

Capacidad antioxidante total en pacientes cubanos con ataxia espinocerebelosa tipo 2

Almaguer Mederos LE,¹ Almaguer Gotay D,²
González Zaldívar Y,³ Martínez Góngora E,⁴ Bahr Valcárcel P⁵

RESUMEN

Introducción: La ataxia espinocerebelosa tipo 2 (SCA2) es una enfermedad neurodegenerativa, que sigue un patrón de herencia autosómico dominante. Se debe a la expansión de una secuencia repetitiva de CAG del gen SCA2 (12q24.1), que codifica para una proteína poliglutámica de función aún desconocida. Recientemente han sido encontradas evidencias sobre la existencia de un desbalance oxidativo en esta afección. **Objetivos:** Determinar si existe alguna alteración de la capacidad antioxidante total (CAT) en pacientes con ataxia espinocerebelosa tipo 2, y evaluar si este parámetro depende del género o la edad, y si existe asociación entre la capacidad antioxidante total y variables que caracterizan clínica y molecularmente a los pacientes enfermos. **Sujetos y Métodos:** Realizamos un estudio de casos y controles en pacientes con diagnóstico clínico y molecular de SCA2 ($n = 38$), y sujetos controles ($n = 42$). La capacidad antioxidante total fue determinada a través del ensayo potencial reductor férrico (PRF). **Resultados:** Encontramos que los pacientes tienen una CAT en suero significativamente menor que la de los sujetos controles ($p < 0.001$). No encontramos asociación entre la CAT y el género o la edad en pacientes y controles, ni entre la CAT y la edad de inicio o la duración de la enfermedad en los pacientes enfermos. Obtuvimos una correlación con un nivel de significación marginal entre la CAT y el número de repeticiones de CAG ($r = -0.33$; $p = 0.06$). **Conclusión:** Este estudio da fundamento a la hipótesis de la existencia de estrés oxidativo en la SCA2, y sugiere implicaciones terapéuticas para esta enfermedad.

Palabras clave: ataxia espinocerebelosa tipo 2, capacidad antioxidante total (CAT), potencial reductor férrico (PRF).

Rev Mex Neuroci 2005; 6(3): 201-206

Total anti-oxidant capacity in Cuban patients with spinocerebellar ataxia Type 2

ABSTRACT

Introduction: Spinocerebellar ataxia type 2 (SCA2) is a late onset neurodegenerative disorder, where most of the patients become sick between the third and fourth decades of life. It follows an autosomal dominant inheritance pattern and it is caused by a CAG repeat expansion located in the first exon of the SCA2 gene (chromosome region 12q24.1), coding for a polyglutamine protein of unknown function. Recently has been found evidence about oxidative stress on SCA2. **Objectives:** To determine any significant disturbance in total antioxidant capacity (TAC) on SCA2 patients compared to control ones, and to evaluate if TAC is dependent of age or gender, and if TAC correlates with SCA2 CAG repeat and important clinical variables. **Subjects and Methods:** We made a case-control study including 38 patients with clinical and molecular diagnosis of SCA2, and 42 healthy subjects. TAC was determined through ferric reducing potential (FRP). **Results:** We have found a significant lower TAC in SCA2 patients in comparison to controls ($p < 0.001$). We failed to find a significant association between TAC and patients' or controls' age and gender, neither between TAC and age at onset or disease duration in patients' group. An association of marginal significance was found for TAC and CAG repeat number ($r = -0.33$; $p = 0.06$). **Conclusion:** Our study supports the hypothesis relating oxidative stress to SCA2 physiopathology, and suggests therapeutic implications for this incurable disease.

Key words: spinocerebellar ataxia Type 2, total antioxidant capacity (TAC), ferric reducing potential (FRP).

