

UNIVERSIDAD DE CIENCIAS MÉDICAS DE LA HABANA
UNIVERSIDAD MÉDICA HOLGUÍN. FACULTAD DE CIENCIAS
MÉDICAS “*MARIANA GRAJALES COELLO*”
CENTRO PARA LA INVESTIGACIÓN Y REHABILITACIÓN DE LAS
ATAXIAS HEREDITARIAS “*CARLOS J. FINLAY*”

**NEUROFISIOLOGÍA DE LA ATAXIA ESPINOCEREBELOSA TIPO 2:
BIOMARCADORES Y FASES EVOLUTIVAS DE LA ENFERMEDAD**

Tesis presentada en Opción al Grado Científico de Doctor en Ciencias

Dr. Luis C. Velázquez Pérez
Doctor en Ciencias Médicas

Ciudad de Holguín

2012

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer a mis familiares, amigos, maestros y compañeros de trabajo; en especial al Dr. Gilberto Sánchez Cruz, Lic. Roberto Rodríguez Labrada, Lic. Julio C. Rodríguez Díaz y a la Dra. Jacqueline Medrano Montero con quienes he formado un equipo de trabajo, por su apoyo incondicional, su comprensión y por tener la paciencia de estar a mi lado en todos estos años de trabajo. También, a los doctores Raúl Aguilera Rodríguez; a los Licenciados Nalia Canales Ochoa, José Miguel Laffita Mesa, Yanetza González Zaldívar, Dany Coello Almarales, Dennis Almaguer Gotay, Luis Enrique Almaguer Mederos y Yaimeé Vázquez Mojena.

A mi país (el mejor de todos), por permitir que las personas que nos proponemos metas, que tenemos ilusiones, y deseamos superarnos, podamos lograrlo.

A mi universidad: la Universidad Médica “Mariana Grajales Coello”, de Holguín, por todo su apoyo en estos últimos años, en la ejecución de diferentes investigaciones.

A mi institución: Al Centro para la Investigación y Rehabilitación de las Ataxias Hereditarias (CIRAH), por permitirme crecer ante la vida, hacer realidad nuestros sueños, conocer mejor a los seres humanos y consagrarme a una tarea noble y humana, de la cual queda mucho por hacer.

A los colaboradores nacionales e internacionales que han contribuido al desarrollo y la capacitación científica de nuestra institución.

A todos los trabajadores del CIRAH que, desde sus puestos de trabajo, facilitan el desarrollo de todo nuestro trabajo.

Es el momento de dar agradecimientos a todos los enfermos con ataxias hereditarias y sus familiares, que durante más de tres décadas han contribuido con todas las investigaciones que se realizan en el país, sobre esta enfermedad.

Mis agradecimientos más especiales para:

- Mi madre, que aunque ya no está físicamente entre nosotros, siempre me educó en los principios más nobles del ser humano. Su recuerdo siempre eterno y su apoyo nunca faltarán.
- Mi padre, por mostrarme el camino del bien y ayudar en mi formación integral como hombre de estos tiempos.
- Mi esposa por acompañarme durante más de 30 años y por su apoyo en esta noble tarea.
- Mis hijos, motivación y artífices principales de mi vida.
- Mi hermano, sobrina y cuñada por ser tan nobles y maravillosos.

A todos, mis más sinceros agradecimientos.

DEDICATORIA

A Karinita y Frank Luis,
Mis hijos adorados,
Por sus tiernos valores, su inteligencia natural,
Y porque con ellos todo es posible.



RESUMEN

Este trabajo integra los resultados de un grupo de investigaciones neurofisiológicas que se iniciaron hace más de 20 años. Se evaluaron sujetos enfermos, presintomáticos y controles con los objetivos de ampliar la caracterización electrofisiológica de la enfermedad desde estadios preclínicos y describir las etapas evolutivas de la misma. Las principales alteraciones detectadas en los enfermos fueron: una neuropatía periférica sensitiva, disfunción olfatoria, disminución del aprendizaje visuomotor, enlentecimiento sacádico, movimientos periódicos de las extremidades y trastornos del sueño REM. En los sujetos portadores de la mutación, se evidenciaron disfunciones sensoriales, oculomotoras, cognitivas y reducción del porcentaje del sueño REM, en ausencia de manifestaciones clínicas cerebelosas. La reducción de la velocidad sacádica y las anomalías polisomnográficas antecedieron a la aparición de los signos cerebelosos en más de una década. Las alteraciones olfatorias, del desempeño motor y la neuropatía periférica se iniciaron más tardíamente. La integración de las variables neurofisiológicas y clínicas permitió definir fases evolutivas para la ataxia SCA2. La fase pre-fisiológica se caracteriza por la ausencia de manifestaciones clínicas y neurofisiológicas anormales. Durante la fase pre-diagnóstica aparecen las primeras alteraciones electrofisiológicas, unido a déficit olfatorio, contracturas musculares dolorosas, insomnio, trastornos cognitivos, disfunción autonómica e hiperreflexia. La aparición de las manifestaciones cerebelosas y su progresión definen la fase clínica en sus diferentes estadios evolutivos. La neuropatía periférica, movimientos periódicos de las extremidades y alteraciones cognitivas se

identificaron como variables respuestas que permiten evaluar la eficacia de ensayos clínicos.

INDICE

INDICE

INTRODUCCIÓN.....1

MARCO TEÓRICO.....7

- Ataxia espinocerebelosa tipo 2. Epidemiología, fisiopatología, diagnóstico, evolución y tratamiento. En: Acosta ML, editor. Ataxia Espinocerebelosa Tipo2: Diagnóstico, pronóstico y evolución. La Habana: ECIMED; 2012. p. 28–51
- A Comprehensive Review of Spinocerebellar Ataxia Type 2 in Cuba. *Cerebellum*. 2011; 10:184–198.
- Epidemiología de la ataxia hereditaria cubana. *Rev Neurol*. 2001; 32 (7): 606-611.
- Molecular epidemiology of spinocerebellar ataxias in Cuba: Insights into SCA2 founder effect in Holguin. *Neurosci Lett*. 2009; 454:157-160.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....61

Capítulo 1. Caracterización clínico-electrofisiológica en enfermos y portadores asintomáticos de mutación SCA2.....62

- Estudio clínico-electrofisiológico en 70 enfermos con Ataxia Espinocerebelosa Tipo 2. *Rev Neurol*. 2000; 30(2):109-115.
- Evaluación neurofisiológica en pacientes afectados por ataxia espinocerebelosa tipo 2. *Rev Neurol*. 1998; 27(160): 921-926.
- Electrophysiological Features in Patients and Presymptomatic Relatives with Spinocerebellar Ataxia type 2. *J Neurol Sci*. 2007; 263:158-164.

Capítulo 2. Marcadores de progresión de la Ataxia Espinocerebelosa Tipo 2.....83

- Características electrofisiológicas en familiares asintomáticos de enfermos con Ataxia Espinocerebelosa tipo 2. *Rev Neurol*. 1998; 27 (160): 955-963
- Progression markers of Spinocerebellar Ataxia type 2. A twenty years neurophysiological follow up study. *J. Neurol Sci*. 2010; 290:22–26.

Capítulo 3. Disfunción de los movimientos oculares en la SCA2 y su relación con el tamaño de la expansión poliglutamínica y las funciones cognitivas.....99

- Saccade velocity is controlled by polyglutamine size in Spinocerebellar Ataxia type 2 (SCA2) *Ann Neurol*. 2004; 56(3):444-7.
- Saccade velocity is reduced in presymptomatic spinocerebellar ataxia type 2. *Clin Neurophysiol*. 2009; 120:632-635.
- Saccadic latency is prolonged in Spinocerebellar Ataxia type 2 and correlates with the frontal-executive dysfunctions. *J Neurol Sci*. 2011; 306:106-107.

Capítulo 4. Los trastornos del sueño en la Ataxia Espinocerebelosa Tipo 2.....115

- Sleep Disorders in Spinocerebellar Ataxia Type 2 Patients. *Neurodegener Dis*. 2011; 8:447–454.
- Subtle Rapid Eye Movement Sleep Abnormalities in Presymptomatic

Spinocerebellar Ataxia Type 2 Gene Carriers. *Mov Disord.* 2011; 26 (2):347-350

Capítulo 5. Aprendizaje visuomotor en la Ataxia Espinocerebelosa Tipo 2.....**129**

- Prism adaptation in spinocerebellar ataxia type 2 *Neuropsychologia.* 2007; 45:2692–2698.
- Motor decline in presymptomatic Spinocerebellar ataxia type 2 gene carriers. *PLOS ONE.* 2009; 4(4): e5398.

Capítulo 6. El daño olfatorio en la Ataxia Espinocerebelosa tipo 2.....**145**

- Spinocerebellar ataxia type 2 olfactory impairment shows a pattern similar to other major neurodegenerative diseases. *J Neurol.* 2006; 253(9):1165-1169.
- Patología del sistema olfatorio en portadores asintomáticos del gen SCA2. En: González L, editor. *Manifestaciones tempranas de la Ataxia Espinocerebelosa Tipo 2: De la fisiopatología a los biomarcadores preclínicos.* Holguín: Ediciones Holguín, 2012.

Capítulo 7. Disfunción cognitiva y alteraciones psicofisiológicas en presintomáticos de SCA2.....**158**

- Alteraciones cognitivas y psicofisiológicas en portadores asintomáticos de la mutación SCA2. En: González L, editor. *Manifestaciones tempranas de la Ataxia Espinocerebelosa Tipo 2: De la fisiopatología a los biomarcadores preclínicos.* Holguín: Ediciones Holguín, 2012.

Capítulo 8. Aplicaciones de los estudios electrofisiológicos en las estrategias de intervención clínica.....**173**

- Evaluación de la restauración neurológica en pacientes con Ataxia SCA2 Cubana. *Plast & Rest Neurol.* 2008;7(1-2):13-18.
- Oral Zinc Sulphate Supplementation for Six Months in SCA2 Patients: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial. *Neurochem Res.* 2011;36:1793–1800.
- Lisuride reduces involuntary periodic leg movements in Spinocerebellar Ataxia type 2 patients. *Cerebellum.* 2012. In press.

CONSIDERACIONES FINALES.....204

CONCLUSIONES.....220

RECOMENDACIONES.....222

ANEXOS.....223

DIVULGACIÓN DE LOS RESULTADOS RECOGIDOS EN LA TESIS.....225

INTRODUCCIÓN

Las ataxias espinocerebelosas se caracterizan por una heterogeneidad clínico-genética. Hasta la fecha se han descrito alrededor de 30 formas moleculares. Dentro de ellas, la ataxia espinocerebelosa tipo 2 (SCA2) presenta la tasa de prevalencia más elevada en Cuba.

La SCA2 (del inglés, *Spinocerebellar Ataxia Type 2*), es la segunda forma molecular más frecuente de las ataxias hereditarias autosómicas dominantes. Se caracteriza por manifestaciones de tipo cerebelosas, movimientos oculares enlentecidos, neuropatía periférica, trastornos del sueño y alteraciones cognitivas. Se produce por el incremento del número de repeticiones del trinucleótido CAG en la región codificadora del gen ATXN2, localizado en el brazo largo del cromosoma 12, específicamente en la región 12q24.1. La enfermedad tiene una edad de inicio promedio de 32 años y el tiempo de duración de la misma varía entre 1 y 49 años, con una media de 24,12 años. La penetrancia global del gen superior al 99 %.

En Cuba se han diagnosticado alrededor de 2 000 enfermos entre vivos y fallecidos. Existen cerca de 10 000 descendientes en riesgo. Cada año se diagnostican 35 nuevos casos, nacen 22 niños con la mutación y fallecen 15 casos aproximadamente. En el 80 % de las transmisiones padres a hijos, se produce el fenómeno de anticipación genética, provocando que en las últimas generaciones enfermen varios individuos en edad pediátrica. En Holguín, provincia donde se concentra el 95 % de los enfermos, se estima que uno de cada doscientos habitantes está enfermo o en riesgo de enfermar.

Los estudios neurofisiológicos se iniciaron hace más de 20 años en sujetos enfermos, presintomáticos y controles sanos. En el año 1998 se publicaron los resultados de una investigación en una muestra significativa de pacientes, con un mismo tipo molecular de ataxia (SCA2), evaluados periódicamente durante 10 años. Se definieron etapas evolutivas de la enfermedad, identificaron los primeros cambios detectables objetivamente y se determinó el efecto de la mutación sobre estructuras y vías no cerebelosas. Sin embargo, este trabajo tuvo la limitante que incluyó solamente los estudios de conducción nerviosa periférica y potenciales evocados multimodales, quedando pendiente otras evaluaciones tales como: movimientos oculares, sueño, aprendizaje visuomotor y función olfatoria.

En el año 2000, surgió el Centro para la Investigación y Rehabilitación de las Ataxias Hereditarias (CIRAH), como respuesta a este serio problema de salud. Se incrementó el equipamiento tecnológico del departamento de neurofisiología con laboratorios de electronistagmografía, videopolisomnografía, función olfatoria, aprendizaje visuomotor y cognición. Esto permitió ampliar la caracterización fenotípica desde estadios presintomáticos para completar los estudios sobre las etapas evolutivas de la enfermedad.

Los estudios en sujetos presintomáticos permitieron identificar una serie de alteraciones subclínicas o tempranas que anteceden al síndrome cerebeloso en más de 20 años. Dichos resultados se caracterizaron por su novedad científica. Ellos constituyen un aporte al conocimiento fisiopatológico de la enfermedad y posibilitan la identificación de biomarcadores útiles en la evaluación de la progresión de los cambios neurodegenerativos desde estadios preclínicos.

Este trabajo es el resultado de un esfuerzo conjunto de los diferentes departamentos de nuestra institución, el apoyo del Ministerio de Salud Pública y otras instituciones internacionales procedentes de México y Alemania, que nos facilitaron entrenamientos y parte de las tecnologías.

La **Justificación** de la investigación se fundamentó sobre la base de la necesidad de ampliar la caracterización fenotípica de los enfermos, a través de estudios neurofisiológicos, para disponer de una evaluación integral del proceso neurodegenerativo, así como su extensión a otras estructuras cerebelosas y no cerebelosas. Por otra parte, se necesitaba definir objetivamente, cuáles eran las alteraciones electrofisiológicas tempranas que preceden al síntoma inicial y describir las etapas evolutivas desde estadios preclínicos. Por último, era necesario evaluar la aplicación de los estudios neurofisiológicos para el desarrollo de ensayos clínicos, como marcadores cuantitativos y/o blancos terapéuticos susceptibles de modificarse con terapias específicas.

Problema científico: Ausencia de una caracterización electrofisiológica multisistémica de nervios periféricos, vías sensoriales, función olfatoria, estructuras oculomotoras, sueño, cognición y aprendizaje visuomotor en enfermos y presintomáticos de SCA2, lo que dificulta la definición de etapas evolutivas y de biomarcadores de la enfermedad.

La **Novedad Científica** de esta investigación está dada por los siguientes elementos:

- a) *ampliación de la caracterización fenotípica de los enfermos.* Los rasgos fenotípicos que distinguen a la SCA2 se relacionan con un síndrome cerebeloso, asociado a neuropatía periférica y alteraciones oculomotoras. Los estudios electrofisiológicos permitieron ampliar esta caracterización, a partir de un grupo de hallazgos tales como: alteraciones clínicas y polisomnográficas del sueño, disfunción olfatoria, desorden en el aprendizaje visuomotor, disfunción frontoejecutiva, y alteraciones oculomotoras, tales como enlentecimiento sacádico y retardo en el inicio de estos movimientos.
- b) *identificación de biomarcadores electrofisiológicos endofenotípicos y de progresión de la enfermedad.* Muchas de las alteraciones neurofisiológicas identificadas mostraron una fuerte dependencia del número de repeticiones de CAG, el tiempo de evolución y la severidad de la entidad, lo que las identificó como marcadores objetivos de las principales características clínicas y moleculares de la enfermedad.
- c) *definición de etapas evolutivas de la enfermedad desde estadios preclínicos que integran alteraciones cerebelosas y no cerebelosas.*
- d) *identificación de signos electrofisiológicos subclínicos precerebelosos que anteceden al síntoma inicial más frecuente de la SCA2.*
- e) *reconocimiento de variables electrofisiológicas como posibles blancos de tratamiento útiles para el desarrollo de ensayos clínicos.* La identificación de algunas alteraciones electrofisiológicas que traducen manifestaciones clínicas y son susceptibles a modificarse por tratamientos específicos

permitió definir nuevos blancos terapéuticos de la enfermedad tales como, el índice de movimientos periódicos de las extremidades, alteraciones de la conducción nerviosa periférica, funciones cognitivas y latencia sacádica.

La **hipótesis** de trabajo se basó en los siguientes elementos: la mutación del gen ATXN2, como causa de la SCA2, provoca alteraciones electrofisiológicas multisistémicas de nervios periféricos, vías sensoriales, estructuras oculomotoras, así como anormalidades del sueño, funciones cognitivas y aprendizaje visuomotor, las cuales anteceden al síndrome cerebeloso en varios años y progresan a través del tiempo. Estos hallazgos permitirán ampliar las características fenotípicas en los enfermos, identificar etapas evolutivas desde estadios subclínicos, describir biomarcadores útiles en la evaluación de ensayos clínicos así como definir, objetivamente, los signos electrofisiológicos precerebelosos.

Con la realización de esta investigación nos propusimos los siguientes

Objetivos:

General:

- Caracterizar el comportamiento electrofisiológico de los enfermos y portadores asintomáticos de la mutación SCA2.

Específicos:

1. Describir las características fenotípicas de los enfermos de SCA2 a partir del estudio de los movimientos oculares sacádicos, sueño, función olfatoria y aprendizaje visuomotor.

2. Identificar las primeras alteraciones neurofisiológicas que anteceden al síntoma inicial de la SCA2 y el tiempo estimado en que estas aparecen.
3. Establecer las diferentes etapas evolutivas del proceso degenerativo de la SCA2, según los resultados de los estudios neurofisiológicos.
4. Evaluar la aplicación de los estudios electrofisiológicos en la identificación de biomarcadores y blancos terapéuticos cuantitativos en diferentes estrategias de intervención clínica.

Para dar salida a los objetivos planteados, se realizaron diferentes estudios neurofisiológicos en enfermos y presintomáticos, cuyos resultados se publicaron en varios artículos científicos, desde el año 1998 hasta el 2012. Estos se agruparon en 8 capítulos y recogen un total de 16 artículos y 2 capítulos de libros. Adicionalmente, en el acápite del marco teórico se incluyeron 3 artículos científicos y un capítulo de libro.

MARCO TEÓRICO

El marco teórico se dividió en dos partes fundamentales con el objetivo de facilitar su mejor comprensión, para lo que utilizamos 3 artículos publicados en revistas internacionales y el capítulo de un libro publicado por el autor. La primera parte trata sobre las características epidemiológicas de las ataxias hereditarias en Holguín y en el resto del país, haciendo énfasis en la SCA2. La segunda, muestra las principales características de la enfermedad en cuanto a manifestaciones clínicas, fisiopatología, biología molecular, neuropatología, neuroquímica, diagnóstico y estrategias de intervención.

