostinho L de A, Rocha CF, Medina-Acosta E, Barboza HN, da Silva AFA, Pereira SPF, et al. Haplotype analysis of the CAG and CCG repeats in 21 Brazilian families with Huntington's disease. *J Hum Genet.* diciembre de 2012;57(12):796-803.
14. Paradisi I, Hernández A, Arias S. Huntington disease mutation in Venezuela: age of onset, haplotype analyses and geographic aggregation. *J Hum Genet.* 2008;53(2):127-35.
15. Apolinário TA, da Silva I dos S, Agostinho L de A, Paiva CLA. Investigation of intermediate CAG alleles of the HTT in the general population of Rio de Janeiro, Brazil, in comparison with a sample of Huntington disease-affected families. *Mol Genet Genomic Med* [Internet]. 17 de febrero de 2020;8(4). Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7196456/>
16. Andresen JM, Gayán J, Cherny SS, Brocklebank D, Alkorta-Aranburu G, Addis EA, et al. Replication of twelve association studies for Huntington's disease residual age of onset in large Venezuelan kindreds. *J Med Genet.* enero de 2007;44(1):44-50.
17. Kay C, Tirado-Hurtado I, Cornejo-Olivas M, Collins JA, Wright G, Inca-Martinez M, et al. The targetable A1 Huntington disease haplotype has distinct

- Amerindian and European origins in Latin America. *Eur J Hum Genet EJHG*. 2017;25(3):332-40.
18. Walker FO. Huntington's disease. *Lancet*. 20 de enero de 2007;369(9557):218-28.
  19. Harper PS. The epidemiology of Huntington's disease. *Hum Genet*. junio de 1992;89(4):365-76.
  20. Hayden MR, Berkowicz AL, Beighton PH, Yiptong C. Huntington's chorea on the island of Mauritius. *South African Medical Journal*. 1981;60(26):1001-2.
  21. Wexler NS, Lorimer J, Porter J, Gomez F, Moskowitz C, Shackell E, et al. Venezuelan kindreds reveal that genetic and environmental factors modulate Huntington's disease age of onset. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 9 de marzo de 2004;101(10):3498-503.
  22. Saavedra A. Sobre un caso de Corea de Huntington. *Rev Neuropsiquiatría*. 1950;2:232-9.
  23. Cuba JM. [A focus of Huntington's chorea in Peru]. *Rev Neurol (Paris)*. 1986;142(2):151-3.
  24. Huertas L, Vallejos LH, Soriano WE, Vega JJ. Peruanidad e identidad. Universidad Nacional de Educación; 1997. 470 p.
  25. Pastor HR. Herederos del dragón: historia de la comunidad China en el Perú. Fondo Editorial del Congreso del Perú; 2000. 604 p.

26. Asociación Peruano Japonesa. Cronología en la historia de la inmigración japonesa al Perú [Internet]. [citado 27 de noviembre de 2020]. Disponible en: <https://www.apj.org.pe/museo/resena-historica>
27. Brougère AM. Capítulo I. Cañete: población y migración. En: ¿Y por qué no quedarse en Laraos?: Migración y retorno en una comunidad altoandina [Internet]. Lima: Institut français d'études andines; 2015 [citado 27 de noviembre de 2020]. p. 11-40. (Travaux de l'IFÉA). Disponible en: <http://books.openedition.org/ifea/3241>
28. Cuba JM, Torres L. Estudio de una familia con Corea de Huntington en Cañete; Study of a family with Huntington's Chorea in Cañete. Rev Neuropsiquiatría. diciembre de 1990;53(3/4):94-102.
29. Cuba JM, Castro C, Benzaquen M. Sobre la Epidemiología de la Corea de Huntington en el Perú. Rev Neuropsiquiatría. 1983;46:114-20.
30. Torres-Ramírez L, Consentino-Esquerre C, Mori-Quispe N. Actualización sobre la enfermedad de Huntington y experiencia de 30 años en el Instituto Nacional de Ciencias Neurológicas. DIAGNÓSTICO [Internet]. 2008;47(2). Disponible en: <http://www.fihu.org.pe/revista/numeros/2008/abr-jun/65-69.html>
31. Torres L, Mori N, Mazzetti P, Mendoza, Cuentas M, Montoya J, et al. High Prevalence of Huntington's Disease in Cañete-Perú. Tech Neurosurg Neurol. 16 de noviembre de 2020;3(5).