Rev Mex Neuroci 2005; 6(3): 201-206

1. Licenciado en Biología. Dpto. J' de Neurobiología Molecular. Centro para la Investigación y Rehabilitación de las Ataxias Hereditarias "Carlos J. Finlay".
2. Licenciada en Microbiología. Centro para la Investigación y Rehabilitación de las Ataxias Hereditarias "Carlos J. Finlay".
3. Licenciada en Química. Centro para la Investigación y Rehabilitación de las Ataxias Hereditarias "Carlos J. Finlay".
4. Especialista en Neurología. Hospital Clínico-Quirúrgico "Celia Sánchez Manduley".
5. Master en Bioquímica Clínica. Dpto. J' de Investigaciones. Facultad de Ciencias Médicas de Holguín "Mariana Grajales Coello".

Correspondencia:

Luis Enrique Almaguer Mederos.

Edif. 7. Depto. 17. Rpto. Nuevo Holguín. Holguín. C.P. 80100.

E-mail: leam@cristal.hlg.sld.cu

INTRODUCCIÓN

Las ataxias hereditarias autosómicas dominantes forman un grupo de afecciones neurodegenerativas, tanto heterogénea como clinicogenéticamente. Se caracterizan por la pérdida neuronal progresiva a nivel del cerebelo, núcleos del tronco cerebral y tractos espinocerebelosos. Sus principales manifestaciones clínicas son ataxia de la marcha, disimetría, disartria, adiadococinesia, oftalmoplejía y alteraciones en los reflejos profundos.¹⁻³

Hasta la fecha han sido identificadas 25 formas moleculares de ataxias cerebelosas autosómicas dominantes, de las cuales al menos siete (SCA1, SCA2,

SCA3, SCA6, SCA7, SCA12 y SCA17) son causadas por la expansión de una secuencia repetitiva de CAG, contenida en regiones codificadoras de genes no-veles.⁴⁻⁹ Estos genes codifican para proteínas poliglutaminicas, por lo que estas ataxias integran junto con la enfermedad de Huntington (EH),¹⁰ la atrofia muscular y espinobulbar (SBMA)¹¹ y la atrofia dentatorubral-palidolusiana (DRPLA),^{12,13} un grupo de patologías conocidas como enfermedades poliglutaminicas, que comparten varias características importantes: todas ocurren una vez expandido el segmento de CAG por encima de cierto valor umbral, cada una muestra un patrón de neurodegeneración específica, aunque las proteínas implicadas estén ampliamente expresadas, poseen inclusiones nucleares como característica patológica unificadora, y son eminentemente neurológicas.¹⁴

Para algunas de estas enfermedades poliglutaminicas han sido reportados incrementos anómalos en los niveles de un número de marcadores de daño oxidativo, que incluyen un aumento en la incidencia de rupturas en las cadenas del ADN y en los niveles de oxidación de sus bases nitrogenadas, una acumulación exacerbada de lipofusina, y una acentuación en el marcaje inmunohistoquímico de productos de daño oxidativo.¹⁵⁻¹⁷ También han sido reportadas evidencias acerca de la existencia de daño oxidativo en la ataxia espinocerebelosa tipo 2,¹⁸ la cual es la forma molecular de ataxia más frecuentemente observada en Cuba, de la que existen 101 familias identificadas. La mutación consiste en la expansión intergeneracional de una secuencia de CAG repetida que codifica para un dominio poliglutaminico que, a su vez, confiere una ganancia de función a la proteína mutada. Esta ataxina-2 mutada es tóxica para poblaciones neuronales específicas, principalmente para las neuronas de Purkinje de la corteza cerebelosa.¹⁹

Con este trabajo nos propusimos determinar si existen diferencias en la capacidad antioxidante total entre pacientes con ataxia espinocerebelosa tipo 2 y sujetos controles, evaluar si este parámetro depende del género o la edad en pacientes y controles, y si existe asociación entre la capacidad antioxidante total y variables que caracterizan clínica y molecularmente a los pacientes enfermos.

SUJETOS Y MÉTODOS

Sujetos estudiados

Fue realizado un estudio de casos y controles en 38 pacientes con diagnóstico clínico y molecular de ataxia espinocerebelosa tipo 2, pertenecientes a 24 familias cubanas. Fueron incluidos en la investigación 42 sujetos controles, pareados por sexo y edad con los pacientes enfermos y que cumplieron con

los criterios de no padecer ninguna enfermedad infectocontagiosa al momento del estudio, así como ninguna afección crónica ni hábitos tóxicos.