1.1. Epidemiología de las Ataxias Espinocerebelosas en Cuba: Evidencias de un efecto fundador en Holguín

Los artículos de esta primera parte aparecen publicados en:

***Rev Neurol* (2001) 32(7):606-611 (Factor de impacto: 1,28)**

***Neurosci Lett* (2009) 454:157–160 (Factor de impacto: 2,18)**

El objetivo de esta parte es describir el comportamiento epidemiológico de las ataxias hereditarias en nuestro país, así como las características clínicas y moleculares de la SCA2. Primero, mostramos los resultados de un estudio realizado en la provincia de Holguín, que incluyó a enfermos y familiares con riesgo de enfermar. Teniendo en cuenta la magnitud del problema epidemiológico en la provincia y la ausencia de información sobre la cantidad de familias afectadas en el resto del país, extendimos esta investigación al resto de las provincias, resultando el primer estudio neuroepidemiológico molecular de ataxias hereditarias en Cuba.

El primer artículo incluyó a 440 pacientes y 1 633 familiares con riesgo de enfermar, procedentes de la provincia de Holguín. La tasa de prevalencia de enfermos fue de 43 casos por 100 000 habitantes, siendo más elevada la de Báguanos. Para los familiares con riesgo de enfermar la prevalencia fue de 159,33 casos por 100 000 habitantes. La mayor tasa de incidencia fue de 18,08 casos por 100 000 habitantes en Cacocum, mientras que para la provincia esta fue de 4,39 casos.

Los resultados de la segunda publicación derivan de un estudio epidemiológico nacional que incluyó a todos los sujetos enfermos y sus descendientes. Se identificaron 753 pacientes y 7 173 familiares asintomáticos con diferentes ataxias, agrupados en 200 familias. El 86,79 % de los pacientes con ataxias autosómicas dominantes tenían SCA2. En la provincia de Holguín, la prevalencia promedio de esta enfermedad fue de 40,18 por 100 000 habitantes con un valor significativo de 141,66 por 100 000 en el municipio de Báguanos. La elevada prevalencia de la SCA2 en Holguín probablemente refleja la existencia de un efecto fundador. La estabilización de la prevalencia a lo largo del tiempo sugiere la existencia de cromosomas premutados con CAG puro, los que actúan como reservorios para nuevas expansiones. La expansión poliglutamínica explicó el 80 % de la variabilidad fenotípica. La inestabilidad de las repeticiones fue mayor en la transmisión paterna, mientras que se observaron expansiones sin anticipación en el 10,97 %, lo que sugiere el efecto estabilizador de las interrupciones de CAA en la estructura del tracto de trinucleótidos.

Epidemiología de la ataxia hereditaria cubana

L. Velázquez-Pérez, F.N. Santos, R. García, H.M. Paneque, P.R. Hechavarría

EPIDEMIOLOGY OF CUBAN HEREDITARY ATAXIA

Summary. Introduction. *The hereditary ataxias in Cuba make up the highest concentration of these patients in the world. The spinocerebellar ataxia type 2 (SCA2) molecular form is predominant.* Objectives. *To determine the prevalence and incidence of hereditary ataxias.* Patients and methods. *We made a descriptive study of 440 patients and 1,633 members of families at risk from this disorder in the province of Holguín. We calculated the prevalence rate and incidence.* Results. *The rate of prevalence of patients in the province is 43 cases per 100,000 inhabitants; the highest rate was 503 cases per 100,000 inhabitants in part of the municipality of Baguanos. The age group that was most affected was that of 30-39 years, with a prevalence of 63.97 cases per 100,000 inhabitants. The rural population showed the highest incidence (62.04 cases per 100,000 inhabitants). The risk of members of affected families showing the disorder was 159.33 cases per 100,000 inhabitants in this province. The highest incidence was 18.08 cases per 100,000 inhabitants in Cacocum, where the incidence in the province was 4.39.* Conclusions. *On average the disorder passes from one state to the next every year, which suggests that the extent of the disorder worsens with time. The prevalence and incidence are the highest in the world. This together with the dominant pattern of inheritance, the effect of anticipation and inexorably progressive course of the disorder shows the serious health problem that affects the Eastern region of Cuba. [REV NEUROL 2001; 32: 606-11]*
Key words. *Ataxia. Cuban ataxia. Spinocerebellar ataxia type 2.*

Recibido: 19.10.00. Aceptado tras revisión externa sin modificaciones:
14.11.00.

Clinica para la Investigación y Rehabilitación de las Ataxias Hereditarias
(CIRAH). Holguín, Cuba.

Correspondencia: Luis Velázquez Pérez, MD, PhD. Clínica Cubana de Ataxia.
Carretera Central (Vía Habana), km 5,5. Rpto. Edecio Pérez. Holguín,
CP 80100 Cuba.

© 2001, REVISTA DE NEUROLOGÍA

INTRODUCCIÓN

Las primeras observaciones acerca de un incremento de las ataxias hereditarias (AH) en la región oriental de Cuba fueron realizadas por Estrada en la década de los años 60. Motivado por esto, Vallés et al [1] realizaron un estudio epidemiológico en esta zona, donde encontraron una prevalencia de 41,3 casos por 100.000 habitantes. Posteriormente, Orozco et al [2] también comunicaron una prevalencia muy elevada en una región de la provincia de Holguín. Estrada et al [3] publicaron los primeros resultados anatomopatológicos de esta forma de ataxia y demostraron que se correspondían con una atrofia olivopontocerebelosa. Nodarse et al [4] estudiaron la correlación clinicoelectrofisiológica. Orozco et al [5] caracterizaron clínicamente a través del tiempo la enfermedad en 263 pacientes e hicieron referencia al posible efecto fundacional o fundador de la misma en nuestra región. Gispert et al [6] publicaron el descubrimiento del cromosoma (12q23-24,1), lo que, unido a la presentación clínica, permitió considerar a esta ataxia como una nueva forma molecular (SCA2, del inglés *Spinocerebellar Ataxia type 2*). En 1995, Gispert et al [7] lograron reducir la región candidata del gen a 1 cM. En 1996, se identifica el gen y el tipo de mutación de la SCA2 [8-10]. Entre 1998 y 1999 se comunicaron los resultados neurofisiológicos que permitieron definir alteraciones presintomáticas en el sistema nervioso periférico y central en los portadores del gen de la SCA2, así como la descripción de fases evolutivas de esta enfermedad a través del tiempo [11-14].

La SCA2 pertenece a un grupo de ocho afecciones neurodegenerativas que se caracterizan fenotípicamente por presentar un patrón de herencia autosómico dominante, así como el fenómeno de anticipación genética, y genotípicamente por una mutación que consiste en la expansión intergeneracional de un motivo (CAG) en la región codificante de sus respectivos genes [8-10,15-21].

Después de transcurridos varios años desde los primeros estudios clínico-epidemiológicos, decidimos realizar esta investigación con el objetivo de determinar el estado evolutivo actual de las AH en Holguín, con relación a la prevalencia, incidencia, edad de inicio, familiares con riesgo de enfermar, distribución geográfica, procedencia, sexo e intensidad de la ataxia.

PACIENTES Y MÉTODOS

Diseño del estudio

Nuestra investigación clasifica dentro de los estudios descriptivos de corte transversal. Investigamos prospectivamente a todos los pacientes y familiares con riesgo de enfermar procedentes de la provincia de Holguín, a partir de una revisión efectuada en cada una de las viviendas de los enfermos y familiares presintomáticos, durante el período comprendido entre octubre de 1998 y octubre de 1999.

De los enfermos se recogieron datos demográficos y sociales tales como edad, sexo, lugar de residencia, generación, número de hijos y hermanos sanos y enfermos.

Definición y criterios de inclusión

Los criterios clínicos de inclusión de los nuevos casos fueron la presentación clínica de un síndrome cerebeloso caracterizado por ataxia de la marcha, disartria, dismetría, adiadococinesia, alteraciones de la motilidad ocular y de los reflejos osteotendinosos [5], así como los antecedentes familiares de AH autosómica dominante.

Se estableció una clasificación a partir del grado de validez de nuestros pacientes:

- *Grado 1*: pacientes que presentan trastornos ligeros de la marcha que pueden desempeñar de forma independiente las actividades de la vida diaria (defecto).
- *Grado 2*: pacientes que necesitan apoyo para caminar y ayuda para

Tabla I. Prevalencia según grupos de edades.

Edades	Población	N.º enfermos	Tasa ^a
0-9	142.881	13	9,09
10-19	145.111	72	49,61
20-29	195.212	101	51,71
30-39	190.702	122	63,97
40-49	118.860	66	55,52
50-59	104.432	44	42,13
Más de 60	127.709	22	17,22

^aTasa por 100.000 habitantes.

Tabla II. Prevalencia según sexo.

Sexo	Población	Tasa ^a
Masculino (n= 210)	524.128	40,06
Femenino (n= 230)	500.779	45,92

^aTasa por 100.000 habitantes.

Tabla III. Prevalencia según el lugar de procedencia.

Procedencia	Población	Tasa ^a
Urbana (n= 179)	604.217	29,62
Rural (n= 261)	420.690	62,04

^aTasa por 100.000 habitantes.

realizar de forma independiente las actividades de la vida diaria (discapacidad).

- *Grado 3*: pacientes que no logran trasladarse, son dependientes para realizar todas las actividades de la vida diaria y están confinados en la cama o en una silla de ruedas (minusvalía).

Teniendo en cuenta la intensidad clínica de la ataxia se realizó otra clasificación en cuatro categorías:

- *Leve*: pacientes con dificultad para caminar (marcha atáxica) de ligera intensidad.
- *Moderada*: pacientes imposibilitados para realizar la marcha con un pie delante del otro.
- *Intensa*: pacientes que necesitan apoyo para caminar.
- *Grave*: pacientes que se encuentran confinados.

Población de referencia

La provincia de Holguín está ubicada en la parte norte de la isla; con costa al Océano Atlántico, posee una superficie de 9.110 km² y una población de 1.024.907 habitantes. Está dividida en 14 municipios y posee una infraestructura que permite brindarle a toda su población servicios gratuitos de salud pública, con instalaciones médicas distribuidas en toda su geografía. Su institución rectora es el Hospital Universitario Docente V.I. Lenin, al cual pertenece la Clínica Cubana para la Investigación de las Ataxias, sitio donde se desarrolló la presente investigación. En nuestro país existen 575 enfermos con AH, que pertenecen a 125 familias; de ellos, 440 (76,5%) son de Holguín. Este estudio incluyó los pacientes procedentes de Holguín; de ellos, 210 son del sexo masculino, con edades comprendidas entre 4 y 89 años (media de 45,5), y del 230 femenino, con una edad mínima de 11 y máxima de 96 (media de 47,7).

Análisis de los datos

La prevalencia y la incidencia se calcularon para 100.000 habitantes. Para

Tabla IV. Distribución de los enfermos y tasa de prevalencia por municipios.

Municipio	Población	N.º	Prevalencia
Holguín	303.389	218	71,85
Báguanos	54.952	71	129,20
Mayarí	109.623	40	36,48
Cacocum	44.392	31	69,83
Calixto García	58.250	17	29,18
Banes	86.740	16	18,44
San Germán	44.537	17	38,17
Gibara	71.776	15	20,89
Rafael Freyre	49.828	12	24,08
Cueto	37.456	3	8,00
Antilla	12.542	–	–
Frank País	28.749	–	–
S. de Tánamo	58.722	–	–
Moa	63.951	–	–
Total	1.024.907	440	43,00

*Tasa por 100.000 habitantes.

los cálculos por municipios se empleó la población existente en cada uno de los mismos en el momento de realizar el estudio.

– *Tasa prevalencia puntual* = Total de enfermos durante el período 1998-1999 en la provincia de Holguín / Población total de Holguín a mitad de período 1998-1999.

– *Tasa de incidencia* = Casos nuevos detectados durante el período 1998-1999 en la provincia de Holguín / Población total.

El análisis estadístico se realizó con el paquete *Statistics for Windows* (versión 4.2, 1993). El procesamiento de la información incluyó el cálculo de medidas descriptivas para variables cuantitativas (media y desviación estándar) y para las cualitativas (tasas y porcentajes). La comparación de medias con varianza desconocida (ANOVA) se realizó para la edad de inicio entre las generaciones IV, V y VI, para ambos sexos. Para el tiempo de evolución se realizó este análisis según la intensidad de la enfermedad. En todas las pruebas se utilizó un nivel de significación del 95% ($\alpha = 0,05$).

Para evaluar la relación existente entre las variables edad de inicio de la enfermedad, tiempo de evolución y tipo de herencia sobre el grado de intensidad de la ataxia, se realizó un análisis multivariado de regresión lineal múltiple.

RESULTADOS

Distribución geográfica de los enfermos

En Cuba existen 125 familias afectadas por AH, que agrupan a 1.532 enfermos entre vivos y fallecidos, así como a 8.000-10.000 descendientes con riesgo de enfermar.

El mayor número de enfermos con AH se concentra en la región oriental de la isla, en especial en la provincia de Holguín, donde se encuentran el 70% de los mismos. De los diferentes municipios que conforman esta provincia, los que presentan mayor concentración son Holguín, Báguanos y Mayarí.

Prevalencia e incidencia de las ataxias hereditarias

La provincia de Holguín presenta la mayor concentración de enfermos y, por lo tanto, una tasa de prevalencia muy elevada, si se compara con el resto de las provincias con tasas también elevadas, pero de menor magnitud (Las

Tabla V. Tasa de prevalencia para familiares con riesgo de enfermar.

Municipio	N.º	Tasa
Holguín	856	282,14
Báguanos	116	211,09
Mayarí	142	129,53
Cacocum	157	353,66
Calixto García	49	84,12
Banes	50	57,64
San Germán	87	195,34
Gibara	83	115,63
Rafael Freyre	74	148,51
Cueto	19	50,72
Total	1.633	159,33

Tunas y Granma); Guantánamo, Matanzas y Provincia Habana resultaron las de menores tasas de prevalencia.

En la tabla I se representa la prevalencia según los grupos de edades y se demuestra que las tasas más elevadas se concentran entre los 30-39 años, seguidos de los 40-49 y 20-29, respectivamente. Los grupos menos afectados son los de 0 a 9 y por encima de 60 años.

En la tabla II se presenta la prevalencia de los enfermos por sexo. Las tasas muestran valores por encima de 40, lo que evidencia una distribución homogénea entre ambos sexos.

La tasa de prevalencia según la procedencia de los enfermos se muestra en la tabla III. Se puede constatar que ésta es mayor en la población rural.

La distribución de los enfermos y la tasa de prevalencia por municipios en la provincia de Holguín se muestra en la tabla IV. En la provincia hay un total de 440 enfermos para una prevalencia de 43 casos por 100.000 habitantes, que se encuentran distribuidos en 10 municipios. En Báguanos se localizan 71 enfermos, que representan la mayor prevalencia (129,20 casos) de la provincia. De todas las localidades estudiadas, Potrerillo (Báguanos) y Chavaleta (Mayarí) corresponden a las zonas con las prevalencias más altas (503 y 449 casos por 100.000 habitantes, respectivamente). El municipio de Cueto es el que evidencia la prevalencia menor (8,0 casos por 100.000 habitantes). En los municipios de Antilla, Frank País, Sagua de Tánamo y Moa no existen enfermos con SCA2.

La tasa de familiares presintomáticos con riesgo de enfermar demostró una prevalencia de 159 casos por 100.000 habitantes para toda la provincia, mientras que los municipios que presentaron las tasas más altas fueron Cacocum, Holguín, Báguanos, Urbano Noris y Mayarí. Sin embargo, Cueto presentó la tasa más baja de toda la provincia (Tabla V). Con la excepción de los municipios de Gibara y Cueto, en todos los demás se detectaron casos nuevos en un año; los municipios de Holguín, Báguanos y Cacocum fueron los más afectados, según se muestra en la tabla VI.

Edad de inicio de la SCA2

La edad de inicio mostró diferencias estadísticamente significativas para las tres generaciones estudiadas, tanto para los pacientes del sexo masculino como los del femenino, según se muestra en la tabla VII.

Clasificación por grados de intensidad y de validez

Los valores medios para el tiempo de evolución de la enfermedad según el grado de intensidad de la ataxia se muestran en la tabla VIII. Se observa un incremento de manera progresiva de los valores promedios, desde el grado leve hasta el grave. Este mismo comportamiento ocurre para los valores mínimos y máximos de esta variable.

Al realizar el análisis de regresión lineal múltiple, con el propósito de evaluar el grado de relación entre las variables edad de inicio, tiempo de evolución y tipo de herencia sobre el grado de intensidad de la ataxia, se obtuvo un coeficiente de regresión (β) de 0,51 para el tiempo de evolución;

Tabla VI. Tasa de incidencia para los enfermos.

Municipio	N.º	Tasa
Holguín	18	5,93
Báguanos	6	10,91
Mayarí	3	2,73
Cacocum	8	18,02
Calixto García	2	3,43
Banes	2	2,30
Urbano Noris	2	4,49
Gibara	-	-
Rafael Freyre	1	2,00
Cueto	-	-
Total	45	4,39

Tabla VII. Distribución de pacientes para la edad promedio de inicio según sexo y generación.

Sexo	Gen. IV	Gen. V	Gen. VI	p
Masculino	45,11	30,66	11,44	0,000
Femenino	46,12	29,87	18,00	0,000

ello se traduce en que, como promedio, la gravedad pasa de un grado a otro por cada año que evoluciona la enfermedad. Las otras dos variables no mostraron significación estadística sobre la intensidad de la ataxia.

En la tabla IX se representa la distribución de los enfermos según el grado de validez. Se observa que el mayor porcentaje de enfermos se concentra en el grado 1, mientras que en los grados 2 y 3 la distribución es muy similar.

DISCUSIÓN

Distribución geográfica y prevalencia

Holguín es la provincia que presenta la más alta concentración de enfermos con ataxias hereditarias autosómicas dominantes del país (76,5%) y, dentro de la misma, los municipios de Holguín, Báguanos y Mayarí son los más afectados, agrupándose en ellos el 75% de todos los casos de la provincia. Esta localización topográfica confiere características singulares a la enfermedad en nuestro país y supone que se considere un efecto pionero en esta región de la provincia [4,14].

La prevalencia es una medida de la frecuencia de presentación de las ataxias hereditarias autosómicas dominantes en nuestra provincia. En Cuba se han realizado tres estudios epidemiológicos en diferentes etapas, que han demostrado la alta prevalencia de esta enfermedad. En 1970, Vallés et al [1] comunicaron una prevalencia de 41,3 casos por 100.000 habitantes para la forma Pierre Marie de las ataxias dominantes, en la región oriental del país. Otro estudio realizado por Orozco et al [5] demostró valores de hasta 133 casos por 100.000 habitantes en una región de Holguín conocida como Tacajó.

En Cuba la prevalencia general para las AH es de 7,18 casos por 100.000 habitantes. Sin embargo, en la provincia de Holguín, donde existen 440 enfermos, la prevalencia alcanza valores de hasta 43 casos por 100.000 habitantes, destacándose zonas con

Tabla VIII. Tiempo de evolución promedio en años de la enfermedad según intensidad de la ataxia.

Medidas	Grados de intensidad			
	Leve	Moderada	Intensa	Grave
N.º	146,00	73,00	92,00	81,00
Media	8,64	13,84	17,04	21,85
DE	7,02	7,68	8,35	10,74
Mínimo	1,00	2,00	2,00	4,00
Máximo	39,00	39,00	45,00	50,00

DE: desviación estándar. N.º: número de enfermos según grado de severidad de la ataxia.

