



**UNIVERSIDAD DE CIENCIAS MÉDICAS DE LA HABANA  
CENTRO PARA LA INVESTIGACIÓN Y REHABILITACIÓN DE  
LAS ATAXIAS HEREDITARIAS “CARLOS J. FINLAY”**

**ATAXIA ESPINOCEREBELOS A TIPO 2. ESTUDIO DE LOS  
MOVIMIENTOS OCULARES SACÁDICOS EN FAMILIAS  
PORTADORAS DE LA MUTACIÓN SCA2.**

**Tesis presentada en opción al grado científico de Doctor en Ciencias de la  
Salud**

**Roberto Rodríguez Labrada**

**Holguín**

**2013**



**UNIVERSIDAD DE CIENCIAS MÉDICAS DE LA HABANA  
CENTRO PARA LA INVESTIGACIÓN Y REHABILITACIÓN DE  
LAS ATAXIAS HEREDITARIAS “CARLOS J. FINLAY”**

**ATAXIA ESPINOCEREBELOSA TIPO 2. ESTUDIO DE LOS  
MOVIMIENTOS OCULARES SACÁDICOS EN FAMILIAS  
PORTADORAS DE LA MUTACIÓN SCA2.**

**Tesis presentada en opción al grado científico de Doctor en Ciencias de la  
Salud**

**Autor: Roberto Rodríguez Labrada**

**Tutor: Dr. Luis Velázquez Pérez, Dr. Cs.**

**Holguín**

**2013**

## **AGRADECIMIENTOS**

Mis mayores agradecimientos para MAMI y PAPI, por su amor y apoyo incondicional, porque han sido la principal guía de mis actos, GRACIAS POR EXISTIR. Ellos son los principales artífices de este logro. También para Rafa, Adrianita y Yuny, así como todos mis tíos y primos que conforman una maravillosa familia con esos guías inolvidables: Papá Felo, Yeya y Papá Rubén. Donde quiera que ustedes estén, GRACIAS!!!.

Especiales y con mayúscula mis agradecimientos para Yaimeé, por el amor, el apoyo y la comprensión de tantas horas frente a una laptop y tanto tiempo en un cuartito de 4x4. Te las voy a pagar muy bien, lo prometo. A su papá y hermana por confiar en nosotros y apoyarnos.

Agradezco mucho a todos mis amigos desde la infancia hasta los de hoy, porque me han hecho creer en algo tan imprescindible como es la amistad. No menciono nombres, son muchos y no me perdonaría omitir tan siquiera uno.

Mis sentidos agradecimientos para todos los maestros y profesores que han contribuido en mi formación humana y profesional, pero en especial agradezco a dos, que de profesores se convirtieron en amigos: Luis Velázquez y Antonio Vargas. El primero por darme la oportunidad de cumplir mis sueños de científico, por su apoyo, sus consejos oportunos y sus valiosas enseñanzas, por confiar en nosotros, los más jóvenes. El segundo, culpable de este amor que le tengo a la biología y por inculcarme la perseverancia y espíritu de sacrificio en busca de un sueño.

No puedo dejar de mencionar a mis compañeros de trabajo en el Centro de Ataxias, en especial a Julio, Yaimara, Nalia, Jacque, Arnoy, Yanetza, Irma, Tania, Raúl, Laffita, Dany, Dennis, Annelié, Bestard, Mariela, Migdalia, Nancy y el resto de los trabajadores de servicio, tan importantes en mi trabajo como los investigadores que ya mencioné. A Gilberto, por su apoyo. Agradezco también a Rubén Cañedo por darme las herramientas necesarias para realizar una búsqueda más rápida y eficiente de la de información científica que utilizo.

A pesar de todo, la residencia estudiantil de la Universidad Médica de Holguín representa una etapa importante de mi vida, en especial por tantos amigos y compañeros que allí he conocido, a todos gracias por la compañía.

**DEDICATORIA**

*A la memoria de mis seres queridos que hoy no están pero que tanto hubieran disfrutado de este resultado: Yeya, Papá Felo, Papá Rubén, Neneno y Chichín.*

*A mis padres por mostrarme el camino del bien*

*A Yaimeé por la paciencia y el amor*

*A Adrianita, Fely y Yuni por el cariño*

*A Vargas y Luis, mis grandes maestros*

*A todos mis buenos amigos, donde quiera que estén*

*A los pacientes con ataxia por su confianza en lo que hacemos*

*A Cuba: la tierra de mis amores*

## SÍNTESIS

La Ataxia Espinocerebelosa tipo 2 (SCA2) se distingue por el enlentecimiento de los movimientos oculares sacádicos. Con el objetivo caracterizar estos movimientos y evaluarlos como biomarcadores de la enfermedad, se realizó un estudio observacional-analítico con 110 enfermos y 54 portadores de la mutación, evaluados mediante exámenes clínicos, electrofisiológicos y genéticos. La velocidad sacádica correlacionó con el tamaño de la mutación, la severidad de la ataxia y el tiempo previo a la manifestación de la enfermedad. Se estimó que esta alteración comienza aproximadamente 13 años previos al síndrome cerebeloso, lo que la convierte en un importante biomarcador preclínico, de progresión y de daño molecular. Las alteraciones antisacádicas correlacionaron con el tamaño de la mutación y el desempeño frontoejecutivo, identificándose como biomarcadores de daño cognitivo y del efecto mutacional sobre estas funciones. La densidad de movimientos oculares rápidos en sueño REM correlacionó con la severidad de la ataxia, comportándose como un biomarcador de progresión. Las alteraciones sacádicas mostraron un carácter progresivo, según el estudio longitudinal. En conclusiones, se identificó la velocidad sacádica como principal variable endofenotípica de la SCA2, así como nuevos biomarcadores de la enfermedad, útiles para investigaciones básicas, aplicadas y para el diagnóstico, pronóstico y la evaluación de terapias.



1.2.2.2.1 Colículo Superior.....	19
1.2.2.2.2. Neuronas en ráfaga de derivación larga....	21
1.2.2.2.3. Neuronas omnipausas .....	21
1.2.2.2.4 Neuronas en ráfaga excitatorias e inhibitorias. .....	23
1.2.2.3 Control cerebeloso de los movimientos oculares sacádicos.....	24
1.2.2.4 Papel de los ganglios basales en la regulación de los movimientos oculares sacádicos.....	26
1.2.2.5 Papel del tálamo en el control de los movimientos oculares sacádicos.....	26
1.2.3 Alteraciones de los movimientos oculares sacádicos.....	27
1.2.3.1 Alteraciones sacádicas en enfermedades poliglutamínicas.....	29
1.2.4 Control de los movimientos oculares rápidos (sacádicos) durante la fase de sueño REM.....	30
<b>CAPÍTULO II. PACIENTES Y MÉTODOS .....</b>	<b>32</b>
2.1 Diseño metodológico.....	32
2.2 Sujetos estudiados.....	32
2.2.1 Universo de estudio.....	32
2.2.2 Muestra de estudio.....	32
2.2.2.1 Sujetos evaluados en el estudio transversal.....	32
2.2.2.1.1 Sujetos enfermos .....	33

2.2.2.1.2	Sujetos portadores de la mutación .....	33
2.2.2.1.3	Controles .....	34
2.2.2.2	Sujetos evaluados en el estudio longitudinal.....	35
2.3	Técnicas y procedimientos de los estudios realizados.....	35
2.3.1	Evaluación clínica.....	35
2.3.1.1	Examen clínico neurológico.....	35
2.3.1.2	Examen de las funciones cognitivas.....	36
2.3.1.2.1	Evaluación de funciones frontoexecutivas.....	36
2.3.1.2.2	Evaluación de la memoria.....	37
2.3.2	Evaluación electronistagmográfica de los movimientos oculares sacádicos.....	37
2.3.3	Evaluación electronistagmográfica de los movimientos oculares antisacádicos.....	38
2.3.4	Estudios polisomnográficos .....	39
2.3.5	Estudios moleculares.....	40
2.4	Operacionalización de las variables .....	41
2.5	Análisis estadísticos.....	42
2.5.1	Análisis de la normalidad y estadística descriptiva.....	42
2.5.2	Comparación de proporciones y medias.....	43
2.5.3	Análisis de varianzas.....	43
2.5.4	Estudios de asociación entre variables.....	44
2.5.5	Análisis de sensibilidad y especificidad de las alteraciones sacádicas .....	46

2.5.6 Estimación de los componentes genéticos y ambientales que influyen sobre las variables sacádicas. ....	46
2.6. Consideraciones éticas de la investigación. ....	47
<b>CAPÍTULO III. RESULTADOS</b> .....	<b>48</b>
3.1 Caracterización fenotípica de la muestra estudiada.....	48
3.1.1. Evaluación clínica-neurológica .....	48
3.1.2 Evaluación neurocognitiva .....	49
3.2 Evaluación electronistagmográfica transversal de la muestra estudiada. ....	49
3.2.1 Estudio de los movimientos oculares sacádicos en pacientes con SCA2. ....	49
3.2.1.1 Velocidad Sacádica .....	49
3.2.1.2 Desviación sacádica .....	51
3.2.1.3 Latencia Sacádica.....	52
3.2.1.4 Análisis de sensibilidad y especificidad diagnóstica de los parámetros sacádicos.....	53
3.2.1.5 Influencia del número de repeticiones del trinucleótido CAG sobre las variables sacádicas.....	55
3.2.1.5.1 Estimación de la influencia de los componentes genéticos y ambientales sobre las alteraciones sacádicas en la SCA2.....	57
3.2.1.6 Influencia de las variables clínicas sobre los movimientos oculares sacádicos en pacientes con SCA2. ....	57

3.2.2 Evaluación de los movimientos oculares sacádicos en portadores de la mutación SCA2.....	58
3.2.2.1 Velocidad sacádica. ....	58
3.2.2.2 Desviación sacádica. ....	59
3.2.2.3 Latencia sacádica.....	60
3.2.2.4 Relación del número de repeticiones de CAG con las variables sacádicas en los portadores de la mutación SCA2. ....	61
3.2.2.5 Influencia de la edad sobre las variables sacádicas en portadores de la mutación.....	61
3.2.2.6 Influencia del tiempo previo a la manifestación de la enfermedad sobre los movimientos oculares sacádicos en la SCA2. ....	62
3.2.3. Estudios de movimientos oculares antisacádicos en pacientes con SCA2.....	63
3.2.4. Estudios de movimientos oculares antisacádicos en portadores de la mutación SCA2.....	65
3.2.5 Relación entre los movimientos oculares sacádicos y antisacádicos con las alteraciones cognitivas en pacientes con SCA2. ....	66
3.3 Evaluación electronistagmográfica longitudinal de las alteraciones sacádicas en pacientes con SCA2.....	68

<b>CAPÍTULO IV. DISCUSIÓN.....</b>	<b>70</b>
4. 1 Evaluación clínica y neurocognitiva de los pacientes con SCA2. .	70
4.2 Alteraciones sacádicas en pacientes con SCA2 .....	72
4.2.1 Enlentecimiento sacádico.....	72
4.2.2 Dismetría sacádica. ....	75
4.2.3. Prolongación de la latencia sacádica.....	77
4.2.4 Variables sacádicas como herramientas diagnósticas de la SCA2. .....	81
4.2.5 Influencia del trinucleótido CAG sobre los movimientos oculares sacádicos en la SCA2. ....	81
4.2.6 Influencia de parámetros clínicos con los movimientos oculares sacádicos en pacientes con SCA2. ....	85
4.3 Alteraciones tempranas de los movimientos oculares sacádicos en la SCA2. ....	86
4.4 Alteraciones de los movimientos oculares antisacádicos en la ataxia espinocerebelosa tipo 2.....	90
4.5 Movimientos oculares sacádicos y los trastornos cognitivos en la SCA2. ....	92
4.6 Disfunción de los movimientos oculares sacádicos en fase de sueño REM.....	95
4.7 Evaluación longitudinal de las alteraciones sacádicas en pacientes con SCA2. ....	96
4.8 Consideraciones finales .....	97

<b>CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....</b>	<b>99</b>
Conclusiones.....	99
Recomendaciones.....	100
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>101</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>129</b>

## GLOSARIO DE SIGLAS

- ADCA:** Ataxia cerebelosa autosómica dominante (del inglés: Autosomal Dominant Cerebellar Ataxia).
- ADN:** Ácido desoxiribonucleico.
- ARNm:** Ácido ribonucleico mensajero.
- ATTCT:** Secuencia de nucleótidos adenina-timina-timina-citosina-timina.
- ATXN2:** Ataxina 2 (se refiere al gen y su proteína homónima).
- CAA:** Secuencia de nucleótidos citosina-adenina-adenina.
- CAG:** Secuencia de nucleótidos citosina-adenina-guanina.
- CCA:** Corteza cingulada anterior.
- CCI:** Coeficiente de correlación intraclase.
- CIRAH:** Centro para la Intestigación y Rehabilitación de las Ataxias Hereditarias.
- COF:** Campo ocular frontal.
- COPres:** Campo ocular pre-suplementario.
- COR:** Curva de Características Operacionales del Receptor.
- COS:** Campo ocular suplementario.
- CPDL:** Corteza prefrontal dorsolateral.
- CPVL:** Corteza prefrontal ventrolateral.
- CS:** Colículo Superior.
- CTG:** Secuencia de nucleótidos citosina-timina-adenina.
- CV1°:** Corteza visual primaria.
- DE:** Desviación estándar.
- DRPLA:** Atrofia dentatorubro-palido-luysiana (del inglés: Dentatorubral pallidoluysian atrophy).
- EAD:** Errores antisacádicos de dirección.
- EADc:** Errores antisacádicos de dirección corregidos.
- EADnc:** Errores antisacádicos de dirección no corregidos.
- EAO:** Errores antisacádicos por omisión.
- EAT:** Errores antisacádicos totales.
- EBN:** Neuronas de descarga excitatoria (del inglés: Excitatory Burst Neurons)
- ELA:** Esclerosis Lateral Amiotrófica.
- FAS:** Se refiere a la prueba de fluencia verbal fonológica.
- FRM:** Formación reticular medial.

- FRPP:** Formación reticular pontina paramediana.
- GABA:** Ácido gamma-aminobutírico (del inglés: Gamma-aminobutyric acid)
- GGCTC:** Secuencia de nucleótidos *guanina-guanina-citosina-citosina-timina-citosina*
- GPI:** Globo pálido interno.
- IBN:** Neuronas de descarga inhibitorias (del inglés: Inhibitory Burst Neurons)
- IC:** Intervalo de confianza
- IN:** Interneurona
- KDa:** Kilodalton
- LLBN:** Neuronas de descarga de derivación larga (del inglés Long-lead burst neurons)
- MN:** Motoneuronas.
- MORs:** Movimientos oculares rápidos
- ms:** milisegundos
- NFc:** Núcleo fastigio caudal
- NIR:** Núcleo interpuesto del Rafe
- NMDA:** N-metil-D-aspartato (del inglés N-methyl-D-aspartate)
- NPH:** Núcleo prepósito hipogloso
- NriFLM:** Núcleo rostral intersticial del fascículo longitudinal medial.
- NRTP:** Núcleo reticular tegmental del puente.
- NVM:** Núcleo vestibular medial.
- OPN:** Neurona omnipausa (del inglés Omnipause Neurons).
- PCCW:** Prueba de clasificación de carta de Wisconsin.
- PMR:** Potencial de membrana en reposo.
- REM:** Se refiere a la fase de sueño de movimiento oculares rápidos (del inglés: Rapid eye movements).
- RMN:** Resonancia magnética nuclear.
- SARA:** Escala para la Estimación y Cuantificación de la Ataxia (del inglés Scale for the Assessment and Rating of Ataxias).
- SCA:** Ataxia Espinocerebelosa (del inglés: Spinocerebellar Ataxia).
- SNr:** Sustancia negra reticulada.
- TC:** Tallo cerebral.
- TGGAA:** Secuencia de nucleótidos *timina-guanina-guanina-adenina-adenina*.
- TME:** Tiempo previo a la manifestación de la enfermedad.
- VOM:** Vermis oculomotor.
- °/s:** grados por segundos.

## INTRODUCCIÓN

Las Ataxias Cerebelosas Autosómico Dominantes (ADCA, *del inglés: Autosomal Dominant Cerebellar Ataxias*) forman un grupo heterogéneo de enfermedades neurodegenerativas. Estas entidades, también conocidas como Ataxias Espinocerebelosas (SCA, *del inglés: Spinocerebellar Ataxias*), se caracterizan por un síndrome cerebeloso progresivo, asociado a otras manifestaciones neurológicas (Durr, 2010). Actualmente, se conocen 36 formas moleculares de SCAs y en 23 de estas se ha identificado el gen causante de la enfermedad (Matilla-Dueñas y col., 2012; Sailer y Houlden, 2012).

Entre las mutaciones relacionadas con las SCAs, las expansiones del trinucleótido *citocina-adenina-guanina* (CAG) en regiones codificantes son las más comunes. Estas conducen a la expresión de un dominio poliglutamínico expandido en las proteínas correspondientes, lo que clasifica a estas entidades como enfermedades poliglutamínicas. Este grupo incluye a la SCA1, SCA2, SCA3, SCA6, SCA7, SCA17 y DRPLA, las que acompañan a otras enfermedades neurodegenerativas tales como la Corea de Huntington y Atrofia Muscular Espinobulbar (Durr, 2010; Cummings y Zoghbi, 2000).

La prevalencia internacional de las SCAs es de uno a cuatro casos/100 000 habitantes, aunque esta es mayor en regiones específicas, debido a efectos fundacionales. Este fenómeno se presenta en las Islas Azores, Portugal, para la SCA3 (Sequeiros y Coutinho, 1993; Vale y col., 2010) y en Holguín, Cuba para la SCA2 (Velázquez-Pérez y col., 2009a). De hecho, esta región de nuestro país concentra más del 70% de los pacientes con

SCA2 y más de 1300 descendientes directos, lo que contribuye a una tasa de prevalencia de la mutación de 182,75 casos/100 000 habitantes (*Velázquez-Pérez y col., 2011a*).

La SCA2 es causada por la expansión del trinucleótido CAG, en el primer exón del gen *ATXN2* (*Pulst y col., 1996*), lo que produce un aumento del tracto poliglutamínico en la proteína citoplasmática ataxina 2. Este polipéptido de expresión ubicua, juega un rol muy importante en la regulación de la transcripción y traducción de los ARNm. En estado mutacional, la ataxina 2 pierde su función fisiológica y adquiere propiedades tóxicas que justifican la extensa muerte neuronal observada en la capa de neuronas de Purkinje del cerebelo, el puente y la sustancia negra, entre otras (*Lastres-Becker y col., 2008*).

El fenotipo clínico de la SCA2 es variable y está estrechamente asociado al genotipo. En tal sentido, el tamaño de la expansión trinucleotídica explica hasta el 80% de la variabilidad observada en la edad de inicio de la enfermedad. Todos los pacientes muestran un síndrome cerebeloso progresivo, unido a trastornos oculomotores severos, neuropatía periférica, disfunción cognitiva y trastornos del sueño, entre otras manifestaciones (*Velázquez-Pérez y col., 2009a*). Los casos con expansiones más cortas pueden presentar manifestaciones parkinsonianas y aquellos con expansiones grandes pueden exhibir otros signos menos comunes tales como movimientos coreicos, distonías, mioclonías, oftalmoplejia y retinosis pigmentaria (*Velázquez-Pérez y col., 2011a*).

Al igual que el resto de las ataxias hereditarias, la SCA2 es una enfermedad huérfana de tratamientos. La opción terapéutica más efectiva es la neurorrehabilitación, la que puede aplicarse de conjunto con otras alternativas farmacológicas sintomáticas, de limitada efectividad (*Rodríguez-Díaz y col., 2008*). Sin embargo, los avances en la caracterización clínica, neuroquímica y electrofisiológica, permitieron la identificación de nuevas dianas

terapéuticas y biomarcadores, útiles para estimar las principales características clínico-genéticas de la enfermedad y evaluar el efecto de terapias (*Velázquez-Pérez y col., 2011a*).

La caracterización de nuevos biomarcadores de la SCA2 exige una profunda caracterización de las principales manifestaciones de la enfermedad, en especial la comprensión de su prevalencia, mecanismos fisiopatológicos y dinámica de progresión.

Una de las manifestaciones fenotípicas más importantes de la SCA2 es la disfunción de los movimientos oculares sacádicos, la que fue reconocida desde los primeros reportes de esta enfermedad en la India (*Wadia y Swami, 1971*).

Los movimientos oculares sacádicos permiten cambiar, de manera rápida y precisa, la atención de un objeto en la escena visual hacia otro, sin perturbar la agudeza visual (*Ramat y col., 2007*). Durante el sueño, estos se presentan en la fase de movimientos oculares rápidos (REM, del inglés Rapid Eye Movement), y parecen estar relacionados con el escaneo de las imágenes durante las ensoñaciones (*Leclair-Visonneau y col., 2010*).

Los movimientos sacádicos pueden evaluarse mediante el examen clínico-oculomotor y por diversas técnicas electrofisiológicas, como la electronistagmografía. Esta permite cuantificar la velocidad, latencia, amplitud y desviación del movimiento. Además, facilita la evaluación objetiva de paradigmas experimentales complejos, que implican un elevado procesamiento cognitivo, tales como los movimientos oculares antisacádicos y memorizados (*Müri y Nyffeler, 2008*). La generación y el control de las sácadas se realiza por un conjunto de estructuras corticales y subcorticales, tales como la corteza frontal y parietal, ganglios basales, tallo cerebral y cerebelo, entre otras (*Leigh y Kennard, 2004*).

A pesar de lo anterior, los movimientos sacádicos no han sido investigados de forma sistemática en enfermos y portadores de la mutación. La mayoría de los estudios se

caracterizan por: *a)* evaluación de un número reducido de enfermos y no inclusión de portadores de la mutación; *b)* poca referencia a los principales determinantes y a la base fisiopatológica de las alteraciones sacádicas; *c)* insuficiente caracterización longitudinal de las alteraciones sacádicas; *d)* aplicación limitada del paradigma antisacádico; *e)* escasa evaluación del sistema sacádico durante el sueño.

Lo anterior, fundamenta la **justificación** de este estudio, basada en la necesidad de alcanzar una caracterización integral de los movimientos oculares sacádicos, durante la vigilia y el sueño REM, en enfermos y portadores de la mutación SCA2. Para ello, se argumenta la evaluación de los principales determinantes clínicos, neurocognitivos y moleculares de las alteraciones sacádicas. Por otro lado, era necesario conocer la dinámica de progresión de las alteraciones sacádicas, y estimar los patrones temporo-espaciales de la neurodegeneración, así como profundizar en los mecanismos fisiopatológicos de la enfermedad.

El **problema científico** de esta investigación consiste en la ausencia de una caracterización sistemática e integral de las alteraciones sacádicas, desde estadios preclínicos hasta etapas avanzadas de la enfermedad, lo que conlleva al desconocimiento de los determinantes clínicos-moleculares y del patrón de progresión de estas manifestaciones. Esto dificulta la identificación de las alteraciones sacádicas como biomarcadores preclínicos, de daño genético y progresión, útiles en la evaluación de ensayos clínicos y en el diagnóstico de la enfermedad.

Para dar solución a este problema científico, partimos de la siguiente **hipótesis**: La Ataxia Espinocerebelosa Tipo 2 se distingue clínicamente por el enlentecimiento de los movimientos oculares sacádicos. Por tanto, el estudio electronistagmográfico en enfermos

y portadores de la mutación permitirá una caracterización integral de las alteraciones sacádicas y de su relación con la expansión poliglutamínica y severidad de la enfermedad. De esta manera, se identificarán biomarcadores preclínicos, de daño genético y progresión, útiles en la práctica clínica y la evaluación de alternativas terapéuticas.

Para evaluar la validez de esta hipótesis, nos hemos propuesto los siguientes **objetivos:**

**Objetivo General.** Caracterizar el comportamiento funcional del sistema sacádico en la ataxia espinocerebelosa tipo 2.

**Objetivos específicos:**

1. Evaluar las principales alteraciones de los movimientos oculares sacádicos, antisacádicos y movimientos oculares del sueño REM, en enfermos y portadores de la mutación SCA2.
2. Identificar la posible relación existente entre las alteraciones de los movimientos oculares sacádicos, antisacádicos y del sueño REM, con las principales características genéticas, clínicas y neurocognitivas de la enfermedad.
3. Describir los cambios longitudinales de las variables sacádicas y su relación con la progresión de la enfermedad y el tamaño de la expansión poliglutamínica.

El **fundamento metodológico** de esta investigación se basó en un estudio observacional analítico en dos etapas. En la primera se llevó a cabo una evaluación transversal de las alteraciones sacádicas, antisacádicas y de los movimientos oculares rápidos (MORs) durante el sueño REM, en pacientes y portadores de la mutación. La segunda etapa consistió en un estudio longitudinal prospectivo de las alteraciones sacádicas en el grupo de enfermos. Se incluyeron 110 enfermos y 54 portadores de la mutación, con sus respectivos grupos controles, los que fueron sometidos a estudios electronistagmográficos y

polisomnográficos, así como evaluaciones neurológicas, de la severidad de la ataxia y neuropsicológicas.

La **novedad científica** de este trabajo radica en los siguientes aspectos:

- a) Se identifican los primeros marcadores neurofisiológicos relacionados al daño genético, que expresan el efecto patogénico de la mutación SCA2 sobre un conjunto de estructuras generadoras de los movimientos oculares sacádicos
- b) Se presenta, por primera vez, un análisis integral de la sensibilidad y especificidad diagnóstica de las variables sacádicas en pacientes con SCA2.
- c) Se expone el primer estudio sobre la heredabilidad de las variables sacádicas en una forma de ataxia hereditaria.
- d) Se define un patrón de progresión de las alteraciones oculomotoras desde estadios presintomáticos.
- e) Se muestran, por primera vez, los patrones de alteraciones antisacádicas en sujetos enfermos y portadores de la mutación.
- f) Se demuestra, por primera vez, que la expansión del trinucleótido CAG en controla directamente la severidad de la disfunción frontoexecutiva en la SCA2.
- g) Se integra el comportamiento fisiopatológico del sistema sacádico durante la vigilia y el sueño REM en la SCA2.

El **aporte teórico** de este estudio radica en la ampliación del conocimiento sobre los trastornos de los movimientos oculares sacádicos en pacientes con SCA2, tanto en vigilia, como en sueño REM. Se caracterizan los principales determinantes clínicos y moleculares de estas alteraciones. Se esclarecen datos contradictorios de la literatura, en relación con la latencia sacádica. Además, se profundiza en el conocimiento de los componentes genéticos

y ambientales de los movimientos oculares sacádicos en las familias afectadas. Se estima el periodo previo al debut de la enfermedad, en que aparecen las primeras alteraciones sacádicas, como expresión subclínica del daño degenerativo que sufren estos individuos. Se esclarece el nivel de dependencia de las variables sacádicas con la disfunción cognitiva en pacientes con SCA2. Se reconoce la influencia directa de la expansión de CAG sobre las alteraciones frontoejecutivas en la SCA2. El análisis de nuestros resultados permite una mejor comprensión del patrón temporo-espacial del proceso neurodegenerativo que caracteriza a la SCA2.

El **aporte práctico** de esta investigación está dado por el manejo y abordaje de la SCA2 y otras ataxias espino-cerebelosas. Los resultados permiten el diseño de ensayos clínicos para la SCA2, al aportar nuevas variables cuantitativas útiles para evaluar el efecto terapéutico de estos ensayos y seleccionar el momento oportuno para iniciar dichos tratamientos. Con nuestros resultados se logran perfeccionar los procedimientos para el diagnóstico diferencial de la SCA2 y se identifica el primer biomarcador endofenotípico de daño molecular, el que tiene un impacto relevante en proyectos de investigación dirigidos a la búsqueda de genes modificadores. Se caracterizan biomarcadores preclínicos, cuya utilidad, en el diagnóstico temprano de la enfermedad y el pronóstico de su inicio, es apreciable. Estos resultados complementan el Programa de Diagnóstico Predictivo de la SCA2, pues permiten abordar con mayor objetividad las frecuentes dudas de los portadores de la mutación, en relación al inicio de su enfermedad y la evolución de la misma. Se identifican nuevos parámetros sacádicos y antisacádicos como biomarcadores de daño cognitivo, lo que facilita el diagnóstico y evaluación de estas alteraciones durante las diferentes terapias.

## CAPÍTULO I. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### 1.1 Ataxias Cerebelosas Autosómico Dominantes.

Las ADCAs integran un grupo heterogéneo de enfermedades neurodegenerativas que se caracterizan por un síndrome cerebeloso progresivo, usualmente asociado a otras manifestaciones neurológicas. Estas enfermedades, también conocidas como SCAs, son producidas por la atrofia del cerebelo, la que generalmente se acompaña por una degeneración progresiva del tallo cerebral y en menor grado, por la afectación de otras estructuras centrales y periféricas, que conducen a una variabilidad sustancial del fenotipo (*Durr, 2010*). Hasta la fecha se reconocen 36 formas moleculares de SCAs, en 23 de las cuales, se ha identificado el gen y la mutación responsable (*Matilla-Dueñas y col., 2012; Sailer y Houlden, 2012*) (*Anexo 1*).

La causa genética más común de las SCAs es la expansión del número de repeticiones del trinucleótido CAG en regiones codificables de determinados genes, con la consiguiente expresión de un dominio poliglutamínico expandido en las proteínas correspondientes. Esta alteración genética es causante de la SCA1, SCA2, SCA3, SCA6, SCA7, SCA17 y la DRPLA, las que se incluyen en el grupo de enfermedades poliglutamínicas, de conjunto con la enfermedad de Huntington y la Atrofia Muscular Espinobulbar (*Durr, 2010; Cummings y Zoghbi, 2000*).

La expansión de secuencias repetidas en regiones no codificables se ha descrito para las formas moleculares SCA8, SCA10, SCA12, SCA31 y SCA36, mientras que la SCA5,

SCA11, SCA13, SCA14, SCA15/16, SCA18, SCA19/22, SCA20, SCA23, SCA27, SCA28 y SCA35 se producen por mutaciones convencionales, tales como cambios de nucleótidos simples, deleciones, cambios del marco de lectura del ADN y mutaciones sin sentido (Durr, 2010; Matilla-Dueñas, 2012) (Anexo 1).

Se estima que en general, las SCAs tienen una prevalencia mundial de 1-4 casos/100 000 habitantes, aunque puede ser mayor en regiones específicas como resultado de efectos fundacionales de las mutaciones (Durr, 2010). Tal es el caso de la SCA3 en las Islas Azores, Portugal (Sequeiros y Coutinho, 1993; Vale y col., 2010) y la SCA2 en Holguín, Cuba (Velázquez-Pérez y col., 2009a). Estas dos formas moleculares son las más frecuentes a nivel internacional, con una frecuencia estimada del 21% para la SCA3 y del 15% para la SCA2 (Schöls y col., 2004).

### **1.1.1. Ataxia Espinocerebelosa tipo 2.**

La Ataxia Espinocerebelosa tipo 2 (SCA2) es causada por la expansión del trinucleótido CAG en la región codificable del gen SCA2, con la expresión resultante de un dominio poliglutamínico expandido en la proteína ataxina 2 (ATXN2) (Pulst y col., 1996; Imbert y col., 1996, Sanpei y col., 1996).

#### **1.1.1.1 Epidemiología de la SCA2.**

La SCA2 es la segunda forma molecular más frecuente de SCAs a nivel internacional, solo superada por la SCA3 y la tercera enfermedad poliglutamínica más común por detrás de la Enfermedad de Huntington y la propia SCA3 (Durr, 2010). La prevalencia estimada es del 15% entre todas las SCAs y del 33% de las causadas por expansiones poliglutamínicas (Schöls y col., 2004). En Cuba, esta representa la forma de ataxia hereditaria y enfermedad poliglutamínica más común, con casi 600 enfermos y 7200 descendientes en riesgo, lo que

indica una prevalencia por encima de los 6,5 enfermos/100 mil habitantes y de 28,5 casos portadores de la mutación/100 mil habitantes. La prevalencia de la SCA2 se incrementa significativamente hacia la región norte-oriental de la isla, con mayor connotación en Holguín, donde se expresa un efecto fundador de la mutación. En esta provincia se reporta una tasa superior a los 40 enfermos y 182 portadores de la mutación, por cada 100 000 habitantes (*Velázquez-Pérez y col., 2011a*). Además de Cuba, la SCA2 es la ataxia más común en Italia (28%) (*Brusco y col., 2004; Cellini y col., 2001; Filla y col., 1999*), India (16%) (*Sinha y col., 2004; Chakravarty y Mukherjee, 2002*) y México (45%) (*Alonso y col., 2007*).

### **1.1.1.2 Características genóticas de la SCA2.**

El gen *ATXN2* se localiza en el brazo largo del cromosoma 12 (12q 23-24.1) y codifica para la proteína ataxina 2 (*ATXN2*) (*Pulst y col., 1996; Imbert y col., 1996; Sanpei y col., 1996*). En el primer exón del gen aparece una región repetitiva del trinucleótido CAG, interrumpida de uno a tres veces por el trinucleótido CAA (*Sahba y col., 1998; Affaitati y col., 2001*). En la mayoría de los sujetos no portadores de la mutación, el tracto de secuencias repetitivas de CAG/CAA se compone de 22 tripletes ( $[CAG]_8 CAA [CAG]_4 CAA [CAG]_8$ ), aunque puede variar entre 13 y 31 repeticiones (*Velázquez-Pérez y col., 2009a*). Generalmente, los alelos normales se transmiten de forma estable, de una generación a la otra. Sin embargo, los alelos con 27 o más unidades, presentan una mayor probabilidad de expansión intergeneracional, por lo que se conocen como alelos normales largos o alelos intermedios (*Choudhry y col 2001, Laffita-Mesa y col., 2012*).

Por su parte, los alelos con 32 o más repeticiones se asocian con la enfermedad y por tanto se consideran alelos expandidos. En la población cubana, estos alelos varían entre 32 y 79

repeticiones (*Velázquez-Pérez y col., 2009a*), aunque en otras poblaciones se han reportado expansiones significativamente grandes de 200 y hasta 750 repeticiones (*Babovic-Vuksanovic y col., 1998; Mao y col., 2002; Moretti y col., 2004; Paciorkowski y col., 2011*). Los alelos comprendidos en el rango de 32 a 36 repeticiones de CAG presentan penetrancia incompleta (*Geschwind y col., 1997; Santos y col., 1999; Almaguer-Mederos, 2010*) y pueden estar asociados a otras manifestaciones neurológicas en ausencia del síndrome cerebeloso (*Auburger, 2011*).

Tanto los alelos patológicos como los intermedios muestran inestabilidad intergeneracional (*Velázquez-Pérez y col., 2009a; Giunti y col., 1998*) y somática (*Matsuura y col., 1999, Cancel y col., 1997, Laffita-Mesa y col., 2012*).

#### **1.1.1.2.1 Propiedades estructurales y funcionales de la ataxina 2.**

La ataxina 2 es una proteína citoplasmática de 140 KDa, formada por 1312 aminoácidos (*Albrecht y col., 2004*). Esta se encuentra a nivel del complejo de Golgi (*Huynh y col., 2003*), retículo endoplasmático rugoso (*van de Loo y col., 2009*), polirribosomas (*Satterfield y Pallanck, 2006*), la membrana citoplasmática y los gránulos de estrés (*Ralser y col., 2005*).

La proteína posee un patrón de expresión ubicuo, con niveles significativos en el cerebro, los músculos cardíaco y esquelético, riñones, pulmones, páncreas y bazo, entre otros órganos y tejidos (*Nechiporuk y col., 1998*). En el cerebro humano, la ataxina 2 alcanza altos niveles de expresión en el epéndimo y el plexo coroideo, seguido por las neuronas de Purkinje en la corteza cerebelosa.

Otras estructuras nerviosas donde se han observado elevados niveles de ataxina 2 son la sustancia negra, globo pálido, núcleo troclear, neuronas piramidales del hipocampo y el

lóbulo frontal, así como neuronas granulares del giro dentado, núcleos olivares, colículo superior y amígdala (*Huynh y col., 1999*).

Aunque no se conoce de forma precisa el papel funcional de la ataxina 2, numerosas evidencias sugieren que está involucrada en el metabolismo del ARN, específicamente en el procesamiento del ARNm y la regulación traduccional (*Shibata y col., 2000; Albrecht y col., 2004; Ralser y col., 2005; Satterfield y Pallanck., 2006; Nonhoff y col., 2007; van de Loo y col., 2009*). Otros estudios sugieren que la ataxina 2 participa en los procesos de endocitosis y señalización intracelular (*Nonis y col., 2008; Lastres-Becker y col., 2008*), así como en la regulación de la síntesis de filamentos de actina (*Satterfield y col., 2002*) y en la habituación olfatoria a largo plazo (*McCanna y col., 2011*).

### **1.1.1.3 Caracterización fenotípica de la SCA2.**

Las manifestaciones clínicas más frecuentes de la SCA2 se relacionan con el síndrome cerebeloso, presentado en forma de ataxia de la marcha, dismetría, disartria cerebelosa y adiadococinesia (*Orozco y col., 1989; Velázquez-Pérez y col., 2009a*). El examen clínico de la motilidad ocular muestra un enlentecimiento de los movimientos oculares sacádicos horizontales en el 91% de los casos y reducción del rango oculomotor en el 88% (*Velázquez-Pérez y col., 2009a*). En el 49% de los pacientes se puede observar oftalmoplegia nuclear (*Orozco y col., 1989*), el 32% muestra enlentecimiento de los movimientos de persecución lenta (*Jacobi y col., 2011*), mientras que los nistagmos patológicos son raros (*Bürk y col., 1999a*).

Otra de las manifestaciones más comunes de la SCA2 es la neuropatía periférica, la que se expresa como arreflexia o hiporreflexia osteotendinosa (77%) y ausencia de sensibilidad profunda (73%) (*Velázquez-Pérez y col., 2009a*), así como por la reducción de la amplitud

de los potenciales sensitivos de nervios periféricos (60%) y la prolongación de los componentes periféricos y centrales de los potenciales evocados somatosensoriales (68%) (Velázquez-Pérez y col., 2007, 2010).

Por otro lado, el 76% de los casos presentan trastornos de la deglución, mientras que el 62% posee hipotonía muscular. El 58% manifiesta temblor cinético de miembros superiores e inferiores y el 57% reporta contracturas musculares dolorosas (Velázquez-Pérez y col., 2009a). La evaluación del sistema nervioso autónomo muestra alteraciones en el 78% de los pacientes, con mayor prevalencia para la disfunción urinaria, constipación, hipohidrosis y disfunciones sexuales, algunos de los cuales se inician desde estadios presintomáticos (Sánchez-Cruz y col., 2001, Montes-Brown y col., 2010; 2012).

Entre los trastornos del sueño más frecuentemente en la SCA2 aparece el insomnio (76%) (Sánchez-Cruz y col., 2001), reducción de la frecuencia de ensoñaciones (63%), contracturas musculares nocturnas (54%) y síndrome de piernas inquietas (25%) (Velázquez-Pérez y col., 2011b). La evaluación polisomnográfica muestra una reducción del sueño REM en el 69% de los casos, con pérdida de la atonía muscular. Adicionalmente se observa incremento de la tasa de microdespertares y la existencia de movimientos periódicos de las extremidades en el 38% de los casos (Velázquez-Pérez y col., 2011b).

En relación con las funciones cognitivas, se observa disfunción fronto ejecutiva, alteraciones de memoria verbal, la atención y la concentración (Le Pira y col., 2002; Storey y col., 1999). Estos trastornos cognitivos pueden progresar hasta estados de demencia frontal-subcortical en algunos pacientes (Bürk y col., 1999b, Durr y col., 1995). En varios casos, se presentan estados de depresión y ansiedad (Reynaldo-Arminan y col., 2002; Schmitz-Hübsch y col., 2011, Chen y col., 2012).

Los pacientes con SCA2 muestran diversos signos piramidales, con predominio de las fasciculaciones (38,3%), reflejo extensión plantar afectado (31%), amiotrofias distales (22,5%) e hiperreflexia (13,2%) (*Schmitz-Hübisch y col., 2008*). Estas manifestaciones son similares a las presentadas en pacientes con esclerosis lateral amiotrófica (ELA), lo que adquiere una gran importancia, dada la conocida asociación entre los alelos intermedios del gen *ATXN2* y un riesgo incrementado para la ELA (*Elden y col., 2010; Van Damme y col., 2011*).

Entre las manifestaciones extrapiramidales las más frecuentes son las mioclonías en el 13,7%, distonías en el 14,2% y las manifestaciones parkinsonianas en el 14,4% de los casos (*Schmitz-Hübisch y col., 2008*). Usualmente, el fenotipo parkinsoniano asociado a la SCA2 se presenta en portadores de expansiones cortas del trinucleótido CAG, interrumpidas por tripletes CAA (*Charles y col., 2007*). Por último, cerca del 7% de los pacientes realizan movimientos coreicos, con mayor predominio en los casos con expansiones largas (*Schmitz-Hübisch y col., 2008*).

La edad de inicio de la enfermedad es variable, aunque usualmente debuta entre la tercera y cuarta década de la vida. En la población cubana, este parámetro varía entre tres y 79 años de edad con una media de 32 años. Como en otras enfermedades poliglutamínicas, la edad de inicio de los síntomas depende significativamente del número de repeticiones del trinucleótido CAG, de manera que los individuos con mayores expansiones debutan más tempranamente. Esta relación explica el 80% de la variabilidad de la edad de inicio y sugiere la existencia de otros factores genéticos y no genéticos que determinan el restante 20% (*Velázquez-Pérez y col., 2009a*). La edad de inicio de la enfermedad disminuye significativamente de generación en generación, como expresión del fenómeno de

anticipación genética, el que se presenta en el 80% de las transmisiones (*Velázquez-Pérez y col., 2009a*).

El periodo de tiempo comprendido entre el comienzo del síndrome cerebeloso y la incapacidad para caminar es también variable, aunque usualmente está entre cuatro y 10 años. La muerte puede ocurrir hasta 45 años después del inicio de la enfermedad, como resultado de bronconeumonía y broncoaspiraciones, entre otras causas (*Sánchez-Cruz y col., 2012*).