Determinación de la capacidad antioxidante total (CAT)

La capacidad antioxidante total fue determinada con muestras de suero, de acuerdo con la técnica descrita por Bahr,²⁰ la cual es una modificación al ensayo FRAP (del inglés *Ferric Reducing Ability of Plasma*).²¹

El ensayo consiste en la reducción del complejo tricloruro de hierro-ferricianuro de potasio [$\text{FeCl}_3\text{-K}_3\text{Fe(CN)}_6$] por sustancias reductoras presentes en suero a bajo pH. Este complejo, una vez reducido, toma un intenso color verde-azul que puede ser monitoreado espectrofotométricamente a 720 nm.

Análisis del ADN y determinación del número de repeticiones de CAG

Fue extraído ADN genómico a partir de leucocitos de sangre periférica, a través de protocolos estándar.²² La secuencia repetitiva de CAG fue amplificada por PCR con los primeros UH10 y UH13, previamente publicados,⁴ utilizando el kit "PureTaq Ready-to-go PCR beads" (Amersham Biosciences). Luego fue determinado el número de repeticiones de CAG a través de un análisis de fragmentos en un aparato *ALF Express II* (Amersham Biosciences), en comparación con marcadores de pesos moleculares internos y externos usando el software *Allele Links 1.0 software* (Amersham Biosciences). Los casos con 32 o más repeticiones de CAG fueron designados como portadores de acuerdo con lo previamente publicado.²³

Examen clínico

Cada individuo fue interrogado en busca de síntomas de compromiso del sistema nervioso central o periférico y, posteriormente, se le realizó un examen neurológico completo. El examen clínico se realizó teniendo en cuenta los parámetros utilizados en la clínica Mayo para el examen neurológico.

Fue realizada la determinación de la edad de inicio de la enfermedad a partir de la revisión de las historias clínicas, así como de entrevistas personales y telefónicas con pacientes, familiares cercanos y personal médico. La edad de inicio fue definida como el momento a partir del cual el individuo comenzó a manifestar síntomas neurológicos que representaron un cambio permanente en su estado de salud.

Análisis estadístico

Fueron utilizados estadígrafos de tendencia central y de dispersión para la caracterización de las variables consideradas en el estudio. Para las com-

Tabla 1
Estadística descriptiva de variables clínicas en la muestra estudiada de pacientes SCA2 y sujetos controles.

	N	Edad (años)			Edad de Inicio (años)		Duración de la enfermedad (años)			
		Rango	Media	D.E.	Rango	Media	D.E.	Rango	Media	D.E.
Pacientes	38	18 - 62	39.3	10.06	10 - 50	27.0	8.99	1 - 43	12.2	7.85
Controles	42	20 - 62	39.0	13.29	-	-	-	-	-	-

paraciones de medias fue utilizada la prueba "t" de Student. Los análisis de correlación fueron realizados a través de la determinación del coeficiente de correlación de Pearson. Todos los cálculos estadísticos fueron realizados con el *software SPSS*, versión 10.0. Los gráficos fueron generados con la aplicación Excel, del sistema operativo Windows 2000.

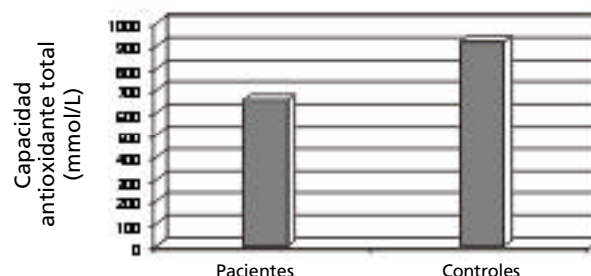
RESULTADOS

De los pacientes estudiados, 27 fueron hombres (71.1%) y 11 mujeres (28.9%). En el grupo control, 29 fueron hombres (65.9%) y 15 mujeres (34.1%). La edad promedio en el grupo de los pacientes fue de 39.3 años, mientras que en el grupo control fue de 39.0 años. La edad de inicio de la enfermedad en los pacientes estuvo entre los 10 y 50 años, mientras que la duración de la enfermedad promedio fue de 12.2 años (Tabla 1). Además, los pacientes tuvieron un número promedio de repeticiones de CAG de 40.6 ± 2.44 , variando entre las 34 y 47 unidades. Al igual que en estudios anteriores, obtuvimos una correlación inversa altamente significativa entre la edad de inicio de la enfermedad y el número de repeticiones de CAG en la muestra estudiada ($r = -0.74$; $p < 0.001$).