Tabla IX. Clasificación según grado de validez.

Grado de validez	Porcentaje
Grado 1	56,26
Grado 2	22,00
Grado 3	21,74
Total	100,00

prevalencias tan altas como 503 casos por 100.000 habitantes en una localidad del municipio de Báguanos. Todo ello indica que, en nuestro país, esta enfermedad ha mantenido un curso estable a lo largo de todos estos años y que nuestra provincia presenta la más alta concentración de enfermos en el mundo descrita hasta el momento, si la comparamos con los datos publicados realizados por Pratt [22] de todas las formas de AH y donde señala que la prevalencia de las mismas han sido estimadas en: 1,1 casos por 100.000 habitantes en Suiza, 2,1 casos por 100.000 habitantes en Suecia, dos casos por 100.000 habitantes en Rumania, siete casos por 100.000 habitantes en Carlisle (Inglaterra) y 17 casos por 100.000 habitantes en una región de Noruega. A lo que hay que sumarle los 2,7 casos por 100.000 habitantes en Islandia, descritos por Gundmundsson [23], o los 13-184 casos por 100.000 habitantes en Lakut, en la región este de la Siberia, comunicados por Goldfarb et al [24].

Prevalencia por grupos de edad, sexo y procedencia

El grupo de edad más afectado fue el de 30-49 años, precisamente en la etapa de más desarrollo social, profesional y personal del individuo; de ahí que estos enfermos se conviertan pronto en una carga para la familia y la sociedad. La prevalencia para este grupo es de 64 casos por 100.000 habitantes; supera también las tasas antes descritas y se corresponde con otras comunicaciones realizadas en esta forma de ataxia [11-13,25].

Aproximadamente el 60% de nuestros pacientes es de origen rural y de los urbanos, el 50% provienen de zonas rurales; estos datos sociales son de interés, ya que enfatizan el posible efecto pionero de la enfermedad en alguna de estas localidades rurales, tal y como señalan otros autores [2,25], lo cual explicaría la alta concentración de estos enfermos en Holguín.

Por otro lado, las tasas de prevalencias para el sexo evidenciaron valores similares, lo que se justifica por el patrón de herencia autosómico [2,25].

Prevalencia de los familiares con riesgo de enfermar

Como resultado del estudio se detectaron 1.633 familiares sanos del caso índice, lo que evidencia la posibilidad de aparición en los próximos años de la enfermedad en un nuevo grupo de estos familiares. La prevalencia para los mismos indica tasas muy elevadas de forma homogénea en todos los municipios estudiados; estas tasas son muy superiores a las descritas en los sujetos enfermos. No hemos encontrado comunicaciones de otros autores sobre la prevalencia en familiares presintomáticos.

Incidencia

Durante el período de estudio—12 meses—se detectaron un total de 45 nuevos casos. En 1970, Vallés et al [1] comunicaron la aparición de 44 nuevos enfermos con AH tipo Pierre Marie y compararon estos hallazgos con los del Instituto de Neurología y Neurocirugía de La Habana, en igual período de tiempo, donde sólo se habían diagnosticado 13 nuevos casos. Es interesante que, después 29 años de estos resultados de Vallés et al [1], nosotros notifiquemos cifras muy similares a las encontradas por ellos, lo que demuestra que la incidencia de la enfermedad aún se mantiene igual y con tendencia a continuar, si tenemos en cuenta el número de familiares con riesgo de enfermar.

Por lo tanto, la incidencia de esta forma de ataxia también muestra valores muy elevados para la provincia (4,39 casos por 100.000 habitantes), mientras que existen municipios donde los valores alcanzan hasta 18 casos por 100.000 habitantes. Estas tasas son muy superiores a la incidencia general considerada para esta enfermedad, que es de 0,4 casos por 100.000 habitantes, según las comunicaciones realizadas por Kurtzke [26].

Edad de inicio de la SCA2

La edad de inicio mostró un margen de variación muy amplio, con gran dispersión para las tres generaciones incluidas en el análisis. Estos resultados coinciden con los estudios previos realizados en esta enfermedad [2,5,12,25]. Sin embargo, hay que destacar que la enfermedad disminuye de generación a generación y se conoce como fenómeno de anticipación. Unido a esto se encuentra el incremento en la intensidad clínica de la SCA2, ya referida por otros autores [8-10]. La edad de inicio temprano está relacionada con un incremento en el tamaño de la cadena expandida desde el punto de vista molecular [8-10]; esto podría comportar una neurodegeneración temprana de gran intensidad, debido al efecto tóxico de la poliglutamina, hecho que también se correlaciona con un incremento de las alteraciones electrofisiológicas en vías y estructuras no cerebelosas [14]. Este hecho también se describe en otras formas moleculares de las ataxias hereditarias autosómicas dominantes [27,28]. Otros autores han señalado una edad de inicio variable en los casos estudiados por ellos [27,29,30]. El fenómeno de la anticipación en los descendientes de los enfermos de Holguín se evidencia en todos los municipios estudiados de forma homogénea y es interesante que en algunos casos, dado el temprano inicio de la enfermedad, no

existen descendientes en la generación (Banes y Gibara); estos pacientes enferman en edades tempranas—adolescentes y adultos jóvenes—y no llegan a tener descendientes. Por otra parte, en nuestros pacientes la edad de inicio no varía con el sexo. La cantidad de enfermos de un sexo u otro es igual, lo que obedece al patrón de herencia autosómico dominante.

Grado de intensidad y evolución

El signo clínico cardinal para realizar el diagnóstico de la SCA2 es la marcha de la ataxia, el cual se ha utilizado como un marcador para cuantificar el proceso neurodegenerativo a través del tiempo y establecer clasificaciones acerca de la evolución [2,5,25]. El análisis del comportamiento de la intensidad de la ataxia en nuestro estudio demostró el curso inexorablemente progresivo de la enfermedad, resultando estadísticamente significativa la influencia del tiempo de evolución sobre la misma. Como promedio, el cambio evolutivo de la intensidad de la ataxia ocurre cada año. Sin embargo, un grupo de estos pacientes evolucionó de forma más rápida hacia los estadios de mayor intensidad. Podría suceder que estos cambios dramáticos guarden relación con el tamaño de la cadena expandida y, por lo tanto, dependan del efecto neurotóxico de la proteína mutada, dato comunicado también en otras familias no cubanas de SCA2 y en la SCA tipo 1 [8,17,19,31].

Otros autores también han analizado el comportamiento evolutivo de la enfermedad a través del tiempo de la SCA2 [5] y de otras formas clínicas [28,30], y han demostrado el curso progresivo e invalidable en todos los enfermos, que quedan finalmente limitados al estado de postración.

Más de la mitad de los enfermos se encuentra en el estado de defecto (grado 1), según la clasificación por grados de validez, mientras que el resto presentan un estado de discapacidad o minusvalía (grados 2 y 3, respectivamente). Al igual que la clasificación por grados de intensidad de la ataxia, ésta señala también el curso inexorablemente progresivo de la enfermedad y es una medida para conocer el estado de desempeño ante las actividades de la vida diaria de cada paciente; también la utilizamos para agrupar a los enfermos para la rehabilitación motora.

El estudio de las ataxias hereditarias en Cuba ha pasado por diferentes etapas, desde las primeras observaciones hace 35 años atrás, hasta las nuevas investigaciones epidemiológicas, clínicas, neurofisiológicas, de neurología cuantitativa y moleculares [32]. Este nuevo estudio supera a los anteriores gracias a que en el mismo se analizan las características epidemiológicas de la enfermedad en el país, de la provincia de Holguín por ser la más afectada y de cada municipio en concreto; esto lo hace más detallado y, por lo tanto, brinda una oportunidad para el estudio histórico de la enfermedad, con relación al posible origen de la misma en Cuba. Los valores de prevalencia e incidencia tan elevados de forma estable, en unión al patrón de herencia dominante, el efecto de anticipación y el curso inexorablemente progresivo, remarcan este importante problema de salud que afecta a la región oriental del país.

BIBLIOGRAFÍA

- Vallés L, Estrada GL, Bastecheerrea SL. Algunas formas de heredoataxia en una región de Cuba. *Rev Neurol (Cubana)* 1978; 27: 163-76.
- Orozco G, Nodarse A, Cordovés R, Aurburger G, Estrada R. Study of 225 patients with autosomal dominant cerebellar ataxia: presumed founder effect in the province Holguin, Cuba. In Plaitakis J, ed. *Hereditary ataxias*. Berlin: Springer-Verlag; 1989. p. 345-60.
- Estrada R, Vallés L, Galarraga J. Heredoataxias. Estudio neuropatológico en 3 casos. *Rev Cubana Med* 1980; 19: 225-37.
- Nodarse A, Orozco DG, Gutiérrez S, Coutin P. Clinical electrophysiological correlation in patients with hereditary ataxia and asymptomatic relatives. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1987; 66: 573.
- Orozco DG, Nodarse FA, Cordovés R, Aurburger G. Autosomal dominant cerebellar ataxia: clinical analysis of 263 patients from a homogeneous population in Holguin, Cuba. *Neurology* 1990; 40: 1369-75.
- Gispert S, Lunkes A, Santos N, Orozco G, Ha-Hao D, Ratzlaff T, et al. Localization of the candidate gene D-amino acid oxidase outside the refined 1 cM Region of Spinocerebellar Ataxia 2. *Am J Hum Genet* 1995; 57: 972-5.

7. Gispert S, Twells R, Orozco G, Brice A, Wever J, Heredero L. Chromosomal assignment of the second locus for autosomal dominant cerebellar ataxia (SCA2) to chromosome 12q23-24.1. *Nat Genet* 1993; 4: 295-9.
8. Pulst MS, Nechiporuk A, Nechiporuk T, Gispert S, Chen NX, Cendes LI, et al. Moderate expansion of a normally biallelic trinucleotide repeat in spinocerebellar ataxia type 2. *Nat Genet* 1996; 14: 269-76.
9. Imbert G, Saudou F, Yvert G, Devys D, Troyyier Y, Garnier JM, et al. 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.
10. Sanpei K, Takano H, Igarashi S, Sato T, Oyake M, Sasaki H, et al. 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.
11. Velázquez L, Medina EE. Evaluación neurofisiológica en pacientes afectados por ataxia espinocerebelosa tipo 2. *Rev Neurol* 1998; 27: 921-6.
12. Velázquez L, Medina EE. Características electrofisiológicas en familiares asintomáticos de enfermos con ataxia espinocerebelosa tipo 2. *Rev Neurol* 1998; 27: 955-63.
13. Velázquez L, Orozco DG. Ataxia cerebelosa dominante cubana. Estudios de conducción de nervios periféricos en pacientes y familiares asintomáticos. *Medicina (B. Aires)* 1999; 59: 16-7.
14. Velázquez L, Medina EE. Correlación clínico-neurofisiológica en pacientes con ataxia espinocerebelosa tipo 2. *Rev CNIC (Ciencias Biológicas)* 1999; 30: 16-7.
15. The Huntington's Disease Collaborative Research Group. A novel gene containing a trinucleotide repeat that is expanded and unstable on Huntington's disease chromosomes. *Cell* 1993; 72: 791-983.
16. La Spada AR, Wilson EM, Lubahn DB, Harding AE, Fischbeck KH. Androgen receptor gene mutations in X-linked spinal and bulbar muscular atrophy. *Nature* 1991; 352: 77-9.
17. Orr HT, Chung M, Banfi S, Kwiatkowski TJ, Servado A, Beaudet AL, et al. Expansion of an unstable trinucleotide CAG repeat in spinocerebellar ataxia type 1. *Nat Genet* 1993; 6: 14-8.
18. Koide R, Ikeuchi T, Onodera O, Tanaka H, Igarashi S, Endo K, et al. Unstable expansion CAG repeat in hereditary dentatorubral-pallidoluian atrophy (DRPLA). *Nat Genet* 1994; 6: 9-13.
19. Kawaguchi Y, Okamoto T, Taniwaki M, Aizawa M, Inoue M, Katayama S, et al. CAG expansions in a novel gene for Machado-Joseph disease at chromosome 14q32.1. *Nat Genet* 1994; 8: 221-7.
20. David G, Abbas N, Stevanin G, Durr A, Yvert G, Cancel G, et al. Cloning of the SCA7 gene reveals a highly unstable CAG repeat expansion. *Nat Genet* 1997; 17: 65-70.
21. Zhuchenco O, Bailey J, Bonnen P, Sizawa T, Stockton DW, Amos C, et al. Autosomal dominant cerebellar ataxia (SCA6) associated with small polyglutamine expansions in the alpha 1A-voltage-dependent calcium channel. *Nat Genet* 1997; 15: 62-9.
22. Pratt RTL. The genetics of neurological disorders. London: Oxford University Press; 1967.
23. Gundmundsson RK. Prevalence and occurrence of some rare neurological diseases in Iceland. *Acta Neurol Scand* 1969; 45: 114.
24. Goldfarb LG, Chumakov MP, Petrov PA, Fedorova NI, Gajdusek DC. Olivopontocerebellar atrophy in a large lakut kinship in Eastern Siberia. *Neurology* 1989; 39: 1527-30.
25. 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.
26. Kurtzke JF. Neuroepidemiology. *Ann Neurol* 1984; 16: 265-77.
27. Currier R. Spinocerebellar ataxy. Study of a large kindred. I. General information and genetics. *Neurology* 1972; 22: 1040-3.
28. Schut JW. Hereditary ataxia. Clinical study through six generations. *Arch Neurol Psychiatry* 1950; 63: 535-68.
29. Zoghbi HY. Spinocerebellar ataxia type 1. *Clin Neurosci* 1995; 3: 5-11.
30. Harding AE. The clinical features and classification of the late onset autosomal dominant cerebellar ataxy. A study of 11 families, including descendants of the drew family of Walworth. *Brain* 1982; 105: 1-28.
31. Monk S. Genomic structure of the human gene for spinocerebellar ataxia type 2 (SCA2) on chromosome 12q24.1. *Genomics* 1998; 47: 359-64.
32. Velázquez L, Santos FN, García R, Paneque HM, Medina HE, Hechavarría PR. Las ataxias hereditarias en Cuba. Aspectos históricos, epidemiológicos, clínicos, electrofisiológicos y de neurología cuantitativa. *Rev Neurol* 2001; 32: 71-6.

EPIDEMIOLOGÍA DE LA ATAXIA HEREDITARIA CUBANA

Resumen. Introducción. Las ataxias hereditarias en Cuba presentan la más alta concentración de enfermos en el ámbito internacional, con predominio de la forma molecular SCA2. Objetivo. Determinar la prevalencia e incidencia de las ataxias hereditarias. Pacientes y métodos. Hemos realizado un estudio descriptivo a 440 pacientes y 1.633 familiares con riesgo de enfermar procedentes de la provincia de Holguín. Se calcularon las tasas de prevalencia e incidencia. Resultados. La tasa de prevalencia de enfermos en la provincia es de 43 casos por 100.000 habitantes; la más elevada fue de 503 casos por 100.000 habitantes en una localidad del municipio de Báguanos. El grupo de edad más afectado fue el de 30 a 39 años para una prevalencia de 63,97 casos por 100.000 habitantes. La población rural mostró la mayor prevalencia (62,04 casos por 100.000 habitantes). Para los familiares con riesgo de enfermar la prevalencia en la provincia fue de 159,33 casos por 100.000 habitantes. La tasa mayor de incidencia fue de 18,08 casos por 100.000 habitantes en Cacocum, mientras que para la provincia ésta fue de 4,39 casos. Conclusiones. Como promedio, la enfermedad pasa de un estadio a otro cada año, lo que sugiere que a medida que transcurre el tiempo el curso evolutivo se agrava. Los valores de prevalencia e incidencia son los más elevados a escala mundial, lo que, unido al patrón de herencia dominante, el efecto de anticipación y el curso inexorablemente progresivo, muestra la gravedad de este problema de salud que afecta a la región oriental del país. [REV NEUROL 2001; 32: 606-11]

Palabras clave. Ataxia. Ataxia cubana. Ataxia espinocerebelosa tipo 2.

EPIDEMIOLOGIA DA ATAXIA HEREDITÁRIA CUBANA

Resumo. Introdução. As ataxias hereditárias em Cuba representam a maior concentração de doentes, num âmbito internacional, com predominio da forma molecular SCA2. Objectivo. Determinar a prevalência e incidência das ataxias hereditárias. Doentes e métodos. Realizámos um estudo descriptivo em 440 doentes e 1.633 familiares com risco de adoecer, provenientes da provincia de Holguín. Calcularam-se os índices de prevalência e de incidência. Resultados. A taxa de prevalência de doentes na provincia é de 43 por 100.000 habitantes; a mais elevada foi de 503 por 100.000 numa localidade do município Báguanos. O grupo de idades mais afectado foi o dos 30 aos 39 anos para uma prevalência de 63,97 por 100.000 habitantes. A população rural mostrou a maior prevalência (62,04 por 100.000). Para os familiares com risco de adoecer, a prevalência na provincia foi de 159,33 por 100.000 habitantes. A maior taxa de incidência foi de 18,08 por 100.000 habitantes em Cacocum, e para a provincia foi de 4,39. Conclusões. Como em média, a doença passa de um estágio ao outro cada ano, isto sugere que à medida que o tempo passa o curso evolutivo agrava-se. Os valores de prevalência e incidência são os mais elevados da escala mundial, o que, junto com o padrão hereditário dominante, com o efeito de antecipação e o curso inexorablemente progressivo, mostram a gravidade deste problema de saúde que afecta a região oriental do país. [REV NEUROL 2001; 32: 606-11]

Palavras chave. Ataxia. Ataxia cubana. Ataxia espinocerebelosa tipo 2.



Molecular epidemiology of spinocerebellar ataxias in Cuba: Insights into SCA2 founder effect in Holguin

Luis Velázquez Pérez*, Gilberto Sánchez Cruz, Nieves Santos Falcón, Luis Enrique Almaguer Mederos, Karel Escalona Batallan, Roberto Rodríguez Labrada, Milena Paneque Herrera, José Miguel Laffita Mesa, Julio C. Rodríguez Díaz, Raúl Aguilera Rodríguez, Yanetza González Zaldivar, Dany Coello Almarales, Dennis Almaguer Gotay, Humberto Jorge Cedeño

Centre for the Research and Rehabilitation of the Hereditary Ataxias, Holguin, Cuba

ARTICLE INFO

Article history:

Received 7 January 2009
Received in revised form 4 March 2009
Accepted 5 March 2009

Keywords:

SCA2
Cuban ataxia
Epidemiological survey
CAG repeats
Genetic anticipation

ABSTRACT

The objective of this study was to determine the prevalence of hereditary ataxias in Cuba, with a special focus on the clinical and molecular features of SCA2. Clinical assessments were performed by neurological examinations and application of the SARA scale. Molecular analyses of genes SCA1–3, SCA6, SCA17 and DRPLA identified 753 patients with SCA and 7173 asymptomatic relatives, belonging to 200 unrelated families. 86.79% of all SCA patients were affected with SCA2. In the Holguin province, the average population prevalence of SCA2 is 40.18×10^5 inhabitants, with the remarkable figure of 141.66×10^5 in the Baguanos municipality. The high prevalence of the SCA2 mutation in Holguin reflects most likely a founder effect. The stabilization of the prevalence along time suggests the existence of premutated chromosomes with pure CAG, acting as reservoir for further expansions. CAG repeat length correlated inversely with age at onset, accounting for 80% of the variability. Genetic anticipation was observed in the 80% of transmissions. Repeat instability was greater in paternal transmissions whereas CAG expansions without anticipation was observed in 10.97% suggesting the effect of CAA interruptions in the CAG segment, which decrease the toxicity of the abnormal ataxin-2, and/or other protective factors.