### **1.1.1.4 Caracterización neuropatológica de la SCA2.**

El principal marcador neuropatológico de la SCA2 es una atrofia olivopontocerebelosa temprana, que se acompaña de una degeneración de las vías somatosensoriales, tálamo, sustancia negra y cuernos anteriores de la médula espinal. El examen macroscópico muestra una atrofia significativa del cerebelo, puente, lóbulo frontal, médula oblonga y nervios craneales, así como palidez de la sustancia negra (*Orozco y col., 1989; Estrada y col., 1999*).

En el cerebelo se observa una pérdida importante de las neuronas de Purkinje, con una disminución del árbol dendrítico de las células que sobreviven. En estadios más avanzados de la enfermedad, se produce la disminución de las neuronas de la capa granulosa en la corteza del cerebelo (*Estrada y col., 1999*). El proceso degenerativo se extiende, de forma ligera, al flóculo cerebeloso (*Ying y col., 2005*) y los cuatro núcleos internos cerebelosos (*Scherzed y col., 2011*), aunque estos últimos están más conservados en comparación con otras ataxias causadas por expansiones poliglutamínicas (*Seidel y col., 2012*).

El tallo cerebral, se caracteriza por disminución del volumen y peso, pérdida de fibras pontinas del pedúnculo cerebeloso medio, y una marcada disminución de las neuronas de la

oliva inferior (*Estrada y col., 1999*). Además, se observa reducción de las fibras olivocerebelosas, neuronas pontinas, núcleos pre-cerebelosos del tallo, núcleos relacionados con la ingestión (*Rub y col, 2005a, 2006*) y con los movimientos oculares sacádicos horizontales (*Geiner y col., 2008*).

Otro hallazgo anatomopatológico importante es la degeneración de los núcleos talámicos ventral anterior, ventral lateral, ventral lateral posterior y ventral medial posterior; así como los núcleos dorso-medial, centro-medial, para-central, reticular extraterritorial y el cuerpo geniculado posterior, entre otros (*Rub y col., 2003a, 2005b; 2007*).

En la médula espinal se observa una desmielinización severa de los cordones posteriores y moderada en los haces espinocerebelosos dorsales así como disminución de las motoneuronas del asta anterior y de las columnas de Clarke. Además se presenta una pérdida importante de las neuronas sensitivas a nivel de las columnas dorsales, siendo más pronunciada en los núcleos *graciles* y *cuneates* (*Rub y col., 2003b, 2007*).

### **1.2 Movimientos oculares sacádicos.**

Los movimientos oculares sacádicos son saltos rápidos y balísticos que realizamos con nuestros ojos, para cambiar la atención de un objeto de interés a otro y asegurar que la imagen de este último se proyecte sobre la fovea, para obtener una información visual más precisa de nuestro ambiente (*Ramat y col., 2007*).

Desde el punto de vista conductual, los movimientos oculares sacádicos se clasifican en reflejos y voluntarios. Los primeros son generados externamente, ante la aparición súbita de blancos visuales en la periferia de la retina. Las sácadas voluntarias se generan internamente, como resultado de instrucciones dadas a los individuos, por lo que dependen del procesamiento cognitivo (*Müri y Nyffeler, 2008*). En este último grupo se incluyen las

sácadas a la orden, las antisácadas, las sácadas memorizadas y la sácadas predictivas. Las primeras se realizan en el mismo sentido del estímulo visual como respuesta a una orden, por lo que también se conocen como prosácadas. Por su parte, las antisácadas consisten en movimientos generados en sentido contrario al del estímulo visual, mientras que las sácadas memorizadas implican el movimiento de los ojos hacia una locación donde previamente apareció el estímulo y las predictivas permiten la búsqueda de objetos cuya posición en el campo visual es predecible (*Leigh y Kennard, 2004*).

### **1.2.1 Características generales de los movimientos oculares sacádicos.**

Los movimientos oculares sacádicos alcanzan una velocidad de hasta 800 °/s y tienen una duración promedio entre 30 y 100 ms. La latencia media de las mismas es de 250 ms, aunque algunas pueden tener valores inferiores a 100 ms. Estos movimientos oculares son muy precisos, ya que su amplitud promedio puede representar entre el 90 y el 110% de la amplitud del estímulo. Teniendo en cuenta que estos son movimientos balísticos, no admiten retroalimentación visual, por lo que su precisión o amplitud, depende del monitoreo o retroalimentación interna de las señales neurales y no de la corrección durante el movimiento (*Leigh y Zee, 2006; Ramat y col., 2007*).

Las sácadas muestran relaciones consistentes entre su tamaño, velocidad y duración, fenómeno conocido como secuencia principal. Según este, las sácadas de mayor amplitud muestran los mayores valores de velocidad y a la vez son las de mayor duración. La relación velocidad-amplitud se ajusta a una curva logarítmica, mientras que la relación duración-amplitud muestra un comportamiento más lineal. El análisis de secuencia principal permite definir los rangos de normalidad para los movimientos oculares sacádicos y diferenciarlos de otros movimientos oculares (*Bahill y col., 1975; Leigh y Zee, 2006*).

### **1.2.2 Sistema sacádico.**

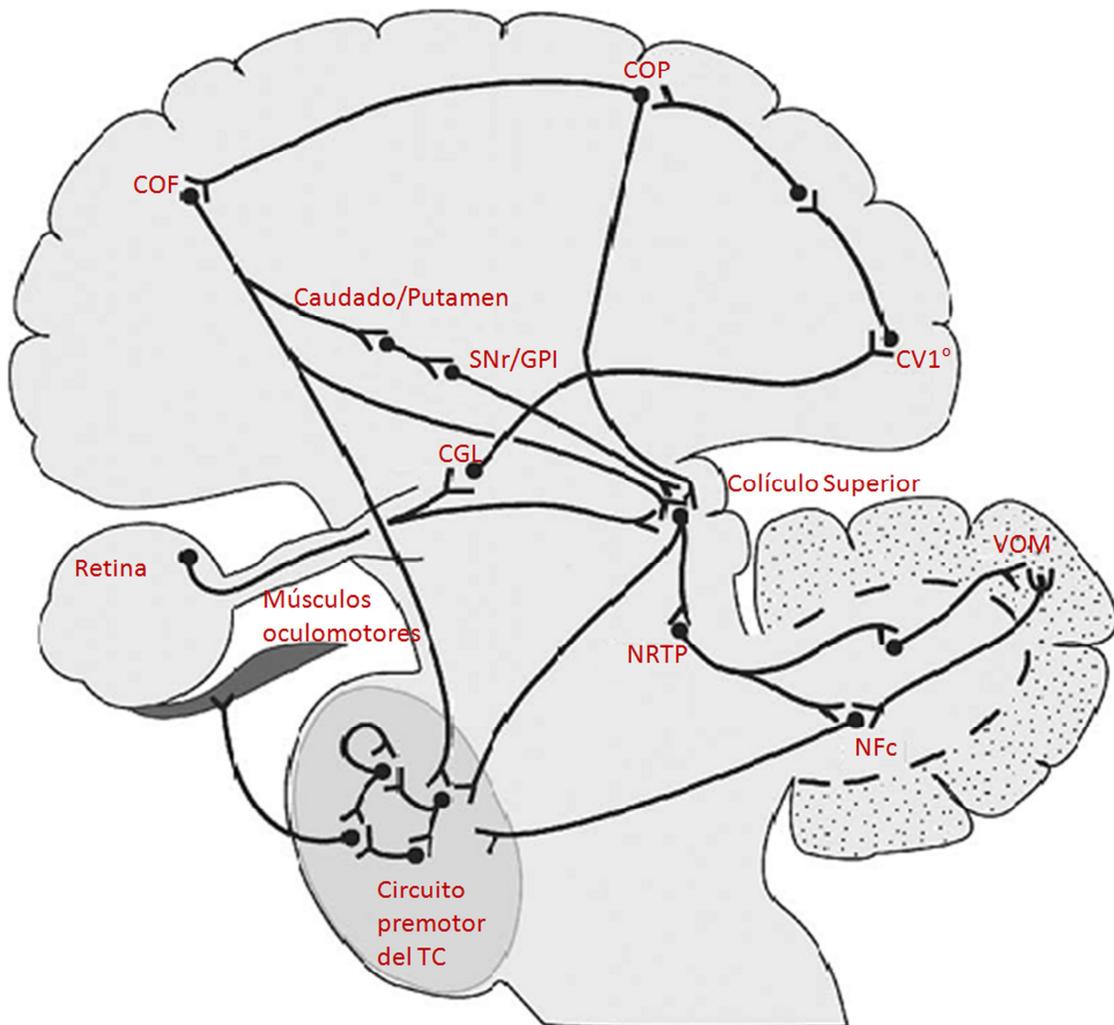
La generación y control de los movimientos oculares sacádicos se realiza por un conjunto de estructuras corticales y subcorticales (*Müri y Nyffeler, 2008*). En la figura 1 se representa un esquema simplificado del sistema sacádico, mientras que el anexo 2 detalla las principales estructuras que lo conforman, sus funciones y los efectos de lesiones.

#### **1.2.2.1 Control cortical de los movimientos oculares sacádicos.**

Se conoce que la información que llega a la corteza visual primaria, desde la retina es procesada y enviada hacia estructuras corticales superiores, ubicadas en los lóbulos frontal y parietal, así como la corteza cingulada (*Leigh y Zee, 2006*). En el lóbulo frontal, las estructuras involucradas en el sistema sacádico son el campo ocular frontal (COF) (Área 8 de Browman), el campo ocular suplementario (COS) y pre-suplementario (COPres), así como la corteza prefrontal dorsolateral (CPDL) (Área 46 de Browman).

De manera general, las estructuras frontales intervienen en la generación y control de los movimientos sacádicos intencionales (*Pierrot-Deseilligny y col., 2004*). El COF participa en la selección de los blancos visuales (*Bosch y col., 2012*), preparación de sácadas voluntarias (*Pierrot-Deseilligny y col., 2003a*) y generación de sácadas correctivas (*Murthy y col., 2007*).

El COS controla la iniciación de los movimientos sacádicos (*Stuphorn y col., 2010*) y en la ejecución de sácadas memorizadas (*Rosenthal y col., 2008*). Además interviene en el establecimiento de un programa motor para el desarrollo de sácadas sucesivas, mientras que el COPres participa en el aprendizaje oculomotor (*Pierrot-Deseilligny y col., 2004*). Por su parte, la CPDL interviene en la inhibición de sácadas reflejas durante los movimientos



**Figura 1.** Esquema simplificado del sistema ocular sacádico. Solo se muestran las estructuras y conexiones más importantes en la generación y control de los movimientos oculares sacádicos horizontales. COF: Campo ocular frontal; COP: Campo ocular parietal; CV1°: Corteza visual primaria; SNr: Sustancia negra reticulada; GPI: Globo pálido interno; CGL: Cuerpo geniculado lateral; NRTP: Núcleo reticulotegmental del puente; VOM: Vermis oculomotor; NFc: Núcleo fastigio caudal; TC: Tallo cerebral. Adaptado de *Hopp y Fuchs, 2004*.

oculares antisacádicos (*Kaufman y col., 2010*) y facilita la ejecución de sácadadas predictivas y memorizadas (*Pierrot-Deseilligny y col., 1991, 2003b, 2004, 2005*).

En el lóbulo parietal, la región relacionada con los movimientos oculares sacádicos se denomina campo ocular parietal (COP), el que se localiza en la mitad posterior del surco intra-parietal (*Grosbras y col., 2003*). Este participa en la activación de sácadadas reflejas y en la actualización de la información viso-espacial después de un movimiento ocular sacádico (*Pierrot-Deseilligny y col., 2004*). Por su parte, la corteza cingulada interviene en la preparación de las áreas frontales y parietales durante procesos atencionales y motivacionales específicos (*Paus y col., 1993; Gaymard y col., 1998*).

Tanto las áreas oculomotoras frontales como las parietales envían proyecciones hacia las capas intermedias del colículo superior. Estas proyecciones pueden ser directas o indirectas, a través de los ganglios basales. Las proyecciones directas provienen fundamentalmente del COP, mientras que las indirectas surgen mayoritariamente en las áreas oculomotoras frontales (*Leigh y Zee, 2006*).

Estudios recientes han demostrado la implicación del lóbulo temporal medial en la generación de los movimientos oculares antisacádicos, como parte del circuito que controla la transformación sensorimotora del objetivo en su imagen especular (*Domagalik y col., 2012*).

### **1.2.2.2 Papel del tallo cerebral en el control y generación de los movimientos oculares sacádicos.**

#### **1.2.2.2.1 Colículo Superior.**

El colículo superior desempeña un rol crucial en la génesis de los movimientos sacádicos.

El mismo está directamente implicado en la desinhibición de los circuitos premotores del

tallo cerebral, codifica la magnitud y dirección del desplazamiento ocular deseado y modula la actividad pre-sacádica en el COF (*Ramat y col., 2007*). Esta estructura es un centro de convergencia de comandos motores sacádicos, procedentes de regiones corticales y subcorticales (*Hanes y Wurtz; 2001*) y proyecta, al menos indirectamente, sobre todas las áreas premotoras del tallo cerebral que están implicadas en la generación de los movimientos oculares sacádicos (*Horn, 2006*). Además, el colículo superior recibe información desde estos centros premotores, como parte de mecanismos de retroalimentación (*Soetedjo y col., 2002*).

El colículo superior se localiza en la superficie dorsal del mesencéfalo, por detrás del Acueducto de Silvio y está conformado por siete capas (*Estrada y Pérez, 1986*), distribuidas en dos zonas, una superficial y otra profunda (*Isa y Hall, 2009*). Las proyecciones retino-coliculares que llegan a las capas superficiales del colículo superior siguen un patrón organizado, en forma de mapa retinotópico. Por su parte, en las capas profundas del colículo superior, se establece un mapa espacio-motor (sacádico), que especifica la dirección y amplitud de cada movimiento ocular sacádico. Este mapa se basa en la existencia de subpoblaciones de neuronas pre-sacádicas, dispuestas topográficamente, que descargan previo a los movimientos de una dirección y alcance específico. Ambos mapas, están estrechamente alineados (*Marino y col., 2008; DuBois y Cohen, 2000*). Según la hipótesis de la foveación, el movimiento ocular se produce mediante la propagación de la excitación desde un sitio diana definido en el mapa retinotópico, hacia las células pre-sacádicas subyacentes, en el mapa sacádico correspondiente. En dependencia de la intensidad y sincronización de la descarga, estas neuronas codifican la dirección y magnitud del movimiento ocular deseado (*Nieuwenhuys y col., 2008*). Estas descargas son

dirigidas a un grupo importante de células, conocidas como neuronas en ráfaga de derivación larga (LLBN, del inglés *long-lead burst neurons*) (Scudder y col., 1996 a,b).

#### **1.2.2.2.2. Neuronas en ráfaga de derivación larga.**

Las neuronas LLBN se localizan en la formación reticular mesencefálica central y en el núcleo reticulotegmental del puente (NRTP, del inglés *Nucleus reticularis tegmenti pontis*) (Scudder y col., 1996a,b). Estas comienzan a descargar aproximadamente 40 ms antes del movimiento y envían eferencias hacia el cerebelo y las neuronas del circuito premotor del tallo cerebral. Además del colículo superior, las neuronas LLBN reciben proyecciones desde el COS y otras áreas corticales oculomotoras, así como del núcleo fastigio cerebeloso.

Se presume que las neuronas LLBN informan al centro premotor del tallo cerebral y al cerebelo sobre la posición del blanco en las coordenadas retinotópicas del colículo superior y en consecuencia participan en la sincronización del inicio y la terminación de las sácadas (Ramat y col., 2007). Las neuronas LLBN conducen la señal desencadenante para la iniciación de los movimientos oculares sacádicos, procedente del colículo superior. Lo anterior, se basa en la liberación del circuito premotor del tallo cerebral, como resultado de la inhibición de un conjunto de neuronas glicinérgicas conocidas como neuronas omnipausas (Horn y col., 1994).

#### **1.2.2.2.3. Neuronas omnipausas .**

Las neuronas omnipausas se localizan en el núcleo interpuesto del Rafe y en la formación reticular pontina paramediana (FRPP). Durante los periodos de fijación, presentan una actividad tónica inhibitoria, mediada por glicina, sobre los centros premotores del tallo cerebral. (Strassman y col., 1987). Sin embargo, como resultado de la inhibición procedente

de las células LLBN, estas dejan de descargar aproximadamente de 20 a 10 ms antes del inicio de las sácadas y reinician su actividad en el periodo entre 10 y cinco ms antes de que estas terminen (*Ramat y col., 2007*).

La lesión del núcleo interpuesto del Rafe en monos, produce sácadas lentas, con conservación de la latencia y la amplitud (*Kaneko, 1996; Soetedjo y col., 2002*). Esto indica que las neuronas OPN no solo participan en la inhibición/desinhibición del circuito premotor sacádico, sino que representan un neuromodulador del sistema sacádico, al incrementar la sensibilidad de las neuronas premotoras excitatorias. Se conoce que las proyecciones glicinérgicas tónicas sobre las neuronas premotoras excitatorias y su cese abrupto previo al movimiento ocular, producen un PMR hiperpolarizado, seguido de una repolarización transiente, que activa corrientes de calcio de bajo umbral. Estas corrientes iónicas son importantes para la actividad de las neuronas excitatorias. Además, la glicina que se acumula durante la actividad pre-sacádica de las OPN, ejerce un papel modulador positivo sobre los receptores NMDA, debido a su carácter co-agonista del glutamato (*Miura y Optican 2006; Optican, 2008*).

El circuito premotor del tallo cerebral presenta una dicotomía funcional parcial en relación al plano espacial en que se desarrolla una sácada. Se conoce que los circuitos establecidos a nivel del puente se relacionan con las sácadas horizontales y los del mesencéfalo con las sácadas verticales y torsionales. Estos circuitos están integrados por las neuronas en ráfagas excitatorias (EBN, del inglés, excitatory burst neurons) y las neuronas en ráfagas inhibitorias (IBN, del inglés inhibitory burst neurons) (*Leigh y Zee, 2006*).

#### 1.2.2.2.4 Neuronas en ráfaga excitatorias e inhibitorias.

Las EBN son neuronas glutamatérgica que comienzan a descargar aproximadamente de 10 a 15 ms antes de las sácadasy su tasa de descarga es proporcional a la velocidad ocular y la amplitud del movimiento. Las que participan en la generación de las sácadasy horizontales, se localizan en el núcleo caudal de la formación reticular pontina paramediana (FRPP), mientras que las EBN verticales y torsionales aparecen en el núcleo rostral intersticial del fascículo longitudinal medio (NriFLM) (*Ramat y col., 2007*).

Las IBN poseen un patrón de descarga similar que las excitatorias (*Strassman y col., 1986a,b*). Las del circuito horizontal son neuronas glicinérgicas localizadas en la formación reticular medial del puente (*McElligott y Spencer, 2000*), mientras que las IBN verticales son gabaérgicas (*Spencer y Wang, 1996*) y aparecen en el núcleo intersticial de Cajal y en el NriFLM (*Horn y Buttner-Ennever, 1998*).

Tanto las EBN como las IBN reciben proyecciones excitatorias procedentes de las neuronas LLBN ipsilaterales y del núcleo fastigio contralateral, así como eferencias inhibitorias desde las neuronas omnipausas. A su vez, ambos tipos neuronales establecen conexiones entre sí, de manera que las IBN son excitadas por las EBN contralaterales, y a su vez, estas últimas pueden ser inhibidas por las IBN del lado contrario (*Horn, 2006, Ramat y col., 2007*) (Figura 2).

Las EBN horizontales se proyectan monosinápticamente sobre las motoneuronas del núcleo abductor ipsilateral (VI par), las inter-neuronas del núcleo oculomotor contralateral (III par) y las IBN ipsilaterales. La excitación del VI y III par permite la contracción simultánea de los músculos recto lateral ipsilateral y recto medial contralateral, lo que provoca un movimiento ocular rápido en sentido ipsilateral, mientras que activación de las IBN

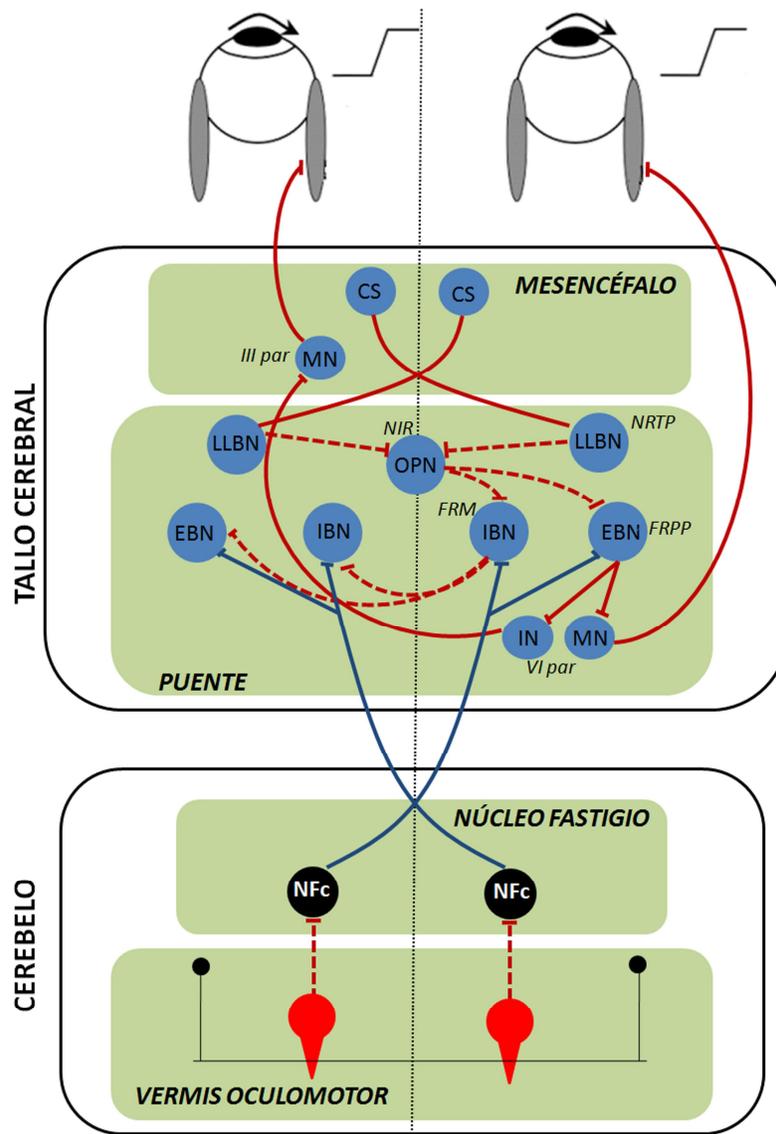


Figura 2. Circuito premotor del tallo cerebral y su relación con el cerebelo. Se presenta un esquema simplificado para movimientos sacádicos horizontales hacia la derecha. CS: colículo superior, MN: motoneuronas; LLBN: neuronas en ráfagas de derivación larga; NIR: núcleo interpuesto del Rafe; OPN: neuronas omnipausas; FRM: formación reticular medial; IBN: neuronas en ráfagas inhibitorias; EBN: neuronas en ráfagas excitatorias; FRPP: formación reticular pontina paramediana; IN: interneuronas; NFc: Núcleo fastigio caudal. Las conexiones excitatorias se representan con líneas continuas, y las inhibitorias con líneas discontinuas.

ipsilaterales asegura la inhibición de este mismo circuito en el lado contralateral, asegurando que no se produzcan sácadadas en sentido contrario.

Por su parte, las EBN verticales proyectan hacia las motoneuronas de los núcleos oculomotor y troclear, garantizando la contracción de los músculos rectos inferior y superior, así como los oblicuos inferior y superior (*Ramat y col., 2007*).

Además de excitar las motoneuronas e interneuronas oculomotoras, las EBN envían un patrón de inervación tónico hacia un grupo de neuronas que conforman el sitio de integración sacádica. Este patrón posibilita el mantenimiento de la mirada en posición ocular excéntrica e implica a los núcleos *prepósito hipoglossi* (NPH) y vestibular medial (NVM) para los movimientos oculares horizontales y el núcleo intersticial de Cajal para el circuito vertical (*Ramat y col., 2007*).

### **1.2.2.3 Control cerebeloso de los movimientos oculares sacádicos.**

En el cerebelo, las regiones relacionadas con los movimientos oculares sacádicos incluyen al vermis oculomotor (lóbulos VI y VII del vermis dorsal) y la región caudal del núcleo fastigio. Estas estructuras establecen un circuito con el colículo superior y el tallo cerebral, que permite la corrección de la amplitud sacádica y garantiza su rápida adaptación (*Voogd y col., 2010, Prsa y Thier, 2011*).

El 71% de las neuronas de Purkinje en el vermis oculomotor están relacionadas con los movimientos oculares sacádicos. Estos axones terminan densamente sobre la región caudal del núcleo fastigio ipsilateral, en cuyas neuronas puede expresarse el efecto inhibitorio propio del GABA o un efecto de activación mediado por despolarización de rebote (*Robinson y Fuch, 2001; Prsa y Thier, 2011*).

En el caso de las sácadas dirigidas ipsilateralmente, las neuronas de Purkinje comienzan a descargar antes del inicio del movimiento ocular y dejan de hacerlo abruptamente durante la segunda mitad de la sácada. La caída súbita de la actividad inhibitoria de las neuronas de Purkinje, sobre el núcleo fastigio, provoca una despolarización de rebote, mediada por canales de calcio sensibles a hiperpolarización (Aizenman y Linden, 1999; Czubyko y col., 2001). Esta actividad en las neuronas nucleares, es la responsable de su descarga tardía durante sácadas ipsilaterales, lo que se relaciona con la desaceleración de las mismas y por tanto la terminación del movimiento ocular. En el caso de las sácadas contralaterales, el pico de descarga de las neuronas de Purkinje aparece durante la segunda mitad del movimiento ocular, lo que produce un patrón de descarga temprano en el núcleo fastigio, relacionado con la aceleración de las sácadas contralaterales y por tanto permite que estas alcancen el objetivo (Prsa y Thier, 2011; Robinson y Fuch 2001).

El vermis oculomotor recibe aferencias de fibras musgosas procedentes del NRTP y de fibras trepadoras originadas en el núcleo accesorio medial de la oliva inferior. Las primeras conducen los comandos motores generados en el colículo superior y las segundas envían información sobre el error motor a corregir, por lo que están relacionadas con el aprendizaje oculomotor. Las neuronas del núcleo fastigio caudal, además de recibir aferencias desde el vermis oculomotor, reciben proyecciones directas desde el COF y el NRTP y envían eferencias hacia el circuito premotor contralateral (EBN, IBN) del tallo cerebral, el colículo superior y otras estructuras (Prsa y Thier, 2011; Robinson y Fuch 2001).

#### **1.2.2.4 Papel de los ganglios basales en la regulación de los movimientos**

##### **oculares sacádicos.**

En los ganglios basales, la actividad relacionada con los movimientos oculares sacádicos depende de los núcleos caudado y putamen, así como su inervación, directa o indirecta, sobre la sustancia negra reticulada (SNr) y el globo pálido interno (GPi). Estudios recientes sugieren que la actividad del núcleo caudado se relaciona con la determinación del lugar hacia donde realizar el movimiento ocular y la del putamen con el momento de su iniciación (*Watanabe y Munoz, 2011*). La activación de la vía directa forma un haz de doble inhibición núcleo caudado/putamen-SNr/GPi-colículo superior, que provoca la desinhibición de este último y por ende, facilita la iniciación de las sácadas por el mecanismo antes explicado.

La vía indirecta produce la inhibición del globo pálido externo, con la consiguiente desinhibición del núcleo subtalámico, la activación de la SNr y la supresión del colículo superior, previniendo el desarrollo de intrusiones sacádicas durante la fijación ocular (*Shires y col., 2010; Hikosaka y col., 2000*).

#### **1.2.2.5 Papel del tálamo en el control de los movimientos oculares sacádicos.**

Las regiones talámicas relacionadas con los movimientos oculares sacádicos incluyen a los núcleos intralaminares anteriores, como el centro-lateral y paracentral, así como las porciones para-laminares de los núcleos ventral-lateral, ventral-anterior y dorso-medial. En conjunto, estas estructuras conforman el tálamo oculomotor, el que establece conexiones aferentes con el COF y el COP y a su vez recibe señales procedentes de los ganglios basales, el cerebelo y el tallo cerebral (*Tanaka y Konimatsu, 2011*). Diversos estudios sugieren que el tálamo constituye un controlador central que participa en la monitorización

de los movimientos oculares sacádicos, mediante la transmisión de una copia eferente o descarga corolaria hacia regiones corticales.

Esta actividad permite modificar los comandos sacádicos centrales, como parte de una retroalimentación interna, así como actualizar la memoria espacial de los estímulos visuales (*Ostendorf y col., 2012*). Otras evidencias demuestran el papel del tálamo oculomotor en la preparación y generación de sácadas voluntarias, fundamentalmente las memorizadas y antisácadas (*Tanaka y Konimatsu, 2011, Alexander y col., 1986*).

### **1.2.3 Alteraciones de los movimientos oculares sacádicos.**

Las alteraciones de los movimientos oculares sacádicos obedecen a diversas causas, como las lesiones estáticas o degenerativas del sistema oculomotor, efecto tóxico de algunos medicamentos y envejecimiento (*Thurtell y col., 2007; Karatas, 2009*).

Entre las alteraciones más frecuentes aparece la disminución de la velocidad sacádica. La causa de esta alteración es muy variada e incluye lesiones periféricas y centrales. Las primeras pueden producirse a nivel de los músculos oculomotores, la unión neuromuscular y las motoneuronas oculomotoras, mientras que las segundas están relacionadas con lesiones en los núcleos y fascículos oculomotores, las vías internucleares, así como estructuras y vías supranucleares (*Strupp y col., 2011; Thurtell y col., 2007*).

Las alteraciones de la precisión de los movimientos sacádicos se conocen genéricamente como disimetrías sacádicas. Cuando las sácadas no alcanzan la amplitud deseada, se clasifican como hipométricas y cuando superan la posición ocular deseada son hipermétricas (*Botzel y col., 1993*). Generalmente, estas alteraciones resultan de lesiones cerebelosas, aunque también pueden producirse por daños en otras estructuras nerviosas (*Thurtell y col., 2007*). Se conoce que las lesiones bilaterales en el vermis oculomotor

producen sácadadas con 20%-30% de hipometría (Barash y col., 1999), mientras que la decorticación farmacológica unilateral de esta estructura produce además sácadadas hipermétricas en la dirección contralateral (Sato y Noda, 1992).

Por su parte, la inactivación química unilateral del núcleo fastigio caudal está relacionada con el desarrollo de sácadadas ipsilaterales hipermétricas y sácadadas contralaterales hipométricas, lo que también trae asociado el enlentecimiento de estos movimientos. La inactivación bilateral de esta estructura produce hipermetría sacádica en ambas direcciones (Robinson y col., 1993).

El incremento de la latencia sacádica o retardo en la iniciación de estos movimientos depende de factores experimentales y fisiológicos, así como lesiones de la vía visual y de las estructuras corticales y subcorticales del sistema sacádico (Thurtell y col., 2007). Entre los factores experimentales aparecen el tamaño y la luminosidad del estímulo, entre otros. Los factores fisiológicos incluyen la edad, estado de conciencia y nivel de atención visual, etc (Darrien y col., 2001). Además, la prolongación de la latencia sacádica puede obedecer a lesiones estáticas y/o degenerativas de las estructuras parietales y frontales relacionadas con el sistema sacádico, los ganglios basales y el colículo superior (Thurtell y col., 2007).

Otra de las alteraciones sacádicas conocidas es la terminación prematura del movimiento ocular. Esta se produce por la afectación del circuito que inhibe a las neuronas omnipausas (Rucker y col, 2004). Por último, se incluye un grupo de alteraciones sacádicas conocidas por intrusiones sacádicas y oscilaciones. Estas consisten en movimientos oculares involuntarios que interrumpen la fijación ocular. Entre estas aparecen las sacudidas de ondas cuadradas (en inglés square-wave jerks), las macro-sacudidas de ondas cuadradas (en

inglés macro-square-wave jerks) y los opsoclonos (*Sharpe y col., 1984; Thurtell y col., 2007*).

### **1.2.3.1 Alteraciones sacádicas en enfermedades poliglutamínicas.**

Las alteraciones de los movimientos oculares sacádicos están entre las manifestaciones oculomotoras más comunes de los pacientes con enfermedades poliglutamínicas, como resultado de la marcada vulnerabilidad del sistema sacádico a las expansiones poliglutamínicas, tanto en sus porciones periféricas como las centrales (*Pula y col., 2010*).

En estos pacientes, la principal alteración es la disimetría sacádica, la que es muy común en el subgrupo de SCAs. El patrón de disimetría sacádica en pacientes con SCAs es heterogéneo, aun dentro de un mismo subtipo. En los casos de la SCA1, SCA3 y SCA6, el mismo es predominantemente hipermétrico, aunque algunos casos pueden desarrollar sácadas hipométricas hacia estadios más avanzados de la enfermedad (*Buttner y col., 1998; Bürk y col., 1999a*). Los pacientes con SCA17 muestran sácadas hipométricas, asociadas a desaceleraciones transcientes de estos movimientos (*Hubner y col., 2007*).

Otra de las manifestaciones oculomotoras más frecuentes en pacientes con enfermedades poliglutamínicas es la reducción de la velocidad sacádica. Dicho enlentecimiento es muy severo en los casos con SCA2, seguido por la SCA7 y SCA1, mientras que en los pacientes con SCA3 y SCA6, la alteración es menos consistente (*Buttner y col., 1998*). La disminución de la velocidad de los movimientos sacádicos aparece en el 60% de los pacientes con la enfermedad de Huntington (*Roig, 2001*).

La prolongación anormal de la latencia sacádica representa la principal alteración sacádica en pacientes con la enfermedad de Huntington, en correspondencia con la marcada degeneración de la corteza frontal y los ganglios basales (*Patel y col., 2012; Peltsch y col.,*

2008). Entre las SCAs, esta alteración ha sido reportada en algunos subtipos, tales como SCA1, SCA2 y SCA7 y SCA17 (*Buttner y col., 1998; Hubner y col., 2007*).

En el caso de la SCA2, la mayoría de las evidencias sobre las alteraciones sacádicas provienen de estudios con pocos pacientes y nunca se han evaluado en portadores de la mutación, lo que ha limitado el conocimiento de los principales determinantes y de la base fisiopatológica de las alteraciones. Por otro lado, existe una insuficiente caracterización longitudinal de las mismas, así como de las alteraciones antisacádicas (*Buttner y col., 1998; Bürk y col., 1999a*). Esto ha limitado la utilidad de las alteraciones sacádicas como biomarcadores de la SCA2, lo que entorpece el progreso de investigaciones terapéuticas en esta entidad.

### **1.2.4 Control de los movimientos oculares rápidos (sacádicos) durante la fase de sueño REM.**

La presencia de movimientos oculares rápidos (MORs) es un rasgo distintivo de la fase de sueño REM, la que recibe su nombre debido a esta característica fisiológica (*Siegel, 2011*). Estos movimientos se presentan entre el 14 y el 27% de periodo total de sueño REM, con una frecuencia de cinco a 35 eventos por minuto (*Aserinsky, 1971*). Estos movimientos parecen estar relacionados con el escaneo de las imágenes durante las ensoñaciones (*Leclair-Visonneau y col., 2010*).

Los MOR durante la fase REM muestran características tónicas y fásicas (*Sanchez-López y Escudero, 2011*). El comportamiento tónico consiste en la rotación convergente de los ojos hacia abajo y en dirección nasal, durante todo el periodo de sueño REM. En el plano horizontal, estos movimientos pueden explicarse por la inactivación tónica del músculo recto lateral y/o activación del recto medial, mientras que en el plano vertical los

movimientos obedecen a la activación del recto inferior y/o la inactivación del recto superior (*Escudero y Márquez-Ruiz, 2008; Márquez-Ruiz J y Escudero M, 2008*).

El comportamiento fásico se caracteriza por la ejecución de movimientos rápidos, asimétricos, disconjugados y estereotipados (*Sanchez-López y Escudero, 2011; Escudero y Márquez-Ruiz, 2008*). El 30% de estos aparece de forma aislada, mientras que el 70% lo hace en forma de salvas o ráfagas (*Takahashi, 1999*).

En comparación con la vigilia, las sácadas en fase REM son más lentas, aunque la relación velocidad-amplitud en las mismas posee una mayor pendiente, lo que sugiere diferencias en el control de las propiedades dinámicas de estos movimientos en ambos estados (*Sanchez-López y Escudero, 2011; Escudero y Márquez-Ruiz, 2008*).

El circuito neural relacionado con los MORs en fase REM no es bien conocido. Se propone que las neuronas excitatorias localizadas en la formación reticular periabductora proyectan sus eferencias al núcleo abductor y desde este se extienden las motoneuronas que inervan a los músculos oculomotores (*Datta y MacLean, 2007*). Estudios imagenológicos previos demostraron la activación de regiones específicas durante estos movimientos, tales como la corteza visual primaria, el cuerpo geniculado lateral derecho, el núcleo reticular del tálamo, el giro fusiforme y la corteza cingulada anterior (CCA) (*Hong y col., 2009*).

Entre las enfermedades poliglutamínicas, los MORs en sueño REM solo han sido evaluados en la enfermedad de Huntington (*Arnuf y col., 2008*) y la SCA2 (*Tuin y col., 2006*), en ambos casos con reducción significativa de su densidad. Sin embargo, en el caso de la SCA2, el estudio solo incluyó ocho pacientes y no profundizó en los determinantes de esta alteración.

## CAPÍTULO II. PACIENTES Y MÉTODOS

### 2.1 Diseño metodológico.

Se realizó un estudio observacional analítico en dos etapas. En la primera se llevó a cabo una evaluación transversal de las alteraciones sacádicas y antisacádicas en pacientes y portadores de la mutación, así como de las alteraciones de los MORs durante el sueño REM. La segunda etapa consistió en un estudio longitudinal prospectivo de las alteraciones sacádicas en los enfermos. La investigación se realizó en el Centro para la Investigación y Rehabilitación de las Ataxias Hereditarias (CIRAH), durante el periodo 2008-2012.

### 2.2 Sujetos estudiados.

#### 2.2.1 Universo de estudio.

El universo de estudio lo conformaron los 440 enfermos con SCA2, en estadio ligero-moderado y los 223 portadores de la mutación, que vivían en Cuba, al inicio de la investigación. La información clínica y genealógica se obtuvo a partir de un pesquaje neuroepidemiológico nacional de ataxias y del Programa Nacional para el Diagnóstico Predictivo de la SCA2 (*Velázquez-Pérez y col., 2009a, Sánchez-Cruz, 2012*).

#### 2.2.2 Muestra de estudio.

##### 2.2.2.1 Sujetos evaluados en el estudio transversal

A partir de un método de muestreo aleatorio simple, se incluyeron 110 enfermos y 54 portadores de la mutación, con sus respectivos grupos controles.

### 2.2.2.1.1 Sujetos enfermos

Se consideraron enfermos a todos los individuos que presentaban trastornos de la marcha, la coordinación, el equilibrio y/o el habla y portaban la mutación SCA2. Los 110 enfermos pertenecieron a 46 familias. Setenta de estos fueron del género masculino (63,64%) y 40 del femenino (36,36%). La edad promedio fue de 43,4 años (desviación estándar [DE]:11,82), con un rango comprendido entre 18 y 80 años. La edad de inicio varió entre 10 y 68 años, con una media de 31,71 (DE: 10,77); mientras que la duración de la enfermedad varió entre uno y 25 años, con un promedio de 11,80 (DE: 5,56).

Ciento ocho pacientes fueron heterocigóticos para el gen *ATXN2* (98,18%) y solo dos fueron homocigóticos (1,82%). El número de repeticiones del trinucleótido CAG en los alelos no expandidos (CAG<32 unidades) osciló entre 19 y 29 con una media de 22,32 (DE: 1,32) y una moda de 22 repeticiones (77,78%). En los alelos expandidos (CAG≥32unidades), el número de repeticiones varió entre 32 y 50 unidades, con un promedio de 39,74 (DE: 3,02) y una moda de 39 repeticiones (20,00%).

### 2.2.2.1.2 Sujetos portadores de la mutación

Se consideraron portadores de la mutación a aquellos individuos con 32 o más repeticiones del trinucleótido CAG en al menos uno de los dos alelos del gen *ATXN2*, pero que no presentaban ataxia de la marcha, trastornos de la coordinación, del equilibrio y/o del habla. De los 54 portadores de la mutación seleccionados, 20 fueron de género masculino (37,04%) y 34 del femenino (62,96%). La edad de estos individuos estuvo comprendida entre 18 y 61 años con una media de 35,50 (DE: 10,61). Todos fueron heterocigóticos para el gen *ATXN2*. El tamaño promedio de los alelos *ATXN2* no expandidos fue de 22,46 unidades (DE: 1,21) con un rango entre 22 y 27 unidades y una moda de 22 repeticiones

(43%). Por su parte, el número de repeticiones del trinucleótido CAG en los alelos expandidos varió entre 32 y 42 unidades, con una media de 36,57 (DE: 2,60). En este grupo, los alelos de 34 y 36 repeticiones fueron los más comunes, con una frecuencia de 16,67%. La edad de inicio estimada a partir de un modelo de regresión que se basa en el número de repeticiones de CAG (*Pulst y col., 2005*), fue de 43,15 años (DE: 9,98), con un rango entre 26 y 64 años, mientras que el tiempo previo a la manifestación de la enfermedad (TME) se estimó entre -20 y 35 años, con una media de 7,66 (DE: 10,62). El grupo de portadores de la mutación fue dividido en cuatro subgrupos según el valor de TME. El primero de estos, conocido por **grupo discordante** incluyó a los 11 individuos (20,37%) que no cumplieron con el modelo de regresión, pues según este, tales individuos ya debían haber enfermado y por tanto, el valor del TME es negativo. El segundo grupo, clasificado como **grupo de debut cercano**, correspondió a los sujetos con seis o menos de años previos al debut de la enfermedad (N=12; 22,22%), mientras que los portadores de la mutación con TME comprendido entre siete y 13 se asignaron al **grupo de debut medio** (N=15; 27,78%). Por último, aquellos sujetos con TME igual a 14 o más años clasificaron en el **grupo de debut lejano** (N=16, 29,63%).