En las determinaciones de la capacidad antioxidante total, los sujetos controles mostraron una mayor variabilidad que los pacientes enfermos, encontrándose en este grupo tanto el nivel más bajo de CAT ($439.43 \mu\text{mol/L}$), como el más elevado (1418.50 mmol/L). La CAT varió en los pacientes entre $477.95 \mu\text{mol/L}$ y $999.62 \mu\text{mol/L}$, con una media de $656.46 \pm 128.34 \mu\text{mol/L}$, la cual fue significativamente menor que la de los sujetos controles ($t = -6.77$; $p < 0.001$) (Figura 1). En general, los pacientes mostraron una reducción en la CAT del 27.9% respecto con los sujetos controles.

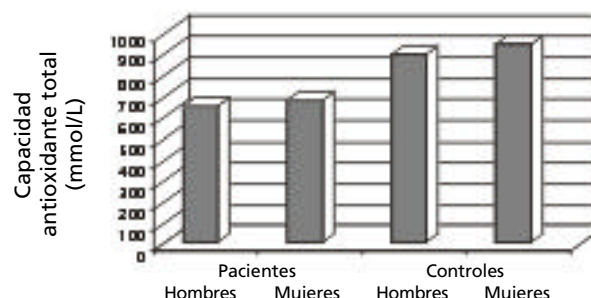
En el grupo de los pacientes, tanto el nivel más bajo de CAT como el más alto fueron encontrados en individuos pertenecientes al género masculino; idéntico resultado fue conseguido en el grupo control; sin embargo, no obtuvimos diferencias significativas para la CAT entre hombres y mujeres dentro del grupo control o en el de los pacientes enfermos (Figura 2).

En relación con la distribución de la CAT por grupos etarios, obtuvimos individuos de 15 a 24



Capacidad Antioxidante Total (μmol/L)				
	Rango	Media	Mediana	DE
Pacientes	477.95 - 999.62	656.46	623.55	128.34
Controles	439.43 - 1418.50	911.41	923.64	204.54

Figura 1. Estadística descriptiva y representación gráfica de la capacidad antioxidante total en la muestra estudiada de pacientes SCA2 y sujetos controles.



Capacidad antioxidante total (μmol/L)				P
	Rango	Media	D.E.	
Pacientes - Hombres	477.95 - 999.62	648.24	124.32	0.54
Pacientes - Mujeres	511.01 - 778.75	676.64	141.87	
Controles - Hombres	439.43 - 1418.5	895.67	240.71	0.49
Controles - Mujeres	767.09 - 1066.17	943.09	99.97	

Figura 2. Estadística descriptiva y representación gráfica de la distribución por género de la capacidad antioxidante total en la muestra estudiada de pacientes SCA2 y sujetos controles.

años de edad que mostraron los niveles promedio más bajos para la CAT, tanto en el grupo de los pacientes como en el de los controles. Por el contrario, mientras que en el grupo control la mayor CAT promedio fue obtenida para individuos de 25 a 34 años; en el grupo de los pacientes esto fue observado para personas de 45 a 54 años de edad

(Figura 3). El análisis de correlación demostró que no existe asociación significativa entre la edad del individuo y la CAT, ni en el grupo control ($r = 0.19$; $p = 0.24$) ni en el de los pacientes ($r = 0.16$; $p = 0.33$).

Tampoco encontramos asociación significativa entre la CAT y la edad de inicio ($r = 0.18$; $p = 0.27$), o la duración de la enfermedad ($r = -0.002$; $p = 0.99$). Sin embargo, obtuvimos una significación marginal en relación con el número de repeticiones de CAG ($r = -0.33$; $p = 0.06$).