32. Pericak-Vance MA, Elston RC, Conneally PM, Dawson DV. Age-of-onset heterogeneity in Huntington disease families. *Am J Med Genet.* enero de 1983;14(1):49-59.
33. Martin JB. Huntington's disease: new approaches to an old problem. The Robert Wartenberg lecture. *Neurology.* agosto de 1984;34(8):1059-72.
34. Haddad MS, Cummings JL. Huntington's disease. *Psychiatr Clin North Am.* diciembre de 1997;20(4):791-807.
35. Folstein SE, Leigh RJ, Parhad IM, Folstein MF. The diagnosis of Huntington's disease. *Neurology.* octubre de 1986;36(10):1279-83.
36. Bates G, Harper PS, Jones L. Huntington's disease. Oxford; New York: Oxford University Press; 2002.
37. Gómez-Tortosa E, del Barrio A, García Ruiz PJ, Pernaute RS, Benítez J, Barroso A, et al. Severity of cognitive impairment in juvenile and late-onset Huntington disease. *Arch Neurol.* junio de 1998;55(6):835-43.
38. Ambrose CM, Duyao MP, Barnes G, Bates GP, Lin CS, Srinidhi J, et al. Structure and expression of the Huntington's disease gene: evidence against simple inactivation due to an expanded CAG repeat. *Somat Cell Mol Genet.* enero de 1994;20(1):27-38.
39. Kegel KB, Meloni AR, Yi Y, Kim YJ, Doyle E, Cuiffo BG, et al. Huntingtin is present in the nucleus, interacts with the transcriptional corepressor C-

terminal binding protein, and represses transcription. *J Biol Chem*. 1 de marzo de 2002;277(9):7466-76.

40. Margolis RL, McInnis MG, Rosenblatt A, Ross CA. Trinucleotide repeat expansion and neuropsychiatric disease. *Arch Gen Psychiatry*. noviembre de 1999;56(11):1019-31.
41. Metzler M, Helgason CD, Dragatsis I, Zhang T, Gan L, Pineault N, et al. Huntingtin is required for normal hematopoiesis. *Hum Mol Genet*. 12 de febrero de 2000;9(3):387-94.
42. ACMG/ASHG statement. Laboratory guidelines for Huntington disease genetic testing. The American College of Medical Genetics/American Society of Human Genetics Huntington Disease Genetic Testing Working Group. *Am J Hum Genet*. mayo de 1998;62(5):1243-7.
43. Semaka A, Creighton S, Warby S, Hayden MR. Predictive testing for Huntington disease: interpretation and significance of intermediate alleles. *Clin Genet*. octubre de 2006;70(4):283-94.
44. Bean L, Bayrak-Toydemir P. American College of Medical Genetics and Genomics Standards and Guidelines for Clinical Genetics Laboratories, 2014 edition: technical standards and guidelines for Huntington disease. *Genet Med Off J Am Coll Med Genet*. diciembre de 2014;16(12):e2.
45. Petersén A, Mani K, Brundin P. Recent advances on the pathogenesis of Huntington's disease. *Exp Neurol*. mayo de 1999;157(1):1-18.

46. Langbehn DR, Hayden MR, Paulsen JS, PREDICT-HD Investigators of the Huntington Study Group. CAG-repeat length and the age of onset in Huntington disease (HD): a review and validation study of statistical approaches. *Am J Med Genet Part B Neuropsychiatr Genet Off Publ Int Soc Psychiatr Genet*. 5 de marzo de 2010;153B(2):397-408.
47. Duyao M, Ambrose C, Myers R, Novelletto A, Persichetti F, Frontali M, et al. Trinucleotide repeat length instability and age of onset in Huntington's disease. *Nat Genet*. agosto de 1993;4(4):387-92.
48. Pearson CE, Nichol Edamura K, Cleary JD. Repeat instability: mechanisms of dynamic mutations. *Nat Rev Genet*. octubre de 2005;6(10):729-42.
49. Sturrock A, Leavitt BR. The Clinical and Genetic Features of Huntington Disease. *J Geriatr Psychiatry Neurol*. 12 de enero de 2010;23(4):243-59.
50. Warby SC, Visscher H, Collins JA, Doty CN, Carter C, Butland SL, et al. HTT haplotypes contribute to differences in Huntington disease prevalence between Europe and East Asia. *Eur J Hum Genet EJHG*. mayo de 2011;19(5):561-6.
51. Andrew SE, Hayden MR. Origins and evolution of Huntington disease chromosomes. *Neurodegener J Neurodegener Disord Neuroprotection Neuroregeneration*. septiembre de 1995;4(3):239-44.
52. Bhattacharyya A, Thakur AK, Chellgren VM, Thiagarajan G, Williams AD, Chellgren BW, et al. Oligoproline effects on polyglutamine conformation and aggregation. *J Mol Biol*. 20 de enero de 2006;355(3):524-35.