#### 2.2.2.1.3 Controles

Se utilizaron dos grupos de sujetos controles pareados por género y edad con el grupo de enfermos y portadores de la mutación, respectivamente. Todos fueron evaluados por un neurólogo para excluir aquellos que presentaban afecciones neurológicas y otras enfermedades sistémicas o hábitos tóxicos (Diabetes Mellitus, HTA, ingestión de psicofármacos o alcohol, etc) que afectaran secundariamente al sistema nervioso y específicamente la función oculomotora.

Un primer grupo de sujetos controles sirvió para establecer comparaciones con el grupo de sujetos enfermos. Este se conformó con 110 sujetos sanos que no pertenecían a ninguna familia afectada por la SCA2. La edad promedio de este grupo fue de 41,67 años (DE: 11,11), con un rango comprendido entre 15 y 79 años.

El otro grupo de sujetos controles se conformó para establecer comparaciones de las variables sacádicas con los portadores de la mutación. Este contó con 54 descendientes directos de pacientes con SCA2 que no portaban la mutación causante de la enfermedad. La edad media de este grupo varió entre 18 y 63 años con una media de 36,43 años (DE: 11,20). El número de repeticiones de la secuencia repetitiva del trinucleótido CAG osciló entre 20 y 23 unidades en un alelo (media: 22,05; DE: 0,42) y entre 20 y 31 en el otro alelo normal (media: 22,79; DE: 2,09).

#### **2.2.2.2 Sujetos evaluados en el estudio longitudinal**

A partir de los 110 enfermos evaluados inicialmente, se seleccionaron 40 pacientes de manera aleatoria (31 masculinos y nueve femeninos) y sus respectivos controles, los que fueron estudiados con una frecuencia anual durante un periodo de dos años. En el anexo 3 se muestran las características demográficas, clínicas y moleculares de los sujetos incluidos en cada momento del estudio.

### **2.3 Técnicas y procedimientos de los estudios realizados**

#### **2.3.1 Evaluación clínica.**

##### **2.3.1.1. Examen clínico neurológico.**

Cada individuo fue interrogado en busca de síntomas o signos neurológicos y seguidamente se realizó el examen neurológico completo (*Denny, 1960*). Para realizar el diagnóstico clínico positivo de la SCA2 se consideró la presencia del síndrome cerebeloso (ataxia de la

marcha, disartria, dismetría, adiadococinesia) asociado o no a movimientos oculares sacádicos lentos, trastornos de los reflejos osteotendinosos y otras alteraciones neurológicas somáticas. Además se tomaron en cuenta los antecedentes familiares y la información genealógica disponible, según los cuales, los sujetos afectados deben pertenecer a alguna familia con confirmación molecular de la mutación SCA2 (Velázquez-Pérez, 2012a). La evaluación cuantitativa de la severidad del síndrome cerebeloso se realizó a través de la Escala para la Estimación y Cuantificación de la Ataxia (SARA, del inglés Scale for the Assessment and Rating of Ataxias) (Schmitz-Hübisch y col., 2006) (Anexo 4).

### **2.3.1.2. Examen de las funciones cognitivas.**

#### **2.3.1.2.1. Evaluación de funciones frontoexecutivas.**

**Prueba de interferencia de Stroop.** La prueba consta de tres fases o tareas. En la primera se le pidió a cada sujeto leer en voz alta y lo más rápidamente posible una lista de nombres de colores impresos en tinta negra. En la segunda fase el sujeto debió nombrar el color en que están impresos una serie de estímulos sin valor lingüístico. La tercera fase (tarea de interferencia) consistió en las palabras de la primera lámina impresas en los colores de la segunda, de forma que en ningún caso coincide el color de la tinta con el significado de la palabra. En este caso, se le pidió a cada sujeto que nombrara el color de la tinta, omitiendo la palabra impresa. Se analizó el tiempo corregido de la tarea de interferencia, para lo cual se restó la duración de la fase inicial del tiempo absoluto en que realizó la tarea de conflicto (Spreen y Strauss, 1991).

**Prueba de clasificación de cartas de Wisconsin (PCCW).** Consiste en la clasificación de cartas utilizando tres criterios inicialmente desconocidos (forma, color y número). Después de cada respuesta los sujetos recibieron retroalimentación auditiva para indicarle si su

respuesta fue correcta o incorrecta, a modo de aprendizaje para la próxima decisión. La prueba constó de seis categorías (dos para cada criterio), para cumplimentar una categoría los sujetos debían dar seis respuestas correctas consecutivas. Cuando los sujetos cometieron un error siguiendo el mismo criterio de clasificación, previamente catalogado como erróneo, este se consideró como error perseverativo. Se cuantificó el número de categorías alcanzadas, así como los errores totales y perseverativos (*Heaton, 1981*).

**Prueba de fluencia verbal fonológica.** Se le ordenó al paciente que mencione palabras dentro de su vocabulario que comiencen por F, A y S, en un lapso de un minuto para cada letra. No se consideraron nombres propios, ni palabras derivadas. Se cuantificaron las respuestas correctas (*Spreen y Benton, 1969*).

#### **2.3.1.2.2 Evaluación de la memoria.**

**Prueba de memoria verbal.** Se realizó siguiendo una versión modificada del examen propuesto por *Channon y col., 1989*. A cada paciente se le presentó una lista de 10 palabras de uso común, no categorizadas y se les pidió recordar la mayoría posible de palabras de manera inmediata. Este ensayo se repitió hasta que los sujetos pudieron recordar toda la lista de palabras, hasta un máximo de 10 ensayos. Veinte minutos después del último ensayo de memoria inmediata, se realizó un ensayo de memoria diferida o evocada. Se cuantificó el número de palabras en el primer ensayo de memoria inmediata, el número de ensayos necesarios para recordar todas las palabras y el número de palabras recordadas a los 20 minutos.

#### **2.3.2 Evaluación electronistagmográfica de los movimientos oculares sacádicos.**

Para el estudio de los movimientos oculares sacádicos se utilizó un electronistagmógrafo de fabricación alemana (*Otoscreen AC; Jaeger-Toennies, Alemania; 2000*). El registro de los

movimientos en el plano horizontal, se realizó binocularmente, con electrodos de plata clorurados, colocados en el canto externo de ambos ojos. Para el registro de los movimientos verticales, se colocó un electrodo por encima del reborde orbital superior derecho y el otro por debajo del mismo (Anexo 5). Se empleó una banda de filtraje entre 0,02 a 70 Hz, una sensibilidad de  $200\mu\text{V/división}$ , tiempo de análisis de 1000 milisegundos, una constante de tiempo de ocho segundos y una frecuencia de muestreo de 200 Hz.

Los movimientos oculares sacádicos se evocaron con un estímulo de forma circular, de color blanco, sobre un fondo negro. Se le solicitó al paciente que moviera sus ojos, lo más rápido posible, en el mismo sentido que el estímulo, sin mover la cabeza. Para evitar estos movimientos y controlar la distancia entre el paciente y el monitor, se fijó la cabeza y la barbilla con un soporte adecuado. Se registraron 10 sácadas horizontales centrífugas para estímulos de  $10^\circ$ ,  $30^\circ$  y  $60^\circ$  de amplitud. Se realizaron calibraciones a  $30^\circ$ , antes y después de cada registro. Para cuantificar las variables sacádicas se realizó un análisis automático de las señales electronistagmográficas, seguido de una corrección manual de la posición de los cursores de inicio y terminación de cada sácada. Una vez realizada esta corrección, se obtuvieron los valores de velocidad, latencia y desviación sacádica para cada estímulo.

### **2.3.3 Evaluación electronistagmográfica de los movimientos oculares antisacádicos.**

Los movimientos oculares antisacádicos se registraron con las mismas especificaciones técnicas que los sacádicos, exceptuado que para esta tarea se le solicitó a los sujetos que movieran sus ojos en sentido contrario al movimiento del estímulo. Se aplicaron dos ensayos con 22 desplazamientos del estímulo cada uno. El primero sirvió como adaptación a la prueba, y el segundo para el análisis. Se cuantificaron los movimientos antisacádicos incorrectos, los que fueron clasificados como sigue:

- i) *Errores antisacádicos de dirección (EAD)*: cuando los sujetos realizaron, o al menos iniciaron, un movimiento ocular sacádico en el mismo sentido del estímulo. Si los sujetos detienen el movimiento pro-sacádico inicial y reinician un movimiento en sentido contrario, se clasificó como un *error antisacádico corregido (EADc)*. Si lo anterior no acontece se clasificó como *error antisacádico no corregido (EADnc)*.
- ii) *Errores antisacádicos por omisión (EAO)*: cuando los sujetos no iniciaron ningún movimiento ocular, ni a favor, ni en contra del estímulo presentado.

Se obtuvieron las tasas de errores antisacádicos de dirección (EAD), por omisión (EAO) y totales (EAT). La primera consiste en el porcentaje que representan los EAD, entre las respuestas oculomotoras realizadas por el individuo, la que se obtuvo mediante la siguiente

$$\text{fórmula: } Tasa\ EAD = \frac{EAD \times 100}{22 - EAO}$$

Por su parte, la tasa de EAO consiste en el porcentaje de estímulos antisacádicos para los

$$\text{cuales no hubo respuesta oculomotoras: } Tasa\ EAO = \frac{EAO \times 100}{22}$$

Mientras que, la tasa de EAT consiste en el porcentaje que representa la sumatoria de EAD

$$\text{y EAO, entre la totalidad de estímulos antisacádicos: } Tasa\ EAT = \frac{(EAD + EAO) \times 100}{22}$$

Además, se obtuvo el porcentaje de errores de dirección corregidos, siguiendo la siguiente

$$\text{fórmula: } \%EADc = \frac{EADc \times 100}{EAD}$$

### 2.3.4 Estudios polisomnográficos

A cada individuo se le realizaron dos video-polisomnogramas (uno de adaptación y otro de análisis) de noche completa, en un polisomnógrafo *BRAINLAB* (Alemania, 2000). Las señales electroencefalográficas se registraron mediante la colocación de electrodos en F3, F4, C3, C4, O1 y O2, referenciados todos con electrodos en ambas mastoides. El análisis electronistagmográfico se realizó colocando electrodos en el canto exterior de los ojos para

el registro de los movimientos horizontales y por encima y debajo del reborde orbital superior derecho, para los movimientos oculares verticales. Además se realizó una exploración electromiográfica, colocando electrodos en brazos, piernas y mentón. También se obtuvieron señales electrocardiográficas con montaje estándar. Se determinó el flujo aéreo nasal y el esfuerzo toraco-abdominal. Se realizó oximetría de pulso para determinar la presión de O<sub>2</sub> en sangre.

Los polisomnogramas de la segunda noche fueron sometidos a un análisis automático y manual, siguiendo una metodología estandarizada universal (*Iber y col., 2007*). El análisis de los movimientos oculares sacádicos durante la fase de sueño REM se realizó de forma visual. Teniendo en cuenta que los pacientes con SCA2 presentan sácadas enlentecidas con reducción de su amplitud (*Velázquez-Pérez y col., 2004*), se utilizó un umbral inferior de 25 µV para clasificar un movimiento ocular rápido. Se cuantificaron las mini-épocas de tres segundos de sueño REM, en las que existía al menos un movimiento ocular rápido. La densidad de movimientos oculares sacádicos durante la fase de sueño REM consistió en el porcentaje que representan estas mini-épocas, con actividad oculomotora rápida, entre la totalidad de mini-épocas REM (*Leclair-Visonneau y col., 2010*).

#### **2.3.5. Estudios moleculares.**

El ADN fue aislado a partir de leucocitos de sangre periférica siguiendo procedimientos estandarizados (*Sambrook y col., 2001*). Posteriormente se realizó la Reacción en Cadena de la Polimerasa para la amplificación de la región rica en el trinucleótido CAG. La evaluación semi-cuantitativa de la longitud de la secuencia repetitiva de CAG en el gen *ATXN2* se realizó mediante electroforesis de ADN en geles de agarosa al 2%. Finalmente, se cuantificó el número de repeticiones del trinucleótido CAG mediante análisis de

fragmentos en geles de poliacrilamida polimerizable por luz UV en un secuenciador automático ALF-express II (Amersham Pharmacia Biotech, Suecia).

#### **2.4. Operacionalización de las variables**

A continuación se presentan las variables evaluadas en el estudio, mientras que en el anexo 6 se muestra la operacionalización completa de las mismas.

##### **Variables demográficas y clínicas.**

- Género
- Edad
- Edad de inicio de la enfermedad
- Duración de la enfermedad
- Edad de inicio estimada
- Tiempo previo a la manifestación de la enfermedad
- Puntuación de la escala SARA

##### **Variables cognitivas.**

- Tiempo corregido de la tarea de interferencia de Stroop
- Porcentaje de errores en la tarea de interferencia de Stroop
- Promedio de aciertos en la prueba de fluencia verbal fonológica
- Porcentaje total de errores en la prueba de Wisconsin
- Porcentaje de errores perseverativos en la prueba de Wisconsin
- Número de categorías completadas en la prueba de Wisconsin
- Número de palabras recordadas en el primer ensayo de la prueba de memoria verbal
- Número de ensayos requeridos para recordar toda la lista de palabras de la prueba de memoria verbal

- Número de palabras recordadas a los 20 minutos de la prueba de memoria verbal

#### **Variables electronistagmográficas**

- Velocidad sacádica
- Amplitud sacádica
- Desviación sacádica
- Latencia sacádica
- Tasa de errores antisacádicos de dirección
- Porcentaje de errores antisacádicos corregidos
- Tasa de errores antisacádicos por omisión
- Tasa de errores antisacádicos total

#### **Variables polisomnográficas**

- Densidad de movimientos oculares rápidos en fase de sueño REM

#### **Variables moleculares**

- Número de repeticiones del trinucleótido CAG en los alelos *ATXN2* expandidos
- Número de repeticiones del trinucleótido CAG en los alelos *ATXN2* normales

### **2.5 Análisis estadísticos.**

Todos los análisis estadísticos fueron realizados con el software STATISTICA (versión 6.1) (StatSoft, Inc., 2003, EEUU).

#### **2.5.1 Análisis de la normalidad y estadística descriptiva.**

Cada variable cuantitativa fue sometida a un análisis de normalidad a través de prueba de Kolmodorov-Smirnov, así como un análisis descriptivo mediante estadísticos de tendencia central (media aritmética) y de dispersión (mínimo, máximo, desviación estándar e intervalos de confianza del 95%).

### 2.5.2 Comparación de proporciones y medias.

La prueba ji-cuadrado ( $\chi^2$ ) se realizó para comprobar la existencia de diferencias significativas en la frecuencia de alteraciones sacádicas y antisacádicas entre los grupos de enfermos, portadores de la mutación y los dos grupos controles. Con esta prueba se compararon las proporciones de sujetos con: *a*) enlentecimiento sacádico, *b*) disimetría sacádica, *c*) prolongación de la latencia sacádica y *d*) aumento de la tasa de errores antisacádicos.

Se empleó la prueba *t* de Student para comprobar la existencia de diferencias estadísticamente significativas entre las medias de las variables en las siguientes situaciones: *a*) variables sacádicas y antisacádicas entre pacientes y portadores de la mutación con sus respectivos grupos controles; y *b*) tasa de progresión de las alteraciones sacádicas entre pacientes y controles.

### 2.5.3. Análisis de varianzas.

En los casos en que el número de muestras a comparar fue superior a dos, se realizaron análisis de varianzas (ANOVA). Estos fueron seguidos por la prueba de probabilidad *a posteriori* de Fisher LSD, para conocer cuáles muestras difirieron entre sí.

Se empleó un modelo de ANOVA unifactorial para evaluar: *a*) la influencia de la amplitud del estímulo sobre la velocidad, desviación y latencia sacádica y *b*) la influencia del grupo (enfermos, portadores y controles) sobre la densidad de MORs durante el sueño REM.

El efecto de grupo y del TME (factores), sobre la velocidad sacádica (variable dependiente) se evaluó mediante un ANOVA factorial de dos vías, en el grupo de portadores de la mutación.

El estudio longitudinal, se analizó a través de un diseño de ANOVA de medidas repetidas,

utilizando los parámetros sacádicos como variables dependientes y el grupo (pacientes y controles) como factor. Se consideraron tres medidas repetidas.

Para comprobar si las asociaciones de la latencia sacádica con la velocidad y la desviación difieren entre sujetos enfermos y controles, se realizó un análisis de covarianza (ANCOVA), utilizando al grupo como efecto principal y la latencia sacádica como covariable.

#### **2.5.4 Estudios de asociación entre variables.**

Para comprobar la existencia o no de asociación estadísticamente significativa entre variables con distribución normal se empleó el coeficiente de correlación producto-momento de Pearson. Este fue aplicado con las siguientes variables:

- Edad de inicio de la enfermedad y número de repeticiones de CAG en los alelos expandidos.
- Puntuación de la escala SARA con: duración de la enfermedad y número de repeticiones de CAG en los alelos expandidos.
- Cada una de las variables sacádicas y antisacádicas con: edad, edad de inicio, duración de la enfermedad, puntuación de la escala SARA, número de repeticiones del trinucleótido CAG en los alelos expandidos y tiempo previo a la manifestación de la enfermedad.
- Latencia sacádica con: velocidad sacádica y desviación sacádica, en enfermos y controles.
- Tasa de progresión de cada una de las variables sacádicas con: edad, edad de inicio, duración de la enfermedad y número de repeticiones del trinucleótido CAG en los alelos expandidos.

- Cada una de las variables antisacádicas con las variables sacádicas.
- Cada una de las variables sacádicas y antisacádicas con las variables cognitivas
- Densidad de MORs en sueño REM con: edad, edad de inicio, duración de la enfermedad, puntuación de la escala SARA, número de repeticiones del trinucleótido CAG en los alelos expandidos y variables sacádicas en vigilia.

Para definir los valores normales de la velocidad sacádica en el grupo de 110 sujetos controles se obtuvieron las bandas de regresión ( $\pm 2DE$ ) entre la velocidad y la amplitud sacádica, siguiendo un ajuste logarítmico. La estimación del rango de velocidades sacádicas más probables, para un determinado número de repeticiones de CAG en el alelo expandido, se realizó mediante ecuaciones de regresión de la velocidad sacádica con el número de repeticiones de CAG, ajustadas a una función exponencial. Por su parte, la ecuación de regresión entre el TME y la velocidad sacádica a  $60^\circ$  se utilizó para estimar el momento en que aparece el enlentecimiento sacádico, en estadio presintomático.

Se empleó el coeficiente de correlación por rangos de Spearman para comprobar la existencia o no de asociación estadísticamente significativa entre el número de repeticiones de CAG en los alelos no expandidos con la edad de inicio, puntuación de la escala SARA, variables sacádicas y antisacádicas, tasa de progresión de variables sacádicas y la densidad de MORs en sueño REM. Este examen también se aplicó para evaluar la asociación entre cada una de las variables sacádicas y antisacádicas con los parámetros de la prueba de memoria verbal.

Se realizaron el análisis de regresión múltiple para evaluar la influencia de la duración de la enfermedad y el número de repeticiones de CAG, sobre la puntuación de la escala SARA; así como del número de repeticiones de CAG en ambos alelos, sobre la velocidad sacádica.

### 2.5.5 Análisis de sensibilidad y especificidad de las alteraciones sacádicas

Se estimó la sensibilidad y especificidad diagnóstica de las variables sacádicas a 60° en el grupo de pacientes con SCA2 mediante un análisis de la Curva de Características Operacionales del Receptor (COR). Como variable de estado o “prueba de oro”, se consideró la condición de paciente o control resultante del diagnóstico clínico-molecular de la SCA2, mientras que las variables de contraste fueron la velocidad, desviación y latencia sacádica. Se analizó el área bajo la curva para cada parámetro, así como la comparación de las mismas mediante la prueba de homogeneidad de áreas (*DeLong y col., 1988*). Se estimaron los valores de sensibilidad y especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo de cada variable.

### 2.5.6 Estimación de los componentes genéticos y ambientales que influyen sobre las variables sacádicas.

Entre los 110 pacientes incluidos en el este estudio, se identificaron 21 grupos de hermanos, pertenecientes a 14 familias, a partir de los cuales se conformaron 36 parejas de hermanos. Entre los portadores de la mutación se seleccionaron 17 parejas, a partir de 11 grupos de hermanos.

Una vez conformadas las parejas, se estimó la heredabilidad de la varianza residual de los parámetros sacádicos (ajustados según el número de repeticiones de CAG), empleando un ANOVA unifactorial. A través de este análisis, se obtuvieron los componentes de varianza entre los distintos pares de hermanos ( $VAR_{inter-parejas}$ ) y dentro de los pares de hermanos ( $VAR_{intra-parejas}$ ). Con estos, se calculó el coeficiente de correlación intraclase (*Hays, 1988*),

según la fórmula:  $CCI = \frac{VAR_{inter-parejas}}{VAR_{inter-parejas} + VAR_{intra-parejas}}$

El duplo del valor de estos coeficientes representa la familiaridad, que es el límite superior de la heredabilidad (*Falconer, 1989*).

### **2.6. Consideraciones éticas de la investigación.**

El protocolo por el que se rigió esta tesis fue debidamente aprobado por el Comité de Ética de la Investigación Científica del CIRAH. El mismo fue ejecutado siguiendo los principios éticos establecidos en la Declaración de Helsinki (1964).

Inicialmente se le informó a cada sujeto sobre las características, los objetivos y la importancia de la investigación, así como los estudios que debían hacerse y los escasos riesgos de daño que estos implicaban. En dicha comunicación se utilizó un lenguaje práctico y comprensible. En ningún momento se coaccionó o influenció a los sujetos para participar en el estudio. Además se les solicitó autorización para utilizar la información contenida en sus historias clínicas, asegurándose la confidencialidad en el manejo de esta y se les informó que los resultados de esta investigación, podrían ser publicados en revistas científicas o presentados en eventos científicos, sin que se revele su identidad. Finalmente cada sujeto confirmó voluntariamente, por escrito, su disposición para participar en el estudio mediante el Modelo de Consentimiento Informado (Anexo 7); el cual fue firmado y fechado por cada uno de ellos, el investigador responsable de la investigación y un testigo.

## CAPÍTULO III. RESULTADOS

### 3.1 Caracterización fenotípica de la muestra estudiada.

#### 3.1.1. Evaluación clínica-neurológica

La principal manifestación clínica de los pacientes fue el síndrome cerebeloso. Todos los casos presentaron ataxia de la marcha e inestabilidad postural, mientras que 107 casos (97,3%) mostraron disartria cerebelosa y 104 (94,5%), disimetría y adiadococinesia. Las otras manifestaciones cerebelosas constatadas fueron el temblor intencional en 85 individuos (77,3%), seguido por temblor postural en 65 (59,09%), e hipotonía muscular en 42 casos (38,2%) (Anexo 8).

El examen clínico de la función oculomotora reveló movimientos oculares sacádicos lentos en 102 pacientes (92,73%), mientras que en 94 (85,45%) se observó limitación del rango oculomotor. Sin embargo, ningún caso mostró oftalmoplegia. La presencia de nistagmos patológicos solo se constató en seis enfermos (5,45%) (Anexo 8).

En relación con las manifestaciones de la neuropatía periférica, se observaron signos de hiporreflexia o arreflexia osteotendinosa en 80 pacientes (72,7%), con mayor predominio en los miembros inferiores. Además, 49 casos (44,55%) mostraron hipo o apalestesia. Otras manifestaciones neurológicas importantes se presentan en el anexo 8.

La edad de inicio de la enfermedad mostró una correlación inversa con el tamaño de la expansión de CAG en el alelo mutado ( $r=-0,67$ ;  $p<0,0001$ ), pero no en el alelo normal ( $r=0,07$ ;  $p=0,492$ ). El género de los pacientes no influyó sobre el debut de la enfermedad.

El valor promedio ( $\pm$ D.E) de la puntuación de la escala SARA fue de  $16,29 \pm 4,05$  (mínimo: 6,5; máximo: 28,0). Se obtuvo una correlación directa entre la puntuación de esta escala con la duración de la enfermedad ( $r=0,40$ ;  $p=0,002$ ) y el número de repeticiones de CAG en los alelos expandidos ( $r=0,43$ ;  $p=0,001$ ). Ambas variables explican el 57,1% de la variabilidad de la puntuación de la escala SARA.

### **3.1.2 Evaluación neurocognitiva**

El estudio de las funciones cognitivas permitió identificar alteraciones frontoejecutivas en 84 pacientes (76,4%) y déficits de memoria verbal en 71 casos (64,5%). Los parámetros más afectados fueron el número de categorías completadas en la PCCW (71,88%), el porcentaje de errores de la tarea de interferencia de Stroop (62,5%), el promedio de aciertos en el FAS fonológico (62,5%) y el porcentaje de errores totales en la PCCW (62,5%); así como el número de ensayos en la prueba de memoria verbal (58,38%) y el tiempo corregido en la tarea de interferencia de Stroop (56,25%).

En el anexo 9 se presenta la estadística descriptiva de estos parámetros, así como los valores normativos obtenidos en el laboratorio de funciones neurocognitivas del CIRAH.

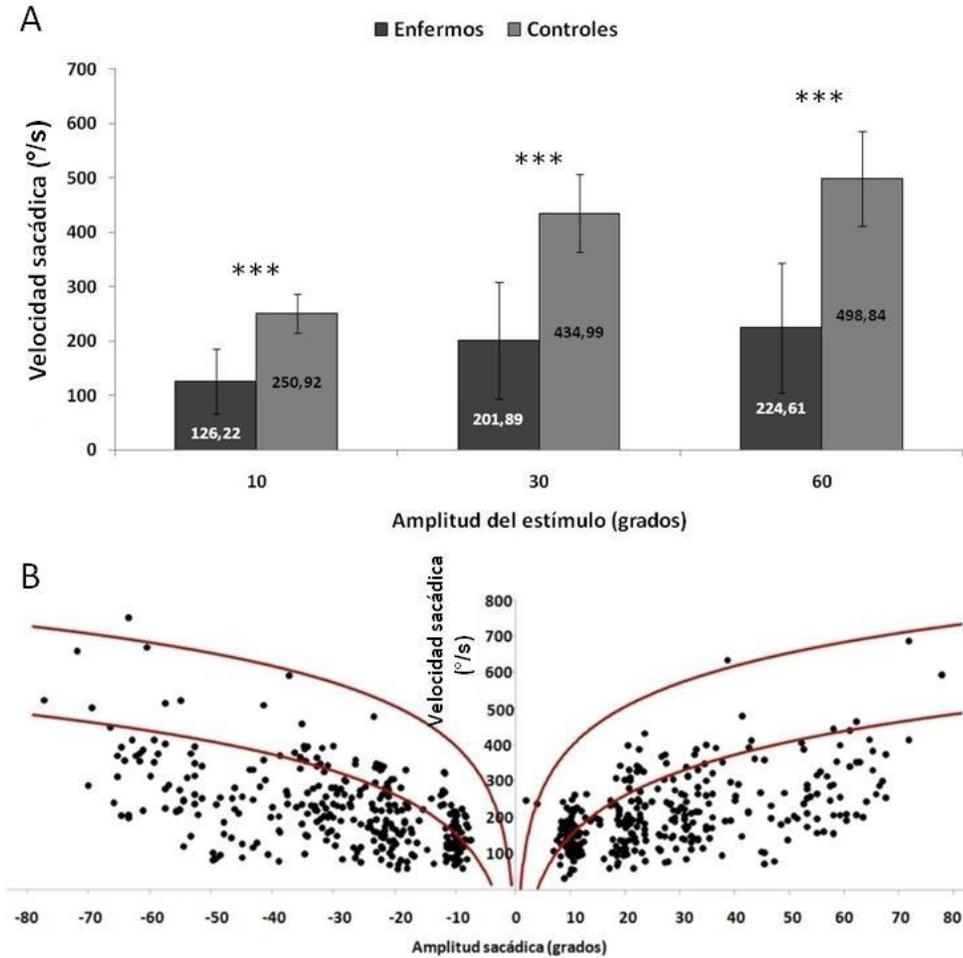
## **3.2 Evaluación electronistagmográfica transversal de la muestra estudiada.**

### **3.2.1 Estudio de los movimientos oculares sacádicos en pacientes con SCA2.**

#### **3.2.1.1 Velocidad Sacádica**

En la figura 3A se presenta la comparación de medias de la velocidad sacádica de los sujetos enfermos y sus respectivos controles para  $10^\circ$ ,  $30^\circ$  y  $60^\circ$ . En todos los casos los pacientes con SCA2 mostraron una disminución altamente significativa ( $p<0,0001$ ) de la velocidad sacádica con respecto a los controles, observándose muy poco solapamiento entre ellos. Se observó un efecto significativo de la amplitud del estímulo sobre la velocidad

sacádica ( $F=20,67$ ;  $p<0,0001$ ) revelándose una diferencia altamente significativa entre los valores medios de velocidad sacádica a  $10^\circ$  con respecto a  $30^\circ$  y  $60^\circ$ , respectivamente.



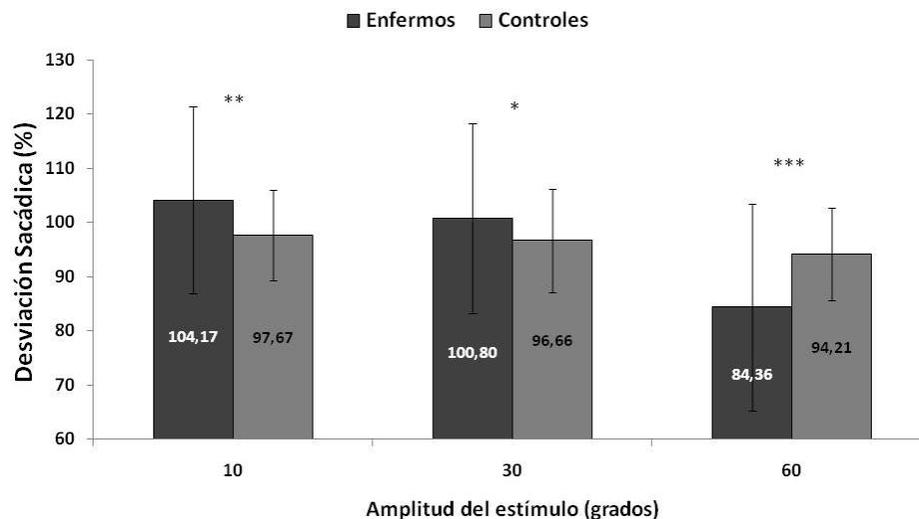
**Figura 3. Reducción de la velocidad sacádica en pacientes con SCA2. A) Comparación de medias de la velocidad sacádica a diferentes grados de estimulación. Las cotas de cada barra representan la desviación estándar de la media. B) Representación de la secuencia principal de los movimientos oculares sacádicos en pacientes con SCA2. \*\*\*:  $p<0,001$**

Como se observa en la figura 3B, la mayoría de los pacientes poseían valores de velocidad sacádica por debajo del rango normal, definido a partir de la secuencia principal sacádica en el grupo control (Anexo 10) Para estímulos de  $10^\circ$  se identificaron 77 (70%) pacientes con sácadas enlentecidas, seguidos por 94 casos (85,45%) para  $30^\circ$  y 107 (97,27%) para

60°. El análisis demostró además que la reducción de la velocidad sacádica fue similar tanto para los movimientos realizados hacia la derecha como para la izquierda.

### 3.2.1.2 Desviación sacádica

La figura 4 muestra la comparación de medias de la desviación sacádica. En los pacientes con SCA2 se observa un incremento significativo de este parámetro a 10° y a 30°. Sin embargo para 60°, los pacientes mostraron una disminución significativa de la desviación sacádica en comparación con los controles. Se observó un efecto significativo de la amplitud del estímulo sobre la desviación sacádica ( $F=36,14$ ;  $p<0,0001$ ), existiendo diferencias significativas de esta variable a 60° con respecto a 10° y 30°, respectivamente.



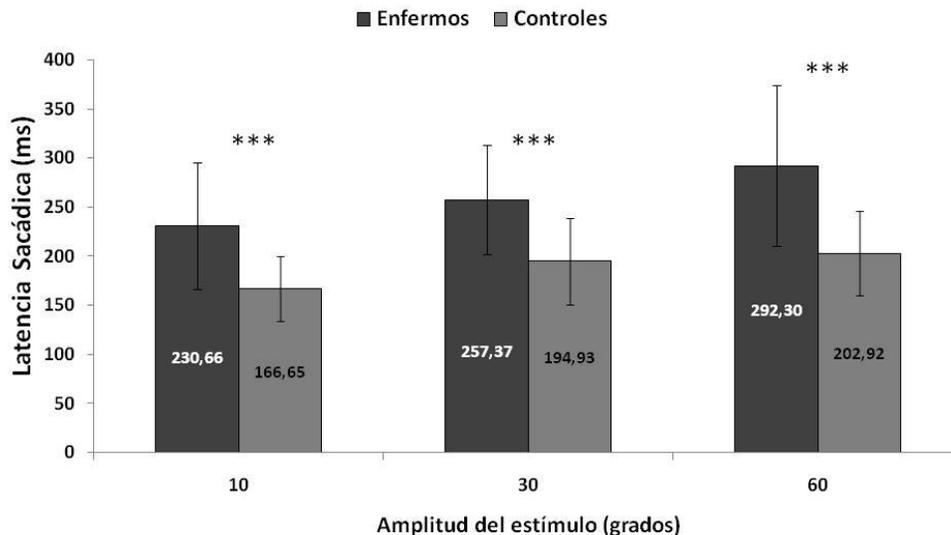
**Figura 4. Alteraciones de la desviación sacádica en pacientes con SCA2. Comparación de medias de la velocidad sacádica a diferentes grados de estimulación. Las cotas de cada barra representan la desviación estándar de la media. \*\*\*:  $p<0,001$ ; \*\*:  $p<0,01$ ; \*:  $p<0,05$ .**

El grupo de sujetos enfermos mostró una mayor proporción de individuos con disimetría sacádica, en comparación con los controles. Los signos de hipermetría sacádica prevalecieron para 10° de estimulación (32,73%), mientras que los signos de hipometría fueron más frecuentes para las sácadas a 60° (58,18%). Para 30° encontramos una dualidad

de anomalías, pues el 19,09% de los pacientes presentó hipermetría sacádica y el 23,64% mostró signos de hipometría (Anexo 11).

### 3.2.1.3 Latencia Sacádica.

La latencia sacádica a 10°, 30° y 60° mostró un incremento significativo en los enfermos, comparados con los controles (Figura 5). Al igual que para la velocidad y la desviación sacádica, se observó un efecto significativo de la amplitud del estímulo sobre la latencia sacádica, con un incremento marcado de este parámetro oculomotor, en la medida que se aumenta el tamaño de las sácadas ( $F=16,97$ ;  $p<0,0001$ ).



**Figura 5. Prolongación de la latencia sacádica en pacientes con SCA2. Comparación de medias de la velocidad sacádica a diferentes grados de estimulación. Las cotas de cada barra representan la desviación estándar de la media. \*\*\*:  $p<0,001$ .**

Para estímulos de 60°, 50 pacientes (45,5%) presentaron un incremento significativo de la latencia sacádica, mientras que para 30° esta alteración se constató en 39 casos (35,4%) y 45 casos (40,9%) para 30° y 10°, respectivamente (Anexo 12).

En los pacientes con SCA2 se observó una asociación significativa entre la latencia sacádica a 60°, con la velocidad ( $r = -0,23$ ;  $p = 0,014$ ) y la desviación sacádica ( $r = -0,23$ ;

$p = 0,015$ ), respectivamente. Sin embargo, en el grupo de controles no se detectaron estas asociaciones (latencia vs velocidad:  $r = -0,15$ ;  $p = 0,106$ ; latencia vs desviación:  $r = -0,01$ ;  $p = 0,899$ ).

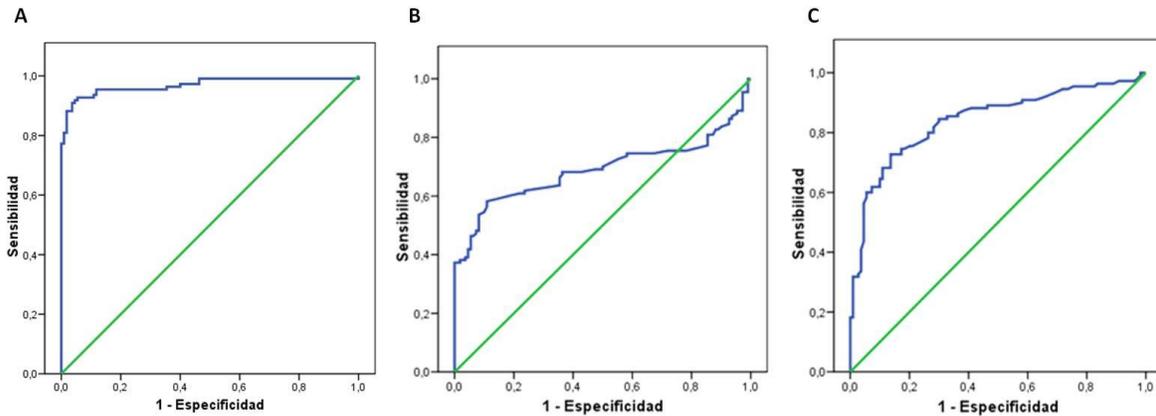
El análisis de ANCOVA reveló un efecto significativo de grupo, para la asociación entre la latencia sacádica y la velocidad ( $F_{(1,219)} = 201,64$ ;  $p = 0,0000$ ), así como entre la latencia y la desviación ( $F_{(1,219)} = 22,09$ ;  $p = 0,0000$ ). Para  $10^\circ$  y  $30^\circ$  se obtuvieron resultados similares. Se realizó el mismo análisis considerando los valores de velocidad sacádica corregidos para el número de repeticiones de CAG y se obtuvo una mayor significación estadística ( $F_{(1,217)} = 948,9$ ;  $p = 0,0000$ ).

Teniendo en cuenta que tanto para la velocidad, desviación y latencia sacádica, las principales alteraciones se detectaron para  $60^\circ$  de amplitud y que existe una correlación directa entre los valores obtenidos para las tres amplitudes del estímulo en cada caso (Anexo 13), la mayoría de los análisis que se mostrarán a continuación serán los correspondientes a  $60^\circ$  de estimulación, con el objetivo de evitar redundancia en los resultados presentados. Los casos en que el comportamiento de los parámetros a  $10^\circ$  y  $30^\circ$  difiera al de  $60^\circ$  serán debidamente especificados.

#### **3.2.1.4 Análisis de sensibilidad y especificidad diagnóstica de los parámetros sacádicos.**

La figura 9 muestra las curvas COR para cada parámetro sacádico a  $60^\circ$ . La mayor área bajo la curva la presenta la velocidad sacádica con 97,7% (Intervalo de confianza del 95% [IC]: 95,5%-99,9%;  $p > 0,0001$ ; figura 6A), seguida por la latencia sacádica con 84,2% (IC: 78,8%-89,6%;  $p > 0,0001$ ; figura 6B) y la desviación sacádica con 68,9% (IC: 61,4%-

76,5%;  $p > 0,0001$ ; figura 6C). La prueba de homogeneidad de áreas mostró diferencias significativas entre las tres curvas ( $X^2 = 72,65$ ;  $p = 0,0000$ ).



**Figura 6. Curva de Características Operacionales del Receptor (COR) para la velocidad (A), desviación (B) y la latencia sacádica (C) a 60° de estimulación.**

En la tabla 1 se presentan los valores de sensibilidad y especificidad diagnóstica de las variables sacádicas a 60°, así como los valores predictivos de las pruebas positivas y negativas, teniendo en cuenta puntos de corte de normalidad, previamente definidos para la velocidad sacádica y la desviación, mientras que para la latencia sacádica se tomó el límite superior del intervalo de confianza obtenido en el grupo control.

**Tabla 1. Sensibilidad, especificidad y valores predictivos de las variables sacádicas a 60° en la SCA2.**

Variables	Valor de corte	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)	Valor predictivo	
				Positivo (%)	Negativo (%)
Velocidad Sacádica	438	97,3	90,9	92,24	97,1
Desviación Sacádica	90 <sup>1</sup>	58,2	89,1	61,0	88,9
Latencia Sacádica	289 <sup>2</sup>	50,0	95,5	91,7	65,6

*1: Se tomó el valor umbral reconocido internacionalmente. 2: Se tomó el valor umbral definido por el límite superior del intervalo de confianza al 95% en el grupo de sujetos controles*

La velocidad sacádica mostró los mayores valores de sensibilidad y especificidad diagnóstica, en ambos casos por encima del 90%. El valor predictivo de la prueba positiva es de 92,24%, lo que indica una baja tasa de falsos-positivos (7,76%). De igual forma, el valor predictivo de la prueba negativa es elevado (97,1%), lo que implica la identificación de solo 2,9% de falsos-negativos.

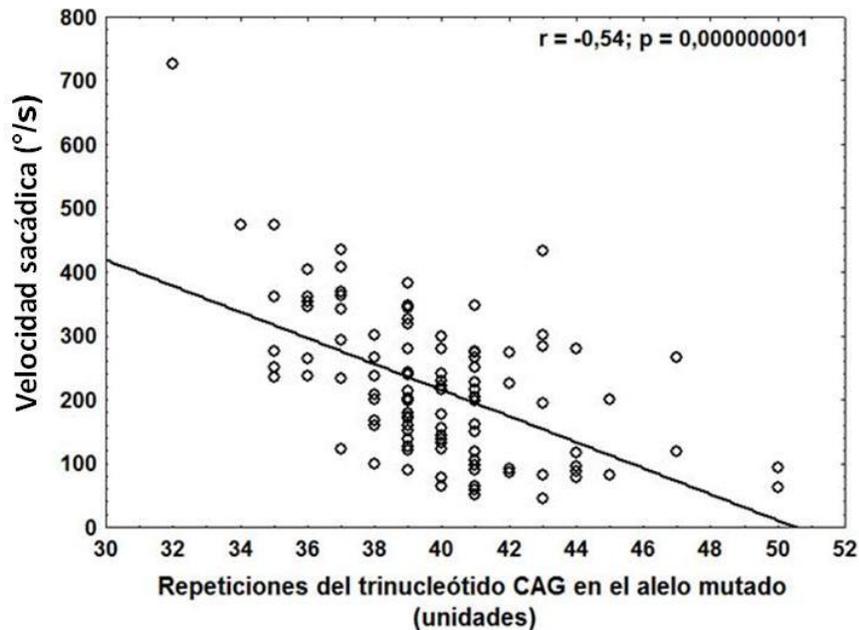
En el caso de la desviación sacádica, con el punto de corte de 90% se obtiene una sensibilidad diagnóstica de 58,2% y una especificidad de 89,1%; mientras que los valores predictivos de las pruebas positivas y negativas es de 61,0% y 88,9% respectivamente. La latencia sacádica mostró los valores más bajos de sensibilidad diagnóstica (50%), unido a una elevada especificidad (95,5%). El valor predictivo de una prueba positiva para la latencia sacádica es de 91,7%, mientras que para la prueba negativa es de 65,6%.