DISCUSIÓN

La capacidad antioxidante total (CAT) es un parámetro que caracteriza la suma de las actividades antioxidantes no enzimáticas, presentes en el material estudiado.

Los antioxidantes no enzimáticos, tales como la albúmina, el glutatión reducido (GSH), el ácido ascórbico, el α -tocoferol, los β -carotenos, el ácido úrico, la bilirrubina/biliverdina y los flavonoides,

constituyen elementos muy importantes de las defensas antioxidantes del organismo. Por esta razón se hace esencial medir estas sustancias para determinar el estado antioxidante *in vivo*.

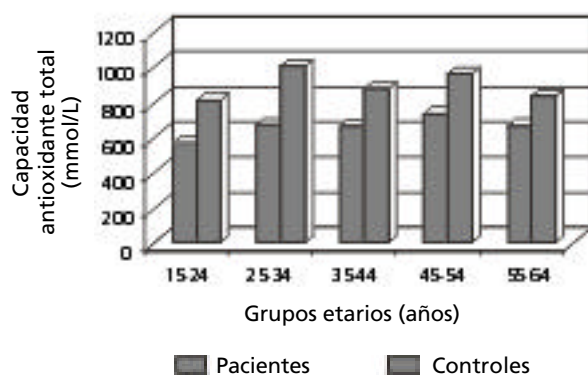
La mejor manera de hacer esto es a través de la determinación de la capacidad antioxidante total, debido a que el gran número de diferentes antioxidantes en muestras biológicas hace difícil medir cada antioxidante por separado, y a que la posible interacción *in vivo* entre diferentes antioxidantes podría hacer menos representativa la medición de cualquier antioxidante, en particular del estado antioxidante general.²⁴ Debido a esto, han sido desarrollados y utilizados varios métodos para determinar la capacidad antioxidante total de varias muestras biológicas, entre los que se encuentra el ensayo FRAP, que mide la capacidad de un compuesto para reducir los iones férricos (Fe^{3+}) a ferrosos (Fe^{2+}), es decir, es un ensayo indirecto de la capacidad antioxidante total.²⁴

Para la determinación de la CAT, nosotros utilizamos una variante de la técnica FRAP llamada potencial reductor férrico (PFR), en la que es sustituido la 2, 4, 6-tripiridil-S-triazina (TPTZ), agente cromógeno del ensayo FRAP, por el ferricianuro de potasio, que es un agente de más fácil acceso para su empleo en cualquier laboratorio clínico.²⁰

A través de este ensayo encontramos una disminución altamente significativa para la CAT en los pacientes enfermos, en comparación con el grupo control (Figura 1). Resultados similares han sido recientemente reportados para la enfermedad de Parkinson y para las demencias de Alzheimer y Vascular,²⁵ aunque en otros trabajos no se han encontrado diferencias significativas en la CAT entre pacientes y sujetos controles.^{26,27}

Dado que la CAT puede ser un marcador del estado antioxidante del organismo y puede reflejar el nivel de estrés oxidativo, al que el organismo se encuentra expuesto,^{24,28,29} la disminución encontrada en la capacidad antioxidante total en pacientes SCA2 podría ser una consecuencia del incremento en la producción de radicales libres. De hecho, ha sido encontrado que en pacientes SCA2 hay un aumento significativo de la concentración de malondialdehído (MDA), así como una disminución de la concentración de GSH y de la actividad específica de las glutatión-S-transferasas.¹⁸

En nuestro trabajo no encontramos ninguna influencia determinante del género del individuo sobre la CAT; tampoco encontramos diferencias significativas para la CAT entre hombres y mujeres del grupo control, ni en el constituido por pacientes enfermos (Figura 2), así como ninguna dependencia significativa entre la CAT y la edad en ninguno de los grupos estudiados (Figura 3). Este resultado