53. Rockabrand E, Slepko N, Pantalone A, Nukala VN, Kazantsev A, Marsh JL, et al. The first 17 amino acids of Huntingtin modulate its sub-cellular localization, aggregation and effects on calcium homeostasis. *Hum Mol Genet.* 1 de enero de 2007;16(1):61-77.
54. Goldberg YP, Andrew SE, Clarke LA, Hayden MR. A PCR method for accurate assessment of trinucleotide repeat expansion in Huntington disease. *Hum Mol Genet.* junio de 1993;2(6):635-6.
55. Riess O, Noerremoelle A, Soerensen SA, Epplen JT. Improved PCR conditions for the stretch of (CAG)*n* repeats causing Huntington's disease. *Hum Mol Genet.* junio de 1993;2(6):637.
56. Valdes JM, Tagle DA, Elmer LW, Collins FS. A simple non-radioactive method for diagnosis of Huntington's disease. *Hum Mol Genet.* junio de 1993;2(6):633-4.
57. Squitieri F, Mazza T, Maffi S, De Luca A, AlSalmi Q, AlHarasi S, et al. Tracing the mutated HTT and haplotype of the African ancestor who spread Huntington disease into the Middle East. *Genet Med Off J Am Coll Med Genet.* noviembre de 2020;22(11):1903-8.
58. Evans SJW, Douglas I, Rawlins MD, Wexler NS, Tabrizi SJ, Smeeth L. Prevalence of adult Huntington's disease in the UK based on diagnoses recorded in general practice records. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* octubre de 2013;84(10):1156-60.

59. Lovaton Espadin R, Timana CR, Alva GT, Cornejo MR, Marca Ysabel M, Ortega Davila O, et al. Huntington's disease in Perú: Spread of Cases and Analysis of CAG Repeats Distribution. 60th Annual Meeting American Society of Human Genetics; 2010 nov.
60. Cornejo-Olivas Mario R., Mori Nicanor, Alva Issac, Zunt Joseph, Mazzetti Pilar. Huntington's Disease in an Indigenous Village in the Peruvian Amazon Jungle. 16th International Congress of Parkinson's Disease and Movement Disorders; 2012 jun; Dublin.
61. Zhang B rong, Tian J, Yan Y ping, Yin X zhen, Zhao G hua, Wu Z ying, et al. CCG polymorphisms in the huntingtin gene have no effect on the pathogenesis of patients with Huntington's disease in mainland Chinese families. *J Neurol Sci.* 15 de enero de 2012;312(1-2):92-6.
62. Cheng HR, Li XY, Yu HL, Xu M, Zhang YB, Gan SR, et al. Correlation Between CCG Polymorphisms and CAG Repeats During Germline Transmission in Chinese Patients with Huntington's Disease. *Neurosci Bull.* 19 de marzo de 2020;36(7):811-4.
63. Costa M do C, Magalhães P, Guimarães L, Maciel P, Sequeiros J, Sousa A. The CAG repeat at the Huntington disease gene in the Portuguese population: insights into its dynamics and to the origin of the mutation. *J Hum Genet.* 2006;51(3):189-95.