### **3.2.1.5 Influencia del número de repeticiones del trinucleótido CAG sobre las variables sacádicas.**

El análisis de correlación entre el número de repeticiones de CAG en los alelos *ATXN2* expandidos y las variables sacádicas a 60° mostró una asociación altamente significativa para la velocidad sacádica ( $r=-0,54$ ;  $p<0,001$ ; figura 7) y la desviación sacádica ( $r=-0,29$ ;  $p=0,002$ ), pero no en el caso de la latencia sacádica ( $r=-0,05$ ;  $p=0,626$ ). En los casos de 10° y 30° de estimulación se solo se obtuvieron correlaciones significativas con el tamaño de la mutación para la velocidad sacádica, pero no para la desviación y latencia (Anexo 14). El análisis de correlación de Spearman entre el tamaño de los alelos *ATXN2* normales con las variables sacádicas no mostró asociación significativa en ningún caso (Anexo 14).

Adicionalmente se realizó un análisis de regresión múltiple, considerando los valores de velocidad sacádica como variables dependientes y el tamaño de ambos alelos como

variables independientes. En todos los casos, se observó que solamente el número de repeticiones del trinucleótido CAG en los alelos expandidos contribuía significativamente sobre la velocidad sacádica (10°:  $\beta=-0,49$ ; 30°:  $\beta=-0,47$ ; 60°:  $\beta=-0,54$ ;  $p<0,0001$ ), mientras que la contribución de los alelos no expandidos fue mínima (10°: no se considera en el modelo; 30°:  $\beta=-0,12$ ; 60°:  $\beta=-0,08$ ;  $p>0,05$ ).



**Figura 7. Influencia del número de repeticiones del trinucleótido CAG en los alelos *ATXN2* expandidos sobre la velocidad sacádica.**

Con el objetivo de estimar la velocidad sacádica más probable, para determinado número de repeticiones de CAG en el alelo expandido, se obtuvieron las ecuaciones de regresión entre estas variables, ajustadas a una función exponencial. Para las sácadas a 60° se obtuvo la siguiente ecuación:  $VS=9665,557 x e^{-0,099 x CAG} (\pm 5812,512 x e^{-0,099 x CAG})$ . En el caso de las sácadas a 30° la ecuación de regresión fue:  $VS=6485,959 x e^{-0,091 x CAG} (\pm 4366,466 x e^{-0,091 x CAG})$  y a 10° siguió la siguiente fórmula:  $VS=4234,932 x e^{-0,092 x CAG} (\pm 2758,519 x e^{-0,092 x CAG})$ . En el anexo 15 se muestran los valores estimados de velocidad sacádica para

cada número de repeticiones de CAG en los alelos expandidos, así como los correspondientes intervalos de confianza al 95%.

#### **3.2.1.5.1 Estimación de la influencia de los componentes genéticos y ambientales sobre las alteraciones sacádicas en la SCA2.**

Entre los 110 pacientes incluidos en el este estudio, se obtuvieron 21 grupos de hermanos, a partir de los cuales se conformaron 36 parejas de individuos. El coeficiente de correlación intraclase (CCI) de las variables sacádicas, en las parejas de hermanos, mostró valores significativos para la velocidad sacádica a 30° y 60°. En ambos casos el CCI fue de 0,35 ( $p=0,018$ ) y 0,47 ( $p=0,002$ ) respectivamente. Por tanto, la heredabilidad de la varianza residual de la velocidad sacádica fue de 70% para 30° y 94% para 60°. Para el resto de las variables no es posible estimar valores de heredabilidad, pues los CCI no fueron estadísticamente significativos (Anexo 16).

#### **3.2.1.6 Influencia de las variables clínicas sobre los movimientos oculares sacádicos en pacientes con SCA2.**

Los análisis de correlación identificaron una asociación significativa entre la velocidad sacádica a 60° y la edad en el grupo de sujetos enfermos ( $r=0,48$ ;  $p=0,000$ ), comportamiento que se contrapone al del grupo de sujetos controles, en los que se aprecia una correlación inversa entre ambas variables ( $r=-0,42$ ;  $p=0,000$ ). Para comprobar si este comportamiento depende del número de repeticiones de CAG expandido, se repitió el análisis considerando los valores de velocidad sacádica corregidos según este parámetro. Bajo estas condiciones, se obtuvo un coeficiente de correlación no significativo ( $r=0,17$ ;  $p=0,078$ ). En el caso de la edad de inicio de los síntomas, se observó un comportamiento similar al de la edad.

Por último, no se obtuvo asociación entre la duración de la enfermedad y la velocidad sacádica a 60°. Este mismo parámetro, a 10° y 30° se mostró de manera similar en ambos grupos.

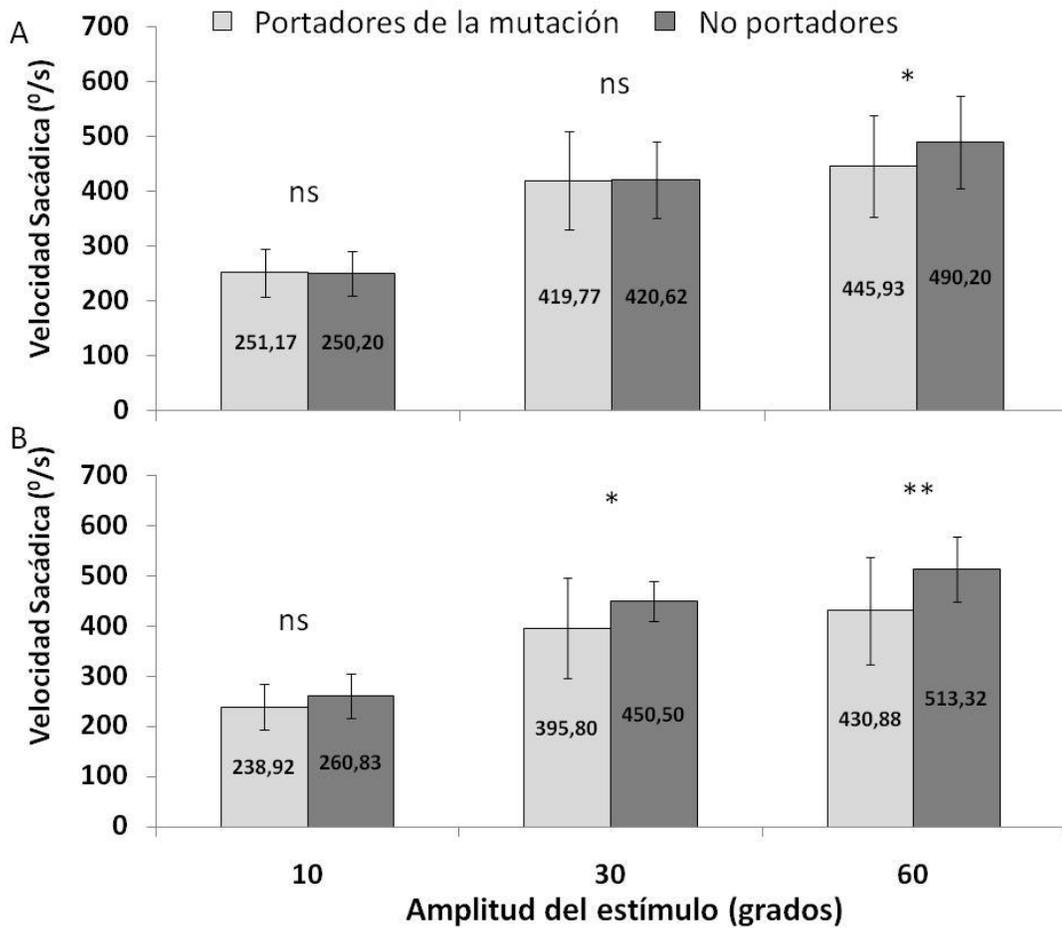
Ni la desviación, ni la latencia sacádica mostraron asociación con la edad, edad de inicio y la duración de la enfermedad en el grupo de sujetos enfermos. En el caso de los controles se obtuvieron coeficientes de correlación significativos entre estas variables sacádicas y la edad (Anexo 17).

En el caso de puntuación de la escala SARA se obtuvo una estrecha asociación con la velocidad ( $r=-0,39$ ;  $p=0,002$ ) y desviación sacádica a 60° ( $r=-0,38$ ;  $p=0,003$ ), pero no con la latencia ( $r=0,20$ ;  $p=0,119$ ). Para las demás amplitudes del estímulo, solo se obtuvo asociación significativa de la escala clínica con la velocidad sacádica a 30° ( $r=-0,45$ ;  $p=0,001$ ). En el anexo 18 se presentan todos los resultados de este análisis.

### **3.2.2 Evaluación de los movimientos oculares sacádicos en portadores de la mutación SCA2.**

#### **3.2.2.1 Velocidad sacádica.**

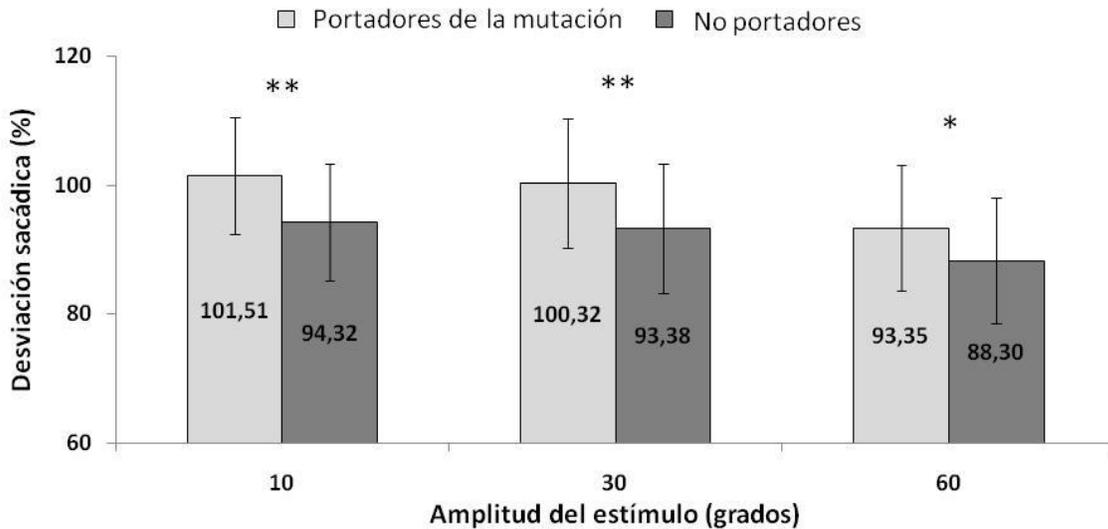
Los portadores de la mutación SCA2 mostraron valores de velocidad sacádica normales para 10° y 30°. Sin embargo, para sácadas a 60°, estos tuvieron una disminución significativa de la velocidad (Figura 8A). Cuando se excluyen los portadores de expansiones de CAG no penetrantes (<37 repeticiones), se observa una disminución de la velocidad sacádica también para 30° (Figura 8B). Quince de los 54 portadores de la mutación (27,8%) mostraron valores de velocidad sacádica por debajo de los límites normales para 60°. En el caso de 30°, seis casos presentaron esta alteración (11,2%), mientras que para 10°, solo hubo tres individuos con esta condición anormal.



**Figura 8. Reducción de la velocidad sacádica en portadores de la mutación SCA2. A) Comparaciones de medias para toda la muestra de portadores y no portadores. B) Comparaciones de medias para el subgrupo de portadores de expansiones con penetrancia completa. Las cotas de cada barra representan la desviación estándar de la media. ns: no significativo; \*:  $p < 0,05$ ; \*\*:  $p < 0,01$ .**

### 3.2.2.2 Desviación sacádica.

Como se observa en la figura 9, los portadores de la mutación mostraron un incremento significativo de la desviación sacádica en comparación con los controles. Aunque en todos los casos, el valor promedio de la desviación sacádica está dentro del rango de normometría.



**Figura 9. Comparación de medias para la desviación sacádica entre portadores de la mutación SCA2 y no portadores. Las cotas de cada barra representan la desviación estándar de la media. \*:  $p < 0,05$ ; \*\*:  $p < 0,01$**

El porcentaje de portadores de la mutación con valores normales de desviación sacádica fue de 77,8% (N=42) para 10°, 57,4% (N=31) para 30° y 53,7% (N=29) para 60°. La disminución de estas proporciones en la medida que se incrementa la amplitud del estímulo se sustenta en el aumento de la frecuencia de individuos con hipometría sacádica hacia amplitudes mayores (10°: 11,1%; 30°: 16,7%; 60°: 37,0%).

### 3.2.2.3 Latencia sacádica

El análisis de comparación de medias para la latencia sacádica no identificó diferencias significativas entre portadores de la mutación y los no portadores, para ninguna amplitud del estímulo (10° → Portadores:  $183,28 \pm 44,77$ ; No portadores:  $171,04 \pm 32,75$ ;  $p=0,248$ ; 30° → Portadores:  $201,87 \pm 75,04$ ; No portadores:  $188,73 \pm 30,51$ ;  $p=0,749$ ; 60° → Portadores:  $215,13 \pm 47,65$ ; No portadores:  $199,85 \pm 38,88$ ;  $p=0,058$ ).

A 10° y 30° de amplitud se observaron 10 portadores de la mutación (18,52%) con valores de latencia sacádica por encima de los límites normales. En el caso de las sácadas a 60°,

siete portadores de la mutación (12,96%) mostraron una prolongación anormal de latencia sacádica. Al igual que en el grupo de enfermos, a continuación se presentarán los resultados correspondientes a 60° de estimulación.

#### **3.2.2.4 Relación del número de repeticiones de CAG con las variables sacádicas en los portadores de la mutación SCA2.**

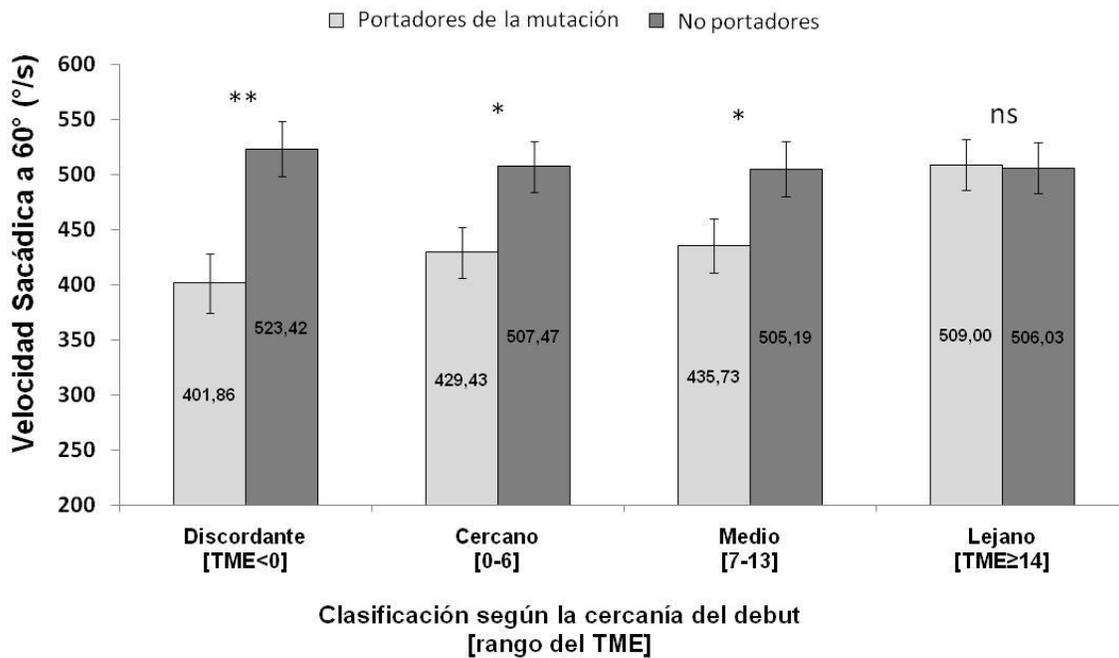
El número de repeticiones de CAG en el alelo expandido mostró una correlación inversa significativa con la velocidad sacádica ( $r=-0,29$ ;  $p=0,033$ ), pero no tuvo asociación con la desviación ( $r=-0,21$ ;  $p=0,133$ ) ni la latencia a 60° ( $r=0,15$ ;  $p=0,122$ ). Este mismo comportamiento se observó para las restantes amplitudes del estímulo. En el caso de los alelos no expandidos no se observó correlación con ninguna variable sacádica en los portadores de la mutación y en los controles (Anexo 19). El estudio de heredabilidad de las variables sacádicas en este grupo no mostró valores significativos del CCI en las 17 parejas identificadas (Anexo 16).

#### **3.2.2.5 Influencia de la edad sobre las variables sacádicas en portadores de la mutación**

La latencia sacádica mostró una asociación significativa con la edad en el grupo de portadores de la mutación. Sin embargo, ni la velocidad, ni la desviación sacádica presentaron este comportamiento. En cambio, en el grupo de controles se observó una correlación inversa significativa de la edad con la velocidad y la desviación sacádica así como una correlación directa significativa de esta variable con la latencia sacádica. Estos resultados coinciden con los obtenidos en el grupo de controles utilizado en el estudio de los enfermos (Anexo 20).

### 3.2.2.6 Influencia del tiempo previo a la manifestación de la enfermedad sobre los movimientos oculares sacádicos en la SCA2.

Con el propósito de evaluar la influencia del tiempo previo a la manifestación de la enfermedad (TME) sobre las variables sacádicas, fue realizado un ANOVA factorial de dos vías, considerando al rango de TME y al grupo como factores. La interacción de los mismos muestra una asociación significativa con la velocidad sacádica a 60°, no así para el resto de las variables.



**Figura 10.** Efectos de la interacción entre el grupo y el rango de TME sobre la velocidad sacádica a 60° (ANOVA factorial de dos vías). Las cotas de cada barra representan la desviación estándar del error. TME: Tiempo previo a la manifestación de la enfermedad, ns: no significativo; \*:  $p<0,05$ ; \*\*:  $p<0,01$ .

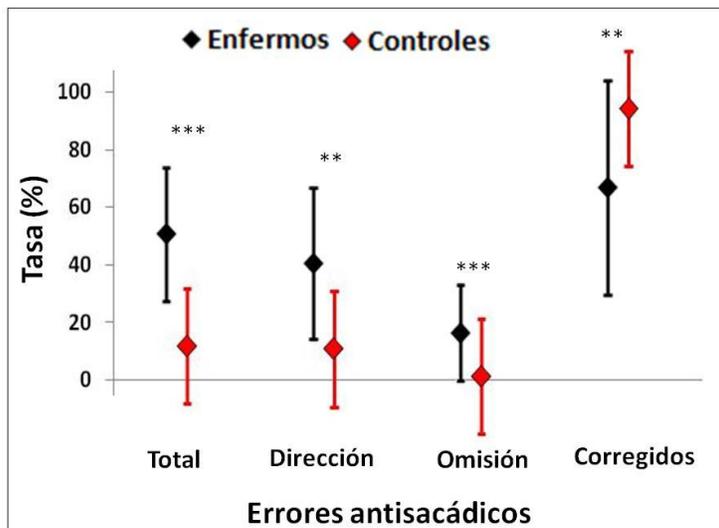
La prueba de probabilidades *a posteriori* de Fisher LSD revela una reducción de la velocidad sacádica a 60° en los grupos de debut medio, cercano y discordante, pero no para el grupo de debut lejano. Dentro de los portadores de la mutación, se observaron diferencias significativas entre los grupos de debut lejano y discordante ( $p=0,003$ ) (Figura 10).

El análisis de correlación entre la velocidad sacádica y el TME, evidenció una asociación significativa para 10° ( $r=0,38$ ;  $p=0,012$ ), 30° ( $r=0,35$ ;  $p=0,022$ ) y 60° ( $r=0,38$ ;  $p=0,013$ ). Según esta relación, aquellos sujetos con edades más cercanas al debut de la enfermedad muestran mayor enlentecimiento sacádico.

Teniendo en cuenta que la ecuación de regresión lineal entre la velocidad sacádica y TME fue como sigue:  $VSM = 407,68 + 2,27 \times TME$ , y tomando el límite inferior de normalidad de la velocidad en 438 %/s (obtenido en el grupo control), se pudo estimar que el enlentecimiento sacádico a 60° aparece aproximadamente 13 años del inicio del síndrome cerebeloso.

### 3.2.3. Estudios de movimientos oculares antisacádicos en pacientes con SCA2.

Los pacientes con SCA2 mostraron un incremento significativo de la tasa de errores antisacádicos totales, dado el aumento de la tasa de errores antisacádicos de dirección y de errores por omisión. Además, el análisis del porcentaje de errores de dirección corregidos, reveló una marcada disminución de este parámetro en el grupo de enfermos (Figura 11).



**Figura 11. Alteraciones de los movimientos oculares antisacádicos en pacientes con SCA2. Comparación de medias entre enfermos y controles. Las barras representan la desviación estándar de la media. \*\*:  $p<0,01$ ; \*\*\*:  $p<0,001$ .**

En el grupo de enfermos, 16 sujetos (51,6%) presentaron tasa de errores antisacádicos por encima del 20%, valor a partir del cual se considera anormal (Hutton y Ettinger, 2006), mientras que entre los controles solo cinco casos (20%) superan esta tasa ( $X^2=8,25$ ;  $p=0,004$ ).

Como se observa en la tabla 2, el número de repeticiones del trinucleótido CAG mostró una correlación directa con la tasa de errores antisacádicos totales y de dirección; así como una correlación inversa con el porcentaje de errores corregidos. Sin embargo, esta variable no tuvo asociación con la tasa de errores por omisión.

**Tabla 2. Análisis de correlación de Pearson entre los parámetros antisacádicos y las variables generales en la muestra de pacientes.**

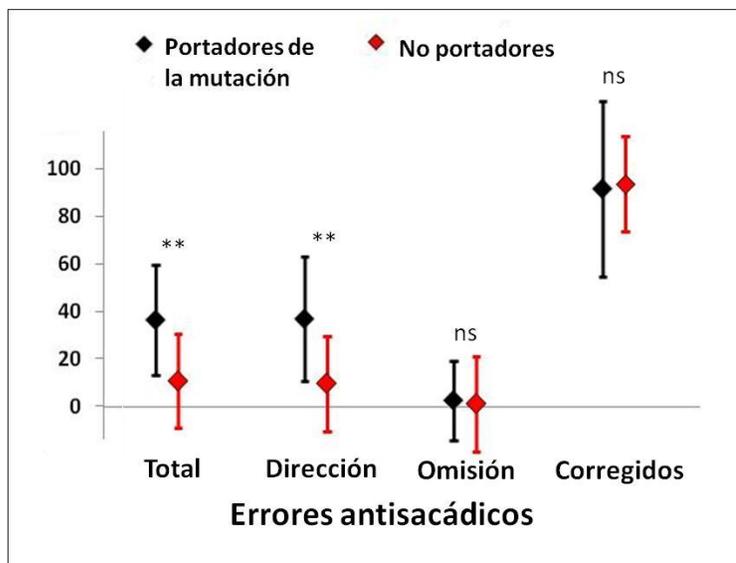
Variables	Errores antisacádicos			
	Errores totales	Errores de dirección	Errores corregidos	Errores por omisión
<b>Edad</b>	r=-0,16; p=0,396	r=-0,35; p=0,052	r=0,32; p=0,089	r=0,01; p=0,984
<b>Edad de inicio</b>	r=-0,22; p=0,226	r=-0,34; p=0,060	r=0,39; p=0,036	r=-0,09; p=0,633
<b>Duración de la enfermedad</b>	r=0,15; p=0,426	r=0,02; p=0,917	r=-0,16; p=0,406	r=0,22; p=0,231
<b>Repeticiones de CAG</b>	r=0,44; p=0,015	r=0,47; p=0,008	r=-0,55; p=0,001	r=0,09; p=0,630
<b>Puntuación de la escala SARA</b>	r=0,48; p=0,007	r=0,38; p=0,033	r=-0,28; p=0,142	r=0,49; p=0,005

Además, se obtuvo una correlación directa entre la puntuación de la escala SARA y los errores antisacádicos totales, de dirección y por omisión. La edad, edad de inicio y duración de la enfermedad no correlacionaron con las variables antisacádicas.

El análisis de correlación entre las variables antisacádicas con la velocidad, latencia y desviación sacádica, evidenció una asociación altamente significativa entre la latencia sacádica a 60° con la tasa de errores antisacádicos de dirección ( $r=0,48$ ;  $p=0,007$ ) y la tasa de errores antisacádicos totales ( $r=0,42$ ;  $p=0,019$ ). La velocidad y la desviación sacádica no mostraron correlación significativa con ningún parámetro antisacádico.

### 3.2.4. Estudios de movimientos oculares antisacádicos en portadores de la mutación SCA2.

Al igual que los enfermos, los portadores de la mutación mostraron un incremento significativo de la tasa de errores antisacádicos totales y errores de dirección. Sin embargo, la tasa de errores por omisión y el porcentaje de errores corregidos no mostró diferencias significativas en comparación con los sujetos controles (Figura 12).



**Figura 12. Alteraciones de los movimientos oculares antisacádicos en portadores de la mutación. Comparación de medias entre portadores y no portadores. Las barras representan la desviación estándar de la media. \*\*:  $p<0,01$ ; ns: no significativo**

No se observó correlación entre las variables antisacádicas afectadas con la edad (EAT:  $r=0,22$ ;  $p=0,364$ ; EAD:  $r=0,21$ ;  $p=0,365$ ), expansión del trinucleótido CAG (EAT:  $r=-0,13$ ;  $p=0,565$ ; EAD:  $r=-0,15$ ;  $p=0,519$ ), ni el tiempo previo para la manifestación de la enfermedad (EAT:  $r=-0,03$ ;  $p=0,894$ ; EAD:  $r=-0,04$ ;  $p=0,869$ ).

### 3.2.5 Relación entre los movimientos oculares sacádicos y antisacádicos con las alteraciones cognitivas en pacientes con SCA2.

Para evaluar la posible asociación entre los movimientos oculares sacádicos y antisacádicos con las funciones cognitivas, en pacientes con SCA2, se realizaron estudios de correlación entre las variables oculomotoras y varios parámetros que evalúan el desempeño frontoexecutivo y la memoria.

**Prueba de interferencia de Stroop.** Se obtuvo una asociación estadísticamente significativa entre tiempo de ejecución de la tarea de interferencia con la latencia sacádica a 60° ( $r=0,39$ ;  $p<0,05$ ), la tasa de errores antisacádicos de dirección ( $r=0,47$ ;  $p=0,011$ ) y por omisión ( $r=0,48$ ;  $p<0,010$ ), así como la tasa de errores antisacádicos totales ( $r=0,54$ ;  $p=0,001$ ). Sin embargo, ni la velocidad, ni la desviación sacádica correlacionaron con este parámetro cognitivo. Además, el porcentaje de errores de la tarea de interferencia de Stroop no mostró asociación con ningún parámetro oculomotor (Anexo 21).

**Prueba de fluencia verbal fonológica.** El número de aciertos de la prueba de fluencia verbal fonológica mostró una correlación inversa altamente significativa con la latencia sacádica a 60° ( $r=-0,45$ ;  $p=0,001$ ), la tasa de errores antisacádicos por omisión ( $r=-0,50$ ;  $p=0,001$ ), y la tasa de errores antisacádicos totales ( $r=-0,43$ ;  $p=0,004$ ). Además, se obtuvo una asociación estadísticamente significativa entre este parámetro cognitivo con la desviación sacádica a 60° ( $r=0,37$ ;  $p=0,034$ ). Sin embargo, la velocidad sacádica no correlacionó con el desempeño de este examen neuropsicológico (Anexo 21).

**Prueba de clasificación de cartas de Wisconsin (PCCW).** El número de categorías completadas y el porcentaje de errores totales en la PCCW mostraron una correlación inversa significativa con la latencia sacádica a 60° ( $r=-0,50$ ;  $p=0,005$ ), la tasa de errores antisacádicos de dirección ( $r=-0,56$ ;  $p=0,001$ ), por omisión ( $r=-0,42$ ;  $p=0,021$ ) y los errores antisacádicos totales ( $r=-0,59$ ;  $p=0,001$ ), pero no con la velocidad sacádica, latencia sacádica y el porcentaje de errores antisacádicos corregidos. En el caso del porcentaje de

errores perseverativos en el PCCW, no se observó asociación con ninguna variable oculomotora (Anexo 21).

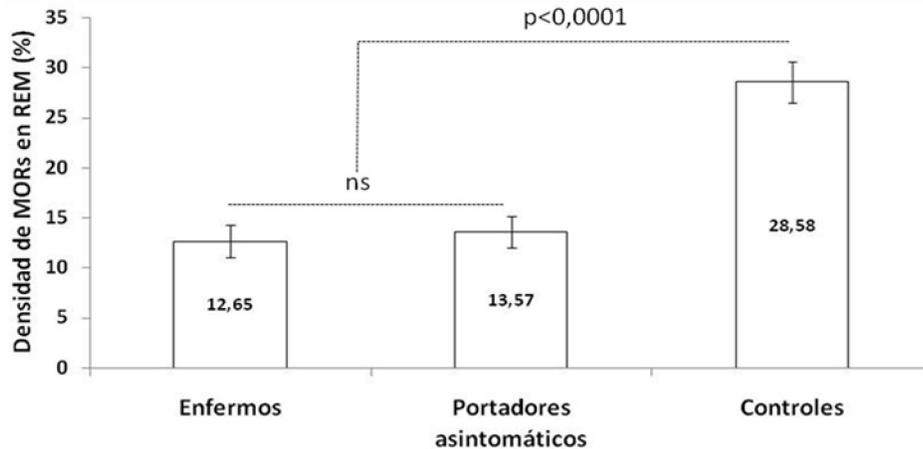
**Prueba de memoria verbal.** El número de palabras recordadas en el primer ensayo y a los 20 minutos mostraron correlación con la latencia sacádica; mientras que el número de ensayos correlacionó con la tasa de errores antisacádicos por omisión (Anexo 21).

### **3.2.6 Evaluación de los movimientos oculares sacádicos en fase de sueño REM.**

Como se observa en la figura 13, tanto los enfermos de SCA2 como los portadores de la mutación mostraron una disminución significativa de la densidad de estos movimientos durante el sueño REM, en comparación con los controles, no existiendo diferencias significativas entre ambos grupos relacionados con la mutación.

Los análisis de correlación de la densidad de MORs durante el sueño REM con las principales variables demográficas, clínicas y moleculares de los sujetos enfermos y portadores de la mutación se muestran en el anexo 22. En el primer grupo se observa una correlación significativa con la edad de inicio ( $r=0,39$ ;  $p=0,032$ ) y con la puntuación de la escala SARA ( $r=-0,57$ ;  $p=0,001$ ), pero no con la edad, la duración de la enfermedad y el tamaño de los alelos expandidos y no expandidos. En el caso de los portadores de la mutación, ninguna variable correlaciona con este parámetro oculomotor en sueño REM.

Los análisis de regresión lineal simple entre la densidad de MORs en sueño REM y los parámetros que caracterizan los movimientos oculares sacádicos durante la vigilia en los pacientes, mostraron una asociación significativa con la velocidad sacádica ( $r=0,49$ ;  $p=0,006$ ) y la desviación sacádica ( $r=0,42$ ;  $p=0,022$ ), pero no con la latencia sacádica ( $r=-0,16$ ;  $p=0,409$ ). El análisis de regresión múltiple refleja que la velocidad sacádica es la única variable que influye significativamente sobre la densidad de MORs en sueño REM.



**Figura 13. ANOVA unifactorial de la densidad de MORs en fase REM en enfermos, portadores de la mutación y controles. Las cotas de cada barra representan la desviación estándar del error. ns: no significativo.**

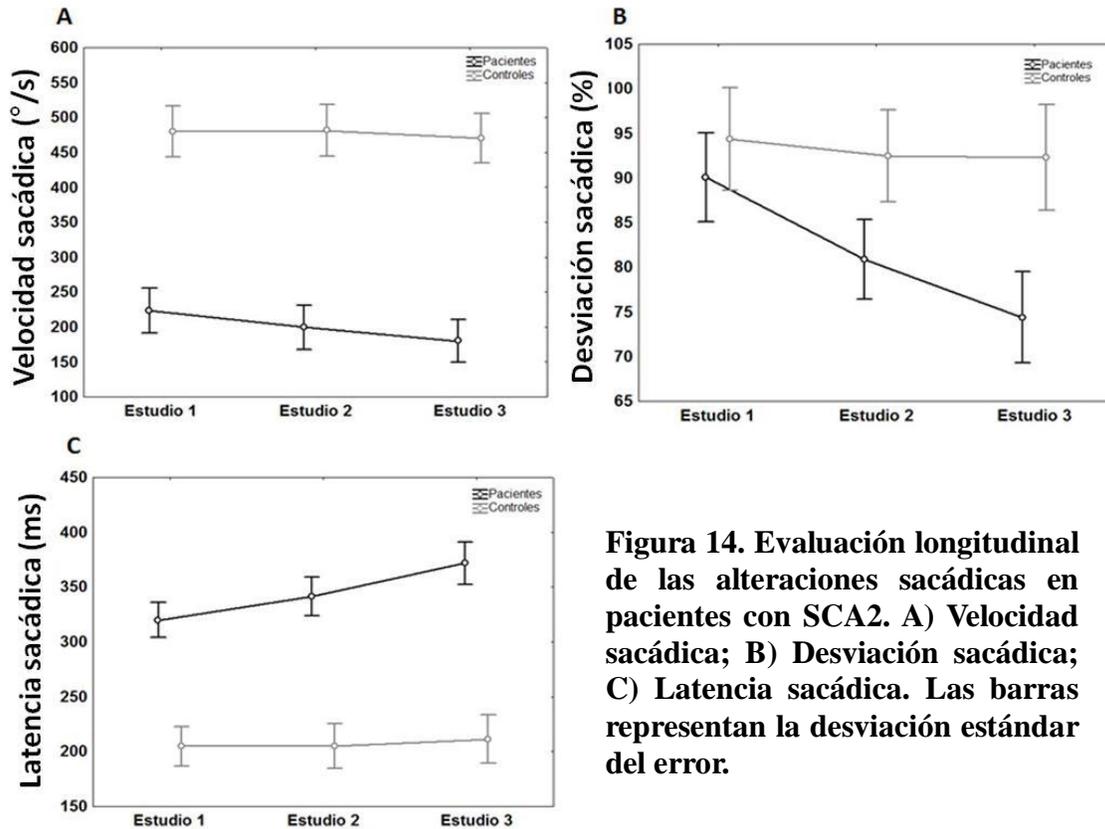
En el grupo de portadores de la mutación no se mostró asociación entre ningún parámetro sacádico en vigilia con la densidad de MORs en sueño REM (velocidad sacádica:  $r=0,25$ ;  $p=0,318$ ; desviación sacádica:  $r=0,20$ ;  $p=0,435$ ; latencia sacádica:  $r=-0,05$ ;  $p=0,714$ ).

### **3.3 Evaluación electronistagmográfica longitudinal de las alteraciones sacádicas en pacientes con SCA2.**

Los análisis de ANOVA de medidas repetidas para las tres variables sacádicas revelaron una disminución significativa de la velocidad ( $F_{(2,136)}=3,8894$ ,  $p=0,023$ ) y la desviación ( $F_{(2,136)}=8,3948$ ,  $p=0,000$ ), así como incremento de la latencia sacádica ( $F_{(2,134)}=7,1776$ ,  $p=0,001$ ) en el grupo de enfermos. El grupo control, no mostró cambios significativos de ninguna variable sacádica (Figura 14 A-C).

En la tabla 3 se muestra la estadística descriptiva de la tasa de progresión de las alteraciones sacádicas en ambos grupos, así como la comparación de medias intergrupos. En todos los casos, los pacientes mostraron un incremento significativo de estos parámetros, en comparación con los controles. Como promedio, cada año los enfermos experimentan una

disminución de la velocidad y la desviación sacádica en 21,78 °/s y 7,86% respectivamente, así como un incremento de la latencia sacádica en 25,44 ms.



**Figura 14. Evaluación longitudinal de las alteraciones sacádicas en pacientes con SCA2. A) Velocidad sacádica; B) Desviación sacádica; C) Latencia sacádica. Las barras representan la desviación estándar del error.**

La tasa de progresión del enlentecimiento sacádico correlacionó significativamente con la edad de inicio de la enfermedad ( $r=0,37$ ;  $p=0,019$ ). Sin embargo, este parámetro no mostró asociación con la edad ( $r=0,23$ ;  $p=0,150$ ), la duración de la enfermedad ( $r=-0,09$ ;  $p=0,574$ ) ni el número de repeticiones de CAG en los alelos expandidos ( $r=-0,08$ ;  $p=0,619$ ) o normales ( $r=0,10$ ;  $p=0,526$ ). En los casos de la desviación y la latencia sacádica, la tasa de progresión no mostró correlación con ninguna de las variables clínicas y moleculares. En el grupo de controles se obtuvo correlación entre la edad y la tasa de prolongación de la latencia sacádica ( $r=0,66$ ;  $p<0,0001$ ).

**Tabla 3. Estadística descriptiva y comparación de medias de la tasa progresión de las variables sacádicas analizadas en el estudio longitudinal.**

<b>VARIABLES</b>	<b>GRUPO</b>	<b>Media ± DE</b>	<b>IC 95%</b>	<b>Rango (min-max)</b>	<b>p</b>
<b>Velocidad sacádica</b>	SCA2	21,78 ± 28,08	12,79-30,76	-9,00-89,50	0,030
	CON	4,76 ± 27,29	-4,56-17,42	-55,97-73,16	
<b>Desviación Sacádica</b>	SCA2	7,86 ± 9,33	4,88-10,84	-5,00-37,50	0,001
	CON	1,03 ± 6,29	-1,32-3,38	-18,50-10,51	
<b>Latencia Sacádica</b>	SCA2	25,44 ± 31,88	15,24-35,63	-15,00-119,50	0,003
	CON	3,36 ± 26,56	-6,56-13,27	-52,91-87,82	

*IC: Intervalo de Confianza, CON: Controles*

## CAPÍTULO IV. DISCUSIÓN

### 4.1 Evaluación clínica y neurocognitiva de los pacientes con SCA2.

La evaluación clínica de los pacientes reveló una combinación de alteraciones cerebelosas asociadas a otros signos y síntomas neurológicos. La principal característica clínica fue el síndrome cerebeloso, el que estuvo caracterizado por manifestaciones neurodegenerativas del vermis y los hemisferios cerebelosos. Entre las primeras, resaltan las alteraciones de la marcha y la estabilidad postural, mientras que la afectación de los hemisferios cerebelosos se reflejó, clínicamente, mediante la dismetría, adiadococinesia, disartria e hipotonía (*Grimaldi y Manto, 2011*). Estos resultados son compatibles con evidencias neuropatológicas e imagenológicas que indican la severa neurodegeneración a que están sometidas estas regiones cerebelosas en sujetos afectados por la SCA2 (*Scherzed y col., 2011; Della Nave y col., 2008*).

La puntuación total de la escala SARA mostró una elevada dependencia del número de repeticiones del trinucleótido CAG y de la duración de la enfermedad, como reflejo del rol de la mutación y su efecto patogénico acumulativo, sobre la severidad del síndrome cerebeloso, lo que convierte a esta escala en una herramienta útil para evaluar la progresión de la SCA2. Por tanto, los estudios de asociación entre la puntuación de la escala SARA y variables clínicas, neurofisiológicas o imagenológicas, pueden ser muy valiosos en la identificación de biomarcadores de progresión de la enfermedad y parámetros cuantitativos para la evaluación de alternativas terapéuticas.

Las alteraciones frontoejecutivas observadas pueden explicarse por la expresión de la ataxina 2 en el lóbulo frontal (*Huynh y col., 1999*), así como la muerte neuronal y atrofia del mismo (*Estrada y col., 1999*). Sin embargo, la interpretación anatomopatológica de estas alteraciones no puede circunscribirse solo al lóbulo frontal, pues existen otras estructuras involucradas en estas funciones cognitivas, tales como los ganglios basales (*Crosson y col., 2002*) y el cerebelo (*Schmahmann y Sherman, 1998; Küper y col., 2012*), las que también están afectadas en la SCA2 (*Estrada y col., 1999*).

Los déficits de la memoria verbal en estos pacientes puede guardar relación con la degeneración del sistema colinérgico del cerebro basal anterior, el que provee las mayores aferencias de este neurotransmisor sobre el hipocampo y la amígdala (*Seidel y col., 2012*). Además, en estas dos estructuras existe una elevada tasa de expresión de la ataxina 2 (*Huynh y col., 1999*) y en la primera se han reportado inclusiones neuronales de esta proteína (*Hoche y col., 2011*).

La evaluación clínica de los movimientos oculares sacádicos detectó enlentecimiento y disminución de su amplitud en la mayoría de los casos, lo que concuerda con la frecuencia reportada por otros autores en poblaciones cubanas y de otras regiones del mundo (*Velázquez-Pérez y col., 2009a, Filla y col., 1995; Geschwind y col., 1997, Wadia y Swami, 1971, Beguería, 1977*). El bajo porcentaje de pacientes con nistagmos patológicos se explica por la marcada incapacidad que muestran los pacientes con SCA2 para desarrollar los movimientos oculares rápidos que caracterizan al nistagmo.