PACIENTES				
Grupos Etarios (años)	N	Capacidad Antioxidante Total (μmol/L) Rango	Media	D.E
15 - 24	2	540.97 - 587.29	564.13	-
25 - 34	11	539.83 - 992.41	667.94	135.15
35 - 44	15	477.95 - 999.62	659.73	152.28
45 - 54	7	536.04 - 1091.34	731.73	127.42
55 - 64	3	592.22 - 778.75	665.85	24.30
CONTROLES				
Grupos Etarios (años)	N	Capacidad Antioxidante Total (μmol/L) Rango	Media	D.E
15 - 24	7	439.43 - 1044.64	812.3	241.27
25 - 34	11	714.39 - 1418.50	1001.66	216.16
35 - 44	14	632.16 - 1238.50	873.72	195.89
45 - 54	8	770.93 - 1094.90	960.26	107.49
55 - 64	2	616.74 - 1047.00	831.89	-

Figura 3. Estadística descriptiva y representación gráfica de la distribución por grupos etarios de la capacidad antioxidante total en la muestra estudiada de pacientes SCA2 y sujetos controles.

coincide con lo reportado por Aejmelaesus y cols., quienes no encontraron asociación entre la CAT y la edad hasta los 74 años.³⁰ Sin embargo, varios autores han reportado la existencia de una correlación negativa entre la edad y la CAT plasmática.³¹⁻³⁴ Por el contrario, nosotros encontramos que los sujetos más jóvenes mostraron los niveles promedio más bajos para la CAT, tanto en el grupo de los pacientes como en el de los controles.

En otro sentido, el paciente con mayor CAT en suero porta un alelo SCA2 con 36 unidades de CAG, enfermó a los 50 años de edad y han transcurrido tan solo cuatro años desde que manifestara los primeros síntomas de la enfermedad; es decir, tuvo un alelo SCA2 pequeño –muy cercano al límite inferior de 34 unidades de CAG, encontrado en la muestra estudiada–, es uno de los casos extremos en cuanto a la edad de inicio y uno de los que menos tiempo lleva padeciendo la enfermedad. Por el contrario, el paciente con menor CAT en suero porta un alelo SCA2, con 41 unidades de CAG, quien manifestó los primeros síntomas de la enfermedad a los 18 años de edad y desde entonces han transcurrido otros 18 años, valores más bien intermedios en la muestra estudiada.

Este análisis particularizado podría indicar que mientras mayor sea el $(CAG)_n$ o la duración de la enfermedad, menor será la CAT del individuo. Sin embargo, no encontramos asociación significativa entre el tiempo de evolución, o la edad de inicio, y la CAT, aunque sí encontramos una asociación con significación marginal entre la CAT y el $(CAG)_n$ ($r = -0.33$; $p = 0.06$). Esta correlación podría implicar un vínculo entre el estrés oxidativo y la enfermedad a nivel molecular, donde un alelo SCA2 de mayor tamaño tendría un efecto más deletéreo, que se traduciría en un mayor incremento del desbalance redox, con el consiguiente daño oxidativo al ADN, lípidos y proteínas.

De modo general, estos resultados dan fundamento a la aplicación de una terapéutica antioxidante para la modulación de la enfermedad, con una prolongación de la esperanza de vida y/o el retardo de la manifestación de la misma en individuos portadores de alelos SCA2 expandidos aún asintomáticos.