64. García-Planells J, Burguera JA, Solís P, Millán JM, Ginestar D, Palau F, et al. Ancient origin of the CAG expansion causing Huntington disease in a Spanish population. *Hum Mutat.* mayo de 2005;25(5):453-9.
65. Alshammari AM. Massively parallel next generation sequencing to investigate the cis- and trans-acting genetic modifiers of somatic instability in Huntington's disease [Internet] [Tesis doctoral]. University of Glasgow; 2018 [citado 21 de agosto de 2023]. Disponible en: <https://eleanor.lib.gla.ac.uk/record=b3322958>
66. Kay C, Collins JA, Wright GEB, Baine F, Miedzybrodzka Z, Aminkeng F, et al. The molecular epidemiology of Huntington disease is related to intermediate allele frequency and haplotype in the general population. *Am J Med Genet Part B Neuropsychiatr Genet Off Publ Int Soc Psychiatr Genet.* abril de 2018;177(3):346-57.
67. Panegyres PK, Beilby J, Bulsara M, Toufexis K, Wong C. A study of potential interactive genetic factors in Huntington's disease. *Eur Neurol.* 2006;55(4):189-92.
68. Vuillaume I, Vermersch P, Destee A, Petit H, Sablonniere B. Genetic polymorphisms adjacent to the CAG repeat influence clinical features at onset in Huntington's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* junio de 1998;64(6):758-62.

69. Saleem Q, Roy S, Murgood U, Saxena R, Verma IC, Anand A, et al. Molecular analysis of Huntington's disease and linked polymorphisms in the Indian population. *Acta Neurol Scand.* octubre de 2003;108(4):281-6.
70. Sandoval JR, Salazar-Granara A, Acosta O, Castillo-Herrera W, Fujita R, Pena SDJ, et al. Tracing the genomic ancestry of Peruvians reveals a major legacy of pre-Columbian ancestors. *J Hum Genet.* septiembre de 2013;58(9):627-34.

### XIII. ANEXOS

#### Anexo 1. Certificado de Aprobación Ética del Proyecto de Investigación: “Determinación del origen de la enfermedad de Huntington basado en haplotipos de una población peruana atendida en el Instituto Nacional de Ciencias Neurológicas durante el período 2000-2013”.

	<b>PERU</b>		<b>MINISTERIO DE SALUD</b>	<b>INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS NEUROLOGICAS</b>	
					<small>*Año de la Promoción de la Industria Responsable y Compromiso Climático*</small>
<u>Comité de Ética</u>		<b>COMITÉ INSTITUCIONAL DE ÉTICA EN INVESTIGACIÓN.</b>			
<b>Presidenta</b>					
Dra. María Meza Vega		<b>CERTIFICADO DE APROBACIÓN ETICA</b>			
<b>Miembros Titulares</b>		<b>Nº 048 -2014-CIEI –INCN</b>			
Dr. Guido Albán Zapata		El Comité Institucional de Ética en Investigación del Instituto Nacional de Ciencias Neurológicas, ha revisado y APROBADO por unanimidad el Proyecto de Investigación			
Dra. Peggy C. Martínez Esteban		“ <b>Determinación del origen de la enfermedad de Huntington basado en haplotipos de una población peruana atendida en el Instituto Nacional de Ciencias Neurológicas durante el periodo 2000-2013</b> ” presentado por la investigadora principal Indira Esther Tirado Hurtado.			
Lic. Sor Marilley Ríos Dávila					
Mag. Nestor Flores Rodríguez					
Lic. Luz M. Marín Sernadas					
Lic. Esther Gallardo Santamaría					
<b>Secretaria</b>		La investigadora, debe cumplir con realizar un informe trimestral y final del proyecto.			
Aida P. Ullamas Colonio					
					Lima, 29 de Abril del 2014.
					<b>MINISTERIO DE SALUD</b> Instituto Nacional de Ciencias Neurológicas
					***** <b>Dra. MARIA MEZA VEGA</b> Presidenta del Comité Institucional de Ética en Investigación
MMV/pllc					
<a href="http://www.icn.minsa.gob.pe">www.icn.minsa.gob.pe</a> <a href="mailto:iecn@icn.minsa.gob.pe">iecn@icn.minsa.gob.pe</a>					Jr. Ancash 1271 Barrios Altos. Lima 1 Perú. Telefax(511) 4117762.

## Anexo 2. Consentimiento informado presentado a la comunidad amerindia quechua de Puno para participar en estudios posteriores.

### CONSENTIMIENTO INFORMADO

#### CONTROLES

##### ANALISIS DEL GEN LRRK2 EN LA ENFERMEDAD DE PARKINSON EN POBLACIÓN PERUANA

##### PRESENTACIÓN DE LOS INVESTIGADORES

Somos investigadores del Instituto Nacional de Ciencias Neurológicas (INCN), ante Ud. nos presentamos con la finalidad de invitarle a participar en el estudio relacionado a la enfermedad de Parkinson.