Nuestros resultados indican que la evaluación clínica de la función oculomotora sacádica en pacientes con SCA2 puede ayudar a definir presuntivamente el diagnóstico de esta enfermedad, dada su capacidad de discriminar entre otras formas moleculares de ataxia

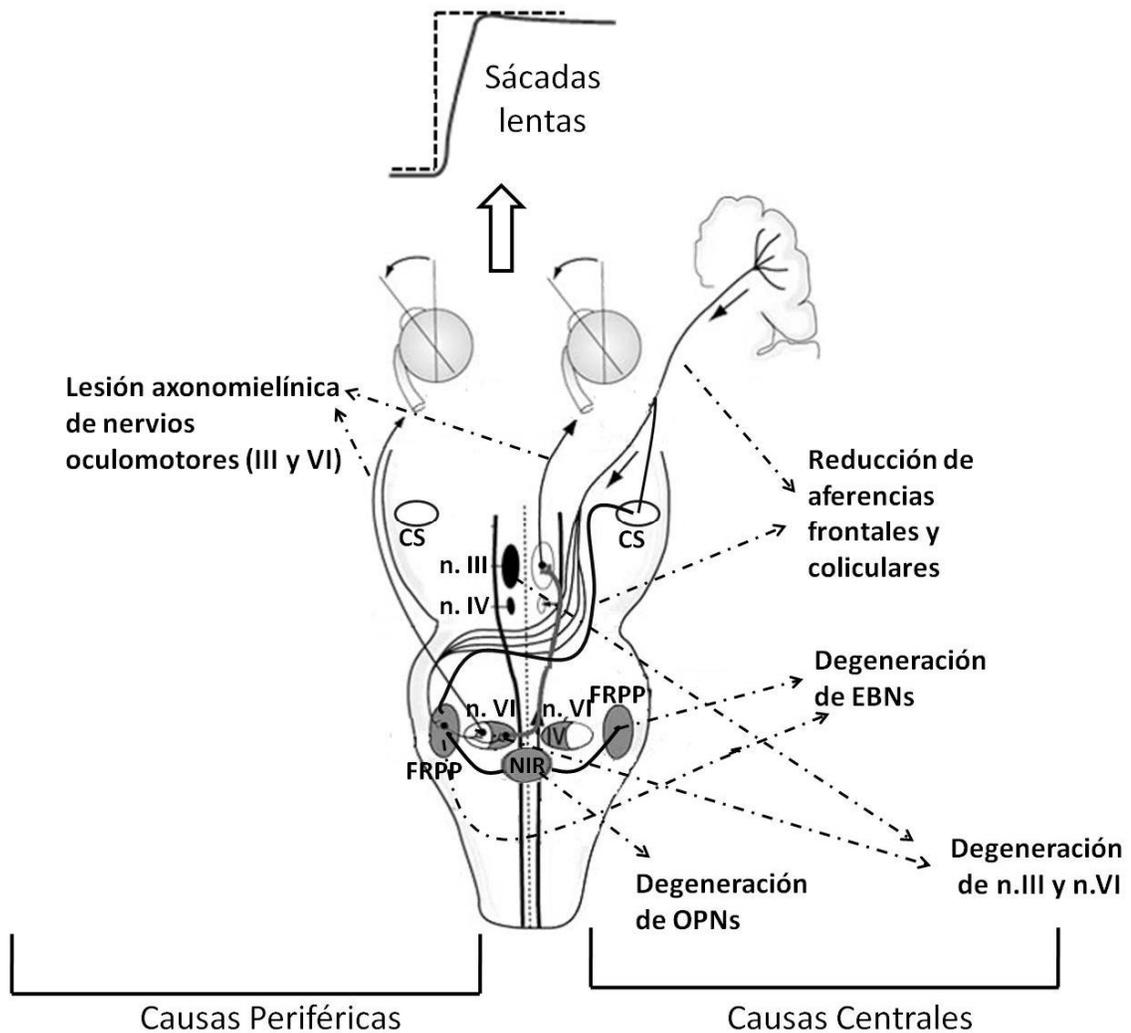
dominantes. Sin embargo, la evaluación clínica de estas alteraciones carece de la sensibilidad y objetividad requerida para reconocer las primeras manifestaciones sacádicas en portadores de la mutación o en estadios tempranos de la enfermedad, así como para estimar la progresión de estas alteraciones y evaluar los determinantes clínicos y moleculares de las mismas, así como los efectos producidos por alternativas terapéuticas. Por tanto, para alcanzar una mayor caracterización del sistema sacádico en la SCA2, evaluar su estado funcional e identificar los principales determinantes de sus alteraciones se hace necesario el empleo de técnicas neurofisiológicas objetivas, como la electronistagmografía.

## **4.2 Alteraciones sacádicas en pacientes con SCA2**

### **4.2.1 Enlentecimiento sacádico.**

En este trabajo, se observó una reducción significativa de la velocidad sacádica horizontal en los pacientes con SCA2, la que se acentúa para los estímulos de mayor amplitud. La integración de estos resultados electronistagmográficos con las evidencias neuroanatómicas disponibles permiten reconocer las causas del enlentecimiento sacádico en la SCA2 y clasificarlas en centrales y periféricas. Las causas de origen central incluyen la muerte neuronal de las células EBN en la FRPP, degeneración de las neuronas OPN en el núcleo interpuesto del Rafe, la degeneración de los núcleos oculomotores del III y VI par y la reducción de las aferencias frontales y coliculares. Por su parte, las causas periféricas se relacionan con lesión axonomielínica de los nervios oculomotor común (III) y abductor (VI) (Figura 15).

La degeneración de las neuronas EBN en la FRPP, como principal evidencia neuropatológica del enlentecimiento sacádico en pacientes con SCA2, fue demostrada por



**Figura 15.** Esquema representativo de las causas centrales y periféricas del entrecimiento sacádico horizontal en la SCA2. CS: Colículo Superior; FRPP: Formación reticular pontina paramediana, NIR: Núcleo interpuesto del Rafe, EBN: Neuronas de descarga excitatoria, OPN: Neuronas omnipausas. Para simplificar el modelo presentado, solo se incluyeron las principales estructuras generadoras de la velocidad sacádica. Adaptado de *Strupp y col., 2011*.

Geiner y colaboradores en 2008, quienes estudiaron muestras *post-mortem* de un enfermo con marcada disminución de la velocidad sacádica horizontal. Estos autores encontraron una reducción significativa de la subpoblación de EBNs, así como disminución del árbol dendrítico de las que sobreviven (Geiner y col., 2008). Estos cambios neurodegenerativos implican la reducción del pulso de inervación sacádico generado por las neuronas EBN, y conducido a través de los núcleos y nervios oculomotores del III y VI par hacia los músculos extraoculares. Como consecuencia de lo anterior, no se logra una contracción óptima de los mismos, reduciéndose la velocidad del movimiento ocular.

La degeneración de las neuronas omnipausas en el núcleo interpuesto del Rafe de pacientes con SCA2 (Seidel y col., 2012) contribuye a la severa reducción de la velocidad sacádica en estos individuos. La pérdida de estas neuronas glicinérgicas reduce la sensibilidad de las células EBN, pues disminuye la hiperpolarización pre-sacádica necesaria para la activación de las corrientes de calcio de bajo umbral y por tanto reduce la conductividad de los canales NMDA en estas neuronas premotoras (Miura y Optican 2006; Optican, 2008).

Por su parte, los elevados niveles de expresión de la ataxina 2 en la corteza frontal y el colículo superior (Huynh y col., 1999), unido a la atrofia de esta región cortical (Estrada y col., 1999) producen una reducción de las aferencias frontales y coliculares que conducen los comandos sacádicos hacia las neuronas EBN, lo que implica una menor actividad de estas últimas.

En relación con las causas periféricas del enlentecimiento sacádico, los estudios neuropatológicos demuestran altos niveles de muerte neuronal y astrogliosis en los núcleos de los nervios craneales oculomotor (III par) y abductor (VI par); así como atrofia y desmielinización de los fascículos correspondientes (Gierga y col., 2005). Según lo

anterior, los cambios degenerativos en los núcleos oculomotores de los pares craneales III y VI, así como en los fascículos oculomotores generan una conducción anormal del pulso de inervación sacádica hacia los músculos rectos medial y recto lateral respectivamente, enlenteciendo los movimientos oculares en el plano horizontal.

La mayor expresión del enlentecimiento sacádicos ante amplitudes más grandes, se relaciona con un mayor requerimiento energético de las neuronas del circuito premotor sacádico bajo estas condiciones. Se conoce que la tasa de descarga de las neuronas EBN y del núcleo abductor del VI par es proporcional a la magnitud del movimiento ocular (*Marion y col., 2008; Sparks, 2002*), lo que implica un mayor requerimiento energético celular, que no puede ser eficientemente suplido, debido a la disfunción mitocondrial y del metabolismo del calcio (*Durr, 2010*).

La combinación del examen clínico oculomotor y electronistagmográfico demostró que el enlentecimiento sacádico aparece en casi la totalidad de los enfermos con SCA2, resultando este el primer reporte en una muestra suficientemente grande, lo que identifica a esta alteración oculomotora como un signo patognomónico de la SCA2. Otros autores habían realizado reportes sobre la alta frecuencia de estas alteraciones en pacientes con SCA2 (*Bürk y col., 1999a; Buttner y col., 1998, Wadia y col., 1998*), sin embargo, el tamaño de la muestra empleada fue notablemente inferior y no integraron los resultados clínicos y electronistagmográficos.

En comparación con otras ataxias dominantes, la SCA2 muestra los mayores niveles de enlentecimiento sacádico, lo que favorece el diagnóstico diferencial de esta entidad contra la SCA1, SCA3, SCA6 y SCA17, formas que desarrollan un enlentecimiento ocular menos notable y en las cuales predominan la disimetría y los nistagmos patológicos, menos

frecuentes en la SCA2 (*Pula y col, 2010*). En el caso de la SCA7, en la que también se presenta un enlentecimiento sacádico severo, el diagnóstico diferencial de ambas entidades se basa mayoritariamente en la función visual, dado que los pacientes con SCA7 desarrollan signos marcados de retinopatía, a diferencia de los casos con SCA2 (*Miller y col., 2009*).

#### **4.2.2 Dismetría sacádica.**

En este trabajo observamos una alta frecuencia de pacientes SCA2 con disimetría sacádica, la que se caracterizó por su elevada heterogeneidad y dependencia del grado de estimulación. En este sentido, se obtuvo un predominio de sácadas hipermétricas para los estímulos de menor amplitud, mientras que para los de mayor amplitud se observó un predominio de sácadas hipométricas. Parte de estos resultados coinciden con los presentados por Buttner y colaboradores en 1998, quienes reportaron la presencia de hipermetría sacádica a 30° en el 40% de la serie estudiada (*Buttner y col., 1998*). Sin embargo, otros autores no observaron alteraciones de la desviación sacádica para estímulos de baja amplitud (*Rivaud-Pechoux y col., 1998; Federighi y col., 2011*).

En el caso específico de la SCA2, las causas de la disimetría sacádica pueden ser varias. La principal se basa en la degeneración del vermis oculomotor y en menor grado la atrofia del núcleo fastigio, lo que produce la disfunción de los circuitos que participan en la correcta sincronización del inicio y terminación de las sácadas. Otras causas, de origen extracerebeloso son: pérdida de las aferencias cerebelosas procedentes de fibras musgosas y trepadoras; así como degeneración de los núcleos del tálamo oculomotor.

La degeneración del vermis oculomotor en pacientes con SCA2 ha sido demostrado mediante estudios neuropatológicos *post-mortem* (*Estrada y col., 1999; Scherzed y col.,*

2011) y estudios neuro-imagenológicos (*Della Nave y col., 2008*). Por su parte, algunos estudios neuropatológicos han mostrado la atrofia del núcleo fastigio, aunque el nivel de daño de esta estructura es menor en comparación con otras ataxias dominantes (*Scherzed y col., 2011; Seidel y col., 2012*).

El patrón hipermétrico predominante para los estímulos de menor amplitud, en el grupo de enfermos y en los portadores de la mutación, pudiera relacionarse con la degeneración neuronal del circuito cerebeloso que regula la terminación del movimiento ocular. En la figura 16 se presenta un esquema resumido del mismo y su disfunción en la SCA2. Este circuito se basa en la descarga temprana de las células de Purkinje en el vermis oculomotor ipsilateral a la dirección del movimiento; lo que produce una importante hiperpolarización en el núcleo fastigio caudal, del mismo lado. Se sugiere que la magnitud del estado hiperpolarizado en las neuronas nucleares, es esencial para su actividad, una vez que las neuronas de Purkinje dejan de descargar abruptamente durante la segunda mitad del movimiento (*Aizenman y Linden, 1999; Czubayko y col., 2001*). Lo anterior, obedece a una mayor activación de los canales de calcio dependientes de hiperpolarización, responsables de la actividad tardía del núcleo fastigio caudal ipsilateral. En consecuencia, se produce la activación de las neuronas IBN contralaterales, las que inhiben el circuito premotor ipsilateral y detienen el movimiento ocular (*Prsa y Thier, 2011; Robinson y Fuch, 2001*). En el caso de la SCA2, la degeneración de neuronas de Purkinje en el vermis oculomotor impide que las neuronas del núcleo fastigio caudal alcancen la hiperpolarización requerida, lo que reduce su actividad y en correspondencia la de las neuronas IBN contralaterales. Lo anterior, causa un retardo en la inhibición del circuito premotor ipsilateral, produciendo movimientos oculares sacádicos hipermétricos. Por su parte, la hipometría sacádica

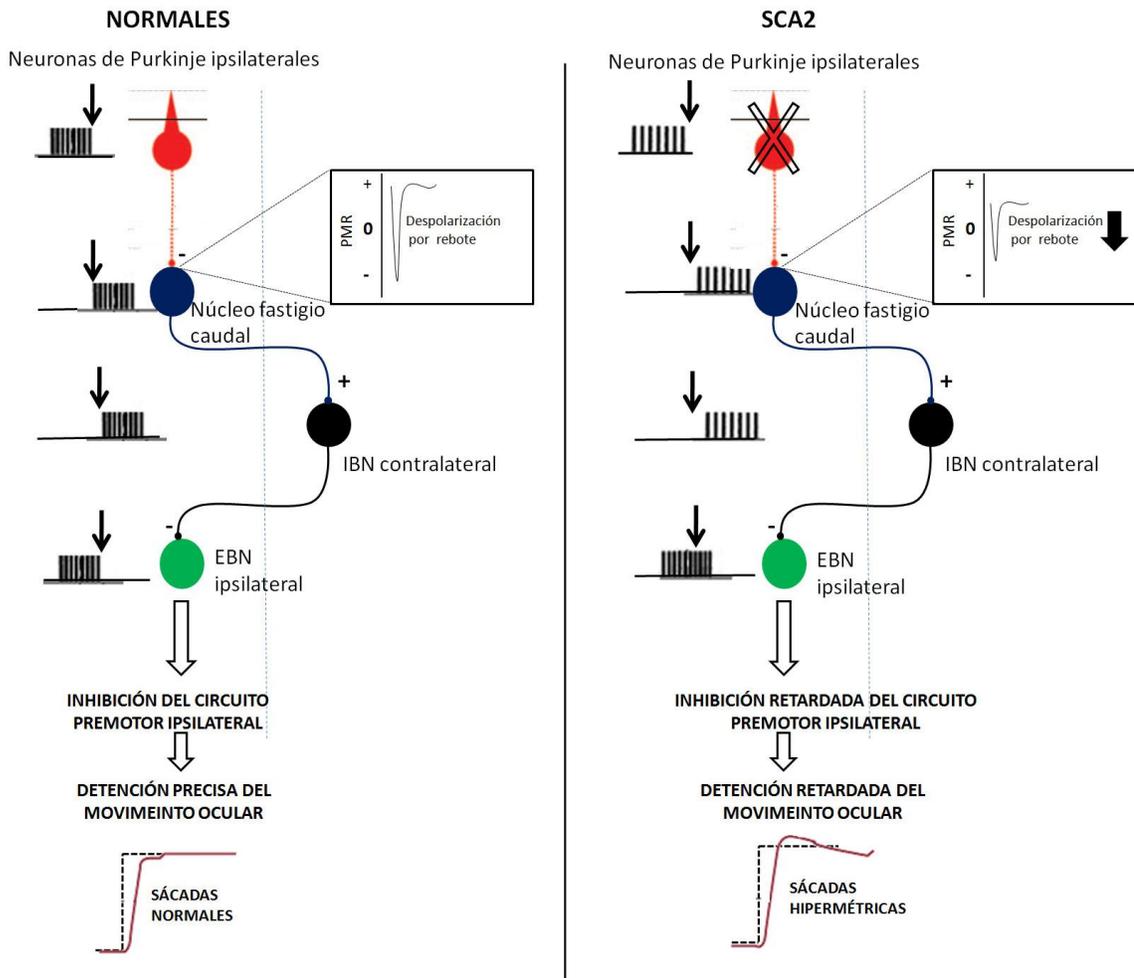


Figura 16. Esquema simplificado del circuito que regula la terminación de los movimientos oculares sacádicos en condiciones normales y en la SCA2. Se ejemplifica el modelo para la terminación de un movimiento ocular sacádico dirigido hacia la izquierda. Las flechas de color negro (delgadas) indican el momento en que se activa el circuito para la terminación del movimiento ocular. PMR: Potencial de membrana en reposo, IBN: Neuronas de descarga inhibitoria; EBN: Neuronas de descarga excitatoria.

observada para los movimientos de mayor amplitud puede explicarse por una mayor expresión del “*efecto de rango*”, según el cual, hacia posiciones más extremas de la mirada disminuye la eficiencia oculomotora y por tanto existe mayor probabilidad de sácadas hipométricas (*Kapoula y Robinson, 1986*). A lo anterior, se añade que el enlentecimiento sacádico en la SCA2 es más notable para los estímulos de mayor tamaño, por tanto, en estas condiciones se produce una limitación más significativa del movimiento, con la consecuente reducción de su amplitud.

La pérdida de las fibras musgosas y trepadoras que arriban al vermis oculomotor, en pacientes con SCA2, se sustenta en la degeneración de los núcleos NRTP y accesorio medial de la oliva inferior, respectivamente (*Seidel y col., 2012, Ying y col., 2008*). Lo anterior, implica un retardo en la llegada de los comandos motores procedentes del colículo superior, a través de las fibras musgosas del NRTP. Esto impide la correcta sincronización del inicio y terminación del movimiento y modifica su amplitud, lo que genera errores motores en la precisión del mismo. A su vez, la información sobre estos errores es conducida de forma anormal por las fibras trepadoras procedentes del núcleo accesorio medial de la oliva inferior, causando anomalías en la corrección de la disimetría.

Por otro lado, la degeneración de los núcleos del tálamo oculomotor (*Rub y col., 2003a; 2005b*) altera la conducción de la copia eferente, procedente del cerebelo y los ganglios basales, hacia las regiones oculomotoras de la corteza, lo que impide la modificación de los comandos sacádicos centrales, como parte de los mecanismos de retroalimentación interna.

#### **4.2.3. Prolongación de la latencia sacádica.**

Los datos que recoge la literatura sobre la prolongación de la latencia sacádica en pacientes con SCA2 son contradictorios, dada la reducida cantidad de estudios y de pacientes

evaluados. Por tanto, nuestro trabajo representa el estudio más amplio de esta variable, en pacientes con SCA2 u otras formas moleculares de ataxias hereditarias.

Con esta investigación demostramos que además del severo enlentecimiento de los movimientos oculares sacádicos y las alteraciones de su precisión, los pacientes con SCA2 presentan trastornos en la iniciación de los mismos, lo que se expresa mediante la prolongación de la latencia sacádica, tanto para estímulos de baja amplitud como para los de mayor tamaño.

Nuestros resultados están en concordancia con *Buttner y col., 1998*, quienes identificaron un incremento de la latencia sacádica a 30° en pacientes con SCA2, aunque la proporción de sujetos con este signo oculomotor fue mayor en su serie de casos (60%) que en la nuestra. Sin embargo, el reducido tamaño muestral empleado por estos autores y el uso de un valor fijo, independiente de la edad, como umbral, representan sesgos importantes en ese estudio.

La prolongación de la latencia sacádica en pacientes con SCA2, se puede explicar a partir de evidencias neuroanatómicas, neurofisiológicas y neuropsicológicas. Las primeras demuestran la degeneración y/o disfunción de estructuras corticales que participan en la programación de los comandos sacádicos centrales, además de la muerte neuronal en áreas subcorticales involucradas en la desinhibición del circuito premotor del tallo cerebral; así como atrofia del vermis oculomotor. Por su parte, la integración de evidencias neurofisiológicas disponibles permite identificar a la disfunción de las vías de conducción extra-estriadas, como una causa importante del retardo en el inicio de estos movimientos. La otra causa implicada en la prolongación de la latencia sacádica, se relaciona con las alteraciones en la atención visuoespacial, obtenidas a partir de exámenes neurocognitivos.

Los estudios neuropatológicos en pacientes con SCA2, muestran signos de muerte neuronal y atrofia del lóbulo frontal, así como cambios neurodegenerativos en los núcleos caudado, putamen y la sustancia negra reticulada (*Orozco y col., 1989; Durr y col., 1995, Gierga y col., 2005*), estructuras involucradas en la iniciación de movimientos oculares voluntarios (*Watanabe y Munoz; 2011*). Por otro lado, los estudios de tomografía por emisión de positrones evidencian una reducción de la tasa metabólica en la corteza parietal (*Wullner y col., 2005*). Aunque no existen reportes de la afectación específica del colículo superior en la SCA2, se conoce que este es una de las estructuras nerviosas con mayores niveles de expresión de la ataxina 2 (*Huynh y col., 1999*), por lo que podríamos considerar a la degeneración del colículo superior como una posible causa de la prolongación de la latencia sacádica en pacientes con SCA2.

Aunque el daño cerebeloso es usualmente relacionado con alteraciones de la precisión sacádica, un estudio realizado en monos, a los que se les lesionó el vermis oculomotor, demostró que esta estructura también participa en el control de la iniciación del movimiento ocular (*Takagi y col., 1998*). Por tanto, la degeneración cerebelosa asociada a la SCA2, también podría determinar la iniciación tardía de las sácadas, producto a las disfunción de las proyecciones cerebelo-coliculares o cerebelo-pontinas.

La estrecha interacción existente entre áreas visuales estriadas y extraestriadas dentro del sistema oculomotor (*Pierrot-Deseilligny y col., 1997*), convierten a la latencia sacádica en un parámetro sensible para estimar el estado funcional de la conducción visual aferente y su procesamiento en regiones extraestriadas (*Brigell y col., 1988*). Por tanto, la alteración de los potenciales P300 visuales en pacientes con SCA2 (*Kremlacek y col, 2011*), representa una evidencia neurofisiológica de la prolongación de la latencia sacádica en esta entidad.

Por último, sugerimos que los déficits de la atención visuo-espacial en los pacientes con SCA2 (*Le Pira y col., 2002*), pueden influir sobre el incremento de la latencia de los movimientos oculares sacádicos, dada la estrecha asociación existente entre los procesos atencionales y oculomotores a nivel neural (*Findlay 2009, Hoan y col., 2008*). En este sentido, los estudios de RMN funcional han demostrado un notable solapamiento de las estructuras frontales y parietales que intervienen en la atención espacial y los movimientos oculares sacádicos, tales como las áreas prefrontales que incluyen al COF y COS, así como la CCA, entre otras (*Nobre y col., 2000; Corbetta y col. 1998*).

Por otro lado, nuestros resultados sugieren la influencia significativa de la prolongación de la latencia sacádica sobre el enlentecimiento y la disimetría de estos movimientos. En nuestro juicio, la base de esta relación radica en el papel funcional del colículo superior. Se conoce que la actividad neural de esta estructura correlaciona inversamente con la latencia sacádica y directamente con la velocidad sacádica (*Isa y Hall, 2009*). Por tanto, la probable afectación colicular en pacientes con SCA2 puede producir sácadas de inicio retardado y de menor velocidad.

Este es el primer estudio que evalúa la relación entre la prolongación de la latencia sacádica con el resto de las alteraciones de estos movimientos, en pacientes con ataxias hereditarias. Un estudio similar fue realizado en una cohorte de pacientes esquizofrénicos y sus respectivos controles sanos, en el que también se obtuvo una influencia significativa de la latencia sacádica sobre las alteraciones de la velocidad y la desviación sacádica (*Ramchandran y col., 2004*).

#### **4.2.4 Variables sacádicas como herramientas diagnósticas de la SCA2.**

El estudio de la especificidad, sensibilidad y valor predictivo de las variables sacádicas, es un paso importante para la caracterización de estos parámetros como herramientas diagnósticas en la SCA2. Entre estos, la velocidad sacádica mostró los mayores valores de especificidad y sensibilidad, lo que la identifica como el parámetro que mejor discrimina entre los sujetos afectados y los sanos. En consecuencia, esta variable mostró valores predictivos superiores al 90%, tanto para las pruebas positivas como las negativas, lo que indica una baja probabilidad de diagnosticar falsos-positivos y falsos-negativos, respectivamente. Por su parte, la desviación y la latencia sacádica, mostraron baja sensibilidad, resultado que limita su empleo con fines diagnósticos. Sin embargo, la latencia sacádica presentó un valor predictivo positivo similar al de la velocidad, sugiriendo su utilidad diagnóstica, cuando se presenta un resultado positivo de esta variable.

#### **4.2.5 Influencia del trinucleótido CAG sobre los movimientos oculares sacádicos en la SCA2.**

Aunque la mayoría de las enfermedades poliglutamínicas se caracterizan por alteraciones de los movimientos oculares sacádicos, en ninguna se ha demostrado una asociación directa entre el tamaño de la expansión de CAG y el estado funcional del sistema sacádico (*Bürk y col., 1999a; Buttner y col., 1998; Rivaud-Pechoux y col., 1998*). Sin embargo, en este trabajo se observó una estrecha relación entre la velocidad sacádica y el número de repeticiones de CAG en los alelos expandidos, lo que indica la influencia directa de la expansión poliglutamínica de la ataxina 2, sobre las estructuras generadoras de la velocidad sacádica. Tales observaciones identifican a esta variable como un parámetro fisiológico cuantitativo y objetivo, que está bajo un fuerte control genético.

Los estudios de regresión lineal simple indican que los niveles de asociación entre el número de repeticiones de CAG con la velocidad sacádica y la edad de inicio de los síntomas son muy similares. Según este resultado, ambas variables pudieran brindar una información muy parecida sobre el tamaño de la expansión de CAG. Sin embargo, la mayor objetividad y robustez de la velocidad sacádica, en comparación con la edad de inicio, la ubican como un mejor biomarcador de daño genético. La principal limitación de la edad de inicio radica en su baja objetividad, pues en muchas ocasiones depende de la valoración personal de cada paciente o sus familiares, quienes tienden a asociar este momento con algún otro acontecimiento contemporáneo al debut clínico, lo que introduce sesgos importantes. Por tanto, la velocidad sacádica puede considerarse como un biomarcador sustituto de la edad de inicio, con una apreciable utilidad en la evaluación del daño genético asociado a la SCA2. Lo anterior ofrece nuevas ventajas en las investigaciones básicas y aplicadas sobre la SCA2, pues permite evaluar el efecto de factores genéticos modificadores o alternativas terapéuticas específicas sobre la toxicidad poliglutamínica, lo que puede favorecer la identificación de otros genes modificadores del fenotipo, así como nuevas opciones de tratamiento contra la enfermedad.

La definición de la velocidad sacádica y sus intervalos de confianza, para cada expansión de CAG, permiten identificar los rangos esperados de esta variable, así seleccionar los pacientes SCA2 que muestren un comportamiento desviado para estos rangos de referencia. En este sentido, la identificación de sujetos con velocidades sacádicas por encima del rango esperado, constituye un paso importante para la búsqueda de factores neuroprotectores que reduzcan la patogenicidad poliglutamínica. En cambio, aquellos individuos con velocidades por debajo del rango de referencia, son candidatos valiosos para investigaciones destinadas

a la identificación de factores genéticos que potencializan el efecto tóxico de la mutación SCA2.

En comparación con otros biomarcadores de daño genético identificados en la SCA2, la velocidad sacádica es el más consistente, dada la elevada frecuencia de aparición de esta alteración y la relativa facilidad con que esta puede obtenerse. Por ejemplo, aunque el porcentaje de sueño REM sin atonía muestra mayores coeficientes de correlación con el número de repeticiones de CAG solo se presenta en el 30% de los casos, lo que limita su empleo como biomarcador de daño genético (*Velázquez-Pérez y col., 2011b*).

La ausencia de correlación entre la latencia sacádica y el número de repeticiones de CAG en los alelos expandidos sugiere que este parámetro fisiológico no está directamente controlado por la mutación, sino por otros factores relacionados con la enfermedad. Este resultado coincide con los hallazgos observados en otras poliglutaminopatías como la SCA1, SCA3, SCA17 y la enfermedad de Huntington, corroborando que, a pesar de que las estructuras implicadas en la iniciación de los movimientos oculares sacádicos son vulnerables a las expansiones poliglutamínicas, no es el tamaño de la expansión, propiamente dicho, lo que produce las alteraciones funcionales, sino otros factores relacionados con estas (*Bürk y col., 1999a; Buttner y col., 1998; Rivaud-Pechoux y col., 1998; Hubner y col., 2007*).

En este trabajo, se realizó un análisis de la heredabilidad de los movimientos oculares sacádicos en pacientes con SCA2, lo que representa el primer estudio de su tipo entre las ataxias hereditarias y enfermedades poliglutamínicas. Los estudios de heredabilidad representan una importante herramienta para estimar la contribución que ejercen los factores genéticos sobre distintas características fenotípicas, fundamentalmente aquellas

que se consideran marcadores endofenotípicos de una enfermedad específica (*Gottesmann y Gold, 2003, Hong y col., 2006, Greenwood y col., 2007*). Según nuestros resultados, el 70% de la varianza residual de la velocidad sacádica a 30°, es explicado por factores genéticos, independientes al número de repeticiones de CAG en los alelos expandidos, y/o a factores ambientales compartidos por los familiares estudiados. En el caso de la velocidad sacádica a 60°, estos factores explican el 94% de su varianza residual, por lo que solo el 6% de la misma obedece a factores ambientales no compartidos.

Este análisis, refleja el estricto control genético a que está sometida la velocidad sacádica en pacientes con SCA2 y sugiere el efecto de otros factores *trans*-actuantes, independientes del número de repeticiones de CAG, sobre esta variable. Nuestros resultados, coinciden con un estudio similar realizado en sujetos sanos, en el que se estimó una heredabilidad del 86% para la velocidad sacádica (*Blekher y col., 2004*), un valor cercano al encontrado en este trabajo para las sácadas a 60°.

Por otro lado, los estimados de heredabilidad para la velocidad sacádica a 30° y 60° fueron superiores a los reportados previamente para la edad de inicio de la enfermedad, otra variable estrechamente relacionada con el número de repeticiones del trinucleótido CAG, (*Pulst y col., 2005; Almaguer-Mederos, 2010*). Esto sugiere una mayor influencia de los factores genéticos y/o ambientales compartidos, sobre la velocidad sacádica; lo que convierte a esta variable en un marcador endofenotípico más objetivo que la edad de inicio. Lo anterior, implica una mayor utilidad de la velocidad sacádica en la identificación de factores genéticos modificadores de la enfermedad, mediante estudios de asociación o de ligamiento genético. Además, el profundo conocimiento existente sobre las bases neuroanatómicas y neurofisiológicas del sistema sacádico (*Leigh y Zee, 2006*), representa

una ventaja adicional para la búsqueda de estos factores genéticos, pues permite enfocar los esfuerzos en aquellos genes de mayor expresión en las estructuras implicadas directamente en la velocidad sacádica.

#### **4.2.6 Influencia de parámetros clínicos con los movimientos oculares sacádicos en pacientes con SCA2.**

En el presente trabajo, demostramos la estrecha asociación entre la velocidad sacádica y la edad, edad de inicio y la puntuación de la escala SARA, en pacientes con SCA2. Sin embargo, esta no mostró relación con la duración de la enfermedad. Este comportamiento obedece a la fuerte influencia que ejerce el número de repeticiones de CAG, sobre la duración de la vida, la edad de inicio, la severidad de la enfermedad y la velocidad sacádica. Se conoce que los casos con repeticiones trinucleotídicas más cortas, enferman tardíamente y muestran un curso menos progresivo de la neurodegeneración, lo que incrementa sus probabilidades de supervivencia (*Almaguer-Mederos y col., 2012*). Por tanto, es común que los pacientes de mayor edad, porten las expansiones de CAG más pequeñas y en consecuencia, muestren los valores más altos de velocidad sacádica.

Los estudios de correlación simple, usando los valores de velocidad sacádica, corregidos para el tamaño de la expansión; así como los estudios de regresión lineal múltiple confirmaron el efecto determinante del número de repeticiones de CAG, sobre la asociación entre la velocidad sacádica, la edad y la edad de inicio. Por tanto, el análisis de la influencia que ejerce la edad sobre la velocidad sacádica, en pacientes con SCA2, está notablemente sesgado por el número de repeticiones de CAG en los alelos mutados, lo que sugiere la necesidad de un diseño longitudinal para evaluar este efecto.

La correlación de la velocidad y la desviación sacádica con la puntuación de la escala

SARA identifica a estos parámetros como biomarcadores de progresión de la enfermedad, dada su capacidad de reflejar la severidad de misma y en consecuencia estimar los cambios en la progresión del síndrome cerebeloso, como resultado de la historia natural de la SCA2 o como resultado de alternativas terapéuticas.

#### **4.3 Alteraciones tempranas de los movimientos oculares sacádicos en la SCA2.**

Los estudios de los movimientos oculares sacádicos en portadores de mutaciones causantes de enfermedades poliglutamínicas son limitados e incluyen un reducido número de sujetos. Las principales contribuciones provienen del estudio de portadores de la mutación de la enfermedad de Huntington (*Blekher y col., 2006*), mientras que entre las ataxias hereditarias solo se han descrito en SCA6 (*Christova y col., 2008*), SCA7 (*Oh y col., 2001*) y SCA17 (*Hubner y col., 2007*), pero no en SCA2. Por tanto, el presente, constituye el primer reporte sobre las alteraciones de los movimientos oculares sacádicos en estadio preclínico de la SCA2 y a la vez el más amplio estudio de este tipo entre todas las poliglutaminopatías.

El principal resultado fue la disminución significativa de la velocidad sacádica para los estímulos de mayor amplitud, lo que se acompaña por el incremento de la desviación sacádica para los tres estímulos empleados. Una explicación para el enlentecimiento sacádico en portadores de la mutación SCA2 es que la degeneración de las neuronas pontinas se inicia más tempranamente que la degeneración de las neuronas cerebelosas, lo que fue recientemente sustentado por un estudio imagenológico que estimó una mayor vulnerabilidad del puente a la ataxina 2 mutada, en comparación con los lóbulos cerebelosos (*Jung y col., 2011*). Sin embargo, la evaluación neuropatológica de dos muestras *post-mortem* de pacientes con solo cinco años de evolución reflejó que la

reducción del número de neuronas pontinas y de Purkinje es similar (*Estrada y col., 1999*), lo que no sustenta la hipótesis de una degeneración más temprana en el puente que en el cerebelo. A esto se añade un estudio con tomografía por emisión de positrones en tres portadores de la mutación, que demostró la existencia de hipo-metabolismo de la glucosa tanto a nivel del cerebelo como del tallo cerebral (*Inagaki y col 2005*).

Una explicación alternativa, es que la degeneración del puente y del cerebelo comienza simultáneamente, pero la degeneración en esta última estructura puede ser compensada durante un mayor período de tiempo mediante procesos de reajustes fisiológicos basados en la neuroplasticidad (*D'Angelo y col., 2011*). Teniendo esto en cuenta, consideramos que la evaluación de los movimientos oculares sacádicos en portadores de la mutación podría ser una herramienta valiosa para el estudio de los mecanismos neuronales que subyacen a la compensación funcional de la degeneración cerebral.

Un resultado significativo fue la estrecha relación entre la velocidad sacádica con el TME, lo que permitió estimar que el enlentecimiento sacádico se inicia aproximadamente 13 años antes del síndrome cerebeloso, con un progreso insidioso durante este periodo, hasta el debut de la enfermedad. Este resultado refleja que la disminución de la velocidad sacádica es la alteración subclínica más temprana de la SCA2.

Nuestros resultados coinciden con hallazgos neuroimagenológicos previos, que estimaron la aparición de la atrofia pontocerebelosa aproximadamente ocho años antes que los trastornos de la marcha (*Jung y col., 2011*). Por tanto, estos resultados caracterizan a la electronistagmografía como una técnica sensible para identificar alteraciones sacádicas tempranas en la SCA2, aún cuando los cambios neuroanatómicos no son detectables.

La asociación entre el número de repeticiones de CAG expandidos y la velocidad sacádica

en portadores la mutación es consistente con los resultados obtenidos en el grupo de enfermos. Esta relación revela que el efecto patogénico directo de la expansión poliglutamínica sobre las estructuras pontinas se expresa aun antes del inicio de la enfermedad, lo que justifica la aplicación de la velocidad sacádica como un biomarcador preclínico de la SCA2, muy útil para evaluar la progresión del proceso neurodegenerativo en estadios presintomáticos de la enfermedad y pronosticar su inicio.

El mayor enlentecimiento sacádico en los portadores de la mutación pertenecientes al grupo discordante, en comparación con el resto de los individuos, demuestra que esta alteración oculomotora mantiene su progresión, independientemente al inicio o no del síndrome cerebeloso y corrobora la posible existencia de factores protectores que retardan el comienzo de la ataxia en determinados individuos, cuyo estudio podría contribuir a la identificación de estos factores y consecuentemente al diseño de terapias.

Por otro lado, los valores incrementados de la desviación sacádica en portadores de la mutación confirman a la hipermetría sacádica como el tipo primario de disimetría observada en la SCA2 en correspondencia con el patrón de cambios neurodegenerativos observados en el vermis posterior y el núcleo fastigio (*Voogd y col., 2010*).

Estos resultados representan una importante evidencia de la afectación preclínica del cerebelo en la SCA2 y/o de las conexiones cerebelo-pontinas y cerebelo-talámicas, lo que es compatible con la reducción de la tasa metabólica del cerebelo (*Inagaki y col., 2005*) y la alteración de la coordinación visuomotora en la prueba de adaptación a prismas (*Velázquez-Pérez y col., 2009c*) en estadio presintomático de la enfermedad.

Estos resultados, tienen una marcada aplicabilidad en el programa de diagnóstico presintomático de la SCA2. De esta manera, los parámetros sacádicos representan

herramientas novedosas y útiles para el neurólogo o el asesor genético pues le permiten disponer de variables fisiológicas más objetivas que evalúan el efecto neurotóxico que la ataxina 2 mutada ejerce sobre el sistema nervioso antes de la aparición de la enfermedad y por tanto pueden estimar la proximidad del debut clínico y en consecuencia tomar decisiones relacionada con el manejo de estos individuos.

Por otro lado, la caracterización de estos biomarcadores preclínicos constituye una herramienta valiosa desde el punto de vista terapéutico. Esto responde a la importancia de tales parámetros en el diseño y la evaluación de ensayos clínicos controlados en fase preclínica de la enfermedad, cuando los efectos de la mutación no están marcadamente extendidos y por tanto las medidas de eficacia deben ser más objetivas. En este sentido, las variables sacádicas pueden ser indicadores objetivos de la elegibilidad de los portadores de la mutación para participar en ensayos clínicos teniendo en cuenta el grado de afectación preclínica que presenten y además pueden ser utilizadas para evaluar la respuesta terapéutica de estos ensayos. Para esto, la velocidad sacádica representa un biomarcador ideal en la evaluación del efecto de terapias sobre la toxicidad poliglutamínica temprana, dada su relación con el número de repeticiones de CAG.

Estudios previos realizados en el CIRAH identificaron otros biomarcadores preclínicos de la SCA2, tales como la amplitud de los potenciales sensitivos de nervios periféricos, porcentaje de sueño REM y desempeño motor en la fase de pre-adaptación a prismas (Velázquez-Pérez y Rodríguez-Labrada, 2012). En comparación con estos, la reducción de la velocidad sacádica muestra una ventaja adicional, pues no solo brinda información fisiopatológica en estadio presintomático sino que refleja directamente las características genotípicas de la enfermedad.

#### **4.4 Alteraciones de los movimientos oculares antisacádicos en la ataxia espinocerebelosa tipo 2**

Los movimientos oculares antisacádicos representan una forma compleja de comportamiento oculomotor que han sido utilizados como una valiosa herramienta para evaluar las funciones frontoexecutivas en diversas enfermedades neurológicas como la enfermedad de Alzheimer, demencia frontotemporal, esquizofrenia y la enfermedad de Parkinson, entre otras (*Hutton y Ettinger, 2006*). Sin embargo, en las ataxias espinocerebelosas no se han evaluado los movimientos oculares antisacádicos de manera sistemática. La literatura solo recoge dos estudios, el primero realizado por *Rivaud-Pechoux y col., 1998*, quienes estudiaron 11 pacientes con SCA1, 10 con SCA2 y 16 con SCA3 y encontraron un incremento significativo de la tasa de errores, mientras que el segundo lo reportaron *Hubner y col., 2007*, en pacientes con SCA17. Sin embargo, ninguno de estos trabajos reportó el porcentaje de corrección de errores antisacádicos, ni evaluó la presencia de errores antisacádicos por omisión. Por tanto, nuestro trabajo representa el estudio más amplio de los movimientos oculares antisacádicos en un subtipo específico de SCA. En el mismo, además de confirmar el incremento significativo de la tasa de errores antisacádicos de dirección, se reporta por primera vez la disminución significativa del porcentaje de corrección de errores en los pacientes con SCA2.

Desde el punto de vista clínico, las alteraciones en la supresión de sácadas reflejas se traducen en la afectación significativa de las funciones frontoexecutivas relacionadas con la memoria de trabajo (*Hutton y col., 2004; Roberts y col., 1994*). De esta manera se dispone de una nueva herramienta diagnóstica para la evaluación objetiva de las funciones frontoexecutivas en la SCA2, lo que complementa los exámenes existentes.

Las alteraciones observadas durante la tarea antisacádica en los pacientes con SCA2 guardan correspondencia con estudios imagenológicos y neuropatológicos que demuestran los cambios neurodegenerativos en estructuras corticales y subcorticales que están implicadas en este tipo de movimiento, como son el lóbulo frontal, la corteza parietal, los núcleos caudado y putamen, la sustancia negra reticulada (*Orozco y col., 1989; Estrada y col., 1999*) y el tálamo oculomotor (*Rub y col., 2003a; 2005b*).