© 2009 Elsevier Ireland Ltd. All rights reserved.

The spinocerebellar ataxias (SCAs) include several clinically, pathologically and genetically heterogeneous neurodegenerative disorders, characterized by the loss of balance and motor coordination due to dysfunction of the cerebellum and its afferent and efferent pathways [7]. SCAs are associated with at least 28 loci. The disease gene has been identified in 14 SCA types (SCA1–8, 10–14, 17, 27 and DRPLA) [13].

Most of the few existing epidemiological studies of hereditary ataxias have been performed in isolated geographical regions in families not large enough for linkage analysis. The collective worldwide prevalence is estimated in about 5–7 cases per 100,000 people, although higher figures have been reported in particular populations because of founder effects [24].

Several previous studies have reported a high prevalence of SCA2 in the north-eastern region of Cuba, specifically in the Holguin province [30,14,31]. However, the prevalence of this and other

hereditary ataxias in the whole Cuban population has not been so far thoroughly determined.

The underlying mutation of SCA2 is an unstable expansion of a polyglutamine domain within ataxin-2. The size of the polyglutamine expansion has a strong influence on the age at onset as well as the severity of disease [10,17,20].

The aims of the present study were: (a) to determine the prevalence of autosomal dominant SCAs (SCA1–3, SCA6, SCA17, and DRPLA), as well as of recessive and sporadic ataxias and (b) to assess the correlation between the clinical features (age of onset, clinical severity, anticipation) and the length of the expansion and the intergenerational instability in SCA2 patients.

The study was conducted by the National Center for the Research and Rehabilitation of the Hereditary Ataxias in the city of Holguin, which is the main referral center for these conditions in the country. In order to establish the epidemiological profile of inherited ataxias in Cuba, we conducted a survey to identify all patients with primary ataxic disorder and their asymptomatic relatives.

Clinical examinations and family history enabled the classification of patients as affected with SCA, recessive ataxia, sporadic ataxia or secondary ataxia. The latter group included patients with secondary ataxia due to alcoholism, neoplasias, autoimmune

* Corresponding author at: Carretera Central Km 5 1/2 via Havana, Holguin 80100, Cuba. Tel.: +53 724461693; fax: +53 24424090.

E-mail address: ataxia@crystal.hlg.sld.cu (L. Velázquez Pérez).

Table 1
Distribution of SCA2 patients and prevalence rates by provinces, Cuba, 2006–2007.

Cuban provinces	SCA2 patients	Prevalence rate
Holguín	413	40.18
Las Tunas	63	11.82
Granma	23	2.75
Santiago de Cuba	24	2.30
Camaguey	14	1.76
Guantánamo	5	0.96
Ciudad Habana	27	1.04
Isla de la Juventud	2	2.48
La Habana	2	0.28
Cienfuegos	2	0.50
Matanzas	3	0.45
Total	578	6.57

or inflammatory diseases, vascular pathology, malformations and other non-genetic causes, and was excluded from further study.

The Ethics Committee of the National Center for the Research and Rehabilitation of the Hereditary Ataxias approved the research protocol and all studied patients signed an informed consent form after being explained the purpose and methods of the research.

Genomic DNA was isolated from peripheral leukocytes from all patients diagnosed with SCA, using standard protocols. PCRs and gel electrophoresis were carried out on SCA1, SCA2, SCA3, SCA6, SCA17 and DRPLA genes according to established techniques.

In the first phase of the study, 753 patients with hereditary ataxias were identified, belonging to 200 unrelated families. Of them, 666 (88.44%) had SCAs, 69 (9.16%) had recessive ataxias and 18 (2.39%) had sporadic ataxias. Out of the 666 patients with SCAs, 578 (86.79%) were found positive for an expansion in SCA2 gene, and 8 patients (1.2%) were positive for an expansion in the SCA3 locus. No mutations were detected in the remaining 80 (12.00%) patients with SCA; in particular, no expanded SCA1, SCA6, SCA7, SCA17 and DRPLA alleles were detected. We identified 7173 asymptomatic at-risk individuals in the SCA2 families, 2060 of which (75.90%) were first-degree relatives.

The second phase of the study was devoted specifically to further define the clinical manifestations and molecular epidemiology of SCA2, which was present in 11 out of the 14 provinces of the country. The distribution of SCA2 patients and prevalence rates by province are shown in Table 1. The highest concentration of SCA2 mutation was observed in the Holguín province, with 413 SCA2 patients and 1384 asymptomatic first-degree relatives. This value represents 71.45% of all Cuban SCA2 patients. The prevalence rate of SCA2 in the Holguín province is 40.18 per 100,000 inhabitants, but there are regions of the province where the prevalence reaches higher values with remarkable figure in Baguanos municipality (141.66 per 100,000 inhabitants) (Fig. 1).

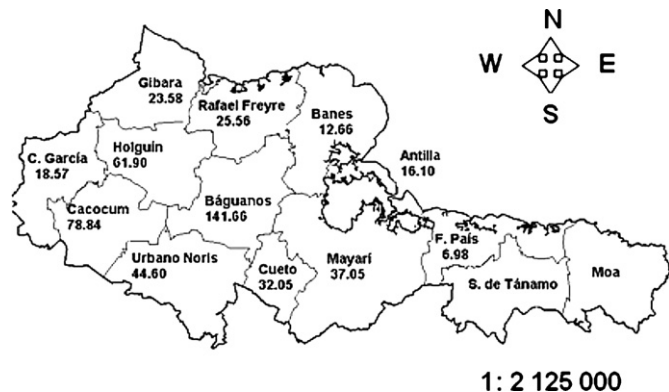


Fig. 1. Prevalence rate of hereditary ataxias in the province of Holguín, Cuba (2006–2007).

All patients showed a cerebellar syndrome characterized by ataxic gait, cerebellar dysarthria, dysmethria and dysidiadochokinesia. In 558 of these (96.5%), gait ataxia was the first symptom of the disease. Patients exhibited abnormal tandem stance (95%), slow saccadic eye movements (91%), limited voluntary ocular movements (88%), loss of vibration sense (73%), areflexia or hyporeflexia (77%) and abnormal swallowing (76%). Autonomic abnormalities (urinary dysfunction, hypohidrosis, constipation, and sexual dysfunction) were presented in 77.68% of the cases.

The age at onset of SCA2 ranged from 3 to 79 years, with a mean of 32.96 ± 13.10 . There was no significant difference in the age at onset between males; (mean 32.1 ± 13.6) and females (mean 32.7 ± 13.4). In order to assess the correlation between the size of the polyglutamine expansion and age of onset of symptoms, simple regression analyses were conducted and best fit were obtained using a $\log(y)$ transformation. A significant negative correlation of age of onset and polyglutamine expansion size ($r = 0.80$; $P = 0.0002$) was revealed. The duration of the disease from first symptoms to death varied from 6 to 39 years; mean 16.49 ± 7.11 .

In order to assess the severity of the cerebellar ataxia and its progression from early to late stages, we used the Scale for the Assessment and Rating of Ataxia (SARA) [22] in a subsample 215 SCA2 patients with clinical and molecular diagnosis. The SARA score ranged from 4 to 39, mean 15.8 ± 7.25 . There was a significant positive correlation between the SARA score, the size of the CAG repeat ($r = 0.4470$; $P \leq 0.001$) and disease duration ($r = 0.5366$; $P \leq 0.001$). ANOVA followed by post hoc Newman Keuls methods differentiated patients using SARA in three clinical stages defined by Klockgether [12]: stage 1 (slight gait ataxia): 14.09 ± 0.71 ; stage 2 (loss of independent gait): 19.66 ± 2.34 , stage 3 (confinement to wheelchair or bed): 30.33 ± 2.34 ; $F = 13.94$, $P \leq 0.0001$. The size range of the SCA2 abnormal allele was 32–79 CAG repeats. The most common size of the abnormal allele in SCA2 patients was (CAG)₃₇ (Fig. 2). Unexpanded alleles ranged from 13 to 31 units. Normal alleles with 22 CAG repeats were the most frequent (76%). Nineteen percent of the remaining normal alleles ranged between 23 and 31 CAG units and 5% from 13 to 21.

Genetic anticipation was observed in the 80% of transmissions. We performed a detailed study of intergenerational instability of the repeat in 102 sibships. Expansions occurred in 89.03% and the contractions in 10.97% of the offspring of affected patients. Paternal transmission resulted higher variability in repeat length; ranging from -6 to $+38$ CAG repeats versus only -5 to $+6$ CAG repeats via the maternal transmission (Fig. 3). 89.04% of the patients with intergenerational expansion showed anticipation in the age onset compared to the parent and 10.96% showed expansions without anticipation.

Anticipation of age at onset (range 2–29 years) also occurred without intergenerational instability in 75% of a randomized sample of offspring of affected individuals.

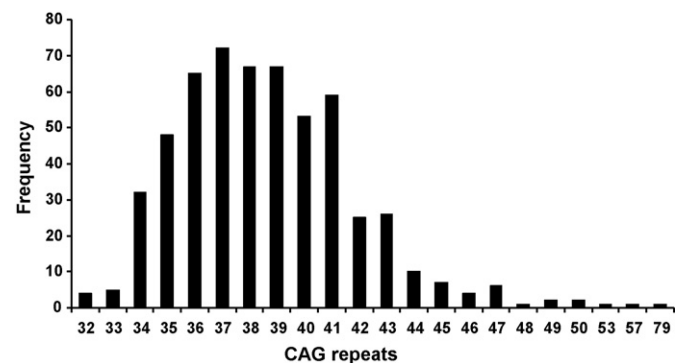


Fig. 2. Frequencies of pathological CAG repeats in 578 Cuban subjects with SCA2 mutation.

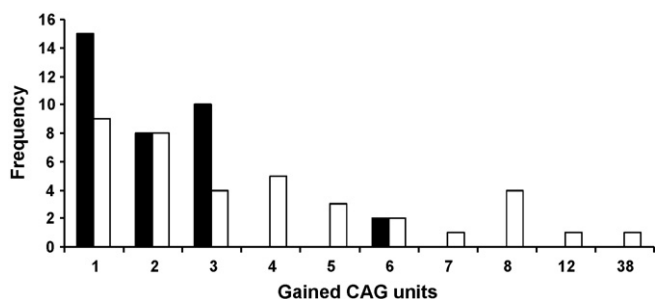


Fig. 3. Intergenerational instability of CAG expansions in SCA2. Dark bars indicate maternal transmissions and white bars indicate paternal transmissions.

The global incidence and prevalence of SCA2 are unknown [12] and there are large regional variations due to founder effects [24]. Large SCA2 families have been found in India [26], Martinique [5], Australia [27], Tunisia [2], Germany [23] and Italy [32].

Probably, the marked SCA2 prevalence in Cuba stems for Hispanics founders arrived to eastern region at XVII. Two main lines of evidences reinforce the above: (1) SCA2 Cuban families have a wide documented story of Hispanic origin and (2) almost all families share the same chromosomal haplotype surrounding in close region of SCA2 mutation [9].

Despite the dissemination of Cuban families through the island, the SCA2 prevalence in Holguin is different from other regions of the country. Cultural and environmental process has long lasting effects on allelic diversity, restricting mutations to selected populations [28]. The endogamous and closed cycle marriages of Holguin people living at XVII altogether with putative restricted environmental unbalancing, limited the SCA2 to Holguin. A similar explanatory mechanism has been proposed in SCA3 founders in Azoreans [15].

The prevalence of SCAs is influenced by the frequency of large normal alleles sharing the same chromosomal haplotype of patients [29]. In Holguin, the stable prevalence of SCA2 along time [30,14,31], despite the existence of genetic anticipation is likely the result of the high frequency of large normal alleles with pure CAG, which represent reservoirs of mutated alleles, driving to the continuous raising of new SCA2 cases. Our Center has an ongoing project to perform haplotype studies in this population to test this hypothesis.

The SARA rating scale is a reliable and valid assessment of ataxia, making it an appropriate test to evaluate its most important neurological manifestations, such as gait, stance and coordination of the upper and lower limbs, as well as to estimate the progression rate and its predictors [22].

The current study is the first in the world to use the SARA rating scale in more than 200 patients with autosomal dominant hereditary ataxia derived most likely from a founder effect. We found a strong correlation between the SARA score and the CAG expansion size and disease duration, indicating that the main clinical manifestations of SCA2 and its progression are a direct consequence of the genetic mutation. Also SARA settled robustly the patients in the SCA2 clinical stages, supporting their use in clinical surveys to assess the progression of cerebellar syndrome.

The strong correlation between CAG size and age of onset of symptoms in our patients is the highest ever reported in SCA2. Several factors can contribute to this finding, such as a large number of patients belonging to the same founder population and a wide range of CAG sizes (32–79 CAG). However, since this correlation has also been found in other studies in different founder populations [11] we cannot rule out that the common haplotype may be the driving force contributing to the correlation. Age of onset–CAG size correlation might be affected by other factors than CAG size: gene modifiers [8,19], ATXN2 polymorphisms or other genes [25], and unknown environmental factors.

The fact that at least 11% of expansions were not associated with anticipation, may reflect the effect of *cis*-acting elements and the presence of CAA interruptions in the CAG segment [3,16,4], decreasing the toxicity of CAG at mRNA or protein levels or other protective factors.

An unexpected result in this study was the presence of genetic anticipation (range 2–29 years) in 75% of a randomized sample of 102 sibships in the absence of intergenerational instability. We are not aware of any similar finding in the literature. A plausible explanation is that the variation in the severity of SCA2 can also be due to gene modifiers combined with environmental factors, although more research is needed to achieve a better understanding of this finding.

The frequent intergenerational expansion of the CAG repeat, in contrast with the infrequency of its contraction, found in the Cuban patients studied, has been described in other populations [1,6]. This could be due to differences in hairpin stability of CAG with respect to CTG, enabling a preferential replication to CAG with respect to CTG [3,16,4,18].

Our finding that a CAG size range between 32 and 79 units is capable to cause SCA2, is similar to what was reported in a previous Cuban study [21].

The prevalence of the SCA2 mutation in the Holguin province of Cuba is the highest reported worldwide, and reflects most likely a founder effect. The stabilization of the prevalence rate along time suggests the existence of premutated chromosomes with pure CAG, acting as a founder reservoir for new expansions. Further epidemiological studies will be focused on the scanning of other SCA mutations in Cuban population, such as SCA7, SCA15, SCA16, SCA18 and other.

The work of our Center has enabled a complete ascertaining of all families affected with SCAs in Cuba and the establishment of national guidelines to improve their clinical management and to provide genetic counselling and presymptomatic testing. The Cuban experience in the molecular epidemiology, as well as in the management and prevention of these conditions, could be expanded in international collaborative studies to design new therapies and better palliative treatments.

Acknowledgments

We are indebted to the Cuban SCA families that participated in this study, to the Cuban Ministry of Public Health, to the physicians, technicians and other specialists that collaborated in this research and to MD Victor B. Penchaszadeh for language corrections.

References

- [1] E. Alonso, L. Martínez-Ruano, I. De Biase, C. Mader, A. Ochoa, P. Yescas, R. Gutierrez, M. White, L. Ruano, M. Fragozo-Benitez, T. Ashizawa, S.I. Bidichandani, A. Rasmussen, Distinct distribution of autosomal dominant spinocerebellar ataxia in the Mexican population, *Mov. Disord.* 22 (2007) 1050–1053.
- [2] S. Belal, G. Cancel, G. Stevanin, F. Hentati, C. Khati, C. Ben Hamida, G. Auburger, Y. Agid, M. Ben Hamida, A. Brice, Clinical and genetic analysis of a Tunisian family with autosomal dominant cerebellar ataxia type 1 linked to the SCA2 locus, *Neurology* 44 (1994) 1423–1426.
- [3] J.D. Cleary, C.E. Pearson, Replication fork dynamics and dynamic mutations: the fork-shift model of repeat instability, *Trends Genet.* 21 (2005) 223–230.
- [4] O. Didierjean, G. Cancel, G. Stevanin, A. Dürr, K. Bürk, A. Benomar, A. Lezin, S. Belal, M. Abada-Bendid, T. Klockgether, A. Brice, Linkage disequilibrium at the SCA2 locus, *J. Med. Genet.* 36 (1999) 415–417.
- [5] A. Dürr, D. Smadja, G. Cancel, A. Lezin, G. Stevanin, J. Mikol, R. Bellance, G.G. Buisson, H. Chneiweiss, J. Dellanave, Autosomal dominant cerebellar ataxia type I in Martinique (French West Indies) clinical and neuropathological analysis of 53 patients from three unrelated SCA2 families, *Brain* 118 (1995) 1573–1581.
- [6] P. Giunti, G. Sabbadini, M.G. Sweeney, M.B. Davis, L. Veneziano, E. Mantuano, A. Federico, R. Plasmati, M. Frontali, N.W. Wood, The role of the SCA2 trinucleotide repeat expansion in 89 autosomal dominant cerebellar ataxia families frequency, clinical and genetic correlates, *Brain* 121 (1998) 459–467.