##### Investigadores Principales:

- Dra. Pilar Mazzetti Soler, Servicio de Neurogenética, Jr. Ancash 1271 – Lima, Teléfono [REDACTED] Celular: [REDACTED]
- Dr. Carlos Cosentino Esquerre, Unidad de Movimientos Involuntarios, Jr. Ancash 1271- Lima, teléfono [REDACTED] Celular: [REDACTED]
- Dr. Luis Torres Ramirez, Unidad de Movimientos Involuntarios, Jr. Ancash 1271 – Lima, teléfono [REDACTED] Celular: [REDACTED]
- Dr. Mario Cornejo Olivas, Servicio de Neurogenética, Jr. Ancash 1271 – Lima, teléfono [REDACTED] Celular: [REDACTED]

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

Nos encontramos desarrollando un trabajo de investigación para estudiar las causas de la enfermedad de Parkinson. Esta es una enfermedad que se caracteriza por dureza de extremidades, lentitud en los movimientos y temblor. Tiene varias causas, muchas de ellas aún desconocidas. En algunos casos es hereditaria. En nuestras células se encuentra el ADN, que almacena nuestra información hereditaria, como si fuera una biblioteca que almacena datos y reciben el nombre de genes. Se ha encontrado que cambios o alteraciones en los genes podrían causar la enfermedad, uno de ellos es la presencia del gen LRRK2 (una parte de ADN) en pacientes con la enfermedad de Parkinson en otras poblaciones. Queremos saber si este tipo de gen está presente en la población peruana. Para este estudio también es importante la participación de personas como Ud. que no tengan la enfermedad de Parkinson como grupo de comparación. Este estudio genético se puede realizar tomando una muestra de sangre.

Este estudio forma parte de un trabajo de investigación a nivel de Latinoamérica, por lo que se cuenta con el apoyo de instituciones extranjeras.

Lo invitamos a participar en este estudio, que consistirá en:

V5 08-07-2014

**MINISTERIO DE SALUD**  
Instituto Nacional de Ciencias Neurológicas  
Fecha de Aprobación 08.07.2014  
Fecha de Caducidad 08.07.2015  
.....  
Dra. MARIA MEZA VEGA  
Presidenta del Comité Institucional de Ética en Investigación

Page 1 of 6

- 1) Registro de antecedentes: Se le realizarán preguntas sobre sus antecedentes familiares (le preguntaremos si tiene algún otro familiar con enfermedad de Parkinson), el uso crónico de medicamentos, el consumo de sustancias como café, té, alcohol; exposiciones ambientales. Todo se anotará en un formulario específico. Esta primera parte tomará alrededor de 20 minutos.
- 2) Examen neurológico: Se le realizará un examen neurológico para evaluar las manifestaciones de la enfermedad de Parkinson. Esta segunda parte durará unos 15 minutos.
- 3) Evaluación cognitiva: Se le realizará una prueba para ver cómo está su memoria, su lenguaje, su capacidad de hacer cosas manualmente como dibujar. Se usará una prueba llamada test de Montreal o MoCA. Esta tercera parte tomará alrededor de 10 minutos.
- 4) Toma de muestra de sangre: Se le tomará una muestra de sangre en cantidad aproximada de tres cucharadas soperas para realizar el examen genético (unos 15 ml). La muestra de ADN obtenida a partir de su muestra de sangre será guardada en el Servicio de Neurogenética del Instituto para su utilización en este estudio y en otros relacionados a enfermedad Parkinson.

#### **¿Dónde se analizarán y almacenarán mis muestras?**

El análisis y almacenamiento de las muestras se realizarán en colaboración con una institución internacional de gran experiencia en investigación de las causas genéticas de esta enfermedad, el laboratorio de Neurogenética del VA Puget Sounds Health Care System en Seattle, Washington, Estados Unidos que coordina el Consorcio latinoamericano para Investigación en Genética de la Enfermedad de Parkinson o LARGE PD. Todo ello siempre garantizando el anonimato del paciente durante todo el proceso. En caso que Ud. decida ya no participar, podrá solicitar que su muestra sea retirada del estudio sin que esta decisión repercuta en su tratamiento médico.