REFERENCIAS

1. Auburger G, Orozco G, Capote RF, Sánchez SG, Pérez MP, Cueto ME, Meneses MG, Farral M, Williamson R, Chamberlain S. Autosomal dominant ataxia: genetic evidence for locus heterogeneity from a Cuban founder effect population. *Am J Hum Genet* 1990; 46: 1163-77.
2. Orozco G, Nodarse FA, Auburger G. Autosomal dominant cerebellar ataxia: clinical analysis of 263 patients from a homogeneous population in Holguín, Cuba. *Neurology* 1990; 40: 1369-75.
3. Schiller F. Staggering gait in medical history. *Ann Neurol* 1995; 37(1): 127-35.
4. Imbert G, Saudou F, Yvert G, Devys D, Trottier Y, Garnier J-M, Weber C, Mandel J-L, Cancel G, Abbas N, Dürr A, Didierjean O, Stevanin G, Agid Y, Brice A. Cloning of the gene for spinocerebellar ataxia 2 reveals a locus with high sensitivity to expanded CAG/glutamine repeats. *Nature Genet* 1996; 14: 285-91.
5. Pulst SM, Nechiporuk A, Nechiporuk T, Gispert S, Chen X-N, Lopes-Cendes I, Pearlman S, Starkman S, Orozco G, Lunkes A, DeJong P, Rouleau GA, Auburger G, Korenberg JR, Figueroa C, Sahba S. Moderate expansion of a normally biallelic trinucleotide repeat in spinocerebellar ataxia type 2. *Nature Genet* 1996; 14: 269-76.
6. Sanpei K, Takano H, Igarashi S, Sato T, Oyake M, Sasaki H, Wakisaka A, Tashiro K, Ishida Y, Ikeuchi T, Koide R, Saito M, Sato A, Tanaka T, Hanyu S, Takiyama Y, Nishizawa M, Shimizu N, Nomura Y, Segawa M, Iwabuchi K, Eguchi I, Tanaka H, Takahashi H, Tsuji S. Identification of the spinocerebellar ataxia type 2 gene using a direct identification of repeat expansion and cloning technique DIRECT. *Nature Genet* 1996; 14: 277-84.
7. Klockgether T, Evert B. Genes involved in hereditary ataxias. *Trends Neurosci* 1998; 21: 413-8.
8. Holmes SE, O'Hearn EE, McInnis MG, Gorelick-Feldman DA, Kleiderlein JJ, Callahan C, et al. Expansion of a novel CAG trinucleotide repeat in the 5-prime region of PPP2R2B is associated with SCA12. *Nature Genet* 1999; 23: 391-2.
9. Nakamura K, Jeong SY, Uchihara T, Anno M, Nagashima K, Nagashima T, et al. SCA17, a novel autosomal dominant cerebellar ataxia caused by an expanded polyglutamine in TATA-binding protein. *Hum Mol Genet* 2001; 10(14): 1441-8.
10. Huntington's disease collaborative research group. A novel gene containing a trinucleotide repeats that is expanded and unstable on Huntington's disease chromosomes. *Cell* 1993; 72: 971-83.
11. La Spada AR, Wilson EM, Lubahn DB, Harding AE, Fischbeck KH. Androgen receptor gene mutations in X-linked spinal and bulbar muscular atrophy. *Nature* 1991; 352: 77-9.
12. Koide R, Ikeuchi T, Onodera O, Tanaka H, Igarashi S, Endo K, et al. Unstable expansion of CAG repeat in hereditary dentatorubral-pallidoluysian atrophy (DRPLA). *Nat Genet* 1994; 6: 9-13.
13. Nagafuchi S, Yanagisawa H, Sato K, Shirayama T, Ohsaki E, Bundo M, et al. Dentatorubral and pallidoluysian atrophy expansion of an unstable CAG trinucleotide on chromosome 12p. *Nat Genet* 1994; 6: 14-8.
14. Nance M. *Brain Pathol* 1997; 7: 881-90.
15. Tabrizi SJ, Workman J, Hart PE, Mangiarini L, Mahal A, Bates G, Cooper JM, Schapira AH. Mitochondrial dysfunction and free radical damage in the Huntington R6/2 transgenic mouse. *Ann Neurol* 2000; 47(1): 80-6.
16. Maksimovic ID, Jovanovic MD, Colic M, Mihajlovic R, Micic D, Selakovic V, Ninkovic M, Malicevic Z, Rusic-Stojiljkovic M, Jovicic A. Oxidative damage and metabolic dysfunction in experimental Huntington's disease: selective vulnerability of the striatum and hippocampus. *Vojnosanit Pregl* 2001; 58(3): 237-42.