- [7] A.E. Harding, Clinical features and classification of inherited ataxias, in: A.E. Harding, T. Deufel (Eds.), *Inherited Ataxias*, Raven, New York, 1993, pp. 1–14.
- [8] S. Hayes, G. Turecki, K. Brisebois, I. Lopes-Cendes, C. Gaspar, O. Riess, L.P. Ranum, S.M. Pulst, G.A. Rouleau, CAG repeat length in RAI1 is associated with age at onset variability in spinocerebellar ataxia type 2 (SCA2), *Hum. Mol. Genet.* 9 (2000) 1753–1758.
- [9] A. Hernandez, C. Magarino, S. Gispert, N. Santos, A. Lunke, G. Orozco, L. Heredero, J. Beckmann, G. Auburger, Genetic mapping of the spinocerebellar ataxia 2 (SCA2) locus on chromosome 12q23-q24.1, *Genomics* 25 (1995) 433–435.
- [10] G. Imbert, F. Saudou, G. Yvert, D. Devys, Y. Trottier, J.M. Garnier, C. Weber, J.L. Mandel, G. Cancel, N. Abbas, A. Dürr, O. Didierjean, G. Stevanin, Y. Agid, A. Brice, Cloning of the gene for spinocerebellar ataxia 2 reveals a locus with high sensitivity to expanded CAG/glutamine repeats, *Nat. Genet.* 14 (1996) 285–291.
- [11] T. Klockgether, Ataxias, in: C.G. Goetz (Ed.), *Textbook of Clinical Neurology*, Saunders, Philadelphia, 2003, pp. 741–757.
- [12] T. Klockgether, R. Ludke, B. Kramer, M. Abele, K. Burk, L. Schols, O. Riess, F. Laccone, S. Boesch, I. Lopes-Cendes, A. Brice, R. Inzelberg, N. Zilber, J. Dichgans, The natural history of degenerative ataxia: a retrospective study in 466 patients, *Brain* 121 (1998) 589–600.
- [13] A. Matilla, R. Goold, P. Giunti, Molecular pathogenesis of spinocerebellar ataxias, *Brain* 129 (2006) 1357–1370.
- [14] G. Orozco, A. Nodarse, R. Cordovés, G. Auburger, R. Estrada, Study of 225 patients with autosomal dominant cerebellar ataxia: presumed founder effect in the province Holguin Cuba, in: J. Plaitakis (Ed.), *Hereditary Ataxias*, Springer-Verlag, Berlin, 1989, pp. 345–360.
- [15] M. Parduey, The pathogenesis of Machado Joseph disease: a high manganese/low magnesium initiated CAG expansion mutation in susceptible genotypes? *J. Am. Coll. Nutr.* 23 (2004) 715S–729S.
- [16] C.E. Pearson, K.N. Edamura, J.D. Cleary, Repeat instability: mechanisms of dynamic mutations, *Nat. Rev. Genet.* 6 (2005) 729–742.
- [17] M.S. Pulst, A. Nechiporuk, T. Nechiporuk, S. Gispert, X.N. Chen, I. Lopes-Cendes, S. Pearlman, S. Starkman, G. Orozco-Diaz, A. Lunke, P. DeJong, G.A. Rouleau, G. Auburger, J.R. Korenberg, C. Figueroa, S. Sahba, Moderate expansion of a normally biallelic trinucleotide repeat in spinocerebellar ataxia type 2, *Nat. Genet.* 4 (1996) 269–276.
- [18] S.M. Pulst, A. Nechiporuk, S. Starkman, Anticipation in spinocerebellar ataxia type 2, *Nat. Genet.* 5 (1993) 8–10.
- [19] S.M. Pulst, N. Santos, D. Wang, H. Yang, D. Huynh, L. Velazquez, K.P. Figueroa, Spinocerebellar ataxia type 2: polyQ repeat variation in the CACNA1A channel modifies age of onset, *Brain* 128 (2005) 2297–2303.
- [20] K. Sanpei, H. Takano, S. Igarashi, T. Sato, M. Oyake, H. Sasaki, A. Wakisaka, K. Tashiro, Y. Ishida, T. Ikeuchi, R. Koide, M. Saito, A. Sato, T. Tanaka, S. Hanyu, Y. Takiyama, M. Nishizawa, N. Shimizu, Y. Nomura, M. Segawa, K. Iwabuchi, I. Eguchi, H. Tanaka, H. Takahashi, S. Tsuji, Identification of the spinocerebellar ataxia type 2 gene using a direct identification of repeat expansion and cloning technique, *DIRECT, Nat. Genet.* 14 (1996) 277–284.
- [21] N. Santos, J. Aguiar, J. Fernández, M. Vázquez, G. Auburger, S. Gispert, Y. Mendoza, J. Garcia, L. Velazquez, Molecular diagnosis of a sample of the Cuban population with spinocerebellar ataxia type 2, *Biotecnología Aplicada* 16 (1999) 219–221.
- [22] T. Schmitz-Hubsch, S. Tezenas du Montcel, L. Baliko, J. Berciano, S. Boesch, C. Depondt, P. Giunti, C. Globas, J. Infante, J.S. Kang, B. Kremer, C. Mariotti, B. Melegh, M. Pandolfo, M. Rakowicz, P. Ribai, R. Rola, L. Schöls, S. Szymanski, B.P. van de Warrenburg, A. Dürr, T. Klockgether, R. Fancellu, Scale for the assessment and rating of ataxia: development of a new clinical scale, *Neurology* 66 (2006) 1717–1720.
- [23] L. Schöls, Spinocerebellar ataxia type 2. Genotype and Phenotype in German kindreds, *Arch. Neurol.* 54 (1997) 1073–1080.
- [24] L. Schöls, P. Bauer, T. Schmidt, T. Schulte, O. Riess, Autosomal dominant cerebellar ataxias: clinical features, genetics, and pathogenesis, *Lancet* 3 (2004) 291–304.
- [25] D.K. Simon, K. Zheng, L. Velazquez, N. Santos, L. Almaguer, S.M. Pulst, Mitochondrial complex I gene variant associated with early age of onset in SCA2, *Arch. Neurol.* 64 (2007) 1042–1044.
- [26] K.K. Sinha, P.F. Worth, D.K. Jha, S. Sinha, V.J. Stinton, M.B. Davis, N.W. Wood, M.G. Sweeney, K.P. Bhatia, Autosomal dominant cerebellar ataxia: SCA2 is the most frequent mutation in eastern India, *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* 75 (2004) 448–452.
- [27] E. Storey, D. du Sart, J.H. Shaw, Frequency of spinocerebellar ataxia types 1, 2, 3, 6 and 7 in Australian patients with spinocerebellar ataxia, *Am. J. Med. Genet.* 95 (2000) 351–357.
- [28] S. Sun, C.M.T. Greenwood, I. Thiffault, N. Hamel, G. Chong, W.D. Foulkes, The HNPCC associated MSH2*1906GRC founder mutation probably originated between 1440 CE and 1715 CE in the Ashkenazi Jewish population, *J. Med. Genet.* 42 (2005) 766–768.
- [29] H. Takano, G. Cancel, T. Ikeuchi, D. Lorenzetti, R. Mawad, G. Stevanin, O. Didierjean, A. Dürr, M. Oyake, T. Shimohata, R. Sasaki, R. Koide, S. Igarashi, S. Hayashi, Y. Takiyama, M. Nishizawa, H. Tanaka, H. Zoghbi, A. Brice, S. Tsuji, Close associations between prevalences of dominantly inherited spinocerebellar ataxias with CAG-repeat expansions and frequencies of large normal CAG alleles in Japanese and Caucasian populations, *Am. J. Hum. Genet.* 63 (1998) 1060–1066.
- [30] L. Vallés, G.L. Estrada, S.L. Bastecheherrea, Algunas formas de heredoataxia en una región de Cuba, *Rev. Cub. Neurol.* 27 (1978) 163–176.
- [31] L. Velázquez, Introduction to hereditary ataxias, in: L. Gonzalez (Ed.), *Spinocerebellar Ataxia Type 2: Principal Neurophysiological Aspects in the Diagnosis, Prognosis and Evolution of the Disease*, Ediciones Holguin, Holguin, 2008, pp. 17–74.
- [32] M. Zortea, M. Armani, E. Pastorello, G.F. Nunez, S. Lombardi, S. Tonello, M.T. Rigoni, L. Zuliani, M.L. Mostacciuolo, C. Gellera, S. Di Donato, C.P. Trevisan, Prevalence of Inherited Ataxias in the Province of Padua, Italy, *Neuroepidemiology* 23 (2004) 275–280.

1.2. Principales características genotípicas y fenotípicas de la Ataxia Espinocerebelosa Tipo 2 y su impacto sobre el diagnóstico y tratamiento de la enfermedad

Los trabajos que conforman esta parte están publicados en:

- ***Ataxia Espinocerebelosa Tipo 2. En: Ataxia Espinocerebelosa Tipo 2: Diagnóstico, pronóstico y evolución. Ciudad Habana: ECIMED, 2012 p. 28-52***
- ***Cerebellum (2011); 10:184–198 (Factor de impacto: 3.288)***

En esta parte se abordan las principales características moleculares de la SCA2, relacionadas con el gen ATXN2 y la proteína ataxina-2, así como su relación funcional con la fisiopatología de la enfermedad. Se incluyen las alteraciones bioquímicas tales como, dishomeostasia de oligoelementos, reducción de los niveles de Eritropoyetina y estrés oxidativo; cuya caracterización permitió la identificación de nuevos blancos terapéuticos. Además, se muestran los hallazgos morfológicos en cerebelo, tallo cerebral, tálamo y médula espinal.

Se presentan los aspectos relacionados con las características clínicas de la SCA2, principales exámenes complementarios, así como el diagnóstico diferencial, evolución, pronóstico y las estrategias de tratamiento, basadas fundamentalmente en ensayos clínicos y su combinación con la rehabilitación. Finalmente, se exponen algunos elementos e impacto de los programas de diagnóstico presintomático y prenatal.



ATAXIA ESPINOCEREBELOSA TIPO 2

EPIDEMIOLOGÍA

En Cuba existen 197 familias con ataxias de carácter hereditario. Estas agrupan a 753 enfermos y 7 173 descendientes con riesgo de enfermar; de ellos, 666 pacientes presentan una ataxia espinocerebelosa autosómica dominante, 69 casos ataxia autosómica recesiva, y 18 con ataxia esporádica. De los enfermos con ataxias autosómicas dominantes, 578 (86,78 %) se encuentran clasificados molecularmente como Ataxia Espinocerebelosa Tipo 2 (SCA2) se agrupan en 106 familias y dos casos esporádicos, con 5 448 descendientes con riesgo.

La SCA2 representa 15 % de todas las ataxias a nivel internacional; sin embargo, la frecuencia de presentación de esta en Cuba es la más alta reportada a nivel internacional. En la provincia de Holguín, un 96,4 % de los enfermos y el 95,7 % de las familias con ataxias autosómicas dominantes pertenecen a la forma molecular SCA2, por lo que se invoca un efecto fundador.

En 1978, Vallés reportó, en la región oriental de Cuba, una prevalencia de 41,3 enfermos por cada 100 000 habitantes, para todas las ataxias autosómicas dominantes. En la década de los 80 Orozco y colaboradores (1989) reportaron una prevalencia de 41 enfermos por cada 100 000 habitantes. En 1998, Velázquez y colaboradores realizaron un tercer estudio epidemiológico, (publicado en 2002), que abarcó la totalidad de los enfermos y descendientes con riesgo de la provincia de Holguín; reportaron una prevalencia de 41,8 enfermos por 100 000 habitantes (Fig. 1). La tasa más alta se encontró en el municipio de Báguanos, 141,66 por cada 100 000 habitantes. Estos estudios sugieren que esta enfermedad mantiene un curso estable a lo largo de los años. En un estudio más reciente, que se realizó en toda la isla, se demostró que las tasas de prevalencias en Holguín se mantienen constantes. Este fenómeno se debe a la existencia, dentro de la población sana no portadora, de individuos predispuestos a sufrir premutaciones y transmitir alelos mutados a su descendencia.

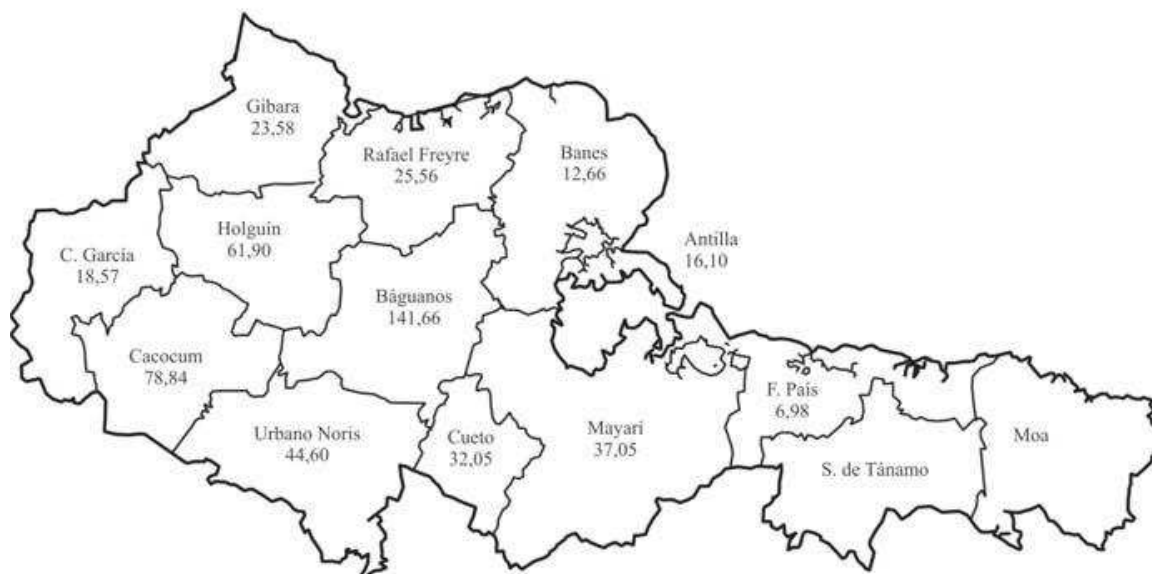


Fig. 1. Tasa de prevalencia de las ataxias hereditarias en los diferentes municipios de la provincia de Holguín. Existen mayores prevalencias en los municipios de Báguanos, Cacocum y Holguín.

Epidemiología de los descendientes con riesgo

En la provincia de Holguín existen 5 132 descendientes en riesgo de enfermar, los que representan 94,19 % del total del país. De ellos, 2 060 son descendientes directos de los enfermos y 3 388 descendientes no directos, distribuidos entre las generaciones II y VIII. De los descendientes directos, 87,33 % se concentró en la región oriental de Cuba y 67,18 % (1 384 casos) perteneció a la provincia Holguín. Los municipios más afectados fueron Báguanos (242 casos) y Holguín (628 casos).

Fueron estudiados por técnicas moleculares 1 614 descendientes directos de todo el país (78,34 %). En 479 de los casos se identificó la mutación SCA2, de ellos 72,86 % (349 casos) perteneció a la provincia de Holguín.

Entre enfermos y descendientes, se estima que existen, en Cuba, 2 330 personas con la mutación SCA2; de estos, 1 697 son de la provincia de Holguín. Las tasas de prevalencia estimadas son de 20 y 163 casos por cada 100 000 habitantes para Cuba y Holguín, respectivamente. Estas cifras demuestran que la ataxia SCA2, presenta la más alta prevalencia a nivel mundial, no solo en relación con otras ataxias, sino también al compararse con otras neurodegeneraciones.

Tasas de incidencia y mortalidad

En el estudio realizado durante el período 1998-1999 se diagnosticaron 45 nuevos enfermos en la provincia de Holguín, para una incidencia general de 4,39 casos



por cada 100 000 habitantes. Con la excepción de los municipios de Gibara y Cueto, en todos los demás que existían enfermos, se detectaron casos nuevos. Las tasas más elevadas se encontraron en los municipios de Holguín, Báguanos y Cacocúm. Sin embargo, en el estudio realizado entre los años 2002 y el 2003, se diagnosticaron 19 casos nuevos, es decir, 26 casos menos que el estudio anterior. Los municipios de Antilla, “Urbano Noris”, Báguanos, Holguín y Cacocúm presentaron las tasas de incidencias más elevadas. En el período 2002-2003 fallecieron 15 casos de ataxias hereditarias, todos del tipo SCA2 (tasa de mortalidad de 1,44 fallecidos por cada 100 000 habitantes).

Epidemiología genética

El estudio molecular demostró que 44,19 % de los descendientes estudiados presentó expansiones patológicas de Citosina Adenina Guanina (CAG), en al menos uno de los dos alelos. Se identificaron 1 249 alelos normales y 563 alelos patológicos. Los valores de los alelos normales oscilaron entre 13 y 31 unidades de CAG ($22,62 \pm 1,95$); predominó el alelo de 22 CAG (70,69 %). Los valores de los alelos patológicos oscilaron entre 32 y 79 unidades de CAG ($38,64 \pm 3,67$); predominó el alelo de 37 CAG (12,78 %).

La comparación de medias del número de CAG del alelo expandido no demostró diferencias significativas ($F=1,0715$; $p=0,3015$); entre los dos sexos de los enfermos ($40,14 \pm 4,32$ unidades de CAG en el masculino, y $39,65 \pm 3,65$ unidades, en el femenino); tampoco demostró diferencias significativas ($F=0,2535$; $p=0,6150$) en relación con el sexo del progenitor ($40,03 \pm 4,83$ CAG, en la transmisión paterna, y $39,79 \pm 3,18$ CAG en la materna).

En 102 parejas de padres e hijos, se estudió el cambio intergeneracional de CAG del alelo patológico. En 82 casos (80,39 %) se produjo un cambio en el número de CAG. La expansión de CAG predominó (89,02 %), mientras que la contracción se presentó en 10,97 %.

La intensidad del cambio varió entre -6 y +38 unidades de CAG, con un promedio de +2,12 CAG (Fig. 2.). El tamaño de las contracciones osciló entre -1 y -6 unidades de CAG ($-3,22 \pm 1,92$), y el de la expansión entre 1 y 38 unidades de CAG ($3,36 \pm 4,68$). El cambio que predominó fue de 1 unidad de CAG con una frecuencia de 33,33 % en las contracciones, y 28,76 % en las expansiones. De las grandes expansiones (7-38 CAG), 100 % se presentaron en transmisiones paternas. Se demostró un incremento significativo ($F=8,3264$; $p=0,0234$) de la intensidad de la expansión intergeneracional de CAG en las transmisiones paternas ($4,55 \pm 6,17$ CAG), en relación con las maternas ($2,08 \pm 1,29$ CAG).

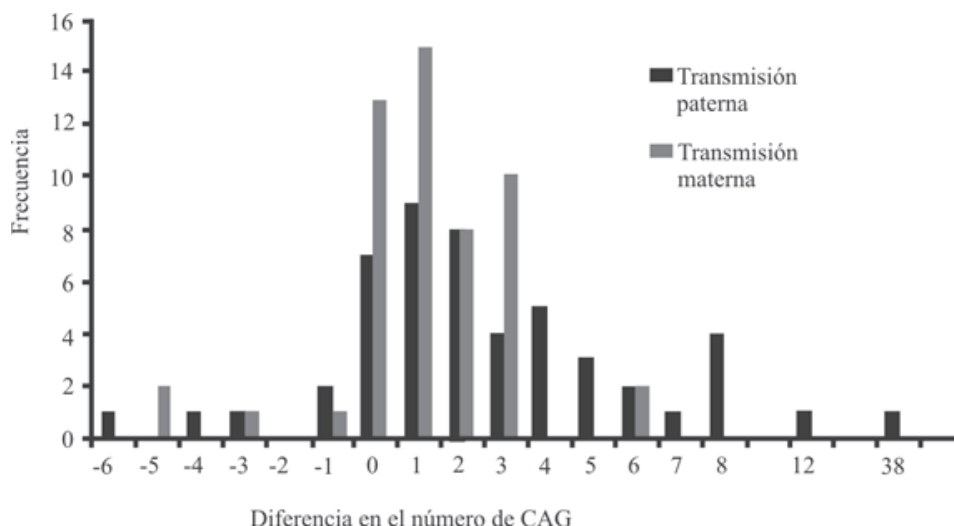


Fig. 2. Representación de la inestabilidad intergeneracional en 102 parejas de padres e hijos. La intensidad del cambio varió entre -6 y +38 unidades de CAG.

FISIOPATOLOGÍA DE LA ATAXIA ESPINOCEREBELOSA TIPO 2

En la actualidad, no se conocen con exactitud todos los mecanismos fisiopatológicos que conllevan a las alteraciones propias de esta enfermedad. Sin embargo, se han sugerido hipótesis que tratan de explicar la neurodegeneración en la Ataxia Espinocerebelosa Tipo 2 (SCA2).