#### **¿Cuáles son los riesgos para Ud?**

La molestia que Ud. sentirá es dolor por el pinchazo de la aguja, podría presentar un moretón en el área donde se le introdujo la aguja.

No es posible conservar totalmente la confidencialidad de su información genética, ya que en el futuro la información del ADN podría ser utilizada para desarrollar otros procedimientos como terapia génica, diseño de medicamentos, estudio de origen de nuestra población, etc; sin embargo, estos riesgos son mínimos en este estudio debido a que nosotros almacenaremos su muestras sólo para estudios de investigación en la enfermedad de Parkinson.

#### **¿Cuáles son los beneficios?**

No hay un beneficio directo para Ud. Sin embargo, con los resultados que se obtengan de este estudio, podremos conocer los factores de riesgo genético para la enfermedad de Parkinson en nuestra población y mejorar en el futuro, la prevención y la orientación hacia nuevos tratamiento.

#### **¿Son confidenciales los datos del estudio?**

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

V5 08-07-2014

MINISTERIO DE SALUD  
Instituto Nacional de Ciencias Neurológicas  
Fecha de Aprobación: 08 / 07 / 2014  
Fecha de Caducidad: 08 / 07 / 2015  
Dra. MARIA MEZA VEGA  
Presidenta del Comité Institucional de ética en Investigación

Page 2 of 6

**Derechos de participantes**

Si Ud. tiene preguntas sobre los aspectos éticos del estudio, o cree que ha sido tratado injustamente puede contactar al Dra. Maria Meza, Presidenta del Comité Institucional de Ética en Investigación del Instituto Nacional de Ciencias Neurológicas, teléfono 51- 1 4117762.

**DECLARACIÓN DEL PARTICIPANTE**

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

Autorizo o doy mi consentimiento para ...	SI	NO
Que se me extraiga una muestra de sangre para obtención de ADN para investigar la Enfermedad de Parkinson en este estudio.		
Que se me contacte en el futuro en caso de que producto de la investigación se encuentre alguna información de interés para mi caso		

**PARTICIPANTE**

Nombre completo

.....  
.....

Firma

.....  
Fecha y hora.....

**TESTIGO**

Nombre completo

.....  
.....

Firma

.....  
Fecha y hora.....

*Investigador que toma el consentimiento:* .....

*Firma:* .....

*Fecha y hora:* .....

**Si el solicitante no está capacitado para dar su consentimiento**

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

V5 08-07-2014

**MINISTERIO DE SALUD**  
**Instituto Nacional de Ciencias Neurológicas**  
Fecha de Aprobación 08.07.2014  
Fecha de Caducidad 08.07.2015  
.....  
**Dra. MARIA MEZA VEGA**  
Presidenta del Comité Institucional de ética en Investigación

**Nombre completo:** .....

**Firma:** .....

**Fecha y hora:** .....

**Revocatoria (retiro) del Consentimiento:**

**Nombre completo** .....

**Firma** .....

**Fecha y hora:** .....

Sé que este es un estudio que forma parte de un trabajo internacional a nivel latinoamericano, por lo que

Autorizo o doy mi consentimiento para ...	SI	NO
Que mi muestra forme parte del Consorcio Latinoamericano de Investigación en genética de Enfermedad de Parkinson ( LARGE PD)		

**PARTICIPANTE**  
**Nombre completo**  
 .....

**Firma**  
 .....

**Fecha y hora**.....

**TESTIGO**  
**Nombre completo**  
 .....

**Firma**  
 .....

**Fecha y hora**.....

**Investigador que toma el consentimiento:** .....

**Firma:** .....

**Fecha y hora:** .....

**Si el solicitante no está capacitado para dar su consentimiento**  
 Yo, como representante legal autorizado y/o familiar responsable del solicitante y consentimiento para participar en investigación.