El resultado más importante es la estrecha correlación entre la tasa de errores antisacádicos y la corrección de errores con el número de repeticiones del trinucleótido CAG. Este resultado indica que la ejecución de la tarea antisacádica está fuertemente controlada por el tamaño de la mutación SCA2 y representa la primera evidencia de que el déficit frontoejecutivo de estos pacientes depende del número de tripletes de CAG en el gen *ATXN2*. Este análisis no coincide con trabajos previos que evaluaron la influencia de la mutación sobre estas funciones cognitivas en pacientes con SCA2 (*Bürk y col., 1999b; Storey y col., 1999; Le Pira y col., 2002*). Sin embargo, en estos casos, la evaluación de las funciones frontoejecutivas se realizó mediante una batería de pruebas neuropsicológicas, cuya objetividad y sensibilidad es menor en comparación con la tarea antisacádica. Además, estos trabajos incluyeron pocos pacientes.

La ausencia de correlación entre las variables antisacádicas y la duración de la enfermedad es compatible con el estrecho control genético a que están sometidas estos parámetros y por tanto el reducido efecto de factores no genéticos o ambientales sobre los mismos. Sin embargo, este análisis no necesariamente excluye la asociación entre las alteraciones antisacádicas con la severidad de la enfermedad. De hecho, observamos una correlación directa de la tasa de errores antisacádicos y la puntuación de la escala SARA, lo que

muestra la asociación entre el síndrome cerebeloso y el desempeño de la tarea antisacádica. Lo anterior está respaldado por las múltiples evidencias que demuestran el rol del cerebelo en las funciones frontoexecutivas, tales como la descripción del síndrome cerebeloso afectivo-cognitivo (*Schmahmann y Sherman, 1998*), la activación de áreas cerebelosas durante la ejecución de tareas cognitivas específicas (*Stoodley, 2011*) y las conexiones que establece esta estructura con regiones de la corteza frontal (*Bellebaum y Daum, 2007*). Por otro lado, es sugerido un papel importante del cerebelo en la monitorización y procesamiento de los errores durante el paradigma antisacádico (*Peterburs y col., 2012*), lo que puede explicar la marcada incapacidad de los pacientes con SCA2 para la corrección de errores en esta tarea.

Hasta la fecha, no se habían reportado estudios que evaluaran los movimientos oculares antisacádicos en portadores de la mutación para cualquier ataxia dominante, mientras que entre las enfermedades poliglutámicas, solo se habían demostrado en la enfermedad de Huntington (*Blekher y col., 2006*), por lo que nuestros resultados son altamente novedosos y representan la primera evidencia de alteraciones frontoexecutivas en estadio preclínico de la enfermedad y por tanto la existencia de cambios neurodegenerativos o alteraciones en el neurodesarrollo del lóbulo frontal previos al inicio del síndrome cerebeloso.

#### **4.5 Movimientos oculares sacádicos y los trastornos cognitivos en la SCA2.**

Usualmente, el diagnóstico y la evolución de las alteraciones cognitivas en pacientes con SCA2, se realiza mediante pruebas neuropsicológicas estandarizadas, que dependen de la experiencia del examinador y son susceptibles al aprendizaje del paciente, durante la aplicación repetida de los mismos. Estas limitaciones avalan la necesidad de contar con parámetros fisiológicos más objetivos que permitan evaluar eficazmente el estado cognitivo

de pacientes con SCA2 y que sirvan como biomarcadores sensibles para la estimación del mismo. Sobre la base de lo anterior, en esta investigación se demostró una estrecha relación entre varios parámetros neurocognitivos con la latencia sacádica y las variables antisacádicas en el grupo de pacientes.

Estos resultados son compatibles con el extenso control cortical a que están sometidos los movimientos oculares (*Pierrot-Deseilligny y col., 2004*) y la existencia de un sustrato anatómico común para el control de estos movimientos y las funciones cognitivas, fundamentalmente a nivel frontal (*Corbetta y col. 1998*). Entre las regiones comunes aparecen la CPDL, la CCA y el núcleo caudado, entre otros.

La CPDL participa en la inhibición de sácadas reflejas durante los movimientos oculares antisacádicos (*Pierrot-Deseilligny y col., 2005; Kaufman y col., 2010*), y está relacionada con el monitoreo de la retroalimentación recibida por el examinador, durante la PCCW (*Monchi y col., 2001*), y con el desempeño en la prueba de fluencia verbal fonológica (*Schlosser y col., 1998; Gaillard y col., 2000*). Por su parte, la CCA participa en la modulación de las sácadas intencionales, mediante procesos motivacionales, en estrecha relación anatomofuncional con las áreas frontales oculomotoras (*Gaymard y col., 1998; Schall y Boucher, 2007*) y a su vez, se le atribuye un importante rol en la supresión de las sácadas reflejas (automáticas) durante la tarea antisacádica (*Paus y col., 1993; Sweeney y col., 1996, Matsuda y col., 2004*) y participa en el control y monitorización de las respuestas incorrectas durante la ejecución de la tarea de interferencia de Stroop (*Salgado y col., 2003, Pardo y col, 1990*). Además, el núcleo caudado participa en un haz de doble inhibición núcleo caudado-SNr-colículo superior, que facilita la iniciación de los movimientos oculares sacádicos (*Watanabe y Munoz, 2011*) y desempeña un importante rol

en la selección de un nuevo criterio para la clasificación de las cartas de Wisconsin (*Monchi y col., 2001*).

La falta de asociación entre la desviación sacádica y las funciones cognitivas puede explicarse teniendo en cuenta la topografía del cerebelo. Según esta, existe una disociación anatomofuncional de las regiones cerebelosas que determinan la amplitud sacádica y las que intervienen en las funciones frontoejecutivas. Como se mencionó anteriormente, las primeras se localizan en el vermis dorsal a nivel de los lóbulos VI y VII y en el núcleo fastigio (*Voogd y col., 2010, Prsa y Thier, 2011*), mientras que las segundas implican a los lóbulos hemisféricos *Crus I* y *VIIIB*, así como al núcleo dentado (*Stoodley, 2011; Grimaldi y Manto, 2011*). Por otro lado, la pobre asociación entre la velocidad sacádica y las variables cognitivas se basa en el hecho de que este parámetro oculomotor está fundamentalmente determinado por estructuras pontinas, que no intervienen en estas funciones cognitivas (*Leigh y Kennard, 2004*).

Nuestros resultados son compatibles con trabajos previos, que demostraron la estrecha relación entre la latencia sacádica, los parámetros antisacádicos y las alteraciones frontoejecutivas, en otras enfermedades neurodegenerativas, tales como la enfermedad de Alzheimer, demencia fronto-parietal (*Garbutt y col., 2008*), enfermedad de Parkinson (*Pernecky y col., 2011*), esquizofrenia (*Levy y col., 2004*), y en poblaciones de sujetos sanos (*Mirsky y col., 2011; Levy y col., 2004*). Sin embargo, no existe coincidencia de estos resultados con los presentados por *Gambardella y col., 1998*, en un reducida muestra de pacientes con SCA2. Estos autores no observaron asociación entre la latencia sacádica y la ejecución de la prueba de fluencia verbal y de Wisconsin. Sin embargo, el reducido tamaño de su muestra, en comparación con nuestra cohorte, puede explicar tal contradicción.

#### **4.6 Disfunción de los movimientos oculares sacádicos en fase de sueño REM.**

Una de las manifestaciones fenotípicas más comunes de la SCA2 son los trastornos del sueño, los que aparecen desde estadios presintomáticos de la enfermedad y progresan significativamente hasta los estadios finales de la misma. Entre estos, la reducción del porcentaje de sueño REM representa una de las principales alteraciones (*Velázquez-Pérez y col., 2011a*).

En este trabajo, se demostró la reducción significativa de la densidad de MORs durante el sueño REM, en pacientes y portadores de la mutación SCA2. Lo anterior es una evidencia funcional del proceso neurodegenerativo temprano que sufren las estructuras cerebrales involucradas en la generación de las sácadas durante esta fase del sueño. Estos resultados están respaldados por la degeneración del núcleo reticular talámico y el núcleo geniculado lateral en pacientes con SCA2 (*Rub y col., 2005b*), y la degeneración de otras estructuras corticales y subcorticales involucradas en la generación de movimientos oculares sacádicos durante el sueño y la vigilia, tales como el lóbulo frontal y la formación reticular del puente (*Estrada y col., 1999*).

La asociación observada entre la densidad de MORs en sueño REM y la puntuación de la escala SARA convierte a este parámetro en un posible biomarcador de progresión de la enfermedad, aunque para confirmar lo anterior se requieren otros estudios de corte longitudinal. Esta asociación es compatible con evidencias neuropatológicas previas que demuestran una correlación inversa entre el volumen del puente y el grado de discapacidad motora en pacientes con diagnóstico clínico y molecular de la SCA2 (*Jung y col., 2011*).

La estrecha asociación de la densidad de MORs en sueño REM con la velocidad y la desviación sacádica en vigilia, confirma el solapamiento de las estructuras involucradas en

la generación de las sácadas en ambos estados, sobre todo a nivel subcortical. A su vez, la no asociación con la latencia sacádica corrobora las diferencias en los patrones de activación de estas estructuras durante el sueño y la vigilia, pues se conoce, que distinto a lo que sucede en vigilia, los movimientos sacádicos en fase REM se desencadenan a nivel pontino y no a nivel cortical, el que solo recibe señales de retroalimentación (*Ioannides y col, 2004*).

#### **4.7 Evaluación longitudinal de las alteraciones sacádicas en pacientes con SCA2.**

La evaluación longitudinal de las variables sacádicas en pacientes con SCA2, reveló una progresión significativa de las alteraciones oculomotoras. Los cambios observados en la desviación sacádica son los más notables, seguidos por la latencia y la velocidad sacádica. Para el caso de esta última variable, los resultados de este trabajo son contradictorios a los presentados por *Seifried y col., 2005*, quienes no observaron disminución de la velocidad sacádica a 60°, durante el periodo de un año, aunque ese estudio incluyó un número más bajo de pacientes que el presente. Sin embargo, en un estudio longitudinal realizado en tres casos con SCA1 se obtuvo una reducción significativa de la velocidad sacádica, incluso a un ángulo de estimulación menor (*Klostermann y col., 1997*). Ninguno de estos estudios previos evaluó los patrones de cambios longitudinales de la desviación sacádica y la latencia, por lo que nuestro trabajo muestra las primeras evidencias de la progresión de estas variables en pacientes con ataxias dominantes.

Los cambios longitudinales de las alteraciones sacádicas en pacientes con SCA2 sugieren un carácter acumulativo del efecto patogénico que ejerce la expansión poliglutamínica sobre el sistema sacádico. En tal sentido, se sugiere que con el paso del tiempo, las inclusiones citoplasmáticas de ataxina 2 mutada se incrementan e intensifican la muerte

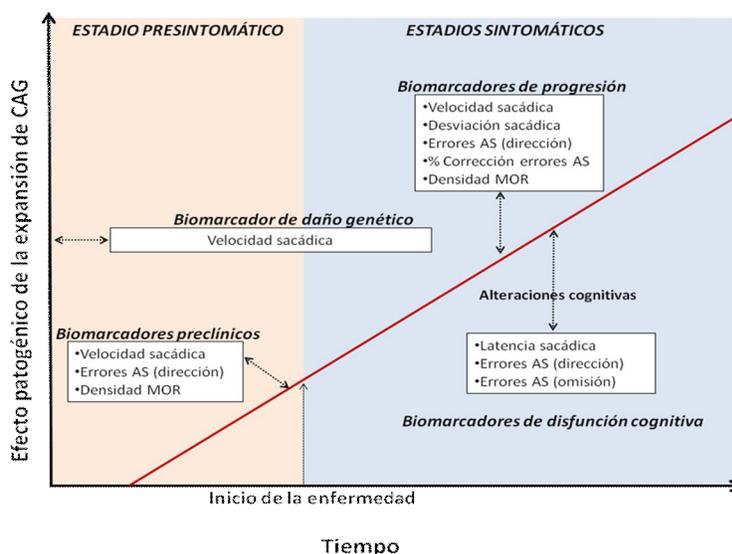
neuronal en las diferentes regiones del sistema sacádico, lo que explica el avance en estas alteraciones oculomotoras. Por tanto, la mayor sensibilidad de los estudios electronistagmográficos para detectar cambios significativos en las variables sacádicas, a lo largo del tiempo, convierte a esta técnica en una herramienta muy valiosa para estimar la dinámica temporo-espacial del proceso neurodegenerativo en la SCA2, así como evaluar el efecto de terapias.

#### **4.8 Consideraciones finales**

A manera de resumen, esta investigación permitió alcanzar una amplia caracterización de las alteraciones del sistema sacádico en la SCA2, demostrándose su inicio varios años antes del síndrome cerebeloso y su progresión significativa desde estadios tempranos.

La integración de estos resultados condujo a la identificación de nuevos biomarcadores de la enfermedad, útiles tanto en la práctica clínica como investigativa (Figura 17). En este sentido, se describió a la velocidad sacádica como el principal biomarcador de daño genético, lo que permite contar con un parámetro fisiológico objetivo para evaluar el efecto de genes modificadores o alternativas terapéuticas específicas, sobre la patogenicidad de la mutación SCA2. Además se describió a la velocidad sacádica, la tasa de errores antisacádicos de dirección y la densidad de MORs durante el sueño REM como biomarcadores preclínicos de la SCA2, con un impacto apreciable en el diagnóstico, pronóstico y futuras intervenciones terapéuticas en portadores de la mutación. En esta investigación también se identificaron biomarcadores de progresión, tales como la velocidad y desviación sacádica, la tasa de errores antisacádicos de dirección, el porcentaje de corrección de los mismos y la densidad de MORs durante el sueño REM. Estos parámetros permiten evaluar objetivamente la progresión de la enfermedad y el posible

efecto de alternativas terapéuticas sobre estructuras corticales y subcorticales. Otro aporte de este trabajo fue la descripción de biomarcadores de alteraciones cognitivas. Tal es el caso de la latencia sacádica y la tasa de errores antisacádicos de dirección y omisión, los que representan nuevas herramientas para la evaluación objetiva de las alteraciones frontoexecutivas en pacientes con SCA2 y la efectividad de terapias sobre estas funciones. Por tanto, proponemos a la electronistagmografía como una nueva herramienta para el diagnóstico neuropsicológico de la SCA2 y para el estudio objetivo de la influencia de la mutación SCA2 sobre las funciones frontoexecutivas.



**Figura 17. Identificación de las distintas variables sacádicas y antisacádicas como biomarcadores de la SCA2. La línea roja representa la progresión (hipotética) de la enfermedad. MOR: Movimientos oculares rápidos; AS: Antisacádicos.**

## CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### Conclusiones

1. El sistema ocular sacádico, en estado de vigilia y en sueño REM, expresa una marcada vulnerabilidad a la mutación SCA2, dada por un patrón severo de alteraciones funcionales que implican tanto a estructuras corticales, como subcorticales.
2. La velocidad sacádica constituye un biomarcador de daño genético, preclínico y de progresión, lo que la convierte en una variable endofenotípica para la SCA2, útil para el diagnóstico, terapéutica y las investigaciones clínico-genéticas.
3. El retardo en la generación de los movimientos oculares sacádicos y las alteraciones en la supresión de sácadas reflejas, expresan una disfunción frontoejecutiva en la SCA2, como evidencia de la interrelación del cerebelo, las expansiones poliglutamínicas y estas funciones cognitivas.
4. La disfunción del sistema ocular sacádico progresa de manera significativa con el transcurso del tiempo, como reflejo del efecto patogénico acumulativo de la mutación SCA2 a distintos niveles del sistema sacádico.

### **Recomendaciones**

1. La presencia de alteraciones pre-cerebelosas en la SCA2, permiten sugerir el inicio de ensayos clínicos en los sujetos portadores de la mutación.
2. Incorporar a los procedimientos de diagnóstico clínico de la SCA2, la evaluación electronistagmográfica de los movimientos oculares sacádicos desde estadios preclínicos de la enfermedad, mediante un seguimiento anual de las alteraciones.
3. Profundizar en el esclarecimiento de las bases fisiopatológicas de las alteraciones sacádicas y antisacádicas en la SCA2, mediante estudios neuropatológicos y neuroimagenológicos desde estadios preclínicos de la enfermedad.

**REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

1. Affaitati A, de Cristofaro T, Feliciello A, Varrone S. Identification of alternative splicing of spinocerebellar ataxia type 2 gene. *Gene*. 2001; 267: 89-93.
2. Aizenman CD y Linden DJ. Regulation of the rebound depolarization and spontaneous firing patterns of deep nuclear neurons in slices of rat cerebellum. *J. Neurophysiol* 1999; 82:1697-1709.
3. Albrecht M, Golatta M, Wullner U, Lengauer T. Structural and functional analysis of ataxin-2 and ataxin-3. *Eur J Biochem*. 2004; 271: 3155-70.
4. Alexander GE, DeLong MR, Strick PL. Parallel organization of functionally segregated circuits linking basal ganglia and cortex. *Annu. Rev. Neurosci* 1986; 9:357-381.
5. Almaguer-Mederos L. Modificadores genéticos del fenotipo clínico de la Ataxia Espinocerebelosa tipo 2 (Tesis). La Habana: Universidad de la Habana; 2010.
6. Almaguer-Mederos L, Aguilera Rodríguez R, González Zaldivar Y, Almaguer Gotay D, Cuello Almarales D, Laffita Mesa J, Vázquez Mojena Y, Zayas Feria P, Auburger G, Gispert S, Velásquez Pérez L. Estimation of survival in Spinocerebellar Ataxia type 2 Cuban patients. *Clin Genet* 2012. DOI: 10.1111/j.1399-0004.2012.01902.
7. Alonso E, Martínez-Ruano L, De Biase I, Mader C, Ochoa A, Yescas P y col. Distinct distribution of autosomal dominant spinocerebellar ataxia in the Mexican population. *Movement Disord* 2007; 22(7): 1050-53.

8. Arnulf I, Nielsen J, Lohmann E, Schiefer J, Wild E, Jennum P y col. Rapid eye movement sleep disturbances in Huntington disease. *Arch Neurol* 2008;65:482-88
9. Aserinsky E. Rapid eye movement density and pattern in the sleep of normal young adults. *Psychophysiology* 1971; 8:361-75.
10. Auburger G. Spinocerebellar Ataxia type 2. In: Aminoff MJ, Boller F, Swaab DF, editors. *Handbook of Clinical Neurology, Third Series*. Amsterdam, Elsevier; Vol 103; 2011.
11. Babovic-Vuksanovic D, Snow K, Patterson MC, Michels VV. Spinocerebellar ataxia type 2 (SCA 2) in an infant with extreme CAG repeat expansion. *Am J Med Genet* 1998; 79(5):383-7.
12. Bahill AT, Clark MR, Stark L. The main sequence, a tool for studying human eye movements. *Math Biosci* 1975; 24:191-204.
13. Barash S, Melikyan A, Sivakov A, Zhang M, Glickstein M, Thier P. Saccadic dysmetria and adaptation after lesions of the cerebellar cortex. *J Neurosci*. 1999; 19(24):10931-9.
14. Beguería Santos R. Alteraciones de la motilidad ocular en las Enfermedades Heredodegenerativas Espinocerebelosas Tipo Pierre Marie en la región del Norte de Oriente. Estudio prospectivo de 30 enfermos. [Tesis]. La Habana: Instituto de Neurología y Neurocirugía; 1977.
15. Bellebaum C y Daum I. Cerebellar involvement in executive control. *Cerebellum*. 2007; 6: 184–192.
16. Blekher T, Johnson SA, Marshall J, White K, Hui S, Weaver M y col. Saccades in presymptomatic and early stages of Huntington disease. *Neurology*. 2006; 67(3):394-9.

17. Blekher TM, Flury L, O'Connor S, Yee RD. Heritability of saccadic eye movements. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2004; 45: 2515.
18. Bosch SE, Neggers SF, Van der Stigchel S. The Role of the Frontal Eye Fields in Oculomotor Competition: Image-Guided TMS Enhances Contralateral Target Selection. *Cereb Cortex*. 2012, *In press*.
19. Botzel K, Rottach K, Buttner U. Normal and pathological saccadic dysmetria. *Brain*. 1993; 116 (Pt 2):337-53.
20. Brigell MG, Goodwin JA, Lorance R. Saccadic Latency as a Measure of Afferent Visual Conduction. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1988; 29:1331-8.
21. Brusco A, Gellera C, Cagnoli C, Saluto A, Castucci A, Michielotto C y col. Molecular genetics of hereditary spinocerebellar ataxia: mutation analysis of spinocerebellar ataxia genes and CAG/CTG repeat expansion detection in 225 Italian families. *Arch Neurol*. 2004; 61(5):727-33.
22. Bürk K, Fetter M, Abele M, Laccone F, Brice A, Dichgans J y col. Autosomal dominant cerebellar ataxia type I: oculomotor abnormalities in families with SCA1, SCA2, and SCA3. *J Neurol*. 1999a; 246(9):789-97.
23. Bürk K, Globas C, Bosch S, Graber S, Abele M, Brice A y col. Cognitive deficits in spinocerebellar ataxia 2. *Brain* 1999b; 122:769-777.
24. Buttner N, Geschwind D, Jen JC, Perlman S, Pulst SM, Baloh RW. Oculomotor phenotypes in autosomal dominant ataxias. *Arch Neurol*. 1998; 55(10):1353-7.
25. Cancel G, Durr A, Didierjean O, Imbert G, Burk K, Lezin A y col. Molecular and clinical correlations in spinocerebellar ataxia 2: a study of 32 families. *Hum Mol Genet*. 1997; 6(5):709-15.

26. Cellini E, Forleo P, Nacmias B, Tdde A, Latorraca S, Piacentini S y col. Clinical and genetic analysis of hereditary and sporadic ataxia in central Italy. *Brain Res Bull* 2001; 56(3-4): 363-6.
27. Chakravarty A y Mukherjee SC. Autosomal dominant cerebellar ataxias in ethnic Bengalees in West Bengal-an Eastern Indian state. *Acta Neurol Scand* 2002; 105(3): 202-8.
28. Channon S, Daum I, Polkey CE. The effect of categorization on verbal memory after temporal lobectomy. *Neuropsychologia* 1989; 27: 777-85.
29. Charles P, Camuzat A, Benammar N, Sellal F, Destée A, Bonnet AM y col. Are interrupted SCA2 CAG repeat expansions responsible for parkinsonism? *Neurology*. 2007; 69:1970-1975.
30. Chen KH; Lin CH, Wu RW. Psychotic-affective symptoms and multiple system atrophy expand phenotypes of spinocerebellar ataxia type 2. *BMJ Case Reports* 2012; DOI:10.1136/bcr.10.2011.5061
31. Choudhry S, Mukerji M, Srivastava AK, Jain S, Brahmachari SK. CAG repeat instability at the SCA2 locus: anchoring CAA interruptions and linked single nucleotide polymorphisms. *Human Mol Genet* 2001; 10(21): 2437-46.
32. Christova P, Anderson JH, Gomez CM. Impaired eye movements in presymptomatic spinocerebellar ataxia type 6. *Arch Neurol*. 2008; 65(4):530-6.
33. Corbetta M, Akbudak E, Conturo TE, Snyder AZ, Ollinger JM, Drury HA y col. A common network of functional areas for attention and eye movements. *Neuron* 1998; 21(4):761-73.

34. Crosson B, Maron L, Moore AB, Grande L. Basal Ganglia. Encyclopedia of the Human Brain 2002, Elsevier Science (USA).
35. Cummings CJ y Zoghbi HY. Trinucleotide repeats: mechanisms and pathophysiology. *Annu Rev Genomics Hum Genet.* 2000; 1:281-328.
36. Czubayko U, Sultan F, Their P y Schwarz C. Two types of neurons in the rat cerebellar nuclei as distinguished by membrane potentials and intracellular fillings. *J. Neurophysiol* 2001; 85:2017-2029.
37. D'Angelo E; Mazzarello P, Prestori F, Mapelli J, Solinas S, Lombardo P y col. The cerebellar network: From structure to function and dynamics. *Brain Res Rev.* 2011;66:5-15
38. Darrien JH, Herd K, Starling LJ, Rosenberg JR, Morrison JD. An analysis of the dependence of saccadic latency on target position and target characteristics in human subjects. *BMC Neurosci* 2001;2:13.
39. Datta S y MacLean RR. Neurobiological mechanisms for the regulation of mammalian sleep-wake behavior: Reinterpretation of historical evidence and inclusion of contemporary cellular and molecular evidence. *Neurosci Biobehav Rev* 2007; 31:775-824.
40. Della Nave R, Ginestroni A, Tessa C, Cosottini M, Giannelli M, Salvatore E y col. Brain structural damage in spinocerebellar ataxia type 2. A voxel-based morphometry study. *Mov Disord.* 2008; 23(6):899-903.
41. DeLong ER, DeLong DM, Clarke-Pearson DL. Comparing the areas under two or more correlated receiver operating curves: a nonparametric approach. *Biometrics* 1988; 44: 837-45.

42. Denny BD. Handbook of neurological examination and case recording. 3<sup>rd</sup> edition. Cambirdge: Ma Harvard University Press; 1960
43. Domagalik A, Beldzik E, Fafrowicz M, Oginska H, Marek T. Neural networks related to pro-saccades and anti-saccades revealed by independent component analysis. *Neuroimage*. 2012; 1325-33.
44. DuBois RM y Cohen MS. Spatiotopic Organization in Human Superior Colliculus Observed with fMRI. *NeuroImage* 2000; 12:63-70.
45. Durr A, Smadja D, Cancel G, Lezin A, Stevanin G, Mikol J y col. Autosomal dominant cerebellar ataxia type I in Martinique (French West Indies). Clinical and neuropathological analysis of 53 patients from three unrelated SCA2 families. *Brain* 1995;118 (Pt 6):1573-81.
46. Durr A. Autosomal dominant cerebellar ataxias: polyglutamine expansions and beyond. *Lancet Neurol* 2010; 9:885-94.
47. Elden, A.C., Kim, H.J., Hart, M.P., Chen-Plotkin, A.S., Johnson, B.S., Fang, X. y col. Ataxin-2 intermediate-length polyglutamine expansions are associated with increased risk for ALS. *Nature* 2010; 466:1069-1075.
48. Escudero, M, y Marquez-Ruiz, J. Tonic inhibition and ponto-geniculo-occipital-related activities shape abducens motoneuron discharge during REM sleep. *J. Physiol*. 2008; 586:3479-3491.
49. Estrada JR y Pérez J. Neuroanatomía funcional. 3rd ed. La Habana: Editorial Pueblo y Educación; 1986.

50. Estrada R, Galarraga J, Orozco G y col. Spinocerebellar ataxia 2 (SCA2): morphometric analyses in 11 autopsies characterize it as an olivo-ponto-cerebellar atrophy (OPCA) plus. *Acta Neuropathol* 1999; 97:306 -310.
51. Falconer D. Introduction to quantitative genetics. Wiley, New York, 1989.
52. Federighi P, Cevenini G, Dotti MT, Rosini F, Pretegianni E, Federico A y col. Differences in saccade dynamics between spinocerebellar ataxia 2 and late-onset cerebellar ataxias. *Brain* 2011; 134: 879-91.
53. Filla A, De Michele G, Banfi S, Santoro L, Perretti A, Cavalcanti F y col. Has spinocerebellar ataxia type 2 a distinct phenotype? Genetic and clinical study of an Italian family. *Neurology*. 1995; 45(4):793-6.
54. Filla A, De Michele G, Santana L y col. Spinocerebellar Ataxia type 2 in southern Italy: a clinical and molecular study of 30 families. *J Neurol* 1999; 246: 467-471.
55. Findlay JM. Saccadic eye movement programming: sensory and attentional factors. *Psychol Res*. 2009; 73(2):127-35.
56. Gaillard WD, Hertz-Pannier L, Mott SH, Barnett AS, LeBihan D, Theodore WH. Functional anatomy of cognitive development. fMRI of verbal fluency in children and adults. *Neurology*. 2000; 54:180.
57. Gambardella A, Annesi G, Bono F, Spadafora P, Valentino P, Pasqua AA y col. CAG repeat length and clinical features in three Italian families with spinocerebellar ataxia type 2 (SCA2): early impairment of Wisconsin Card Sorting Test and saccadic velocity. *J Neurol*. 1998; 245:647-52.

58. Garbutt S, Matlin A, Hellmuth J, Schenk AK, Johnson JK, Rosen H y col. Oculomotor function in frontotemporal lobar degeneration, related disorders and Alzheimer's Disease. *Brain*. 2008; 131:1268-81.
59. Gaymard B, Rivaud S, Cassarini JF y col. Effects of anterior cingulate cortex lesions on ocular saccades in humans. *Exp Brain Res* 1998; 120:173-183
60. Geiner S, Horn AK, Wadia NH, Sakai H, Buttner-Ennever JA. The neuroanatomical basis of slow saccades in spinocerebellar ataxia type 2 (Wadia-subtype). *Prog Brain Res*. 2008; 171:575-81.
61. Geschwind DH, Perlman S, Figueroa CP, Treiman LJ, Pulst SM. The prevalence and wide clinical spectrum of the spinocerebellar ataxia type 2 trinucleotide repeat in patients with autosomal dominant cerebellar ataxia. *Am J Hum Genet*. 1997; 60(4):842-50.
62. Gierga K, Burk K, Bauer M, Orozco Diaz G, Auburger G, Schultz C y col. Involvement of the cranial nerves and their nuclei in spinocerebellar ataxia type 2 (SCA2). *Acta Neuropathol*. 2005; 109(6):617-31.
63. Giunti P, Sabbadini G, Sweeney MG, Davis MB, Veneziano L, Matuano E y col. The role of the SCA2 trinucleotide repeat expansion in 89 autosomal dominant cerebellar ataxia families. Frequency, clinical and genetic correlates. *Brain* 1998; 121:459-67.
64. Gottesmann II y Gold TD. The endophenotype concept in psychiatry: Etymology and strategic intentions. *Am J Psychiatry* 2003; 160:636-645.
65. Greenwood TA, Braff DL, Light GA, Cadenhead KS, Calkins ME, Dobie DJ y col. Initial Heritability Analyses of Endophenotypic Measures for Schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry*. 2007; 64(11):1242-1250.

66. Grimaldi G y Manto M. Topography of Cerebellar Deficits in Humans. *Cerebellum* 2011; DOI 10.1007/s12311-011-0247-4
67. Grosbras, M., E. Lobel y A. Berthoz. Parieto-frontal networks and gaze shifts in humans: review of functional magnetic resonance imaging data. *Adv. Neurol* 2003; 93: 269-280.
68. Hanes DP y Wurtz RH. Interaction of the frontal eye field and superior colliculus for saccade generation. *J Neurophysiol.* 2001; 85(2):804-15.
69. Hays WL. Statistics (4th ed). New York: CBS College Publishing, 1988.
70. Heaton RK. The Wisconsin Card Sorting Test (Manual). Odessa: Psychological Assessment Resources, 1981.
71. Hikosaka O, Takikawa Y, Kawagoe R. Role of the basal ganglia in the control of purposive saccadic eye movements. *Physiol Rev.* 2000; 80(3):953-78.
72. Hoang A, Bays P, Husain M. Eye movements as a probe of attention. *Prog Brain Res* 2008; 171:403-411.
73. Hoche F, Balikó L, den Dunnen W, Steinecker K, Bartos L, Sáfrány E y col. Spinocerebellar Ataxia Type 2 (SCA2): Identification of Early Brain Degeneration in One Monozygous Twin in the Initial Disease Stage. *Cerebellum* 2011; DOI 10.1007/s12311-010-0239-9.
74. Hong CCH, Harris JC, Pearlson GD, Kim JS, Calhoun VD, Fallon JH y col., fMRI Evidence for Multisensory Recruitment Associated With Rapid Eye Movements During Sleep. *Hum Brain Mapp* 2009; 30:1705-1722.

75. Hong LE, Mitchell BD, Avila MT, Adami H, McMahon RP, Thaker GK. Familial Aggregation of Eye-Tracking Endophenotypes in Families of Schizophrenic Patients. *Arch Gen Psychiatry*. 2006; 63:259-264.
76. Hopp JJ y Fuchs AF. The characteristics and neuronal substrate of saccadic eye movement plasticity. *Prog Neurobiol* 2004;72(1):27-53.
77. Horn AKE, Buettner-Ennever JA, Wahle P, Reichenberger I. Neurotransmitter profile of saccadic omnipause neurons in nucleus raphe interpositus. *J Neurosci* 1994; 14:2032-46
78. Horn AKE y Buttner-Ennever JA. Premotor neurons for vertical eye movements in the rostral mesencephalon of monkey and man: the histological identification by parvalbumin immunostaining. *J Comp Neurol* 1998; 392:413-27.
79. Horn AKE. The Reticular Formation. *Prog Brain Res*. 2006; 151:127-55.
80. Hubner J, Sprenger A, Klein C, Hagenah J, Rambold H, Zuhlke C y col. Eye movement abnormalities in spinocerebellar ataxia type 17 (SCA17). *Neurology*. 2007; 69(11):1160-8.
81. Hutton SB y Ettinger U. The antisaccade task as a research tool in psychopathology: A critical review. *Psychophysiology* 2006; 43:302-313.
82. Hutton SB, Huddy V, Barnes TR, Robbins TW, Crawford TJ, Kennard C y col. The relationship between antisaccades, smooth pursuit, and executive dysfunction in first-episode schizophrenia. *Biol Psychiatr* 2004; 56:553-559.
83. Huynh DP, Del Bigio MR, Ho DH, Pulst SM. Expression of ataxin-2 in brains from normal individuals and patients with Alzheimer's disease and spinocerebellar ataxia 2. *Ann. Neurol*. 1999; 45:232-241.

84. Huynh DP, Yang HT, Vakharia H, Nguyen D, Pulst SM. Expansion of the polyQ repeat in ataxin-2 alters its Golgi localization, disrupts the Golgi complex and causes cell death. *Hum Mol Genet.* 2003; 12(13):1485-96.
85. Iber C, Ancoli-Israel S, Chesson A, Quan SF for the American Academy of Sleep Medicine. The AASM Manual for the Scoring of Sleep and Associated Events: Rules, Terminology and Technical Specifications, 1st ed.: Westchester, Illinois: American Academy of Sleep Medicine, 2007.
86. Imbert G, Saudou F, Yvert G, Devys D, Trottier Y, Garnier JM y col. Cloning of the gene for spinocerebellar ataxia 2 reveals a locus with high sensitivity to expanded CAG/ glutamine repeats. *Nat Genet.* 1996; 14:285-91.
87. Inagaki A, Iida A, Matsubara M, Inagaki H. Positron emission tomography and magnetic resonance imaging in spinocerebellar ataxia type 2: a study of symptomatic and asymptomatic individuals. *Eur J Neurol.* 2005; 12(9):725-8.
88. Ioannides AA, Corsi-Cabrera M, Fenwick PBC, del Rio Portilla Y, Laskaris NA, Khurshudyan A y col. MEG Tomography of Human Cortex and Brainstem Activity in Waking and REM Sleep Saccades. *Cereb Cortex* 2004; 14:56-72.
89. Isa T y Hall W. Exploring the Superior Colliculus In Vitro. *J Neurophysiol* 2009; 102: 2581-2593.
90. Jacobi H, Hauser TH, Giunti P, Globas C, Bauer P, Schmitz-Hübsch T y col., Spinocerebellar Ataxia Types 1, 2, 3 and 6: the Clinical Spectrum of Ataxia and Morphometric Brainstem and Cerebellar Findings. *Cerebellum*, 2011; DOI 10.1007/s12311-011-0292-z

91. Jung BC, Choi SI, Du AX, Cruzzocreo L, Ying HS, Choi Si y col. MRI Shows a Region-Specific Pattern of Atrophy in Spinocerebellar Ataxia Type 2. *Cerebellum* 2011; DOI 10.1007/s12311-011-0308-8.
92. Kaneko CRS. Effect of ibotenic acid lesions of the omnipause neurons on saccadic eye movements in Rhesus macaques. *J Neurophysiol* 1996;75: 2229–2242
93. Kapoula Z y Robinson DA. Saccadic undershoot is not inevitable: saccades can be accurate. *Vision Res* 1986; 26:735-43.
94. Karatas M. Internuclear and supranuclear disorders of eye movements: clinical features and causes. *Eur J Neurol.* 2009; 16(12):1265-77.
95. Kaufman LD, Pratt J, Levine B, Black SE. Antisaccades: a probe into the dorsolateral prefrontal cortex in Alzheimer's disease. A critical review. *J Alzheimer Dis.* 2010; 19(3):781-93.
96. Klostermann W, Zuhlke C, Heide W, Kompf D, Wessel K. Slow saccades and other eye movement disorders in spinocerebellar atrophy type 1. *J Neurol* 1997; 244(2); 105-111.
97. Kremlacek J, Valis M, Masopust J, Talab R, Kuba M, Kobova Z y col. An Electrophysiological Study of Visual Processing in Spinocerebellar Ataxia Type 2 (SCA2). *Cerebellum* 2011; 10:32-42.
98. Küper M, Thürling M, Maderwald S, Ladd ME, Timmann D. Structural and Functional Magnetic Resonance Imaging of the Human Cerebellar Nuclei. *Cerebellum* 2012. doi:10.1007/s12311-010-0194-5.
99. Laffita-Mesa, J.M., Velázquez-Pérez, L.C., Santos Falcón, N., Cruz-Mariño, T., González Zaldívar, Y., Vázquez Mojena, Y. y col. Unexpanded and intermediate CAG

- polymorphisms at the SCA2 locus (*ATXN2*) in the Cuban population: Evidence about the origin of expanded SCA2 alleles. *Eur J Hum Genet* 2012; 20(1):41-49.
- 100.Lastres-Becker I, Brodesser S, Lütjohann D, Azizov M, Buchmann J, Hintermann E y col. Insulin receptor and lipid metabolism pathology in ataxin-2 knock-out mice. *Hum Mol Genet.* 2008; 17(10):1465-81.
- 101.Le Pira F, Zappala G, Saponara R, Domina E, Restivo D, Reggio E y col. Cognitive findings in spinocerebellar ataxia type 2: relationship to genetic and clinical variables. *J Neurol Sci* 2002; 201(1-2):53-7.
- 102.Leclair-Visonneau L, Oudiette D, Gaymard B, Leu-Semenescu S, Arnulf I. Do the eyes scan dream images during rapid eye movement sleep? Evidence from the rapid eye movement sleep behaviour disorder model. *Brain* 2010; 133:1737-1746.
- 103.Leigh RJ y Kennard C. Using saccades as a research tool in the clinical neurosciences. *Brain* 2004; 127:460-477.
- 104.Leigh RJ y Zee DS. (2006). The neurology of eye movements (4th Ed), Oxford University Press, New York, USA.
- 105.Levy DL, Mendell NR, Holzman PS. The antisaccade task and neuropsychological tests of prefrontal cortical integrity in schizophrenia: empirical findings and interpretative considerations. *World Psych* 2004; 3:32-40.
- 106.Mao R, Aylsworth AS, Potter N, Wilson WG, Breningstall G, Wick MJ y col. Childhood-onset ataxia: testing for large CAG-repeats in SCA2 and SCA7. *Am J Med Genet* 2002; 110(4):338-45.
- 107.Marino RA, Rodgers CK, Levy R, Munoz DP. Spatial relationships of visuomotor transformations in the superior colliculus map. *J Neurophysiol.* 2008; 100(5):2564-76.

108. Marion R. Van Horn, Pierre A. Sylvestre, Kathleen E. Cullen. The Brain Stem Saccadic Burst Generator Encodes Gaze in Three-Dimensional Space. *J. Neurophysiol* 2008; 99:2602-2616.
109. Márquez-Ruiz J y Escudero M. Tonic and phasic phenomena underlying eye movements during sleep in the cat. *J Physiol*; 2008:3461-3477.
110. Matilla-Dueñas A. The Ever Expanding Spinocerebellar Ataxias. Editorial. *Cerebellum* 2012. DOI 10.1007/s12311-012-0376-4.
111. Matsuda T, Matsuura M, Ohkubo T, Ohkubo H, Matsushima E, Inoue K y col. Functional MRI mapping of brain activation during visually guided saccades and antisaccades: cortical and subcortical networks. *Psychiatry Res.* 2004; 131(2):147-55.
112. Matsuura T, Sasaki H, Yabe I, Hamada K, Hamada T, Shitara M, Tashiro K. Mosaicism of unstable CAG repeats in the brain of spinocerebellar ataxia type 2. *J Neurol* 1999; 246: 835-839.
113. McCanna C, Holohana EE, Das S, Dervana A, Larkina A, Leea JA y col. The Ataxin-2 protein is required for microRNA function and synapse-specific long-term olfactory habituation. *PNAS* 2011; DOI: .1107198108
114. McElligott JG y Spencer RF. Neuropharmacological aspects of the vestibuloocular reflex. In: Anderson JH, Beitz AJ, editors. *Neurochemistry of the vestibular system.* Boca Raton: CRC Press; 2000. p. 199-222.
115. Miller R, Tewari A, Miller J, Garbern J, Van Stavern GP. Neuro-ophthalmologic features of spinocerebellar ataxia type 7. *J Neuro-Ophthalmol* 2009; 29:180-86.

116. Mirsky JB, Heuer HW, Jafari A, Kramer JH, Schenk AK, Viskontas IV y col. Anti-Saccade Performance Predicts Executive Function and Brain Structure in Normal Elders. *Cogn Behav Neurol* 2011; 24:50-58
117. Miura K y Optican LM. Membrane channel properties of premotor excitatory burst neurons may underlie saccade slowing after lesions of omnipause neurons *J Comput Neurosci* 2006; 20:25-41.
118. Monchi O, Petrides M, Petre V, Worsley K, Dagher A. Wisconsin Card Sorting Revisited: Distinct Neural Circuits Participating in Different Stages of the Task Identified by Event-Related Functional Magnetic Resonance Imaging. *J Neurosci*, 2001; 21(19):7733-7741.
119. Montes-Brown J, Gilberto MB, Andrés MG, Mario FB, Luis VP. (2010). Heart rate variability in type 2 spinocerebellar ataxia. *Acta Neurol Scand* 2010; 122:329-335.
120. Montes-Brown J, Machado A, Estevez M, Carricarte C, Velazquez-Perez L. Autonomic dysfunction in presymptomatic spinocerebellar ataxia type-2. *Acta Neurol Scand* 2012; DOI: 10.1111/j.1600-0404.2011.01494.x
121. Moretti P, Blazo M, Garcia L, Armstrong D, Lewis RA, Roa B, Scaglia F. Spinocerebellar ataxia type 2 (SCA2) presenting with ophthalmoplegia and developmental delay in infancy. *Am. J. Med. Genet.* 2004; 124A:392-396.
122. Müri RM y Nyffeler T. Neurophysiology and neuroanatomy of reflexive and volitional saccades as revealed by lesion studies with neurological patients and transcranial magnetic stimulation (TMS). *Brain and Cognition* 2008; 68:284-292.
123. Murthy A, Ray S, Shorter SM, Priddy EG, Schall JD, Thompson KG. Frontal eye field contributions to rapid corrective saccades. *J Neurophysiol.* 2007; 97(2):1457-69.