La SCA2 se produce por una mutación dinámica que se localiza en el brazo largo del cromosoma 12 y se caracteriza por el incremento en el número de repeticiones del trinucleótido CAG en el primer exón del gen respectivo, conocido como ATXN2. Como resultado de la traducción se forma la proteína Ataxina-2 que contiene un dominio poliglutamínico debido a que el CAG codifica para el aminoácido glutamina. Esta proteína se expresa de manera ubicua y es eminentemente citoplasmática; se localiza en el complejo de Golgi, retículo endoplasmático y membrana citoplasmática. Una vez sintetizada de forma expandida, la proteína ataxina-2 adquiere una conformación anormal, por lo que es ubiquitinada, para luego ser degradada por el proteosoma celular 26 S; no obstante, se ha demostrado la disfunción de este mecanismo, lo que produce la acumulación de la proteína mutada en la célula. De esta manera, la ataxina-2 sufre un proceso de agregación, del que resulta la formación de inclusiones, fundamentalmente, citoplasmáticas.

La acumulación de inclusiones de la proteína en la célula desencadena una serie de efectos que conducen a la muerte celular y, por ende, a la neurodegeneración asociada con esta enfermedad. Tales efectos pueden ser la activación de vías apoptóticas, estrés oxidativo, alteraciones de la expresión génica, disregulación de mecanismos de neuroprotección, interferencia con el transporte axonal, ruptura de estructuras subcelulares, como el com-



plejo de Golgi, disfunción del proteosoma, alteraciones del metabolismo del calcio y excitotoxicidad (Fig. 3). En su conjunto estas alteraciones fisiopatológicas se traducen en diferentes manifestaciones fenotípicas, que se inician desde estadios subclínicos. El estudio de estas alteraciones no siempre se puede evidenciar por medio de la evaluación clínica, de ahí la importancia de los estudios electrofisiológicos para la caracterización de la enfermedad. Las primeras alteraciones neurofisiológicas se detectan en cerebelo, tallo cerebral y ganglios de la raíz dorsal, según los estudios de aprendizaje visuomotor, electronistagmografía y polisomnografía, respectivamente; por su importancia, se analizarán en los capítulos siguientes.

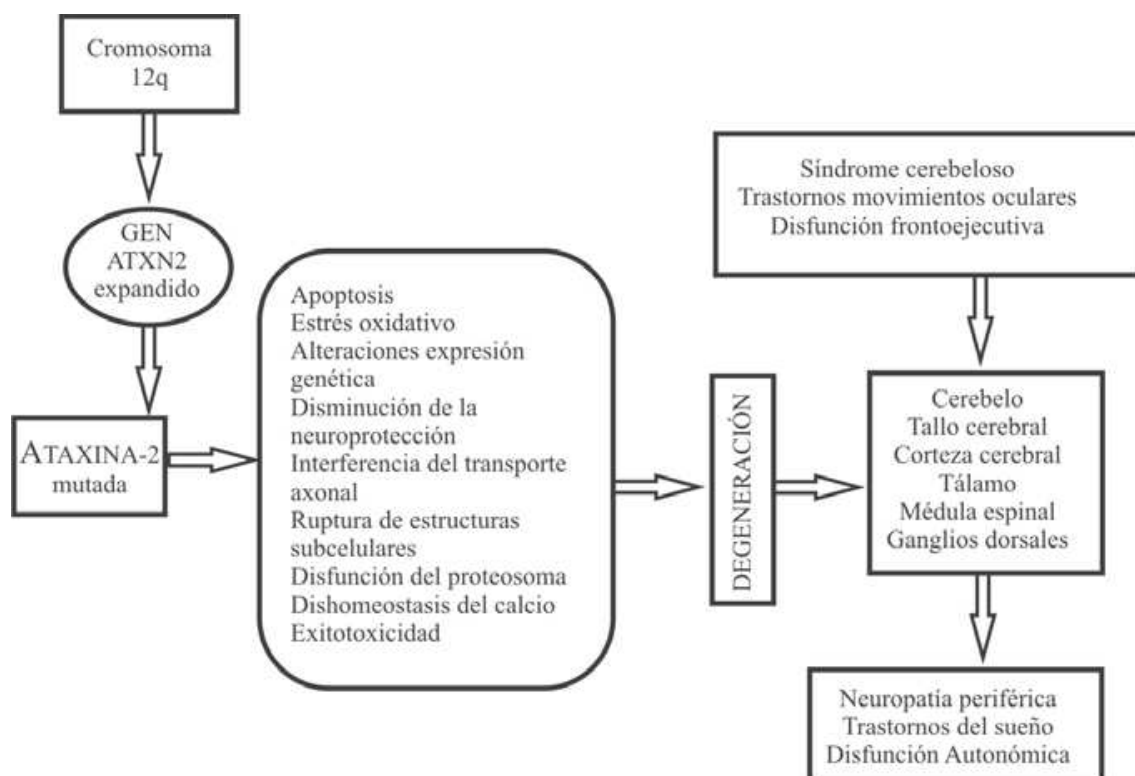


Fig. 3. Principales mecanismos fisiopatológicos que caracterizan a la SCA2, desde el gen hasta la neurodegeneración.

A continuación se analizan las principales características moleculares, bioquímicas y neuropatológicas de la SCA2.

CARACTERIZACIÓN MOLECULAR

Gen ATXN2

El gen asociado con la SCA2 se identificó de manera independiente, en el año 1996, por 3 laboratorios diferentes, en los Estados Unidos de Norteamérica,



Francia y Japón. Este ocupa una secuencia génica de 130 kb dentro del brazo largo del cromosoma 12 (12q 23-24,1) y codifica para una proteína llamada ataxina-2.

El gen está constituido por 25 exones, cuyas extensiones varían con un rango entre 37 y 890 pb. El tamaño de las regiones intrónicas varía entre 323 pb y más de 15 kb. Mediante los estudios de *Northern Blotting* se detectó un ARNm de 4,5 kb como principal transcripto, el que posee un marco abierto de lectura de 3 936 pb. De manera muy interesante se ha comprobado la presencia de diversas variantes de empalme alternativo en el gen de la SCA2. En seres humanos y ratones se han identificado variantes sin los exones 10, 12 y 24.

Se sugiere que los exones eliminados mediante el proceso de empalme alternativo tienen una función reguladora que depende de las necesidades de cada tejido en el que se expresa el gen.

En la secuencia que conforma el primer exón del gen de la SCA2 se encuentra una región repetitiva del trinucleótido CAG; interrumpida, en dos ocasiones, por el trinucleótido CAA. Esta región tiene una gran importancia patológica, ya que en ella ocurre la mutación que provoca la enfermedad. La alteración genética, clasificada como una mutación dinámica, consiste en la expansión del número de repeticiones del trinucleótido CAG por encima de un valor límite definido. En la mayoría de los sujetos normales (84 %) esta región se compone de 22 tripletes (CAG)₈, CAA (CAG)₄, CAA (CAG)₈, aunque su tamaño puede variar entre 13 y 31 repeticiones. Esta región no se encuentra en secuencias homólogas de ratones. La presencia de 32 o más tripletes en esta región provoca la aparición de la enfermedad, aunque no es hasta valores superiores a 37 unidades de CAG, que se expresa la penetrancia completa del gen. El alelo de mayor expansión en pacientes cubanos es de 79 tripletes.

La expansión del trinucleótido CAG influye en 60 % de la variabilidad de la edad de inicio de los pacientes con SCA2. De la variabilidad residual, 40 % debe estar determinado por la influencia de varios factores genéticos, epigenéticos y ambientales.

Entre los factores genéticos modificadores que influyen sobre la variabilidad, en la edad de inicio de los síntomas, están el tamaño del alelo no expandido en el gen SCA2, así como los genes *rai I* y *cacna I*. Además, se encontró una influencia significativa de una variante polimórfica del complejo mitocondrial I sobre la edad de inicio de la SCA2.



Ataxina-2

Características físico-químicas

La ataxina-2 es una proteína citoplasmática de aproximadamente 140 kDa y 1 312 residuos aminoácidos. El punto isoelectrico de este polipéptido es de 9,6, lo que la ubica como una proteína básica, a pesar de contar con una región que comprende 46 aminoácidos ácidos, codificados por los exones 2 al 7. Esta región consiste en 2 dominios globulares denominados Lsm (del inglés *like Sm*) y LsmAD (del inglés *Lsm-Associated Domain*) (Fig. 4). El primero adquiere una estructura tridimensional de tipo barril β abierto y se sugiere que participa en el procesamiento del Ácido Ribonucleico (ARN). El dominio LsmAD adopta una estructura en hélices α y contiene señales para la ubicación de la proteína en la porción *trans* del Complejo del Golgi y su salida del retículo endoplasmático.



Fig. 4. Representación esquemática de la estructura primaria de la ataxina-2 humana. PolyQ: dominio poliglutamínico, Lsm: dominio semejante a sm. LsmAD: dominio asociado con Lsm. PABC: dominio de unión con la PABP, A2D: dominio de ataxina-2.

Hacia su extremo C-terminal, la ataxina-2 posee un motivo PABC [*Polyadenine Binding Protein C-terminal Domain*; en español: Dominio C-terminal de PABP [del inglés *Poliadenilate (PoliA)-Binding Protein*] de interacción con la proteína de unión con colas de poliadeninas en el ARNm. Esta última proteína ejerce un papel fundamental en la traducción del ARNm y regula la estabilidad de este.

La ataxina-2 consta de otro dominio con posible importancia funcional hacia la región c-terminal de esta. Este es el caso del dominio A2D (del inglés *Ataxin 2 Domain Protein*), el que se asocia con el receptor de trompoyetina *Mpl*.

La ataxina-2 no tiene sitio de glicosilación, pero sí está fosforilada. Es probable que el sitio de fosforilación se localice en un motivo estructural comprendido entre los aminoácidos 853-858, que por homología con un motivo presente en la ataxina 1 puede interactuar con diversas moléculas reguladoras de la transcripción, el ciclo celular o estar involucradas con el proceso neurodegenerativo.



Patrones de expresión

La ataxina-2 es una proteína de expresión ubicua, razón por la cual su síntesis no está restringida al Sistema Nervioso Central. La caracterización de la proteína homóloga con la ataxina-2 humana en ratones (las que conservan 91 % de identidad) arrojó que esta proteína además de expresarse en el cerebro, se encuentra en tejido cardíaco, riñones, músculos, pulmones y bazo.

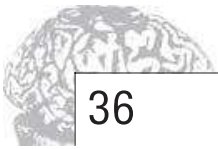
En el cerebro humano, la ataxina-2 se localiza en el citoplasma apical de neuronas piramidales en las capas III, V y VI del lóbulo frontal, pero no en la sustancia blanca. Otras estructuras cerebrales donde se ha detectado la presencia de la ataxina-2 son las neuronas piramidales del hipocampo y las granulares del giro dentado. En los ganglios basales solo se ha podido determinar la expresión de la proteína en las neuronas del *globo pálido* y el núcleo amigdalino. A nivel del mesencéfalo y el bulbo raquídeo, la ataxina-2 se expresa en las grandes neuronas de la sustancia negra y el núcleo troclear. El marcaje inmunohistoquímico de la ataxina-2 en los núcleos olivares y el colículo superior fue moderado, lo que sugiere una baja expresión de esta proteína en estas estructuras.

Las neuronas de Purkinje muestran los mayores niveles de expresión de la ataxina-2, en el Sistema Nervioso Central. En estas, la proteína se distribuye por toda la célula, incluyendo las dendritas. El marcaje inmunohistoquímico de estas neuronas indica que la ataxina-2 tiende a ubicarse perinuclearmente y polarizarse hacia un extremo de estas.

La localización subcelular de la proteína parece ser muy variada. Diversos estudios han revelado su presencia en la fracción citosólica y la fracción retículo endoplasmático/complejo de Golgi, así como a lo largo de la membrana citoplasmática. Estudios más recientes evidencian una asociación entre la ataxina-2 y los polirribosomas, a través de los dominios Lsm/LsmAD y el motivo de interacción (PAM2).

Características funcionales

Aunque la estructura primaria y conformacional de la ataxina-2 permite predecir algunas propiedades funcionales, hasta este momento no se conoce la función que esta realiza en las células. Sin embargo, se plantea que la misma está involucrada en el metabolismo del ARN y el funcionamiento de las membranas citoplasmáticas.



Metabolismo del Ácido Ribonucleico

Las principales evidencias que sustentan esta función parten de estudios de homología estructural y funcional con otras proteínas, como las proteínas con dominios Lsm, las que participan en el procesamiento del Ácido Ribonucleico (ARN) a diversos niveles. La proteína análoga con la ataxina-2 humana en levaduras (Pbp1) regula la poliadenilación del ARNm y se une a una proteína análoga a la PABP humana.

Recientemente se demostró una interacción entre la ataxina-2 humana con la proteína A2BP1, la que posee un motivo estructural muy conservado entre las proteínas de unión al ARN.

Por último, la identificación de la ataxina-2 en los gránulos de estrés de mamíferos, sugiere su papel en la estabilidad y funcionalidad del ARNm, en presencia de condiciones ambientales estresantes para las células.

Estudios realizados con el polipéptido homólogo con la ataxina-2 humana en *C. elegans* indican que la función de esta proteína está más relacionada con la traducción del ARNm que con su síntesis. Otros autores han sugerido que la ataxina-2 forma parte de un complejo que participa en la traducción a proteínas de algunos ARNm.

Según lo que estas evidencias indican, la ataxina-2 parece estar relacionada funcionalmente con el procesamiento de los ARNm, ya sea mediante la unión directa con estos o por medio de otras proteínas. Tales interacciones podrían tener significación para la traducción de los ARNm en proteínas, así como para garantizar su estabilidad y transporte.

Funcionamiento de las membranas citoplasmáticas

Entre las evidencias que apuntan hacia un posible papel de la ataxina-2 en las membranas citoplasmáticas, está su interacción con las endofilinas A1 y A3, las que participan en el proceso de endocitosis. Estudios previos realizados en *Drosophila* sugieren la participación de la ataxina-2, en el control de la formación de filamentos de actina, probablemente regulando la traducción, localización y estabilidad de los ARNm de las proteínas que participan de manera directa en la polimerización de esta.

Efectos neurotóxicos de la ataxina-2 mutada

Al igual que muchas proteínas con expansiones poliglutamínicas, la ataxina-2 mutada se agrega en forma de inclusiones. Como rasgo distintivo de esta enfermedad, estas se localizan fundamentalmente a nivel del citoplasma. Las inclusiones intranucleares ubiquitinadas solo se detectan en 1 a 2 % de las neuronas



pontinas de pacientes con SCA2, pero no en las células de Purkinje. En un paciente afectado con SCA2 se reportaron inclusiones intranucleares en las células gliales.

La acumulación de estas inclusiones en la célula desencadena diversos efectos que conducen a la muerte celular y por ende a la neurodegeneración. Entre los principales mecanismos neurotóxicos aparecen la activación de vías apoptóticas, alteraciones de la expresión génica, disregulación de mecanismos de neuroprotección, interferencia con el transporte axonal, ruptura de estructuras subcelulares como el complejo de Golgi, disfunción del proteosoma y afectación de la excitotoxicidad.

Hace poco se reportó una interacción entre la ataxina-2 normal y mutada con una proteína asociada con un fenotipo parkinsoniano de herencia autosómica recesiva. Esta proteína, denominada parkina, tiene función de ubiquitina-ligasa y parece modular el efecto neurotóxico de la ataxina-2 mutada.

Caracterización bioquímica de la Ataxia Espinocerebelosa Tipo 2

La caracterización bioquímica de la mayoría de las enfermedades aporta informaciones objetivas para la identificación y caracterización de los mecanismos patogénicos.

Las enfermedades neurodegenerativas se caracterizan por una disfunción de los mecanismos bioquímicos relacionados con la de neuroprotección, el balance oxidativo y la homeostasis del sistema nervioso.

Oligoelementos

Una de las principales características bioquímicas de la SCA2 es la disminución significativa de los niveles de cinc, cobre, hierro y magnesio en el suero y el líquido cefalorraquídeo de los pacientes, así como el aumento de los niveles de calcio.

Los bajos niveles de cinc se han relacionado con otras enfermedades neurodegenerativas, como es el caso de las enfermedades de Parkinson y Alzheimer, y la esclerosis múltiple.

Este oligoelemento reviste gran importancia para el mantenimiento de la homeostasis y desempeña diversos papeles en el funcionamiento correcto del sistema nervioso. Una de las funciones más conocidas es la modulación de la neurotransmisión glutamatérgica. En tal sentido, se conoce que cuando estos iones se unen a los receptores N-metil-D-aspartato (NMDA) impiden la interacción de estos últimos con las moléculas de glutamato, lo que detiene las señales de excitación nerviosa enviadas a las neuronas. Teniendo esto en



cuenta, la disminución de los niveles normales de cinc podría alterar la regulación de la neurotransmisión glutamatérgica, activando mecanismos que conducen a la excitotoxicidad. Otros autores asocian el cinc con los fenómenos de plasticidad neuronal y los procesos de aprendizaje y memoria.

El cinc es un importante cofactor de numerosas enzimas. Unas de las de mayor importancia en el proceso patológico de la SCA2 son las proteínas, miembros de la familia de las endopeptidasas cinc dependientes, las que en condiciones normales deben participar en la degradación de la proteína mutada, pero su función se debe comprometer ante la deficiencia de cinc.

El hierro es otro cofactor esencial de muchas enzimas en el Sistema Nervioso Central, como el caso de la tirosina hidroxilasa. Esta participa en la síntesis de un neurotransmisor muy importante como la dopamina. De manera interesante, entre los sitios del Sistema Nervioso Central que concentran grandes cantidades de hierro aparecen dos estructuras sometidas al proceso neurodegenerativo de la SCA2: la sustancia nigra y el *locus coeruleus*, lo que puede influir en la reducción de los niveles normales de este oligoelemento en el Sistema Nervioso Central.

El cerebro es uno de los órganos del cuerpo humano con mayores concentraciones de cobre; este mineral participa en importantes procesos que permiten el correcto funcionamiento del Sistema Nervioso Central. Tal es el caso de la formación y compactación de las vainas de mielina que rodean los axones de numerosas fibras nerviosas. Esto podría estar asociado con los signos desmielinizantes que muestran los pacientes con SCA2.

La disminución de los niveles de cinc, hierro y cobre en el líquido cefalorraquídeo y el suero de sujetos enfermos con SCA2 puede tener relación con la alteración genética que provoca la enfermedad. La ataxina-2 mutada y agregada en forma de inclusiones podría atrapar estos metales divalentes, formando complejos de poca solubilidad y limitando su utilización en los procesos fisiológicos donde estos se requieren.

Neuroprotección

Se refiere al conjunto de mecanismos destinados a prevenir o limitar los daños al tejido cerebral provocados por diversos factores etiológicos. Entre los principales mecanismos protectores del Sistema Nervioso Central se incluyen los que están mediados por la Eritropoyetina humana (EPO).

Esta molécula fue identificada en 1994, primero como un factor de crecimiento hematopoyético, su circulación es importante para el control de la oxigenación de los tejidos, por medio de la regulación de la eritropoyesis.

Las acciones protectoras de la EPO en el Sistema Nervioso Central se basan en la activación de mecanismos antiapoptóticos, antioxidantes,



neurotróficos y angiogénicos. En los pacientes con SCA2 existe una disminución de los niveles de EPO en el líquido cefalorraquídeo, lo que sugiere una disfunción de estos mecanismos neuroprotectores.