V5 08-07-2014

**MINISTERIO DE SALUD**  
 Instituto Nacional de Ciencias Neurológicas  
 Fecha de Aprobación 08 / 07 / 2014  
 Fecha de Caducidad 08 / 07 / 2015  
 Dra. MARIA MEZA VEGA  
 Presidenta del Comité Institucional de Ética en Investigación

**Nombre completo:** .....

**Firma:** .....

**Fecha y hora:** .....

---

**Revocatoria (retiro) del Consentimiento:**

**Nombre completo** .....

**Firma** .....

**Fecha y hora:** .....

**MINISTERIO DE SALUD**  
Instituto Nacional de Ciencias Neurológicas  
Fecha de Aprobación 08.07.2014  
Fecha de Caducidad 08.07.2015  
[Redacted Signature]  
**Dra. MARIA MEZA VEGA**  
Presidenta del Comité Institucional de ética en Investigación

## PARTICIPACIÓN EN ESTUDIOS POSTERIORES DE INVESTIGACIÓN

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

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

---

Participante ó familiar responsable

**MINISTERIO DE SALUD**  
Instituto Nacional de Ciencias Neurológicas  
Fecha de Aprobación 08.07.2014  
Fecha de Caducidad 08.07.2015  
.....  
**Dra. MARIA MEZA VEGA**  
Presidenta del Comité Institucional de ética en Investigación

### Anexo 3. Consentimiento de participación en investigación del CIBN.

REGISTRO N°

#### CONSENTIMIENTO DE PARTICIPACIÓN EN INVESTIGACIÓN

##### **INVESTIGADORES:**

El Centro de Investigación Básica en Neurogenética (CIBN) del Instituto Nacional de Ciencias Neurológicas (INCN) está conformado por un grupo de investigadores que están representados por:

- Médico neuróloga Pilar Elena Mazzetti Soler, jefa del CIBN
- Ingeniera María Victoria Marca Ysabel, jefa del laboratorio de Neurogenética del CIBN; e investigadores permanentes, asociados y auxiliares.

En nuestro trabajo, nos guiamos por la Declaración Universal sobre el Genoma Humano y los Derechos Humanos de la UNESCO, aprobada en 1997; la Declaración Internacional sobre los Datos Genéticos Humanos de la UNESCO, aprobada el 16 de Octubre del 2003; el Informe de la Secretaría de la Organización Mundial de la Salud sobre Control de las Enfermedades Genéticas, Documento EB116/3 del 21 de Abril de 2005 y la Comunicación 679 de la Comisión de las Comunidades Europeas sobre las Enfermedades Raras: un Reto para Europa del 11 de Noviembre del 2008. Igualmente, todos los integrantes del CIBN firmamos una Declaración de Confidencialidad, con respecto a los datos que manejamos durante nuestro trabajo.

Le INVITAMOS a participar en estudios de investigación. El propósito de este documento es brindarle información que pueda necesitar para decidir VOLUNTARIAMENTE si participa o no en la investigación. Por favor revise este documento cuidadosamente, puede hacer todas las preguntas que considere necesarias para decidir sobre su participación. Siéntase en libertad de comentar con amigos y familiares sobre este tema. Si decide participar recuerde que le entregaremos una copia firmada de este documento.

##### **¿Qué estamos investigando?**

El CIBN tiene como área de investigación las enfermedades hereditarias del sistema nervioso, enfermedades consideradas como raras y de las que se conoce poco en el Perú. Nos encontramos recogiendo información de las familias y personas afectadas por estas enfermedades, así como de personas sanas para realizar comparaciones, con la finalidad de conocerlas mejor y así poder organizar la atención en el Perú y en el INCN. Igualmente, esta información le puede servir a su médico tratante para aclarar la enfermedad, guiarlo mejor y para otros familiares que pueden ver así orientado el diagnóstico.

##### **¿Cómo será su participación en investigación?**

- Le preguntaremos sobre algunas molestias o síntomas, tanto en usted como en algunos miembros de su familia. Esta información clínica será registrada por un clínico del CIBN.
- Se le realizará una entrevista y se le tomará una muestra de sangre de 20 mililitros que es equivalente a cuatro cucharadas de sopa, lo que constituye un volumen pequeño en comparación del volumen total de sangre que tenemos (aproximadamente tenemos un total de 3.5 litros).
- De la muestra de sangre obtenida se extraerá una sustancia llamada ADN, que será utilizada para analizar varios genes relacionados con enfermedades neurológicas con base genética.

##### **¿Es posible guardar su muestra de ADN en forma permanente y seguir investigando con ella?**

Si, la muestra de ADN obtenida a partir de su sangre podría ser guardada en la DNATECA del CIBN para su uso en investigación de aspectos relacionados a estas enfermedades. Cada estudio que utilice estas muestras será autorizado por el Comité Institucional de Ética en Investigación del INCN.