- 124.Nechiporuk T, Huynh DP, Figueroa K, Sahba S, Nechiporuk A, Pulst SM. The mouse SCA2 gene: cDNA sequence, alternative splicing and protein expression. *Hum Mol Genet.* 1998; 7:1301-9.
- 125.Nieuwenhuys R; Voogd J, Van Huijzen J. Human Central Nervous System. 4th ed. Madrid: Editorial Médica Panamericana. 2008.
- 126.Nobre AC, Gitelman DR, Dias EC, Mesulam MM. Covert visual spatial orienting and saccades: overlapping neural systems. *Neuroimage.* 2000; 11(3):210-6.
- 127.Nonhoff U, Ralser M, Welzel F, Piccini I, Balzereit D, Yaspo ML y col. Ataxin-2 interacts with the DEAD/H-Box RNA helicase DDX6 and interferes with P-bodies and stress granules. *Mol Biol Cell.* 2007; 18(4):1385-96.
- 128.Nonis D, Schmidt MH, van de Loo S, Eich F, Dikic I, Nowock J, Auburger G. Ataxin-2 associates with the endocytosis complex and affects EGF receptor trafficking. *Cell Signal* 2008; 20(10):1725-39.
- 129.Oh AK, Jacobson KM, Jen JC, Baloh RW. Slowing of voluntary and involuntary saccades: an early sign in spinocerebellar ataxia type 7. *Ann Neurol* 2001;49(6):801-4.
- 130.Optican LM. The role of omnipause neurons: why glycine? *Prog Brain Res.* 2008; 171:115-21.
- 131.Orozco DG, Estrada R, Perry T, Araña J, Fernández R. Dominantly inherited olivopontocerebellar atrophy from eastern Cuba. Clinical, neuropathological and biochemical findings. *J Neurol Sci* 1989; 93: 37-50.
- 132.Ostendorf F, Liebermann D, Ploner CJ. Human thalamus contributes to perceptual stability across eye movements. *PNAS* 2012; 107:1229-1234.

133. Paciorkowski AR, Shafrir Y, Hrivnak J, Patterson MC, Tennison MB, Clark HB, Gomez CM. Massive expansion of SCA2 with autonomic dysfunction, retinitis pigmentosa, and infantile spasms. *Neurology*. 2011;77(11):1055-60.
134. Pardo JV, Pardo PJ, Janer KW, Raichle ME. The anterior cingulate cortex mediates processing selection in the Stroop attentional conflict paradigm. *PNAS* 1990; 87: 256-259.
135. Patel SS, Jankovic J, Hood AJ, Jeter CB, Sereno AB. Reflexive and volitional saccades: Biomarkers of Huntington disease severity. *J Neurol Sci* 2012; 313:35-41.
136. Paus T, Petrides M, Evans AC, Meyer E. Role of the human anterior cingulate cortex in the control of oculomotor, manual, and speech responses: a positron emission tomography study. *J Neurophysiol* 1993; 70:453-469.
137. Peltsch A, Hoffman A, Armstrong I, Pari G, Munoz DP. Saccadic impairments in Huntington's disease. *Exp Brain Res*. 2008; 186(3):457-69.
138. Pernecky R, Ghosh BCP, Hughes L, Carpenter RH, Barker RA, Rowe JB. Saccadic latency in Parkinson's disease correlates with executive function and brain atrophy, but not motor severity. *Neurobiol Dis*. 2011; DOI: 10.1016/j.nbd.2011.01.032.
139. Peterburs J, Gajda K, Koch B, Schwarz M, Hoffmann KP, Daum I y col. Cerebellar lesions alter performance monitoring on the antisaccade task—An event-related potentials study. *Neuropsychologia*. 2012; 50:379–389.
140. Pierrot-Deseilligny C, Gaymard B, Müri R, Rivaud S. Cerebral ocular motor signs. *J Neurol*. 1997; 244(2):65-70.
141. Pierrot-Deseilligny C, Mileab D and Müri RM. Eye movement control by the cerebral cortex. *Curr Op Neurol*, 2004; 17:17-25.

142. Pierrot-Deseilligny C, Muri RM, Ploner CJ y col. Cortical control of ocular saccades in humans: a model for motricity. *Prog Brain Res* 2003a; 142:3-17.
143. Pierrot-Deseilligny C, Muri RM, Ploner CJ y col. Decisional role of the dorsolateral prefrontal cortex in ocular motor behaviour. *Brain* 2003b; 126:1460-1473.
144. Pierrot-Deseilligny C, Rivaud S, Gaymard B, Agid Y. Cortical control of memory-guided saccades in man. *Exp Brain Res* 1991; 83:607-617.
145. Pierrot-Deseilligny Ch, Müri RM, Nyffeler T, Milea D. The role of the human dorsolateral prefrontal cortex in ocular motor behavior. *Ann N Y Acad Sci.* 2005; 1039:239-51.
146. Prsa M y Thier P. The role of the cerebellum in saccadic adaptation as a window into neural mechanisms of motor learning. *Eur J Neurosci.* 2011; 33(11):2114-28.
147. Pula JH, Gomez C, Kattah JC. Ophthalmologic features of the common spinocerebellar ataxias. *Curr Opin Ophthalmol.* 2010; 21(6):447-53.
148. Pulst MS, Nechiporuk A, Nechiporuk T, Gispert S, Chen XN, Lopes-Cendes I y col. Moderate expansion of a normally biallelic trinucleotide repeat in spinocerebellar ataxia type 2. *Nat Genet.* 1996; 14: 269-76.
149. Pulst SM, Santos N, Wang D, Yang H, Huynh D, Velazquez L y col. Spinocerebellar ataxia type 2: polyQ repeat variation in the CACNA1A calcium channel modifies age of onset. *Brain* 2005; 128:2297-2303.
150. Ralser M, Albrecht M, Nonhoff U, Lengauer T, Lehrach H, Krobitsch S. An Integrative Approach to Gain Insights into the Cellular Function of Human Ataxin-2. *J. Mol. Biol.* 2005; 346:203-214.

151. Ramat S, Leigh RJ, Zee DS, Optican LM. What clinical disorders tell us about the neural control of saccadic eye movements. *Brain* 2007; 130(Pt 1):10-35.
152. Ramchandran RS, Manoach DS, Cherkasova MV, Lindgren KA, Goff DC, Barto JJS. The relationship of saccadic peak velocity to latency: evidence for a new prosaccadic abnormality in schizophrenia. *Exp Brain Res* 2004; 159:99-107.
153. Reynaldo-Arminan RD, Reynaldo-Hernandez R, Paneque-Herrera M, Prieto-Avila L, Perez-Ruiz E. Mental disorders in patients with spinocerebellar ataxia type 2 in Cuba. *Rev Neurol* 2002 ;35(9):818-21.
154. Rivaud-Pechoux S, Durr A, Gaymard B, Cancel G, Ploner CJ, Agid Y y col. Eye movement abnormalities correlate with genotype in autosomal dominant cerebellar ataxia type I. *Ann Neurol*; 1998; 43: 297-302.
155. Roberts, R. J., Hager, L. D., Heron, C. Prefrontal cognitive processes: Working memory and inhibition in the antisaccade task. *J Exp Psychol* 1994; 123:374-393.
156. Robinson FR y Fuchs AF. The role of the cerebellum in voluntary eye movements. *Annu Rev Neurosci.* 2001; 24:981-1004.
157. Robinson FR, Straube A, Fuchs AF. Role of the caudal fastigial nucleus in saccade generation. II. Effects of muscimol inactivation. *J. Neurophysiol* 1993; 70:1741-58
158. Rodríguez-Díaz JC, Velázquez-Pérez L, Sanchez Cruz G, Almaguer LE, Almaguer Gotay D, Garcia Fernandez JC, Rodríguez Labrada R y col. Evaluation of Neurological Restoration in patients with Spinocerebellar Ataxia type 2. *Plast & Rest Neurol* 2008;7(1):13-18.
159. Roig C. Saccadic eye movements in extrapyramidal disorders and particularly in Huntington's disease. *Neurologia.* 2001; 16(2):57-62.

160. Rosenthal CR, Hodgson TL, Husain M, Kennard C. Supplementary eye field contributions to the execution of saccades to remembered target locations. *Prog Brain Res.* 2008; 171:419-23.
161. Rub U, Brunt ER, Petrasch-Parwez E y col. Degeneration of ingestion-related brainstem nuclei in spinocerebellar ataxia type 2, 3, 6 and 7. *Neuropathol Appl Neurobiol.* 2006; 32:635-49.
162. Rub U, Del Turco D, Burk K y col. Extended pathoanatomical studies point to a consistent affection of the thalamus in spinocerebellar ataxia type 2. *Neuropathol Appl Neurobiol* 2005b; 31:127-140.
163. Rub U, Del Turco D, Del Tredici K y col. Thalamic involvement in a spinocerebellar ataxia type 2 (SCA2) and spinocerebellar type 3 (SCA3) patient and its clinical relevance. *Brain* 2003a; 126:1-16.
164. Rub U, Gierga K, Brunt ER, de Vos RA, Bauer M, Schols L y col. Spinocerebellar ataxias types 2 and 3: degeneration of the pre-cerebellar nuclei isolates the three phylogenetically defined regions of the cerebellum. *J Neural Transm.* 2005a; 112(11):1523-45.
165. Rub U, Schultz C, Del Tredici K y col. Anatomically based guidelines for systematic investigation of the central somatosensory system and their application to a spinocerebellar ataxia type 2 (SCA2) patient. *Neuropathol Appl Neurobiol.* 2003b; 29:418-33.
166. Rub U, Seidel K, Ozerden I, Gierga K, Brunt ER, Schols L y col. Consistent affection of the central somatosensory system in spinocerebellar ataxia type 2 and type 3 and its

- significance for clinical symptoms and rehabilitative therapy. *Brain Res Rev.* 2007; 53(2):235-49.
- 167.Rucker JC, Shapiro BE, Han YH, Kumar AN, Garbutt S, Keller EL y col. Neuro-ophthalmology of late-onset Tay-Sachs disease (LOTS). *Neurology.* 2004; 63(10):1918-26.
- 168.Sahba S, Nechiporuk A, Figueroa KP, Nechiporuk T, Pulst SM. Genomic structure of the human gene for spinocerebellar ataxia type 2 (SCA2) on chromosome 12q24.1. *Genomics.* 1998; 47:359-64.
- 169.Sailer A y Houlden H. Recent Advances in the Genetics of Cerebellar Ataxias. *Curr Neurol Neurosci Rep,* 2012; 12:227-236.
- 170.Salgado F, Sánchez JP, López F, Bargalló N, Falcón C, Ramírez B, Caldú X, Martínez J. Activación cerebral durante el test de Stroop en una caso de lesión cerebral focal temprana. *Rev Neurol* 2003; 36(4):343-346
- 171.Sambrook J, MacCallum P, Russell D. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual.* 3th edition. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press; 2001.
- 172.Sánchez-Cruz G, Velazquez-Perez L, Gomez-Pena L, Martinez-Gongora E, Castellano-Sanchez G, Santos-Falcon N. Dysautonomic features in patients with Cuban type 2 spinocerebellar ataxia. *Rev Neurol.* 2001; 33(5):428-34.
- 173.Sánchez-Cruz G. Caracterización clínico-epidemiológica de enfermos y descendientes con riesgo de ataxia Espinocerebelosa tipo 2 en Cuba [Tesis]. Santiago de Cuba: Universidad Médica de Santiago de Cuba; 2012.
- 174.Sánchez-Lopez A y Escudero M. Tonic and phasic components of eye movements during REM sleep in the rat. *Eur J Neurosci;* 2011; 33:2129-2138.

- 175.Sanpei K, Takano H, Igarashi S, Sato T, Oyake M, Sasaki H y col. Identification of the spinocerebellar ataxia type 2 gene using a direct identification of repeat expansion and cloning technique, DIRECT. *Nat Genet.* 1996; 14:277-84.
- 176.Santos N, Aguiar J, Fernandez J y col: Molecular diagnosis of a sample of the Cuban population with spinocerebellar ataxia type 2. *Biotechnol Aplic* 1999; 16: 219-221.
- 177.Sato H y Noda H. Posterior vermal Purkinje cells in macaques responding during saccades, smooth pursuit, chair rotation and/or optokinetic stimulation. *Neurosci Res.* 1992; 12(5):583-95.
- 178.Satterfield TF, Jackson SM, Pallanck LJ. A Drosophila homolog of the polyglutamine disease gene SCA2 is a dosage-sensitive regulator of actin filament formation. *Genetics.* 2002; 162:1687-702.
- 179.Satterfield TF y Pallanck LJ. Ataxin-2 and its Drosophila homolog, ATX2, physically assemble with polyribosomes. *Hum Mol Genet.* 2006; 15(16):2523-32.
- 180.Schall JD y Boucher L. Executive control of gaze by the frontal lobes. *Cogn Affect Behav Neurosci.* 2007; 7(4):396-412.
- 181.Scherzed W, Brunt ER, Heinsen H, de Vos RA, Seidel K, Bürk K y col. Pathoanatomy of Cerebellar Degeneration in Spinocerebellar Ataxia Type 2 (SCA2) and Type 3 (SCA3). *Cerebellum* 2011; DOI 10.1007/s12311-011-0340-8.
- 182.Schlosser R, Hutchinson M, Joseffer S, Rusinek H, Saarimaki A, Stevenson J y col. Functional magnetic resonance imaging of human brain activity in a verbal fluency task. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 1998; 64(4):492-8.
- 183.Schmahmann JD y Sherman JC. The cerebellar cognitive affective syndrome. *Brain* 1998; 121:561-579.

- 184.Schmitz-Hübsh T, Coudert M, Tezenas du Montcel S y col. Depression comorbidity in spinocerebellar ataxia. *Mov Disord* 2011; 26:870-876.
- 185.Schmitz-Hübsh T, Coudert M, Bauer P, Giunti P, Globas C, Baliko L y col. Spinocerebellar ataxia types 1, 2, 3, and 6: disease severity and nonataxia symptoms. *Neurology*. 2008; 71(13):982-989.
- 186.Schmitz-Hübsh T, du Montcel ST, Baliko L, Berciano J, Boesch S, Depondt C y col. Scale for the assessment and rating of ataxia: development of a new clinical scale. *Neurology*. 2006; 66(11):1717-1720.
- 187.Schöls L, Bauer P, Schmidt T, Schulte T, Riess O. Autosomal dominant cerebellar ataxias: clinical features, genetics and pathogenesis. *Lancet Neurol* 2004; 3:291-304.
- 188.Scudder CA, Moschovakis AK, Karabelas AB, Highstein SM. Anatom and physiology of saccadic long-lead burst neurons recorded in the alert squirrel monkey 2. Pontine neurons. *J Neurophysiol* 1996b; 76:353-370.
- 189.Scudder CA, Moschovakis AK, Karabelas AB, Highstein SM. Anatomy and physiology of saccadic long-lead burst neurons recorded in the alert squirrel monkey 1. Descending projections from the mesencephalon. *J Neurophysiol* 1996a; 76:332-352.
- 190.Seidel K, Siswanto S, Brunt ERP, den Dunnen W, Korf HW, Rub U. Brain pathology of spinocerebellar ataxias. *Acta Neuropathol* 2012 DOI 10.1007/s00401-012-1000-x.
- 191.Seifried C, Velazquez-Perez L, Santos-Falcon N, Abele M, Ziemann U, Almaguer LE, y col. Saccade velocity as a surrogate disease marker in spinocerebellar ataxia type 2. *Ann N Y Acad Sci* 2005;1039:524-7.
- 192.Sequeiros J y Coutinho P. Epidemiology and clinical aspects of Machado-Joseph disease. *Adv Neurol* 1993; 61:139-153.

193. Sharpe JA y Fletcher WA. Saccadic intrusions and oscillations. *Can J Neurol Sci.* 1984; 11(4):426-33.
194. Shibata H, Huynh DP, Pulst SM. A novel protein with RNA-binding motifs interacts with ataxin-2. *Hum Mol Genet* 2000; 9(9):1303-13.
195. Shires J, Joshi S, Basso MA. Shedding new light on the role of the basal ganglia-superior colliculus pathway in eye movements. *Curr Op Neurobiol* 2010; 20:1-9.
196. Siegel JM. REM sleep: A biological and psychological paradox. *Sleep Med Rev* 2011; 15:139-142.
197. Sinha KK, Worth PF, Jha DK, Sinha S, Stinton VJ, Davis MB y col. Autosomal dominant cerebellar ataxia: SCA2 is the most frequent mutation in eastern India. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2004; 75:448-452.
198. Soetedjo R, Kaneko CR, Fuchs AF. Evidence that the superior colliculus participates in the feedback control of saccadic eye movements. *J Neurophysiol.* 2002; 87(2):679-95.
199. Sparks DL. The brainstem control of saccadic eye movements. *Nat Rev Neurosci.* 2002; 3(12):952-64.
200. Spencer RF y Wang SF. Immunohistochemical localization of neurotransmitters utilized by neurons in the rostral interstitial nucleus of the medial longitudinal fasciculus (riMLF) that project to the oculomotor and trochlear nuclei in the cat. *J Comp Neurol* 1996; 366:134-48.
201. Spreen O y Benton AL. Neurosensory center comprehensive examination for aphasia (NCCA). Victoria: University of Victoria, Neuropsychology Laboratory; 1969.

202. Spreen O y Strauss E. A Compendium of Neuropsychological Tests: Administration Norms, and Commentary. New York, NY: Oxford University Press; 1991.
203. Stoodley CJ. The Cerebellum and Cognition: Evidence from Functional Imaging Studies. *Cerebellum* 2011; DOI 10.1007/s12311-011-0260-7.
204. Storey E, Forrest SM, Shaw JH, Mitchell P, Gardner RJ. Spinocerebellar ataxia type 2: clinical features of a pedigree displaying prominent frontal-executive dysfunction. *Arch Neurol* 1999; 56:43-50.
205. Strassman A, Highstein SM, McCrea RA. Anatomy and physiology saccadic burst neurons in the alert squirrel monkey I. Excitatory burst neurons. *J Comp Neurol* 1986a; 249:337-57.
206. Strassman A, Highstein SM, McCrea RA. Anatomy and physiology of saccadic burst neurons in the alert squirrel monkey. II. Inhibitory burst neurons. *J Comp Neurol* 1986b;249(3):358-80.
207. Strassman A, Evinger C, McCrea RA, Baker RG, Highstein SM. Anatomy and physiology of intracellularly labelled omnipause neurons in the cat and squirrel monkey. *Exp Brain Res* 1987;67(2):436-40.
208. Strupp M, Hübner K, Sandmann R, Zwergal A, Dieterich A, Jahn K y col. Central oculomotor disturbances and nystagmus: a window into the brainstem and cerebellum. *Dtsch Arztebl Int* 2011; 108(12):197-204.
209. Stuphorn V, Brown JW, Schall JD. Role of supplementary eye field in saccade initiation: executive, not direct, control. *J Neurophysiol.* 2010; 103(2):801-16.

- 210.Sweeney JA, Mintun MA, Kwee S, Wiseman MB, Brown DL, Rosenberg DR y col. Positron emission tomography study of voluntary saccadic eye movements and spatial working memory. *J Neurophysiol*. 1996; 75(1):454-68.
- 211.Takagi M, Zee DS, Tamargo RJ. Effects of lesions of the oculomotor vermis on eye movements in primate: saccades. *J. Neurophysiol* 1998; 80:1911-1931.
- 212.Takahashi K. Intensity of REM Sleep. In: Mallick BN, Inuo S, editors. New Delhi: Narosa Publishing House; 1999. p. 383-392.
- 213.Tanaka M y Kunimatsu J. Contribution of the central thalamus to the generation of volitional saccades. *Eur. J. Neurosci* 2011; 33:2046-2057
- 214.Thurtell MJ, Tomsak RL, Leigh RJ. Disorders of saccades. *Curr Neurol Neurosci Rep*. 2007; 7(5):407-16.
- 215.Tuin I, Voss U, Kang JS, Kessler K, Rub U, Nolte D y col. Stages of sleep pathology in spinocerebellar ataxia type 2 (SCA2). *Neurology*. 2006 12;67(11):1966-72.
- 216.Vale J, Bugalho P, Silveira I, Sequeiros J, Guimaraes J, Coutinho P. Autosomal dominant cerebellar ataxia: frequency analysis and clinical characterization of 45 families from Portugal. *Eur J Neurol* 2010; 17:124-28.
- 217.Van Damme, P, Veldink JH, van Blitterswijk M, Corveleyn A, van Vught PWJ, Thijs V. y col. Expanded *ATXN2* CAG repeat size in ALS identifies genetic overlap between ALS and SCA2. *Neurology* 2011; 76(24);2066-2072.
- 218.van de Loo S, Eich F, Nonis D, Auburger G, Nowock J. Ataxin-2 associates with rough endoplasmic reticulum. *Exp Neurol*. 2009; 215(1):110-8.
- 219.Velazquez Perez L, Sanchez Cruz G, Canales Ochoa N, Rodriguez Labrada R, Rodriguez Diaz J, Almaguer Mederos L y col. Electrophysiological features in patients

- and presymptomatic relatives with spinocerebellar ataxia type 2. *J Neurol Sci.* 2007; 263:158-64.
- 220.Velazquez-Perez L, Cruz GS, Santos Falcon N, Enrique Almaguer Mederos L, Escalona Batallan K, Rodriguez Labrada R y col. Molecular epidemiology of spinocerebellar ataxias in Cuba: insights into SCA2 founder effect in Holguin. *Neurosci Lett.* 2009a; 454(2):157-60.
- 221.Velázquez-Pérez L, Díaz R, Pérez-González R, Canales N, Rodríguez Labrada R, Medrano J, Sánchez G, Almaguer-Mederos L, Torres C, Fernandez-Ruiz J. Motor decline in presymptomatic Spinocerebellar ataxia type 2 gene carriers. *PLOS ONE* 2009c; 4(4):5398-5402.
- 222.Velázquez-Perez L, Rodriguez-Labrada R, Canales-Ochoa N, Sanchez-Cruz G, Fernandez-Ruiz J, Montero JM y col. Progression markers of Spinocerebellar ataxia 2. A twenty years neurophysiological follow up study. *J Neurol Sci.* 2010; 290:22-6.
- 223.Velázquez-Pérez L, Rodríguez-Labrada R, García-Rodríguez JC, Almaguer-Mederos LE, Cruz-Mariño T, Laffita-Mesa JM. A Comprehensive Review of Spinocerebellar Ataxia Type 2 in Cuba. *Cerebellum.* 2011a; 10:184-98.
- 224.Velazquez-Perez L, Seifried C, Santos-Falcon N, Abele M, Ziemann U, Almaguer LE y col. Saccade velocity is controlled by polyglutamine size in spinocerebellar ataxia 2. *Ann Neurol.* 2004; 56:444-7.
- 225.Velázquez-Pérez L, Voss U, Rodríguez-Labrada R, Auburger G, Canales Ochoa N, Sánchez Cruz G y col. Sleep Disorders in Spinocerebellar Ataxia Type 2 Patients. *Neurodegener Dis.* 2011b; 8:447-54.

- 226.Velázquez-Pérez L. Ataxia Espinocerebelosa tipo 2. Diagnóstico, pronóstico y evolución. 3ra ed. La Habana: Editorial Ciencias Médicas, 2012a. 120p.
- 227.Velázquez-Pérez Luis y Rodríguez Labrada R. Manifestaciones tempranas de la Ataxia espinocerebelosa tipo 2. Holguín: Ediciones Holguín; 2012. 126p
- 228.Voogd J, Schraa-Tam CK, van der Geest JN, De Zeeuw CI. Visuomotor Cerebellum in Human and Nonhuman Primates. *Cerebellum*. 2010 DOI 10.1007/s12311-010-0204-7.
- 229.Wadia N, Pang J, Desai J, Mankodi A, Desai M, Chamberlain S. A clinicogenetic analysis of six Indian spinocerebellar ataxia (SCA2) pedigrees. The significance of slow saccades in diagnosis. *Brain*. 1998; 121(Pt 12):2341-55.
- 230.Wadia NH y Swami RK. A new form of heredo-familial spinocerebellar degeneration with slow eye movements (nine families). *Brain*. 1971; 94:359-74.
- 231.Watanabe M y Munoz DP. Probing basal ganglia functions by saccade eye movements. *Eur J Neurosci* 2011; 33:2070-2090.
- 232.Wullner U, Reimold M, Abele M, Burk K, Minnerop M, Dohmen BM y col. Dopamine transporter positron emission tomography in spinocerebellar ataxias type 1, 2, 3, and 6. *Arch Neurol* 2005; 62(8):1280-5.
- 233.Ying SH, Choi SI, Lee M y col. Relative Atroph of the Flocculus and Ocular Motor Dysfunction in SCA2 and SCA6. *Ann N Y Acad Sci*. 2005; 1039:430-5
- 234.Ying SH, Horn AKE, Geiner S, Wadia NH, Buttner-Ennever JA. Selective, circuit-wide sparing of floccular connections in hereditary olivopontine cerebellar atrophy with slow saccades. *Prog Brain Res* 2008; 171:583-586

## ANEXOS

## ANEXO 1. PRINCIPALES CARACTERÍSTICAS GENOTÍPICAS Y FENOTÍPICAS DE LAS ATAXIAS ESPINOCEREBELOSAS

<i>Subtipo SCA</i>	<i>Localización genómica</i>	<i>Gen/Proteína</i>	<i>Mutación</i>	<i>Principales manifestaciones clínicas*</i>
<b>SCA1</b>	6p22.3	<i>ATXN1</i> /Ataxina 1	(CAG) <sub>n</sub> exónica	Neuropatía periférica, manifestaciones extrapiramidales, piramidales y cognitivas.
<b>SCA2</b>	12q23-24.1	<i>ATXN2</i> /Ataxina 2	(CAG) <sub>n</sub> exónica	Enlentecimiento sacádico, neuropatía periférica, manifestaciones extrapiramidales, piramidales, cognitivas y del sueño.
<b>SCA3</b>	14q24.3-31	<i>ATXN3</i> /Ataxina 3	(CAG) <sub>n</sub> exónica	Manifestaciones extrapiramidales & piramidales, neuropatía periférica & alteraciones cognitivas y del sueño.
<b>SCA4</b>	16q24	¿?	¿?	Neuropatía periférica.
<b>SCA5</b>	11p11-q11	<i>SPTBN</i> / espectrina β-III	Sin sentido	Ataxia “pura”.
<b>SCA6</b>	19p13.13	<i>CACNA1A</i> / <i>CACNA1A</i>	(CAG) <sub>n</sub> exónica	Ataxia “pura” & neuropatía periférica.
<b>SCA7</b>	3.21.1-p12	<i>ATXN7</i> /Ataxina 7	(CAG) <sub>n</sub> exónica	Maculopatía.
<b>SCA8</b>	13q21	<i>ATXN8</i> /Ataxina 8	(CTG) <sub>n</sub> intrónica	Neuropatía periférica & alteraciones cognitivas.
<b>SCA10</b>	22p13.3	<i>ATXN10</i> / Ataxina 10	(ATTCT) <sub>n</sub> intrónica	Epilepsia & alteraciones cognitivas.

<i>Subtipo SCA</i>	<i>Localización genómica</i>	<i>Gen/Proteína</i>	<i>Mutación</i>	<i>Principales manifestaciones clínicas*</i>
<b>SCA11</b>	15q14-q21.3	<i>TTBK2/</i> Tubulina-tau quinasa 2	Marco de lectura	Ataxia “pura”.
<b>SCA12</b>	5q31-33	<i>PPP2R2B/</i> fosfatasa 2A	(CAG)n Intrónica	Temblor
<b>SCA13</b>	19q13.3-13.4	<i>KCNC3/ Canal</i> <i>de K</i>	Sin sentido	Retardo mental & piramidalismo
<b>SCA14</b>	19q13.4-qter	<i>PRKCG/ Fosfo-</i> quinasa Cγ	Sin sentido	Mioclonos
<b>SCA15/16</b>	3p25-26	<i>ITPRI/ Receptor</i> tipo 1 del inositol- trifosfato	Sin sentido o delección	Ataxia “pura”.
<b>SCA17/HDL4</b>	6p27	TBP/ Proteína de unión a TATA	(CAG)n exónica	Corea, distonia, parkinsonismo
<b>SCA18</b>	7q22-q32	<i>IFRD1/ IFRD1</i>	A-743-G	Neuropatía sensorimotora.
<b>SCA19/22</b>	1p21-q23	<i>KCND3/</i> KCND3	Sin sentido o delección	Mioclonos & alteraciones cognitivas
<b>SCA20</b>	11q12	¿?	Duplicación	Disfonía, manifestaciones piramidales & extrapiramidales
<b>SCA21</b>	7p21.3-p15.1	¿?	¿?	Manifestaciones extrapiramidales
<b>SCA23</b>	20pter-12.2	<i>DYN/ Prodonor-</i> fina	Sin sentido	Manifestaciones piramidales.
<b>SCA25</b>	2p21-p15	¿?	¿?	Neuropatía sensitiva.
<b>SCA26</b>	19p13.3	¿?	¿?	Ataxia “pura”

Subtipo SCA	Localización genómica	Gen/Proteína	Mutación	Principales manifestaciones clínicas*
<b>SCA27</b>	13q33.1	<i>FGF14</i> / Factor de crecimiento de fibroblastos 14	Sin sentido	Alteraciones cognitivas & extrapiramidales
<b>SCA28</b>	18p11-q11	<i>AFG3L2</i> / ATPasa AFG3	Sin sentido	Oftalmoplejias, espasticidad & ptosis
<b>SCA29</b>	3p26	¿?	¿?	Ataxia pura no progresiva
<b>SCA30</b>	4q34.3-q35.1	¿?	¿?	Manifestaciones piramidales
<b>SCA31</b>	16q21	<i>BEAN</i> /Factor cerebral asociado a NEDD4	(TGGAA) <sub>n</sub> intrónica	Tortícolis espasmódica
<b>SCA32</b>	7q32-33	¿?	¿?	Deterioro cognitivo & azoospermia.
<b>SCA33</b>	¿?	¿?	¿?	
<b>SCA34</b>	16p12.3q16.2	¿?	¿?	Neuropatía periférica & placas cutáneas
<b>SCA35</b>	20p13-12.2	<i>TGM6</i> /Transglutaminasa 6	Sin sentido	Ataxia "pura".
<b>SCA36</b>	20p13	<i>NOP56</i> /Ribonucleoproteína nuclear	(GGCCTG) <sub>n</sub> Intrónica	Manifestaciones de motoneurona inferior
<b>DRPLA</b>	12p13.31	<i>ATN1</i> /Atrofina 1	(CAG) <sub>n</sub> exónica	Mioclono, coreoatetosis, demencia & epilepsia

\*: Se presentan las principales manifestaciones clínicas que acompañan al síndrome cerebeloso.

¿?: Desconocido

IFRD1: regulador del desarrollo relacionado con el interferón

KCND3: canal de potasio dependiente de voltaje Kv4.3

---

**ANEXO 2. FUNCIONES Y EFECTO DE LESIONES DE LAS PRINCIPALES ESTRUCTURAS DEL SISTEMA SACÁDICO**

<b>Estructura</b>	<b>Función</b>	<b>Efecto de lesiones</b>
<b>Campo ocular frontal</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Selección de blancos visuales.</li> <li>• Generación de sácadas correctivas.</li> <li>• Preparación de sácadas voluntarias.</li> </ul>	Prolongación de latencias sacádicas Disminución de sácadas correctivas. Hipometría contralateral
<b>Campo ocular suplementario</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Establecimiento del programa motor ante una secuencia de sácadas.</li> <li>• Preparación de sácadas voluntarias.</li> </ul>	Incapacidad para realizar secuencias de sácadas memorizadas
<b>Campo ocular pre-suplementario</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Aprendizaje oculomotor ante una secuencia de sácadas repetitivas.</li> </ul>	Incapacidad para realizar secuencias de sácadas memorizadas
<b>Corteza prefrontal dorsolateral</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Inhibición de sácadas reflejas durante los movimientos oculares antisacádicos.</li> <li>• Preparación de sácadas voluntarias (memorizadas y predictivas).</li> </ul>	Incremento de errores en paradigmas antisacádico, predictivos y memorizados.
<b>Campo ocular parietal</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Activación de sácadas reflejas.</li> <li>• Actualización de la información viso-espacial después de una sácada.</li> </ul>	Alteración de sácadas reflejas Prolongación de latencias de sácadas guiadas visualmente Afectación de la exploración visual

---

Estructura	Función	Efecto de lesiones
<b>Corteza cingulada anterior</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Regulación de procesos atencionales y motivacionales específicos durante las sácadás.</li> </ul>	No reportado
<b>Colículo superior</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Desinhibición de los circuitos premotores del tallo cerebral.</li> <li>Codifica la magnitud y dirección del desplazamiento ocular deseado.</li> <li>Modula la actividad pre-sacádica frontal.</li> </ul>	Prolongación de latencias sacádicas Intrusiones sacádicas Pérdida de sácadás expresas
<b>Núcleo interpuesto del Rafe</b> (Neuronas omnipausas)	<ul style="list-style-type: none"> <li>Inhibición tónica del circuito premotor del tallo cerebral durante la fijación.</li> <li>Neuro-modulador del circuito premotor sacádico.</li> </ul>	Oscilaciones sacádicas Enlentecimiento sacádico horizontal y vertical
<b>Formación reticular mesencefálica central</b> (Neuronas en ráfagas de derivación larga)	<ul style="list-style-type: none"> <li>Envía información sobre la posición del blanco en las coordenadas retinotópicas del colículo superior al circuito premotor del tallo cerebral y al cerebelo</li> </ul>	Dismetría sacádica
<b>Núcleo reticulotegmental del puente</b> (Neuronas de descarga de derivación larga)	<ul style="list-style-type: none"> <li>Envía información sobre la posición del blanco en las coordenadas retinotópicas del colículo superior al circuito premotor del tallo cerebral y al cerebelo</li> </ul>	Dismetría sacádica
<b>Formación reticular pontina paramediana</b> (Neuronas EBN horizontales)	<ul style="list-style-type: none"> <li>Generación del pulso de inervación para el desarrollo de las sácadás en el plano horizontal.</li> </ul>	Enlentecimiento o ausencia de movimientos oculares horizontales

Estructura	Función	Efecto de lesiones
<b>Núcleo rostral-intersticial del Fascículo longitudinal medio</b> (Neuronas EBN verticales)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Generación del pulso de inervación para el desarrollo de las sácadas en el plano vertical</li> </ul>	Enlentecimiento o ausencia de movimientos oculares verticales y torsionales No reportado
<b>Formación reticular medial</b> (Neuronas IBN horizontales)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Inhibe las PBN contralaterales</li> </ul>	Nistagmo vertical evocado por la mirada
<b>Núcleo intersticial del Cajal</b> (Neuronas IBN verticales & integrador sacádico vertical)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Inhibe las PBN contralaterales</li> <li>• Genera patrón de inervación tónico sobre motoneuronas que garantiza el mantenimiento de la mirada en posición excéntrica</li> </ul>	Nistagmo horizontal evocado por la mirada
<b>Núcleo prepósito <i>hypoglossi</i></b> (Integrador sacádico horizontal)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Genera patrón de inervación tónico sobre motoneuronas que garantiza el mantenimiento de la mirada en posición excéntrica</li> </ul>	Nistagmo horizontal evocado por la mirada
<b>Núcleo vestibular medial</b> (Integrador sacádico horizontal)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Genera patrón de inervación tónico sobre motoneuronas que garantiza el mantenimiento de la mirada en posición excéntrica</li> </ul>	Hipometría sacádica
<b>Vermis oculomotor</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Regula patrón temporal de actividad del núcleo fastigio caudal.</li> </ul>	Hipometría de sácadas contralaterales e hipermetría de sácadas ipsilaterales
<b>Núcleo fastigio caudal</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Acelera sácadas contralaterales y desacelera las sácadas ipsilaterales.</li> </ul>	

---

Estructura	Función	Efecto de lesiones
<b>Ganglios basales</b>	Iniciación de sácadas mediante la desinhibición del colículo superior ( <b>vía directa</b> )	Dificultad en iniciación de sácadas voluntarias
	Previene el desarrollo de sácadas durante la fijación ocular ( <b>vía indirecta</b> ).	Intrusiones sacádicas
<b>Tálamo</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Monitorización de las sácadas (descarga corolaria)</li><li>• Actualización la memoria espacial de los estímulos visuales</li><li>• Generación de sácadas automáticas y preparación de sácadas voluntarias</li></ul>	Dificultad en el desarrollo de sácadas voluntarias Déficits en la adaptación sacádica

---

**ANEXO 3. ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA DE LAS VARIABLES CLÍNICAS Y MOLECULARES DE LOS SUJETOS INCLUIDOS EN EL ESTUDIO LONGITUDINAL.**

Variables	Promedio $\pm$ D.E (Rango)		
		Pacientes (N=40)	Controles (N=40)
<b>Edad</b>	Estudio 1	45,55 $\pm$ 11,33 (26-74)	43,53 $\pm$ 15,04 (23-73)
	Estudio 2	46,38 $\pm$ 11,45 (26-75)	44,40 $\pm$ 15,04 (24-74)
	Estudio 3	47,33 $\pm$ 11,41 (27-75)	45,30 $\pm$ 15,02 (25-75)
<b>Duración de la enfermedad</b>	Estudio 1	16,50 $\pm$ 8,21 (4-49)	-
	Estudio 2	17,83 $\pm$ 8,61 (5-50)	-
	Estudio 3	18,76 $\pm$ 8,57 (6-51)	-
<b>Edad de inicio</b>		28,55 $\pm$ 8,94 (15-53)	-
<b>Alelo normal</b>		21,98 $\pm$ 0,77 (19-24)	-
<b>Alelo expandido</b>		40,03 $\pm$ 2,73 (34-47)	-

**ANEXO 4. ESCALA PARA LA ESTIMACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE LA ATAXIA** (Schmitz-Hübsch y col., 2006)

<b>I. Marcha</b>		
<b>Instrucciones</b>	<b>Puntuación</b>	
<p>Caminar normalmente una distancia dada, paralelo a la pared y hacer una media vuelta</p> <p>Caminar en tándem sin soporte.</p>	Normal. No hay dificultades al caminar, girar ni en el tándem (es permitido un error)	<b>0</b>
	Evidente la dificultad solamente cuando el paciente camina 10 pasos consecutivos en tándem	<b>1</b>
	No es posible realizar la marcha en tándem por encima de 10 pasos	<b>2</b>
	Dificultad en la media vuelta, pero sin soporte	<b>3</b>
	Necesita soporte intermitente de la pared	<b>4</b>
	Soporte permanente de una vara, palo, bastón o necesita un soporte ligero por un brazo	<b>5</b>
	Camina más de 10 metros solo con un soporte fuerte	<b>6</b>
	Camina menos de 10 m con un soporte fuerte	<b>7</b>
	Incapaz de caminar, aun con soporte	<b>8</b>
<b>II. Estabilidad postural (de pie)</b>		
<p>Ponerse de pie, en posición natural, con los dos pies juntos en paralelo y en tándem sin que exista espacio entre los 2 pies.</p> <p>No quitarle los zapatos. Con los ojos abiertos se repite tres veces para cada Posición y se toma el mejor resultado.</p>	Normal: Capaz de pararse en tándem por más de 10 segundos	<b>0</b>
	Capaz de pararse con los pies juntos y sin oscilaciones, pero incapaz de permanecer en tándem por más de 10 segundos	<b>1</b>
	Capaz de pararse con los pies juntos por más de 10 segundos, pero con oscilaciones únicamente	<b>2</b>
	Capaz de pararse por más de 10 segundos sin soporte en posición natural, pero no con los pies juntos	<b>3</b>
	Capaz de pararse por más de 10 segundos en posición natural solo con soporte intermitente	<b>4</b>
	Capaz de pararse más de 10 segundos en posición natural solo con soporte constante por uno de los dos brazos	<b>5</b>
	Incapaz de pararse por más de 10 segundos aun con soporte constante por uno de los brazos.	<b>6</b>

<b>III. Estabilidad postural (sentado)</b>		
Se le indica al paciente que se sienta en la cama del examen, sin soporte en los pies, ojos abiertos y brazos levantados al frente.	Normal: No dificultades al sentarse por más de 10 segundos.	<b>0</b>
	Dificultades ligeras, oscilaciones intermitentes.	<b>1</b>
	Oscilaciones constantes, pero capaz de sentarse durante más de 10 segundos sin soporte.	<b>2</b>
	Capaz de sentarse durante más de 10 segundos con soporte intermitente.	<b>3</b>
	Incapaz de sentarse durante más de 10 segundos sin soporte continuo.	<b>4</b>
<b>IV. Trastornos del lenguaje</b>		
Esto se explora durante una conversación normal.	Normal.	<b>0</b>
	Sugestivo de trastornos del habla.	<b>1</b>
	Lenguaje dañado, pero fácil de comprender.	<b>2</b>
	Dificultad ocasional para comprender el lenguaje.	<b>3</b>
	Muchas palabras se hacen difíciles de comprender.	<b>4</b>
	Solamente se pueden comprender cinco palabras.	<b>5</b>
	Lenguaje ininteligible	<b>6</b>
<b>V. Seguimiento.</b>		
El examinador ejecuta cinco movimientos consecutivos, súbitos y rápidos de punteo en direcciones impredecibles en un plano frontal, alrededor de un 50% del alcance del paciente. El paciente realiza movimientos con un dedo índice tan rápido y sucesivo como sea posible. Se evalúa cada lado (D e I) y se le saca un promedio	No dismetría.	<b>0</b>
	Dismetría hiper/hipometría menor de cinco cm al dedo del examinador.	<b>1</b>
	Dismetría menor de 15 cm al dedo del examinador.	<b>2</b>
	Dismetría mayor de 15 cm al dedo del examinador.	<b>3</b>
	Incapaz de realizar cinco movimientos de punteo.	<b>4</b>