Balance oxidativo

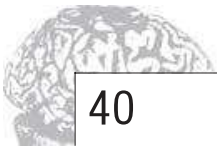
Las enfermedades neurodegenerativas se asocian, con frecuencia, a fenómenos relacionados con el estrés oxidativo y a la neurotoxicidad. Numerosas evidencias indican que estos fenómenos pueden desempeñar un importante papel en la muerte neuronal observada en regiones específicas del cerebro de pacientes afectados por las enfermedades de Alzheimer, Parkinson, Corea de Huntington y algunas ataxias hereditarias como la Ataxia de Friedreich.

En los enfermos con SCA2 existe un incremento significativo en los niveles de Malonil-Di-Aldehído (MDA) y de Glutación reducido (GSH), en el suero y el líquido cefalorraquídeo de los pacientes con SCA2. Esto refleja un bajo nivel en la capacidad de defensa de los sujetos ante los metabolitos tóxicos, lo que favorece la ocurrencia de fenómenos asociados al estrés oxidativo.

El estudio de la actividad antioxidante endógena en sujetos enfermos de SCA2 ha demostrado una disminución significativa en la actividad funcional de las enzimas glutatión S-transferasa (GST), Superóxido-Dismutasa (SOD) y Catalasa (CAT). Estas proteínas desempeñan un papel muy importante en la actividad antioxidante de las células. La primera cataliza las reacciones de neutralización de varias moléculas oxidadas, al mediar su interacción con las moléculas de GSH. La SOD lleva a cabo la conversión catalítica del ión superóxido (O_2^-) en peróxido de hidrógeno (H_2O_2), mientras que la CAT convierte esta última molécula tóxica en H_2O .

En un reporte reciente se comprobó que los pacientes con SCA2 cubana muestran, además, una reducción significativa en su capacidad antioxidante no enzimática. Estos resultados fundamentan la aplicación de terapias antioxidantes para la modulación y tratamiento de la SCA2, así como la promoción de hábitos sanos en estos pacientes y los portadores asintomáticos.

Hasta el momento, no se ha estudiado con profundidad la posible contribución del sistema inmunológico al fenotipo clínico de la SCA2. Recientemente, se ha identificado la prevalencia de anticuerpos antigliadina en el suero de varios sujetos enfermos, aunque su efecto sobre el síndrome clínico merece ser aclarado.



Caracterización neuropatológica de la Ataxia Espinocerebelosa Tipo 2

El principal marcador neuropatológico de la SCA2 es la atrofia olivopotocerebelosa temprana, que se acompaña con degeneración de las vías somatosensoriales, el tálamo, la sustancia nigra, el puente, el lóbulo frontal, la médula oblonga, los nervios craneales, y los cuernos anteriores de la médula espinal, así como una palidez de la sustancia nigra del mesencéfalo, donde se ha reportado una pérdida superior a 70 % de las neuronas. Desde el punto de vista neuropatológico, los hallazgos indican que la SCA2 representa la forma más grave de las ataxias hereditarias.

Cerebelo

El examen macroscópico de autopsias muestra una significativa atrofia del cerebelo, con reducción de su peso. Los análisis microscópicos muestran una pérdida temprana y significativa de las neuronas de Purkinje a lo largo de ambos hemisferios y el vermis, pero fundamentalmente en la corteza del paleo y neocerebelo. Se aprecia también una disminución del árbol dendrítico, especialmente en las ramas distales, así como formaciones en forma de torpedo y pobre densidad en las fibras de los pedúnculos cerebelosos medios e inferiores.

En estadios más avanzados de la enfermedad, se produce la disminución de las neuronas de la capa granulosa en la corteza del cerebelo y del núcleo dentado. En un reporte reciente se comprobó que el proceso degenerativo se extiende también de forma pronunciada al flóculo cerebeloso.

Tallo cerebral

En el tallo cerebral, se identificó la disminución del volumen y del peso. Se observó además la pérdida de fibras pontinas del pedúnculo cerebeloso medio, y una marcada disminución de las neuronas de la oliva inferior. El proceso degenerativo del tallo cerebral en pacientes con SCA2 también se caracteriza por la reducción de las fibras olivocerebelosas, las neuronas pontinas, los núcleos precerebelares del tallo. La neurodegeneración afecta además, el *locus coeruleus*, las motoneuronas de núcleos craneales y las cervicales.

Tálamo

Otro hallazgo anatomopatológico de gran relevancia es la degeneración de núcleos talámicos. Entre estos sobresalen el núcleo ventral anterior, ventral



lateral, ventral lateral posterior y ventral medial posterior, así como el núcleo reticular y el cuerpo geniculado posterior.

Médula espinal

La médula espinal muestra una desmielinización severa de los cordones posteriores y moderada en los haces espinocerebelosos dorsales. Además, se observa una disminución de las motoneuronas del asta anterior y de las columnas de Clarke, así como desmielinización parcial de las raíces anteriores y posteriores y de las fibras intraganglionares. De igual manera se identificó una disminución moderada de las neuronas sensitivas a nivel de las columnas dorsales, más pronunciada en los núcleos de Goll que en los de Burdach.

DIAGNÓSTICO SEMIOLÓGICO

Diagnóstico positivo

Antecedentes

Para el diagnóstico positivo de la SCA2 se deben precisar los antecedentes familiares, con el objetivo de conocer si existen otros miembros afectados y de esta manera confeccionar el árbol genealógico. Este permitirá identificar la presencia de enfermos en todas las generaciones, lo que es típico del patrón de herencia autosómico dominante. Es preciso definir la edad de inicio de los enfermos, teniendo en cuenta que para esta afección se estima una edad promedio en la tercera década de la vida. Existen pacientes en los que no se pueden definir antecedentes familiares de la enfermedad, lo que pudiera estar en relación con mutaciones de novo y falsa paternidad, entre otras.

Cuadro clínico

El síntoma inicial más frecuente es la dificultad para la marcha en 94,28 % de los enfermos, mientras que en 5,72 % es la de hablar y la incoordinación de los movimientos alternativos de los miembros superiores.

Las manifestaciones clínicas más frecuentes son la ataxia de la marcha, disartria cerebelosa, dismetría, adiadococinesia, trastornos de los reflejos osteotendinosos dados por hiporreflexia o arreflexia de las cuatro extremidades y movimientos oculares sacádicos enlentecidos. Las alteraciones de la expresión facial se caracterizan por pérdida de la grasa periorbitaria, exageración de la hendidura palpebral, atrofia de los músculos faciales y pronunciamiento de los relieves óseos. Estas alteraciones muestran una facie característica,



conocida como facie de asombro. Otra manifestación clínica frecuente son las contracturas musculares dolorosas de las extremidades inferiores.

Las manifestaciones clínicas menos frecuentes son los trastornos de la sensibilidad profunda, la disfagia intermitente, fundamentalmente para los líquidos, fasciculaciones de las extremidades y la cara, y el temblor postural de miembros o cabeza. Otros pacientes muestran manifestaciones de tipo parkinsonianas. En los pacientes de estadios avanzados existen síntomas de tipo disautonómicos caracterizados por alteraciones vasomotoras, de la regulación de apetito y del peso corporal. También, las alteraciones cognitivas dadas por alteraciones frontoejecutivas, de la atención, memoria y concentración se evidencian en más de 80 % de los enfermos. Los trastornos del sueño más frecuentes son los del movimiento, como síndrome de piernas inquietas, contracturas musculares dolorosas y movimientos periódicos de las extremidades. Hacia los estadios finales, la queja más frecuente es el insomnio.

Exámenes complementarios

El diagnóstico de certeza se obtiene mediante los estudios moleculares que permiten identificar y cuantificar el tamaño de la expansión poliglutamínica. La identificación de la mutación se realiza por medio de electroforesis horizontal en geles de poliacrilamida, en los que se aplica la muestra del Ácido desoxirribonucleico (ADN), aislado de la sangre periférica, previamente amplificada mediante técnicas de reacción en cadena de la polimerasa (PCR), y se compara su movilidad electroforética con muestras patrones de ADN expandidos. Los tamaños de la expansión se determinan por electroforesis en gel de poliacrilamida polimerizables por luz ultravioleta (UV) en un secuenciador automático de genes. Los sujetos portadores de la mutación poseen tamaños de la expansión que oscilan entre 32 y 79 repeticiones.

Otros estudios que también se utilizan son la resonancia magnética nuclear, que evidencia la atrofia de estructuras como cerebelo y tallo cerebral (Fig. 5).

Los estudios neuroquímicos muestran una disminución de la actividad específica de la GST y un incremento de los niveles de MDA y de GSH, en suero y en líquido cefalorraquídeo. Estos resultados indican un bajo nivel de la capacidad de defensa ante el nivel tóxico y oxidativo. También se puede detectar una disminución significativa de los niveles de cobre, hierro y cinc en el suero y líquido cefalorraquídeo (LCR). Los estudios neurofisiológicos son muy importantes y permiten conocer la extensión del proceso degenerativo; entre estos, los de mayor importancia son los de conducción nerviosa periférica, la Electronistagmografía (ENG) y la polisomnografía. Los estudios de conducción evidencian una neuropatía periférica sensitiva de tipo axonal. La ENG muestra una significativa disminución de la velocidad sacádica en más de 98 % de los

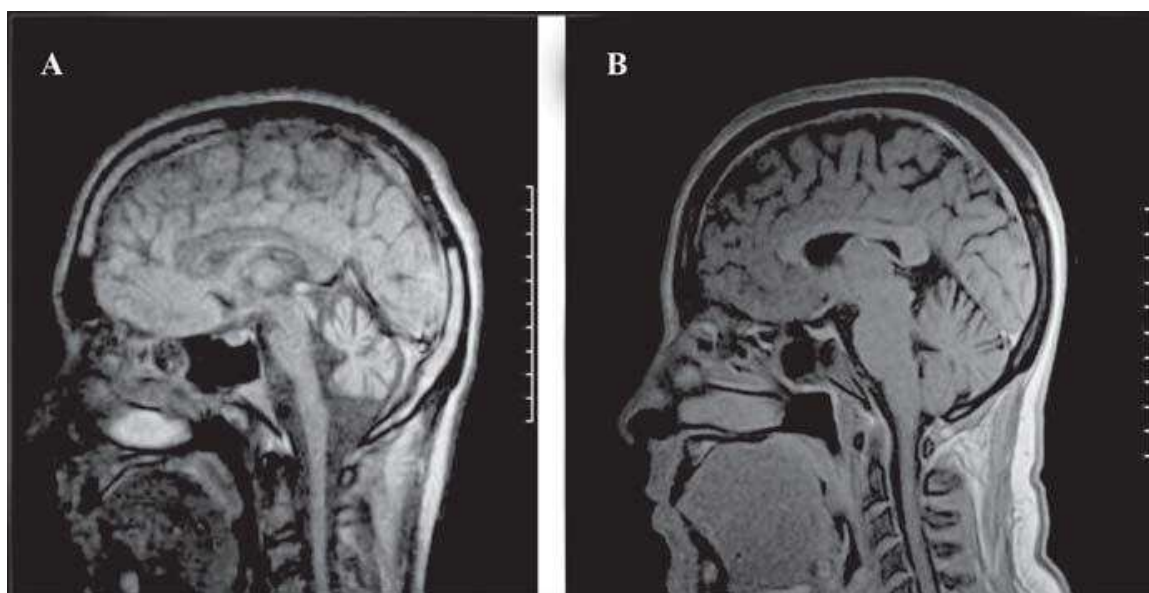


Fig. 5. RMN de un paciente con SCA2 (edad 40 años; tiempo de evolución, 8 años; CAG, 39 unidades; SARA store, 19 (A); y un sujeto control [edad 40 años (B)]. Observe la severa atrofia del cerebelo y el tallo cerebral en el paciente.

enfermos. Los estudios de sueño permiten identificar la presencia de movimientos periódicos de las extremidades y una importante reducción del sueño REM. Las principales alteraciones de estos estudios aparecen descritos en los capítulos siguientes, dada la importancia de ellos en el diagnóstico de esta enfermedad.

Diagnóstico diferencial

Se debe establecer con el resto de las afecciones que forman el grupo de las llamadas enfermedades por expansiones poliglutámicas:

1. Ataxia Espinocerebelosa Tipo 1 (SCA1).
2. Ataxia Espinocerebelosa Tipo 3 (SCA3).
3. Ataxia Espinocerebelosa Tipo 6 (SCA6).
4. Ataxia Espinocerebelosa Tipo 7 (SCA7).
5. Ataxia Espinocerebelosa Tipo 17 (SCA17).
6. Corea de Huntington.

EVOLUCIÓN Y PRONÓSTICO

El curso de la SCA2 es inexorablemente progresivo hasta la invalidez total y el fallecimiento. La evolución y el pronóstico son variables y dependen de la edad de inicio de la enfermedad. En los estadios iniciales, los pacientes pre-



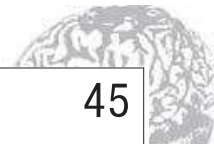
sentan trastornos ligeros de la marcha, pueden desempeñar, de forma independiente, las actividades básicas e instrumentadas de la vida diaria. Con el transcurso del tiempo, la enfermedad progresa y los pacientes necesitan de apoyo externo para caminar. Comienzan a utilizar bastones o andadores. En esta etapa, tienen dependencia parcial de otras personas para la ejecución de algunas de las actividades básicas de la vida diaria. Posteriormente, no logran trasladarse, son dependientes para realizar todas las actividades de la vida diaria y están confinados en una cama o silla de ruedas.

En los pacientes donde la enfermedad se inicia antes de los 15 años de edad, esta dura aproximadamente 11 años, mientras que en los que debutan después de los 15 años puede superar los 20 años y, en casos aislados, ha durado hasta de 40 años. Los estadios finales de la enfermedad son muy dramáticos debido a que se afecta, notablemente, la deglución, la fonación, el sueño y las funciones autonómicas. Muchos enfermos fallecen por cuadros de broncoaspiración y sepsis respiratorias u otras enfermedades intercurrentes en un estado de delgadez e inmunodepresión importante.

TRATAMIENTO

Hasta este momento, no se cuenta con un tratamiento efectivo que detenga o bloquee la degeneración de la SCA2, aunque se están realizando numerosos esfuerzos encaminados a la identificación de blancos terapéuticos y las consiguientes estrategias de intervención. Sin embargo, se conoce que 60 % de la variabilidad de la edad de inicio y de la expresión clínica de la SCA2 depende de la mutación; el resto, 40 %, se relaciona posiblemente con factores modificadores que aceleran la progresión de la enfermedad, como el daño oxidativo, el deterioro de los mecanismos neuroprotectores, déficit de oligoelementos, etc. Unido a la anterior se ha identificado la presencia de otras manifestaciones de la enfermedad que se pueden atenuar o modificar con estrategias medicamentosas, como la neuropatía periférica, la presencia de Movimientos Periódicos de las Extremidades (MPE) y las contracturas musculares dolorosas. Por tanto, los ensayos clínicos en la SCA2 se encaminan a mantener los pilares siguientes:

1. Rehabilitación física y cognitiva.
2. Suplementación con sulfato de cinc.
3. Antioxidantes.
4. Neuroprotectores.
5. Agonistas dopaminérgicos para contrarrestar los MPE.
6. Megadosis de vitaminoterapia.



Rehabilitación neurológica

Está demostrado que la rehabilitación constituye la única alternativa de tratamiento para los pacientes con afecciones neurodegenerativas, como la SCA2. En los enfermos va dirigida a mejorar dos aspectos básicos:

1. Las manifestaciones clínicas del síndrome cerebeloso.
2. Las funciones cognitivas.

Para evaluar el efecto de la rehabilitación neurológica sobre estos dos aspectos se investigaron 200 enfermos cubanos, durante tres meses, con diagnóstico clínico y molecular de SCA2. Todos se evaluaron en dos ocasiones, antes del tratamiento o estudio basal y a los tres meses. Se demostró que 68 % de estos mejoraron algún parámetro clínico relacionado con la enfermedad. La escala para la estimación de la ataxia (SARA; en inglés, *Scale for the Assessment and Rating of Ataxia*) evidenció que al final del tratamiento se logra una mejoría significativa de la coordinación, el equilibrio y la marcha.

Los estudios estabilométricos demostraron una significativa reducción del índice de Romberg (Área), después de tres meses de rehabilitación, en comparación con el estudio basal, lo que sugiere una mejoría de la estabilidad postural y la coordinación (Fig. 6).

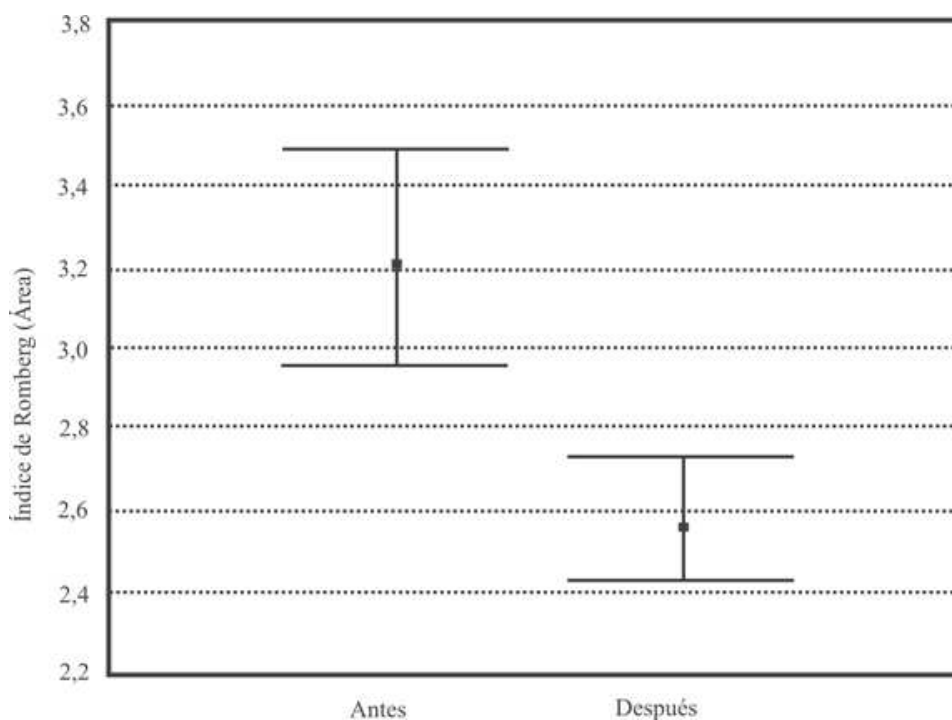
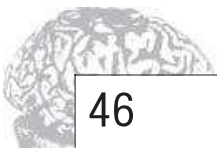


Fig. 6. Comparación de medias del índice de Romberg (área) antes del tratamiento (basal) y a los tres meses posterior a este. Se observa la disminución significativa al finalizar la rehabilitación ($p=0,001$).



Las alteraciones cognitivas están presentes en más de 90 % de los pacientes. La rehabilitación de esas funciones mejora, significativamente, la atención, concentración, memoria y las funciones ejecutivas. Para la evaluación se utilizó la latencia de los movimientos sacádicos. Esta variable disminuyó de manera significativa, en relación con el estudio basal, luego de tres meses de tratamiento (Fig. 7). Este hallazgo traduce dos resultados significativos, uno es la mejora de la cronometría sacádica, función regulada por el cerebelo; el otro es la recuperación parcial de la capacidad de reacción del enfermo ante el estímulo presentado, evento cognoscitivo regulado por estructuras corticales.