##### **¿Las personas sanas también podemos ayudar en investigación?**

Sí. Ud. puede participar como control sano y ello nos permitirá comparar la genética de las personas sanas con las afectadas para ayudarnos a aclarar diversos aspectos de estas enfermedades.

**¿Cuáles son los beneficios de participar con su muestra en investigación?**

No hay un beneficio directo para Ud., únicamente nos ayudará a mejorar su cuidado. Su participación permitirá tener mayor información sobre su enfermedad, organizar su cuidado y brindar información que podría aportar en la búsqueda de futuros tratamientos para su enfermedad. No habrá compensación alguna por su participación

**¿Cuáles son las molestias y riesgos de participar en investigación genética?**

Las molestias que Ud. sentirá son algo de dolor por el pinchazo de la aguja y rara vez podría presentar un moretón en el área donde se le introdujo la aguja o bien una infección en la zona de punción. En este último caso, será atendido por un personal de la institución sin costo adicional. No es posible conservar totalmente la confidencialidad de su información genética, ya que en el futuro la información del ADN podría ser utilizada para desarrollar otros procedimientos como terapia génica, diseño de medicamentos, estudios de origen de nuestra población.

**¿Si decide participar en investigación, los datos de los estudios son confidenciales?**

Sí. Todos los hallazgos en estos estudios serán confidenciales, es decir sus datos serán mantenidos en secreto. Sus datos personales así como la muestra de sangre tendrán un código y no su nombre. Si los resultados de estos estudios son publicados en revistas o libros de medicina, o presentados en eventos científicos, su nombre no aparecerá.

**¿Qué pasaría si decide no participar en investigación?**

Nada. Su participación es voluntaria y si decide no participar, esto no afectará de ninguna manera la atención de salud que Ud. recibe, la cual seguirá siendo la misma y a cargo de sus mismos médicos.

**¿Qué pasaría si decide retirarse de la investigación?**

En cualquier momento Ud. puede retirarse su consentimiento o autorización para participar en investigación. Igualmente, ello no cambia su atención por los médicos del CIBN. Ud. nos puede avisar sobre su decisión y luego firmar en este mismo consentimiento o autorización la parte que indica que ya no desea seguir participando.

**¿En caso de tener preguntas en relación al estudio con quien podría contactar?**

Si tuviese preguntas adicionales durante el estudio, Ud. podrá comunicarse con algún miembro del CIBN a través del número directo [REDACTED] en el horario de 8 am a 12 pm de lunes a viernes, o al correo electrónico: [informes@incngen.org.pe](mailto:informes@incngen.org.pe).

**DECLARACIÓN DEL PARTICIPANTE**

He sido informado (a) acerca de los beneficios y limitaciones de participar en investigación y he tenido la oportunidad de hacer las preguntas necesarias; estoy satisfecho (a) con las explicaciones recibidas y doy voluntariamente mi consentimiento para:

1. Que se me extraiga una muestra de sangre para investigación para: a. Enfermedad de..... ( ) b. Control sano para investigación en enfermedades neurológicas con base genética..... ( )	Huella digital
2. Que _____ (SI/NO) se guarde mi muestra en la ADNteca del CIBN	
3. Que _____ (SI/NO) se me contacte en el futuro para autorizar el uso de mi muestra en investigaciones específicas sobre la enfermedad..... (solo para personas afectadas)	

**PARTICIPANTE**

**Nombre completo**

.....  
 ...

**Firma**

.....  
 ...

**Fecha y**

**hora**.....

...

**TESTIGO**

**Nombre completo**

.....  
 ...

**Firma**

.....  
 ...

**Fecha y**

**hora**.....

...

Investigador que toma el consentimiento:

.....  
 ...

Firma:

.....  
 ...

Fecha y hora:

.....  
 ...

---

***Si el solicitante no está capacitado para dar su consentimiento***

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

Nombre completo:

.....  
 ...

Firma:

.....  
 ...

Fecha y hora:

.....  
 ...

---

Revocatoria (retiro) del Consentimiento:

Nombre completo:

.....

...

Firma:

.....

Fecha y hora:

.....

...