<b>VI. Índice – Nariz</b>		
El paciente hace cinco movimientos con cada mano, desde su nariz hasta el dedo índice del explorador. Se promedian ambos movimientos de acuerdo a la amplitud del temblor cinético al dedo del examinador permanece fijo. Se evalúa cada lado (D e I) y se le saca un promedio.	No temblor	<b>0</b>
	Temblor con amplitud menor de dos cm.	<b>1</b>
	Temblor con amplitud menor de cinco cm.	<b>2</b>
	Temblor mayor de cinco cm.	<b>3</b>
	Incapaz de realizar los cinco movimientos de punteo	<b>4</b>
<b>VII. Movimientos alternativos de las manos.</b>		
Realizar 10 ciclos repetitivos de pronosupinación de las manos sobre sus muslos, tan rápido y preciso como sea posible; el movimiento es demostrado por el examinador a una velocidad aproximada de 10 ciclos dentro de siete segundos. El tiempo exacto para la ejecución del movimiento tiene que ser medido Se explora separadamente para cada mano y se saca el promedio.	No irregularidades, ejecución en menos de 10 segundos.	<b>0</b>
	Irregularidades ligeras, ejecución en menos de 10 segundos.	<b>1</b>
	Claramente irregular, los movimientos simples son difíciles de distinguir o tienen interrupciones relevantes, pero se ejecutan en menos de 10 segundos.	<b>2</b>
	Muy irregular, los movimientos simples son difíciles de distinguir o tienen interrupciones relevantes, que ejecutan con tiempo mayor de 10 segundos.	<b>3</b>
	Incapaz de completar los 10 ciclos.	<b>4</b>
<b>VIII. Prueba Talón – Rodilla.</b>		
El paciente se acuesta en una cama y se le indica que toque la rodilla con el talón del pie opuesto y que lo desplace hacia abajo por la espinilla. La tarea se ejecuta tres veces.	Normal, se mantiene el contacto con la espinilla y cada ciclo se logra en menos de un segundo.	<b>0</b>
	Se mantiene el contacto con la espinilla, pero con irregularidades menores	<b>1</b>
	Claramente anormal, se pierde el contacto con la espinilla en entre 1-3 ocasiones durante los tres ciclos.	<b>2</b>
	Severamente anormal, se pierde el contacto con la espinilla en cuatro o más ocasiones durante los tres ciclos.	<b>3</b>
	Incapaz de realizar la tarea.	<b>4</b>

**ANEXO 5. MONTAJE DE ELECTRODOS PARA EL REGISTRO DE LOS MOVIMIENTOS OCULARES SACÁDICOS Y ANTISACÁDICOS MEDIANTE ELECTRONISTAGMOGRAFÍA.**



## ANEXO 6. OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES

Variable	Clasificación y significado
<b>Variables demográficas y clínicas.</b>	
Género	Variable cualitativa nominal dicotómica que se clasificó en masculino o femenino según el examen físico de las características anatómicas externas.
Edad	Variable cuantitativa discreta que consiste en el tiempo transcurrido desde el nacimiento del individuo hasta el momento del estudio. Se expresó en años.
Edad de inicio de la enfermedad	Variable cuantitativa discreta definida como la edad a la cual el individuo debutó con el síndrome cerebeloso. Se obtuvo mediante una profunda entrevista con el sujeto enfermo o sus familiares, y/o a través de la revisión de las historias clínicas correspondientes. Se expresó en años.
Duración de la enfermedad	Variable cuantitativa discreta definida como el tiempo transcurrido entre la edad de inicio de la enfermedad y el momento en que se estudia el sujeto. Se expresó en años.
Edad de inicio estimada	Variable cuantitativa discreta, solo aplicada en el grupo de portadores de la mutación. Se obtuvo a partir de un modelo de regresión entre la edad de inicio de la enfermedad y el tamaño de la expansión poliglutamínica. Se expresó en años.
Tiempo previo a la manifestación de la enfermedad	Variable cuantitativa discreta, solo aplicada en el grupo de portadores de la mutación. Se obtuvo restando la edad cronológica de la edad de inicio estimada y se define como el periodo de tiempo estimado para la aparición del síndrome cerebeloso en los portadores de la mutación. Se expresó en años.
Puntuación de la escala SARA	Variable cuantitativa continua comprendida entre 0 y 40 unidades, definida como la sumatoria de las puntuaciones parciales de los ítems de esta escala. A mayor puntuación, mayor severidad del síndrome cerebeloso.
<b>Variables cognitivas.</b>	
Tiempo corregido de la tarea	Variable cuantitativa continua, definida por el tiempo

de interferencia de la prueba de Stroop	absoluto de ejecución de la tarea de interferencia menos el tiempo de ejecución de la fase inicial o de lectura. Se expresó en segundos.
Porcentaje de errores en la tarea de interferencia de la prueba de Stroop	Variable cuantitativa continua, definida como el porcentaje que representó el número de errores de interferencia del total de respuestas. Se expresó en por ciento. Se consideró un error de interferencia cuando los sujetos leyeron el nombre del color y no el color de la tinta con que estaba escrito.
Promedio de aciertos en la prueba de fluencia verbal fonológica	Variable cuantitativa continua consistente en el promedio de palabras que comienzan con F, A y S correctamente mencionadas en un minuto, excluyendo los nombres propios, las repeticiones y las palabras derivadas de algunas ya mencionadas.
Porcentaje total de errores en la prueba de Wisconsin	Variable cuantitativa continua, definida como el porcentaje que representó el número de errores de clasificación, con respecto al total de respuestas en la prueba de Wisconsin. Se expresó en por ciento. Se consideró un error cuando los sujetos clasificaron una tarjeta según un criterio diferente al establecido por el examinador.
Porcentaje de errores perseverativos en la prueba de Wisconsin	Variable cuantitativa continua, definida como el porcentaje que representó el número de errores perseverativos del total de errores. Se expresó en por ciento. Se consideró un error perseverativo cuando los sujetos cometieron un error siguiendo el mismo criterio de clasificación previamente catalogado como erróneo.
Número de categorías completadas en la prueba de Wisconsin	Variable cuantitativa discreta definida como la cantidad de categorías (color, número o forma) en las que el individuo completó seis respuestas correctas consecutivamente.
Número de palabras recordadas en el primer ensayo de la prueba de memoria verbal	Variable cuantitativa discreta definida como el total de palabras recordadas de una lista de 10 en el primer ensayo de la prueba.
Número de ensayos requeridos para recordar toda la lista de	Variable cuantitativa discreta definida como el número de ensayo en el que los sujetos recordaron

palabras de la prueba de memoria verbal	las 10 palabras de la lista empleada. En caso de que los pacientes no sean capaces de recordar la totalidad de las palabras durante la prueba se considera 10 como el número de ensayos requeridos.
Número de palabras recordadas a los 20 minutos de la prueba de memoria verbal	Variable cuantitativa discreta definida como el total de palabras recordadas a los 20 minutos posteriores al décimo ensayo.
<b>Variables electronistagmográficas</b>	
Velocidad sacádica	Variable cuantitativa continua definida como los grados de desplazamiento ocular por segundo, según un ajuste polinomial de tercer orden realizado por el software Oscreen. Se expresó en grados por segundos para 10°, 30° y 60° de estimulación.
Amplitud sacádica	Variable cuantitativa continua que refleja la magnitud absoluta del desplazamiento ocular sacádico para estímulos de 10°, 30° y 60° de amplitud. Se expresa en grados.
Desviación sacádica	Variable cuantitativa continua que refleja la magnitud relativa del desplazamiento ocular sacádico en relación al desplazamiento del estímulo. Se define como el porcentaje que representa la amplitud del movimiento ocular con respecto a la amplitud del estímulo.
Latencia sacádica	Variable cuantitativa continua, definida como el tiempo comprendido entre la presentación del estímulo y el comienzo del movimiento ocular sacádico. Se expresa en milisegundos para estímulos de 10°, 30° y 60° de amplitud.
Tasa de errores antisacádicos de dirección	Variable cuantitativa continua consistente en el porcentaje que representan los movimientos oculares iniciados en el mismo sentido que el estímulo (errores antisacádicos de dirección) del total de movimientos oculares realizados durante la tarea antisacádica. Se expresa en porcentaje.
Porcentaje de errores antisacádicos corregidos	Variable cuantitativa continua, definida como el porcentaje de errores antisacádicos de dirección que son corregidos por un movimiento ocular en sentido contrario al estímulo. Se expresó en porcentaje.

Tasa de errores antisacádicos por omisión	Variable cuantitativa continua que consiste en el porcentaje de errores por ausencia de respuesta oculomotora (no iniciación de ningún movimiento ocular) con respecto al total de desplazamientos realizados por el estímulo. Se expresó en porcentaje.
Tasa de errores antisacádicos total	Variable cuantitativa continua, definida por el porcentaje que representa la sumatoria de errores antisacádicos de dirección y errores por omisión, del total de desplazamientos realizados por el estímulo. Se expresó en porcentaje.
<b>Variables polisomnográficas</b>	
Densidad de movimientos oculares rápidos en fase de sueño REM	Variable cuantitativa continua, definida como el porcentaje de mini-épocas de tres segundos, en fase de sueño REM, en las que se observa, al menos un movimiento ocular sacádico. Se expresó en porcentaje.
<b>Variables moleculares</b>	
Número de repeticiones del trinucleótido CAG en los alelos <i>ATXN2</i> normales	Variable cuantitativa discreta definida como la cantidad de repeticiones del triplete CAG en los alelos <i>ATXN2</i> no expandidos.
Número de repeticiones del trinucleótido CAG en los alelos <i>ATXN2</i> expandidos	Variable cuantitativa discreta definida como la cantidad de repeticiones del triplete CAG en los alelos <i>ATXN2</i> expandidos.

## ANEXO 7. CONSENTIMIENTO INFORMADO

### HOJA DE INFORMACIÓN SOBRE EL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

Usted está en todo el derecho de leer detenidamente la información que se describe a continuación, además, puede analizarla si lo considera necesario con familiares, amigos y con su médico de familia, antes de decidir si participa o no en la investigación que se le está proponiendo.

#### ¿Por qué se realiza esta investigación?

El proyecto “**Ataxia espinocerebelosa tipo 2. Estudio de los movimientos oculares sacádicos en familias portadoras de la mutación SCA2**” es una investigación científica con el objetivo de evaluar los movimientos oculares sacádicos en los enfermos y portadores de la mutación que aún no ha enfermado, para profundizar más en el conocimiento de la SCA2. Esto permitirá la evaluación de nuevos parámetros de la enfermedad, útiles en la evaluación de futuros tratamientos.

#### ¿Qué impacto tendrá en usted la investigación?

Los resultados de esta investigación, de ser positivo, permitirán identificar nuevos parámetros biológicos de la enfermedad que serán utilizados para mejorar el diagnóstico de la misma, su pronóstico y progresión, por lo que se podrá contar con nuevas herramientas para responder a sus interrogantes sobre el inicio y la evolución de la enfermedad. Además estos parámetros permitirán evaluar el efecto de terapias contra la enfermedad, así como favorecerá el diseño de nuevas estrategias terapéuticas.

#### ¿Qué exámenes se le realizarán?

Se llevarán a cabo los siguientes estudios:

- ✓ Evaluación clínica-neurológica, la que se realizará por un médico especializado en la consulta de neurología del CIRAH y consiste en un profundo interrogatorio sobre su estado de salud, con énfasis en las manifestaciones neurológicas relacionadas con la enfermedad. Además se le aplicará un grupo de procedimientos y técnicas estandarizadas para la exploración del sistema nervioso, ninguno de los cuales entraña riesgos para su salud.
- ✓ Cuantificación de las alteraciones cerebelosas mediante una escala internacional validada, la que será aplicada por un médico especializado en la consulta de neurología del CIRAH y consiste en la ejecución de un grupo de maniobras motoras para evaluar la severidad de las alteraciones de la marcha, coordinación, estabilidad postural y lenguaje. Ninguna de estas maniobras entraña riesgos para su salud.
- ✓ Evaluación neurocognitiva mediante una batería de pruebas estandarizadas internacionalmente, la que será aplicada por un especialista debidamente preparado, en el laboratorio de funciones neurocognitivas del CIRAH y no entraña ningún riesgo para su salud.
- ✓ Estudios genético-moleculares para la identificación cuantitativa de la mutación, los que serán realizados por un conjunto de técnicos y especialistas en biología molecular bien preparados, que se auxiliarán de una tecnología diagnóstica de elevada sensibilidad y especificidad. Para este estudio, de no existir muestras de su ADN en el banco genético del CIRAH, será necesario extraerle 10 mL de sangre para el estudio cuantitativo de la mutación con material desechable, por lo cual no representa daño para su salud.

- ✓ Estudios electronistagmográficos para la evaluación de los movimientos oculares sacádicos y antisacádicos durante la vigilia, los que serán aplicados por técnicos y especialistas preparados en neurofisiología, que se auxiliarán de una tecnología de elevada sensibilidad y especificidad. Este estudio se llevará a cabo en el laboratorio de movimientos oculares del CIRAH y consiste en la colocación de electrodos de superficie alrededor de sus ojos, los que registrarán las señales eléctricas generadas en esta región al mover sus ojos en la misma dirección o en contra a la que se mueve un estímulo visual que aparecerá en un monitor de televisión. En ningún momento, los electrodos le transmitirán corriente eléctrica a usted, por lo que este estudio no entraña ningún riesgo para su salud.
- ✓ Evaluación polisomnográfica para el estudio de los movimientos oculares sacádicos durante el sueño, los que serán aplicados por técnicos y especialistas preparados en neurofisiología, que se auxiliarán de una tecnología de elevada sensibilidad y especificidad. Este estudio se llevará a cabo en el laboratorio de sueño del CIRAH y consiste en la colocación de varios electrodos en el cuero cabelludo, alrededor de sus ojos, mentón, brazos, piernas, pectoral izquierdo, abdomen y tórax; así como sensores de respiración, ronquidos, posición corporal y niveles de oxígeno en sangre. Una vez colocados los electrodos y sensores, usted dormirá durante aproximadamente 8 horas en nuestro laboratorio, durante dos noches consecutivas, en una habitación preparada para esto. En ningún momento, los electrodos le transmitirán corriente eléctrica a usted, por lo que este estudio no entraña ningún riesgo para su salud.

Los estudios electronistagmográficos y la evaluación neurológica se desarrollarán al menos en tres ocasiones, con una frecuencia anual.

**¿Existirá confidencialidad en el manejo de todos los datos referentes a su persona?**

Los datos obtenidos en el proyecto serán custodiados guardando celosa garantía de discreción y confidencialidad sobre su identificación, para esto en la documentación generada sólo se recogerán las iniciales de sus nombres y apellidos. Los Responsables del Control de Calidad, los Auditores en caso que proceda una Auditoria, los miembros del Comité de Revisión y Ética y las Autoridades Sanitarias tendrán libre acceso a su historia para la verificación de los procedimientos y/o datos del proyecto sin violar la confidencialidad de su identidad. En caso de que los resultados del estudio fueran publicados se mantendrá la confidencialidad. Además de esto el protocolo en estudio ha sido aprobado por un Comité de Revisión y Ética

**¿Cuáles son sus derechos como participante en esta investigación?**

Su aprobación de participación en el estudio es totalmente voluntaria. No representa ningún compromiso con el médico, ni con el hospital. Usted podrá hacer todas las preguntas que estime conveniente sobre el estudio. Puede aceptar o no participar en el mismo con garantías de recibir la atención médica adecuada que necesite, aún en caso de no dar su aprobación. De igual forma, puede abandonarlo voluntariamente cuando lo desee sin necesidad de explicar las causas. Tiene el derecho a que se le expliquen todas las inquietudes que tenga relacionadas con la investigación que se está realizando, o cualquier aspecto que usted considere necesario conocer. Usted debe guardar una copia de este modelo para consultarlo cada vez que desee. Además, debe recibir periódicamente información acerca de la evolución de su enfermedad.

## CONSENTIMIENTO INFORMADO POR ESCRITO DEL PACIENTE

Yo \_\_\_\_\_, vecino de

- **he leído y comprendido la Hoja de Información que me ha sido entregada sobre el proyecto “Ataxia espinocerebelosa tipo 2. Estudio de los movimientos oculares sacádicos en familias portadoras de la mutación SCA2”**
- **he podido hacer todas las preguntas que me preocupaban sobre el estudio.**
- **he recibido respuestas satisfactorias a mis preguntas.**
- **he recibido suficiente información sobre el estudio.**
- **comprendo que mi participación en el estudio es voluntaria.**
- **comprendo que puedo retirarme del estudio:**
  - Cuando lo desee.
  - Sin tener que dar explicaciones.
  - Sin que esto repercuta en mis cuidados médicos.
- **he tenido contacto con:** \_\_\_\_\_,

(Nombres y Apellidos del Investigador)

el cual me ha explicado todos los aspectos relacionados con el estudio.

Por todo lo planteado anteriormente y para expresar libremente mi conformidad de participar en el estudio firmo este Modelo.

**Firma del paciente:** \_\_\_\_\_ Fecha: |\_|\_|/|\_|\_|/|\_|\_| (Día/Mes/Año)

**Firma del Investigador** \_\_\_\_\_ Fecha: |\_|\_|/|\_|\_|/|\_|\_|  
(Día/Mes/Año)

**Firma del Testigo** \_\_\_\_\_ Fecha: |\_|\_|/|\_|\_|/|\_|\_| (Día/Mes/Año)

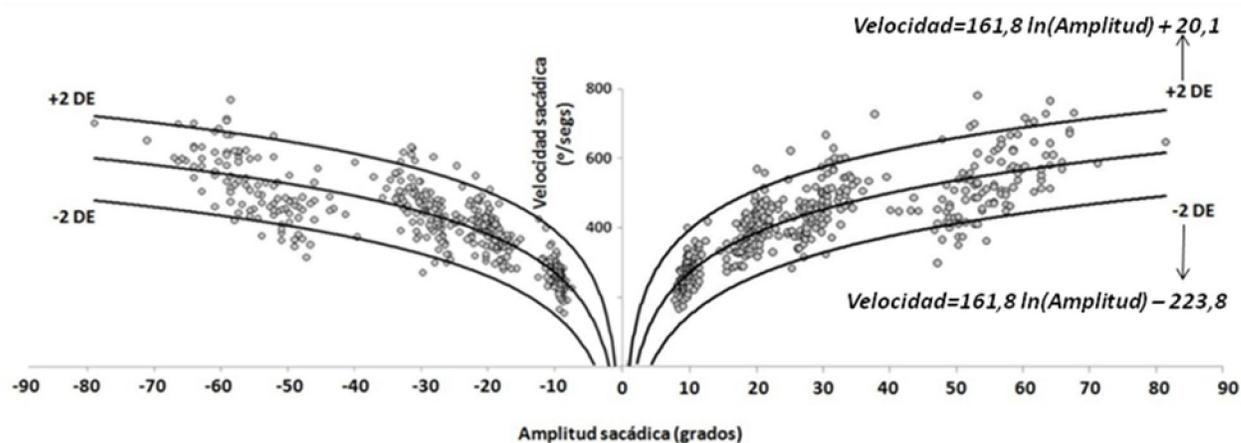
**ANEXO 8. PRINCIPALES MANIFESTACIONES NEUROLÓGICAS PRESENTADAS POR LOS PACIENTES CON SCA2.**

<b>Síntomas y signos</b>	<b>N</b>	<b>%</b>
<b><i>Síndrome Cerebeloso</i></b>		
Ataxia de la marcha	110	100
Inestabilidad postural	110	100
Disartria cerebelosa	107	97,3
Dismetría	104	94,5
Adiadococinesia	104	94,5
Temblor intencional	85	77,3
Temblor postural	65	59,1
Hipotonía muscular	42	38,2
<b><i>Manifestaciones oculomotoras</i></b>		
Movimientos sacádicos lentos	102	92,7
Limitación de la amplitud de los movimientos	94	85,5
Nistagmos patológicos	6	5,5
<b><i>Neuropatía periférica</i></b>		
Hiporreflexia o arreflexia osteotendinosa	80	72,7
Hipo o apalestesia	49	44,6
<b><i>Otras manifestaciones neurológicas</i></b>		
Contracturas musculares dolorosas	84	76,3
Amiotrofia distal	43	39,1
Disfagia	39	35,5
Fasciculaciones	16	14,6
Hiperreflexia osteotendinosa	12	10,91

**ANEXO 9. ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA DE LAS VARIABLES COGNITIVAS EN PACIENTES CON SCA2.**

<b>VARIABLES</b>	<b>Media ± DE (min-max)</b>	<b>Valores normativos*</b>
<b><i>Prueba de interferencia de Stroop</i></b>		
Tiempo de la tarea de conflicto (s)	52,34 ± 32,42 (9-135)	28,27-44,30
Porcentaje de errores (%)	14,25 ± 19,86 (0-84)	1,09 ± 5,95
<b><i>Prueba de fluencia verbal fonológica</i></b>		
Promedio de aciertos (N)	6,43 ± 3,59 (0-17)	6,46-9,03
<b><i>Prueba de clasificación de cartas de Wisconsin</i></b>		
Categorías completadas (N)	2,06 ± 1,44 (0-6)	2,77-3,28
Porcentaje total de errores (%)	60,42 ± 20,43 (21-100)	41,15-56,07
Porcentaje de errores perseverativos (%)	77,76 ± 13,43 (44-100)	71,16-88,76
<b><i>Prueba de memoria verbal evocada</i></b>		
Número de palabras en el primer ensayo (N)	5,12 ± 1,09 (3-7)	5,04-6,14
Número de ensayos (N)	8,03 ± 2,26 (3-10)	5,02-7,56
Número de palabras recordadas a los 20 minutos (N)	8,44 ± 1,24 (6-10)	7,47-9,00

**\*Los valores normativos se obtuvieron a partir de un grupo de 50 sujetos controles. Se presentan los intervalos de confianza del 95% para cada variable. DE: Desviación estándar; min: mínimo; max: máximo**

**ANEXO 10. CURVAS DE SECUENCIA PRINCIPAL DE LOS MOVIMIENTOS OCULARES SACÁDICOS EN EL GRUPO DE SUJETOS CONTROLES.**

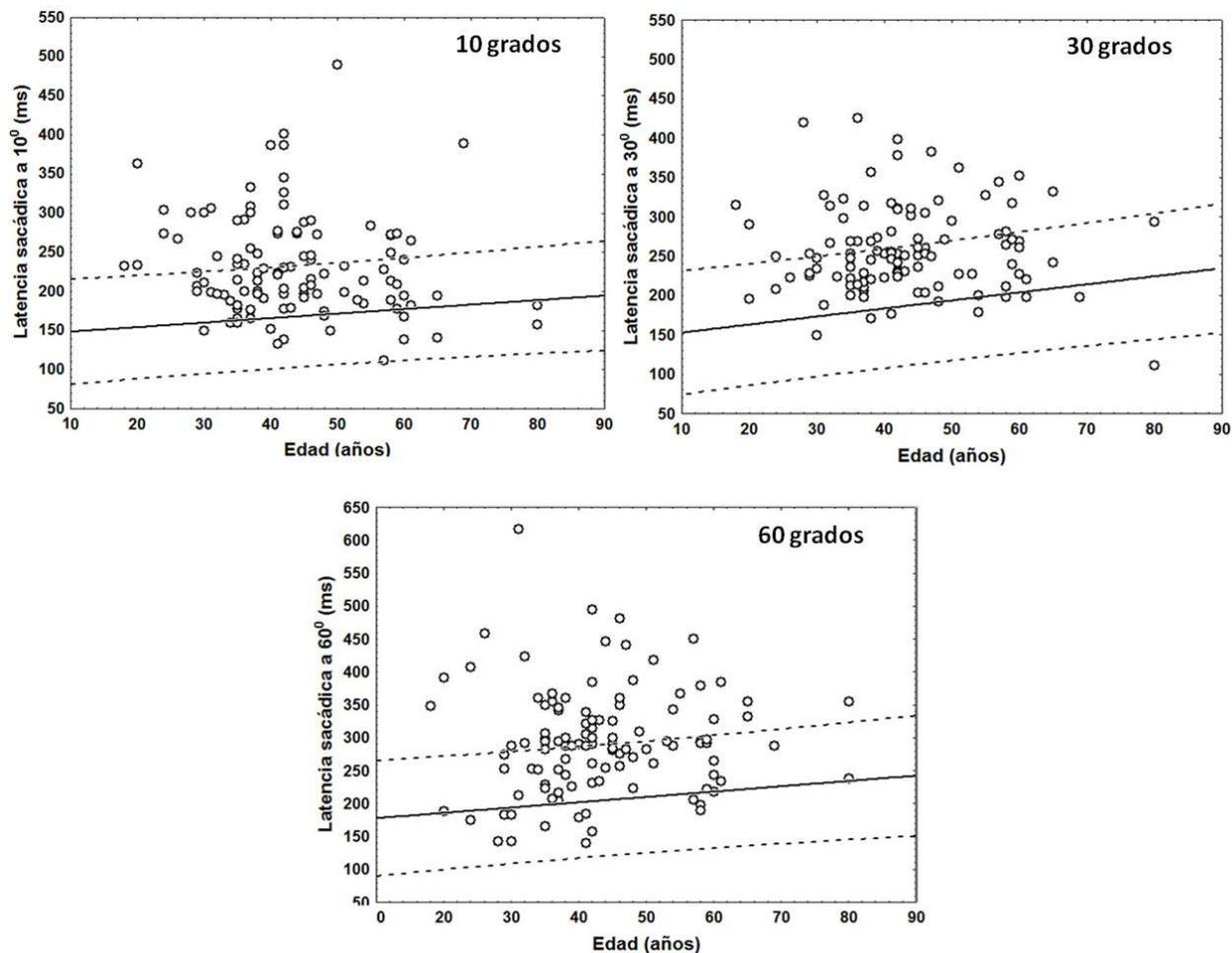
Los valores negativos de la amplitud sacádica representan a las sácadas dirigidas hacia la izquierda, mientras que las amplitudes con signo positivo se refieren a las sácadas dirigidas hacia la derecha. DE: desviación estándar. Se muestran las ecuaciones de regresión para las bandas de +2DE y -2DE, las que definen el rango de normalidad de la velocidad sacádica.

**ANEXO 11. PORCENTAJE DE PACIENTES CON DISMETRÍA SACÁDICA PARA LOS DIFERENTES GRADOS DE ESTIMULACIÓN.**

Amplitud del Estímulo	Hipermetría sacádica			Hipometría sacádica		
	SCA2	CON	$\chi^2$	SCA2	CON	$\chi^2$
10°	32,73 <sup>a</sup>	6,36 <sup>b</sup>	24,32	19,09 <sup>a</sup>	10,90 <sup>a</sup>	2,89
30°	19,09 <sup>a</sup>	2,72 <sup>b</sup>	15,15	23,64 <sup>a</sup>	10,00 <sup>b</sup>	7,31
60°	4,55 <sup>a</sup>	1,82 <sup>a</sup>	1,33	58,18 <sup>a</sup>	10,91 <sup>b</sup>	54,36

*SCA2: Grupo de enfermos con SCA2; CON: Grupo de sujetos controles. Las letras a y b, colocadas como superíndice al lado de cada valor de frecuencia del grupo de enfermos y controles, representan la existencia de diferencias significativas entre ambas proporciones.*

## ANEXO 12. ANÁLISIS DE NORMALIDAD DE LA LATENCIA SACÁDICA A DISTINTOS GRADOS DE ESTIMULACIÓN EN SUJETOS ENFERMOS.



Las líneas discontinuas conforman el rango de normalidad de la latencia sacádica obtenido a partir de análisis de regresión entre la latencia sacádica y la edad en el grupo de sujetos controles.

**ANEXO 13 CORRELACIÓN ENTRE LAS VARIABLES SACÁDICAS A DIFERENTES GRADOS DE ESTIMULACIÓN.**

	<b>Velocidad a 10°</b>	<b>Velocidad a 30°</b>	<b>Velocidad a 60°</b>
<b>Velocidad a 10°</b>	-	r=0,86 p<0,001	r=0,75 p<0,001
<b>Velocidad a 30°</b>	r=0,86 p<0,001	-	r=0,88 p<0,001
<b>Velocidad a 60°</b>	r=0,75 p<0,001	r=0,88 p<0,001	-

	<b>Desviación a 10°</b>	<b>Desviación a 30°</b>	<b>Desviación a 60°</b>
<b>Desviación a 10°</b>	-	r=0,58 p<0,005	r=0,54 p<0,005
<b>Desviación a 30°</b>	r=0,58 p<0,005	-	r=0,65 p<0,005
<b>Desviación a 60°</b>	r=0,54 p<0,005	r=0,65 p<0,005	-

	<b>Latencia a 10°</b>	<b>Latencia a 30°</b>	<b>Latencia a 60°</b>
<b>Latencia a 10°</b>	-	r=0,28 p<0,05	r=0,31 p<0,01
<b>Latencia a 30°</b>	r=0,28 p<0,05	-	r=0,33 p<0,005
<b>Latencia a 60°</b>	r=0,31 p<0,01	r=0,33 p<0,005	-

**ANEXO 14. ANÁLISIS DE CORRELACIÓN ENTRE EL NÚMERO DE REPETICIONES DEL TRINUCLEÓTIDO CAG CON LAS VARIABLES SACÁDICAS EN PACIENTES CON SCA2.**

Variables Sacádicas		Número de repeticiones del trinucleótido CAG			
		Alelo expandido		Alelo no expandido	
		R de Pearson	p	R de Spearman	p
Velocidad Sacádica	10°	-0,48	0,000	0,01	0,946
	30°	-0,46	0,000	-0,03	0,728
	60°	-0,54	0,000	0,01	0,928
Desviación Sacádica	10°	-0,07	0,440	0,12	0,220
	30°	0,09	0,354	0,12	0,212
	60°	-0,29	0,002	0,11	0,251
Latencia Sacádica	10°	0,16	0,091	0,02	0,855
	30°	0,06	0,542	-0,08	0,406
	60°	-0,05	0,626	-0,05	0,606

**ANEXO 15. ESTIMACIÓN DE LA VELOCIDAD SACÁDICA SEGÚN EL NÚMERO DE REPETICIONES DE CAG EN LOS ALELOS EXPANDIDOS.**

CAG	Velocidad Sacádica (Intervalos de Confianza del 95%)		
	10°	30°	60°
32	222,99 (73,02-372,96)	352,62 (115,23-590,01)	406,80 (162,17-651,44)
33	203,39 (66,46-340,32)	321,95 (105,21-538,69)	368,46 (146,88-590,03)
34	185,51 (60,50-310,53)	293,95 (96,06-491,84)	333,73 (133,04-534,42)
35	169,21 (55,06-283,35)	268,38 (87,70-449,05)	302,27 (120,50-484,05)
36	154,33 (50,12-258,55)	245,03 (80,07-409,99)	273,78 (109,14-438,42)
37	140,77 (45,62-235,92)	223,72 (73,11-374,33)	247,97 (98,85-397,10)
38	128,40 (41,52-215,27)	204,26 (66,75-341,77)	224,60 (89,53-359,67)
39	117,11 (37,79-196,43)	186,49 (60,94-312,04)	203,43 (81,09-325,77)
40	106,82 (34,40-179,24)	170,27 (55,64-284,90)	184,26 (73,45-295,06)
41	97,43 (31,31-163,55)	155,46 (50,80-260,12)	166,89 (66,53-267,25)
42	88,87 (28,50-149,23)	141,94 (46,38-237,49)	151,16 (60,26-242,06)
43	81,05 (25,94-136,17)	129,59 (42,35-216,84)	136,91 (54,58-219,24)
44	73,93 (23,61-124,25)	118,32 (38,66-197,98)	124,01 (49,43-198,58)
45	67,43 (21,49-113,38)	108,03 (35,30-180,76)	112,32 (44,77-179,86)
46	61,51 (19,56-103,45)	98,63 (32,23-165,03)	101,73 (40,55-162,91)
47	56,10 (17,80-94,40)	90,05 (29,43-150,68)	92,14 (36,73-147,55)
48	51,17 (16,20-86,14)	82,22 (26,87-137,57)	83,46 (33,27-133,64)
49	46,67 (14,74-78,60)	75,07 (24,53-125,61)	75,59 (30,13-121,05)
50	42,57 (13,42-71,72)	68,54 (22,40-114,68)	68,47 (27,29-109,64)

**ANEXO 16. ESTIMADOS DE HEREDABILIDAD DE LAS VARIABLES SACÁDICAS EN ENFERMOS Y PORTADORES DE LA MUTACIÓN SCA2.**

Variables		Enfermos			Portadores de la mutación		
		CCI	p	H	CCI	p	H
<b>Velocidad Sacádica</b> (°/s)	10°	0,11	0,263	NA	0,27	0,138	NA
	30°	0,35	0,018	~70%	0,25	0,150	NA
	60°	0,47	0,002	~94%	0,19	0,222	NA
<b>Desviación Sacádica</b> (%)	10°	0,07	0,347	NA	-0,04	0,566	NA
	30°	0,07	0,660	NA	0,08	0,371	NA
	60°	0,16	0,170	NA	0,20	0,208	NA
<b>Latencia Sacádica</b> (ms)	10°	0,02	0,620	NA	-0,09	0,641	NA
	30°	0,13	0,219	NA	0,21	0,196	NA
	60°	0,16	0,170	NA	0,13	0,294	NA

**CCI: Coeficiente de correlación intraclase, H: Estimado de heredabilidad; NA: no atribuible.**

**ANEXO 17. ANÁLISIS DE CORRELACIÓN ENTRE LA EDAD, EDAD DE INICIO Y DURACIÓN DE LA ENFERMEDAD CON LAS VARIABLES SACÁDICAS EN PACIENTES CON SCA2.**

Variables	AE	Edad		Edad de Inicio		Duración de la enfermedad			
		Enfermos R	Enfermos p	Enfermos R	Enfermos p	Enfermos R	Enfermos p		
<b>Velocidad Sacádica</b> (°/s)	<b>10</b>	0,43 (0,15)	0,00 (0,12)	-0,39	0,00	0,38 (0,09)	0,00 (0,37)	0,18 (0,18)	0,067 (0,06)
	<b>30</b>	0,40 (0,13)	0,00 (0,18)	-0,38	0,00	0,35 (0,05)	0,00 (0,59)	0,16 (0,14)	0,090 (0,16)
	<b>60</b>	0,48 (0,17)	0,00 (0,08)	-0,42	0,00	0,45 (0,12)	0,00 (0,23)	0,14 (0,14)	0,133 (0,16)
<b>Desviación Sacádica</b> (%)	<b>10</b>	0,03	0,74	-0,34	0,00	-0,02	0,82	0,14	0,14
	<b>30</b>	0,16	0,09	-0,22	0,02	0,10	0,30	0,16	0,10
	<b>60</b>	0,15	0,13	-0,22	0,02	0,13	0,18	0,07	0,46
<b>Latencia Sacádica</b> (ms)	<b>10</b>	-0,15	0,11	0,20	0,04	-0,16	0,10	0,01	0,97
	<b>30</b>	-0,02	0,82	0,29	0,00	-0,06	0,51	0,07	0,45
	<b>60</b>	0,05	0,58	0,21	0,03	0,02	0,85	0,05	0,56

**AE: Amplitud del estímulo.**

**Los valores entre paréntesis se obtuvieron a partir de la corrección de la velocidad sacádica según el número de repeticiones de CAG en los alelos expandidos.**

**ANEXO 18. ANÁLISIS DE CORRELACIÓN DE LA PUNTUACIÓN DE LA ESCALA SARA CON LAS VARIABLES SACÁDICAS.**

Variables	Amplitud del estímulo	Puntuación de la escala SARA	
		<b>R</b>	<b>p</b>
<b>Velocidad Sacádica</b> (°/s)	10	-0,22	0,097
	30	-0,45	0,000
	60	-0,39	0,002
<b>Desviación Sacádica</b> (%)	10	0,09	0,485
	30	-0,19	0,144
	60	-0,38	0,003
<b>Latencia Sacádica</b> (ms)	10	0,23	0,072
	30	0,20	0,125
	60	0,20	0,119

**ANEXO 19. ANÁLISIS DE CORRELACIÓN ENTRE EL NÚMERO DE REPETICIONES DEL TRINUCLEÓTIDO CAG CON LAS VARIABLES SACÁDICAS EN PORTADORES DE LA MUTACIÓN.**

Variables	Portadores de la mutación					No portadores			
	Alelo expandido		Alelo no expandido		Alelo no expandido 1		Alelo no expandido 2		
	R	p	R	p	R	p	R	p	
<b>Velocidad Sacádica</b>	10°	-0,35	0,009	-0,15	0,273	0,14	0,320	0,16	0,239
	30°	-0,32	0,019	-0,12	0,384	0,06	0,648	0,07	0,603
	60°	-0,29	0,033	-0,06	0,671	0,00	0,975	-0,01	0,943
<b>Desviación Sacádica</b>	10°	-0,013	0,926	-0,03	0,845	-0,05	0,690	-0,06	0,640
	30°	-0,116	0,405	0,03	0,828	0,06	0,634	-0,02	0,870
	60°	-0,207	0,133	0,02	0,911	-0,05	0,699	-0,16	0,229
<b>Latencia Sacádica</b>	10°	0,043	0,753	-0,01	0,947	-0,20	0,144	0,01	0,968
	30°	0,213	0,122	-0,12	0,378	-0,01	0,964	0,13	0,346
	60°	0,151	0,275	-0,16	0,252	-0,08	0,564	0,05	0,742

**ANEXO 20. ANÁLISIS DE CORRELACIÓN ENTRE LAS VARIABLES SACÁDICAS Y LA EDAD EN PORTADORES DE LA MUTACIÓN SCA2 Y SUJETOS CONTROLES.**

Variables	Grados de estimulación.	Portadores de la mutación		No portadores	
		R	p	R	p
Velocidad Sacádica	10	-0,03	0,815	-0,33	0,014
	30	0,05	0,730	-0,30	0,025
	60	-0,05	0,710	-0,36	0,007
Desviación Sacádica	10	0,10	0,494	-0,35	0,009
	30	0,26	0,065	-0,29	0,044
	60	0,19	0,160	-0,27	0,047
Latencia Sacádica	10	0,42	0,002	0,35	0,008
	30	0,34	0,015	0,35	0,007
	60	0,40	0,003	0,36	0,005

**ANEXO 21. ANÁLISIS CORRELACIÓN ENTRE LAS VARIABLES SACÁDICAS Y ANTISACÁDICAS CON LAS VARIABLES COGNITIVAS EN PACIENTES CON SCA2.**

Variables	Prueba de Stroop		FAS	PCCW			Prueba de memoria verbal evocada		
	Tiempo	Errores		No. de Cate-gorías	% de errores	% de errores perseve-rativos	Palabras 1er ensayo	Número de ensayos	Palabras 20 minutos
<b>Velocidad Sacádica</b>	r=-0,04; p=0,794	r=-0,16; p=0,794	r=0,17; p=0,356	r=0,01; p=0,941	r=-0,05; p=0,792	r=-0,16; p=0,396	r=0,27; p=0,136	r=0,11; p=0,444	r=0,17; p=0,231
<b>Desviación Sacádica</b>	r=-0,23; p=0,203	r=0,01; p=0,944	r=0,37; p=0,034	r=0,32; p=0,082	r=-0,25; p=0,168	r=-0,01; p=0,810	r=0,20; p=0,143	r=-0,15; p=0,298	r=0,16; p=0,252
<b>Latencia Sacádica</b>	r=0,39; p=0,022	r=-0,05; p=0,621	r=-0,45; p=0,001	r=-0,50; p=0,005	r=0,44; p=0,011	r=0,14; p=0,456	r=-0,39; p=0,003	r=-0,21; p=0,439	r=-0,29; p=0,032
<b>Errores AS de dirección</b>	r=0,47; p=0,011	r=-0,07; p=0,799	r=-0,09; p=0,620	r=-0,56; p=0,001	r=0,43; p=0,013	r=0,13; p=0,486	r=-0,11 p=0,574	r=0,01; p=0,951	r=-0,11; p=0,557
<b>Errores AS corregidos</b>	r=-0,26; p=0,263	r=0,11; p=0,567	r=0,12; p=0,553	r=0,35; p=0,064	r=-0,22; p=0,249	r=0,23; p=0,213	r=0,01; p=0,944	r=-0,12; p=0,538	r=0,05; p=0,809
<b>Errores AS por omisión</b>	r=0,48; p=0,010	r=0,09; p=0,624	r=-0,50; p=0,001	r=-0,42; p=0,021	r=0,42; p=0,019	r=0,19; p=0,306	r=-0,06; p=0,747	r=0,63; p=0,001	r=-0,28; p=0,128
<b>Errores AS totales</b>	r=0,54; p=0,001	r=0,03; p=0,794	r=-0,43; p=0,004	r=-0,59; p=0,001	r=-0,53; p=0,002	r=0,18; p=0,333	r=-0,22; p=0,244	r=0,29; p=0,118	r=-0,18; p=0,340

**ANEXO 22. CORRELACIÓN DE LAS VARIABLES CLÍNICAS Y MOLECULARES CON LA DENSIDAD DE MOVIMIENTOS OCULARES RÁPIDOS DURANTE LA FASE DE SUEÑO REM.**

Variables	Enfermos	Portadores de la mutación
<b>Edad</b>	r=0,31; p=0,089	r=-0,11; p=0,930
<b>Edad de inicio</b>	r=0,39; p=0,032	-
<b>Duración de enfermedad</b>	r=-0,11; p=0,560	-
<b>Tiempo previo a la enfermedad</b>	-	r=-0,01; p=0,893
<b>Alelo expandido</b>	r=-0,18; p=0,327	r=-0,10; p=0,996
<b>Alelo no expandido</b>	r=0,10; p=0,580	r=0,10; p=0,970
<b>SARA</b>	r=-0,57; p=0,001	r=-0,20; p=0,261