17. Giuliano P, de Cristofaro T, Affaitati A, Pizzulo GM, Feliciello A, Criscuolo Ch, et al. DNA damage induced by polyglutamine expanded proteins. *Human Molecular Genetics* 2003; 12(18): 2301-9.
18. Velázquez L, Sánchez G, García JC, Delgado R, Márquez L, Martínez E, Santos NF, Almaguer LM. Spinocerebellar ataxia type 2 (sca-2) in Cuba. A study of the clinical electrophysiological and redox system variations and its relation with CAG repeats. *Restorative Neurology and Neurosciences* 2002; 20(6): 277.
19. Sanpei K. The function of spinocerebellar ataxia type 2 (SCA2) gene products, ataxin-2 and the mechanism of pathogenesis for SCA2. *Nippon Rinsho* 1999; 57(4): 822-4.
20. Bahr P, Basulto Y. El Potencial Reductor Férrico (FRP). Un ensayo para evaluar la capacidad antioxidante en suero. *Rev Corr Cient Méd Holguín* 2004; 8(4).
21. Benzie IFF, Strain JJ. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Anal Biochem* 1996; 239: 70-6.
22. Kunkel LM, Smith KD, Boyer SM, Borgeonkar DS, Wachtel SS, Miller OS, et al. Analysis of human Y-chromosome-specific reiterated DNA in chromosome variants. *Proc Nat Acad Sci USA* 1997; 74: 1245-9.
23. Santos N, Aguiar J, Fernández J, Vázquez M, Auburger J, Gispert S, Mendoza I, García J, Velázquez L. Diagnóstico molecular de una muestra de la población cubana con ataxia espinocerebelosa tipo 2. *Biotech Apl* 1999; 16(4): 219-22.
24. Prior RL, Cao G. In vivo total antioxidant capacity: comparison of different analytical methods. *Free Radic. Biol Med* 1999; 27: 1173-81.
25. Serra JA, Domínguez RO, de Lustig ES, Guareschi EM, Famulari AL, Bartolome EL, Marschoff ER. Parkinson's disease is associated with oxidative stress: comparison of peripheral antioxidant profiles in living Parkinson's, Alzheimer's and vascular dementia patients. *J Neural Transm* 2001; 108(10): 1135-48.
26. Sinclair AJ, Bayer AJ, Johnston J, Warner C, Maxwell SR. Altered plasma antioxidant status in subjects with Alzheimer's disease and vascular dementia. *Int J Geriatr Psychiatry* 1998; 13(12): 840-5.
27. Serra JA, Marschoff ER, Domínguez RO, de Lustig ES, Famulari AL, Bartolome EL, Guareschi EM. Comparison of the determination of superoxide dismutase and antioxidant capacity in neurological patients using two different procedures. *Clin Chim Acta* 2000; 301(1-2): 87-102.
28. Cao G, Prior RL. Measurement of oxygen radical absorbance capacity in biological samples. *Methods Enzymol* 1999; 299: 50-62.
29. Bartosz G. Total antioxidant capacity. *Adv Clin Chem* 2003; 37: 219-92.
30. Aejmelaeus RT, Holm P, Kaukinen U, Metsä-Ketelä TJA, Laippala P, Hervonen ALJ, Alho HER. Age-related changes in the peroxyl radical scavenging capacity of human plasma. *Free Radic Biol Med* 1997; 23: 69-75.
31. Feillet-Coudray C, Tourtauchaux R, Niculescu M, Rock E, Tauveron I, Alexandre-Gouabau MC. Plasma levels of 8-epiPGF2alpha, an in vivo marker of oxidative stress, are not affected by aging or Alzheimer's disease. *Free Radic Biol Med* 1999; 27: 463-9.
32. Pieri C, Testa R, Marra M, Bonfigli AR, Manfrini S y Testa I. Age-dependent changes of serum oxygen radical scavenger capacity and haemoglobin glycosylation in non-insulin-dependent diabetic patients. *Gerontology* 2001; 47: 88-92.
33. Wang XL, Rainwater DL, van de Berg JF, Mitchell BD, Mahaney MC. Genetic contributions to plasma total antioxidant activity. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001; 21: 1190-5.
34. Ziobro A, Bartosz G. A comparison of the total antioxidant capacity of some human body fluids. *Molecular Biology Letters* 2003; 8: 415-9.