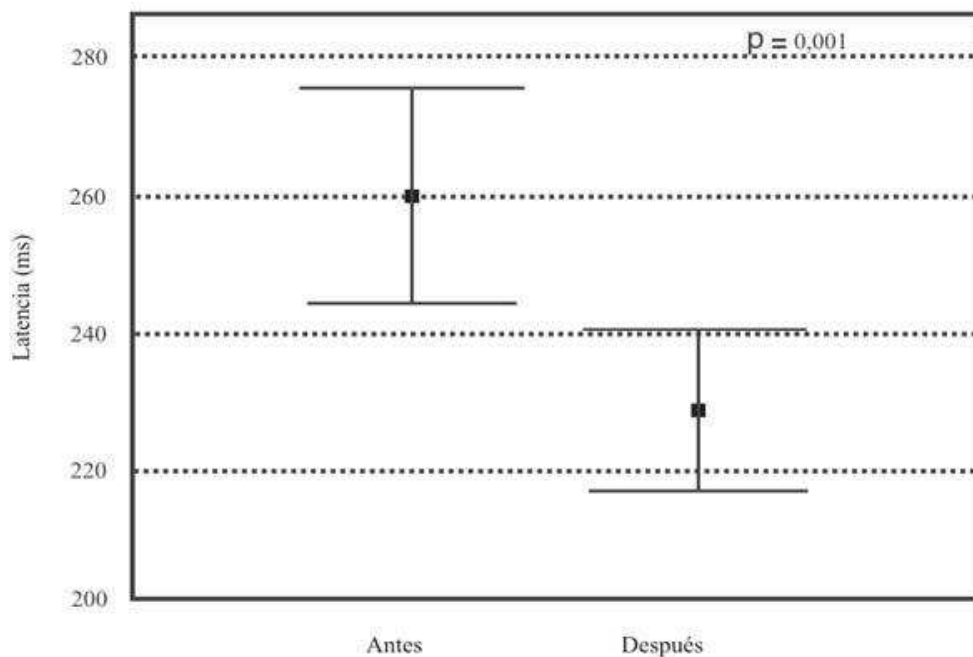


Fig. 7. Comparación de medias para la variable latencia sacádica antes del tratamiento (basal) y tres meses posteriores a este. Se observa la disminución significativa al finalizar la rehabilitación ($p = 0,023$).

Suplementación con sulfato de cinc

Otra de las estrategias de tratamiento se dirige a potencializar el efecto de la rehabilitación mediante la suplementación de cinc, el cual se encuentra disminuido en suero y el LCR en los pacientes con SCA2. Este oligoelemento desempeña importantes funciones neuromoduladoras a nivel del cerebelo. En varios estudios de marcaje para la localización del cinc en la corteza cerebelosa se ha encontrado su presencia, predominando en la capa de células granulosas, a nivel de la sinapsis que se forma en los glomérulos. El cincT-5 está comprometido en el transporte de cinc en las células granulosas y el cinc-T6 y 7 facilitan el movimiento del cinc dentro del aparato de Golgi.



En el cerebelo de los ratones, existen grandes niveles de los transportadores de cinc (cincT-1, 3, 4 y 6), fundamentalmente en las células gliales de Bergman, las que se localizan en la capa de células de Purkinje. Esto sugiere que estas células pueden desempeñar un papel importante en la homeostasis cerebelosa del cinc.

Por otra parte, participa en los procesos cognitivos del ser humano y también modula la actividad específica de los canales iónicos quimiosensibles. Estudios recientes indican que estos canales son inhibidos por bajos niveles de cinc, pero su actividad se restablece ante altas concentraciones de este oligoelemento; estos canales son importantes en procesos fisiológicos, como el aprendizaje y la memoria. La presencia de canales quimiosensibles en el cerebelo sugieren que bajo condiciones de pH ácido, como la hipercapnia, las neuronas cerebelosas pueden volverse más excitables y activarse los mecanismos de excitotoxicidad, los que pueden controlarse por la liberación de cinc bajo estas condiciones.

En un ensayo clínico fase II realizado en pacientes cubanos con SCA2, tratados con sulfato de cinc, se demostró la mejoría de la estabilidad postural, la adiadococinesia, el daño oxidativo a lípidos y la latencia de los movimientos sacádicos, como resultado del incremento significativo de los niveles de cinc en el suero y LCR.

Otra de las manifestaciones sintomáticas en esta enfermedad son los trastornos del movimiento durante el sueño que incluyen el síndrome de piernas inquietas y los movimientos periódicos de las extremidades debido a una disfunción de la transmisión dopaminérgica. Por tanto, se han utilizado agonistas dopaminérgicos para mejorar estas alteraciones.

Existen otras estrategias terapéuticas muy prometedoras, pero dada su complejidad se necesita de mayor tiempo para la aplicación directa en los seres humanos. Tal es el caso de la terapia génica y celular, así como el bloqueo de la agregación de proteínas mutadas.

Sin lugar a dudas, la mejor solución terapéutica para la SCA2 es la sustitución del gen defectuoso o su transcripto (ARNm), mediante terapia génica. Los resultados obtenidos en ensayos preclínicos con terapia de ARN-interferente en SCA1 y SCA3 han identificado una mejoría. Sin embargo, su aplicación en seres humanos se retardará hasta que sean evaluadas las pruebas de toxicidad apropiadas. El desarrollo de terapia con células madres en SCA2 tiene como principal obstáculo la extensión sistémica de la neurodegeneración. El bloqueo de la agregación poliglutamínica consiste en el empleo de fármacos inhibidores de la formación de inclusiones citoplasmáticas de ataxina-2, cuyo propósito es evitar el desencadenamiento de las cascadas patogénicas que conducen a la muerte neuronal y la degeneración.



Programa de diagnóstico predictivo

El programa para el diagnóstico predictivo de la Ataxia Espinocerebelosa Tipo 2, que se ofrece en el Centro para la Investigación y Rehabilitación de las Ataxias Hereditarias (CIRAH), es una experiencia única de su tipo en Cuba y en el resto del mundo. Se le brinda a personas y parejas con riesgo, desde febrero del año 2001. Su objetivo fundamental es el de informar a las personas con riesgo, la posibilidad de padecer o no la enfermedad y el diagnóstico precoz de esta en las primeras semanas de embarazo.

Beneficios

Con este programa se espera:

1. Diagnosticar precozmente la SCA2, en las primeras semanas del embarazo.
2. Disminuir la aparición de nuevos casos con SCA2 cada año.
3. Elevar la calidad de vida de las familias afectadas a nivel nacional.
4. Disminuir los costos de la atención médica y social en esta enfermedad.

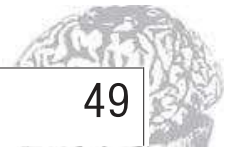
El diagnóstico presintomático permite conocer el *status* genético de una persona con riesgo de enfermar. Este se realiza a:

1. Los mayores de 18 años de edad que sean asintomáticos y tengan 50 % de riesgo *a priori*, siendo su progenitor un enfermo (o aún asintomático), en el caso de que este así lo apruebe.
2. Los hijos de un progenitor fallecido sin estudios moleculares, pero descendiente de una familia con diagnóstico molecular de la SCA2.

Este programa permite disminuir la ansiedad propia del desconocimiento, la preparación para enfrentar la enfermedad y determinar el riesgo de sus descendientes. En la experiencia cubana no se han presentado reacciones psicológicas severas.

El Diagnóstico prenatal (DPN) consiste en la realización de un conjunto de procedimientos y técnicas que tienen por objetivo evaluar si un determinado feto es portador de la mutación SCA2. Este ofrece a las parejas la oportunidad de tomar decisiones sobre su descendencia. Se realiza a las parejas que asisten de mutuo acuerdo, y en las que se cumpla lo siguiente:

1. Que uno de los miembros de la pareja sea enfermo de ataxia SCA2, demostrado por estudios moleculares.

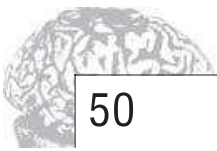


2. Que uno de los miembros sea un presintomático de SCA2, demostrado por el estudio molecular.

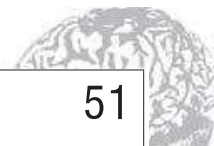
En el Centro de Ataxias se han inscrito 943 descendientes con riesgo, procedentes de todo el país. Se han concluido 645 casos, de estos 475 negativos y 170 positivos. El diagnóstico prenatal se ha solicitado por más de 200 parejas; han tenido criterios de inclusión en el programa, 48, de estos 27 negativos y 21 positivos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AFFAITATI, A., T. DE CRISTOFARO, A. FELICIELLO AND S. VARRONE (2001): "Identification of alternative splicing of spinocerebellar ataxia type 2 gene", *Gene*. 267: 89-93.
- AGUIAR, J. *et al.* (2006): "Ubiquitous expression of human SCA2 gene under the regulation of the SCA2 self promoter cause specific Purkinje cell degeneration in transgenic mice", *Neurosci. Lett.* 392: 202-206.
- ALBRECHT, M., M. GOLATTA, U. WULLNER AND T. LENGAUER (2004): "Structural and functional analysis of ataxin-2 and ataxin-3", *Eur. J. Biochem.* 271: 3155-3170.
- ALMAGUER, D. Y OTROS (2006): "Estrés oxidativo y muerte neuronal: una visión biomolecular", *Rev. Mex. Neuroci* 7(4):330-337.
- ALMAGUER, L., D. ALMAGUER, Y. GONZÁLES, E. MARTINEZ Y P. VALCÁRCEL (2005): "Capacidad antioxidante total de en pacientes cubanos con ataxia Espinocerebelosa tipo 2", *Rev. Mex. Neuroci.* 6(3): 201-206.
- ALMAGUER MEDEROS, L. E. Y OTROS (2006): "Estudio preliminar de la prevalencia de anticuerpos anti gliadina en pacientes cubanos con ataxia espinocerebelosa tipo 2", *Rev. Mex. Neuroci.* 7(1): 76-79.
- BRAVO, J., L. AGUIAR-HENONIN, G. OLMEDO AND P. (2005): "Four distinct classes of proteins as interaction partners of the PABC domain of Arabidopsis thaliana Poly(A)-binding proteins", *Mol. Genet. Genomics.* 272: 651-665.
- CANNELLA, M. *et al.* (2001): "Presymptomatic tests in Huntington's disease and dominant ataxias", *J. Neurol. Sci.* 22: 1590-3478.
- CIOSK, R., M. DEPALMA AND J. R. PRIESS (2004): "ATX-2, the C. elegans ortholog of ataxin 2, functions in translational regulation in the germline", *Development* 131: 4831-41.
- CHU, X. P. *et al.* (2004): "Subunit-dependent high affinity zinc inhibition of acid sensing ion channels", *J. Neurosci.* 24:8678-8689.
- DECRUYENAERE, M. *et al.* (2004): "Predictive testing for Huntington's disease: relationship with partners after testing", *Clin. Genet.* 65:24-31.
- EMERIT, J., M. EDEAS AND F. BRICAIRE (2004): "Neurodegenerative diseases and oxidative esters", *Biomed. Pharmacother* 58(1):39-46.
- ESTRADA, R. *et al.* (1999): "Spinocerebellar ataxia 2 (SCA2): morphometric analyses in 11 autopsies characterize it as an olivo-ponto-cerebellar atrophy (OPCA) plus", *Act. Neuropathol.* 97:306-310.
- FURTADO, S. *et al.* (2002): "SCA-2 presenting as parkinsonism in an Alberta family: clinical, genetic and PET findings", *Neurology*, 59: 1625-1627.
- GEKHT, B. M. (1961): "Content of copper in brain tissue under normal conditions and in some diseases of the nervous system", *Bull. Experim. Biol. Med.* 51 (2): 174-178.
- GIERGA, K. *et al.* (2005): "Involvement of the cranial nerves and their nuclei in spinocerebellar ataxia type (SCA2)", *Act. Neuropathol.* 109: 617-631.



- GUNAWARDENA, S. AND L. S. GOLDSTEIN (2005): "Polyglutamine diseases and transport problems: deadly traffic jams on neuronal highways", *Arch. Neurol.* 62(1):46-51.
- HARRIS-LOVE, M. O., K. L. SIEGEL, S. M. PAUL AND K. BENSON (2004): "Rehabilitation management of Friedreich ataxia: lower extremity force-control variability and gait performance", *Neurorehabil. Neural. Repair.* 18(2):117-124
- HAUNG, L., C. P. KIRSCHKE AND J. GITSCHIER (2002): "Functional characterization of a novel mammalian zinc transporter ZnT6", *J. Biol. Chem.* 277:26389-26395.
- HAYES, S. *et al.* (2000): "CAG repeat length in RAI1 is associated with age at onset variability in spinocerebellar ataxia type 2 (SCA2)", *Hum. Mol. Genet.* 9(12):1753-1758.
- HOROWITZ, M. J. *et al.* (2001): "Psychological impact of news of genetic risk for Huntington disease", *Am. J. Med. Genet.* 103(3): 188-192.
- HUYNH, D. P., M. R. DEL BIGIO, D. H. HO AND S. M. PULST (1999): "Expression of ataxin-2 in brains from normal individuals and patients with Alzheimer's disease and spinocerebellar ataxia 2", *Ann. Neurol.* 45: 232-241.
- HUYNH, D. P. *et al.* (2007): "Parkin is an E3 ubiquitin-ligase for normal and mutant ataxin-2 and prevents ataxin-2-induced cell death", *Exp. Neurol.* 203(2):531-541.
- (2003): "Expansion of the polyQ repeat in ataxin-2 alters its Golgi localization, disrupts the Golgi complex and causes cell death", *Hum. Mol. Genet.* 12: 1485-1496.
- IMBERT, G. *et al.* (1996): "Cloning of the gene for spinocerebellar ataxia 2 reveals a locus with high sensitivity to expanded CAG/ glutamine repeats", *Nature Genet.* 14: 285-291.
- KAMBE, T. *et al.* (2002): "Cloning and characterisation of a novel mammalian zinc transporter, zinc transporter 5, abundantly expressed in pancreatic beta cells", *J. Biol. Chem.* 277:19049-19055.
- KIRSCHKE, C. P. AND L. HAUNG (2002): "ZnT7, a novel mammalian zinc transporter accumulates zinc in the Golgi apparatus", *J. Biol. Chem.* 278:4096-4102.
- KOEPPEN, A. (2005): "The pathogenesis of spinocerebellar ataxias (SCAs)", *Cerebellum.* 4: 62-73.
- KOYANO, S., K. *et al.* (2002): "Paradoxical absence of nuclear inclusion in cerebellar Purkinje cells of hereditary ataxias linked to CAG expansion", *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry,* 73:450-452.
- LIEVENS, J. C. *et al.* (2005): "Expanded polyglutamine peptides disrupt EGF receptor signaling and glutamate transporter expression in *Drosophila*", *Hum. Mol. Genet.* 14(5):713-724.
- LIPINSKI, M. M. AND J. YUAN (2004): "Mechanisms of cell death in polyglutamine expansion diseases. Current Opin", *Pharmacol.* 4:85-90.
- MATILLA, A., R. GOOLD AND P. GIUNTI (2006): "Molecular pathogenesis of spinocerebellar ataxias", *Brain* 129: 1357-1370
- MORFINI, G., G. PIGINO AND S. T. BRADY (2005): "Polyglutamine expansion diseases: failing to deliver", *Trends Mol Med.* 11(2):64-70.
- NECHIPORUK, T. *et al.* (1998): "The mouse SCA2 gene: cDNA sequence, alternative splicing and protein expression", *Hum. Mol. Genet.* 7: 1301-1309.
- NONHOFF, U. *et al.* (2007): "Ataxin-2 Interacts with the DEAD/H-Box RNA Helicase DDX6 and Interferes with P-Bodies and Stress Granules", *Mol. Biol. Cell.* 18(4):1385-1396.
- OROZCO, G., A. NODARSE, R. CORDOVÉS AURBURGER AND R. ESTRADA (1989): "Study of 225 patients with autosomal dominant cerebellar ataxia: Presumed founder effect in the province Holguin, Cuba", *Hereditary Ataxias* (J. Plaitakis, ed.), pp. 345-60, Springer-Verlag, Berlin.
- PANEQUE, H. M. *et al.* (2007): "Psychological Aspects of Presymptomatic Diagnosis of Spinocerebellar Ataxia Type 2 in Cuba", *Commun Genet.* 10:132-139.
- (2009): "Role of the Disease in the Psychological Impact of Pre-Symptomatic Testing for SCA2 and FAPATTRV30M: Experience with the Disease, Kinship and Gender of the Transmitting Parent", *J. Gen Couns.* 18(5):483-493.
- PANG, J. T. *et al.* (2002): *Neuronal intranuclear inclusions in SCA2: a genetic, morphological and immunohistochemical study of two cases*, 125:656-663.
- PAULSON, H. L., N. BONINI AND K. A. ROTH (2000): "Polyglutamine disease and neuronal cell death", *Proc. Natl. Acad. Sci.* 97(24):12957-12958.



- PÉREZ-ÁVILA, I. Y OTROS (2004): “Efectos de un programa de ejercicios físicos sobre variables neurológicas cuantitativas en pacientes con ataxia espinocerebelosa tipo 2 en estadio leve.”, *Rev. Neurol.* 39: 907-910.
- PULST, M. S. *et al.* (1996): “Moderate expansion of a normally biallelic trinucleotide repeat in spinocerebellar ataxia type 2”, *Nature Genet.* 14: 269-276.
- (2005): “Spinocerebellar Ataxia type 2: PolyQ Repeat Variation in the CACNA1A Channel Modifies Age Onset.”, *Brain* 128: 2297-2303.
- RALSER, M. *et al.* (2005): “An integrative approach to gain insights into the cellular function of human ataxin-2”, *J. Mol. Biol.* 346: 203-214.
- RUB U. *et al.* (2003): “Thalamic involvement in a spinocerebellar ataxia type 2 (SCA2) and spinocerebellar type 3 (SCA3) patient and its clinical relevance”, *Brain* 126:1–16.
- (2005): “Extended pathoanatomical studies point to a consistent affection of the thalamus in spinocerebellar ataxia type 2”, *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* 31:127–140.
- (2005): “Spinocerebellar ataxias types 2 and 3: degeneration of the precerebellar nuclei isolates the three phylogenetically defined regions of the cerebellum”, *J. Neural. Transm.* 112: 1523-1545.
- (2006): “Degeneration of ingestion-related brainstem nuclei in spinocerebellar ataxia type 2, 3, 6 and 7”, *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* 32: 635-349.
- (2006): “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.*
- SAHBA, S. *et al.* (1998): “Genomic structure of the human gene for spinocerebellar ataxia type 2 (SCA2) on chromosome 12q24.1”, *Genomics*, 47: 359-364.
- SAITO, T. *et al.* (2006): “Zinc-Induced Excessive Glutamate Release may Cause Accelerated Senescence with Defect in Learning and Memory in Senescence Accelerated Mouse” in Y. Hosokawa (ed.), *Trace Elements in Man and Animals*, pp. 429-432, Springer, New York.
- SANPEI, K. *et al.* (1996): “Identification of the spinocerebellar ataxia type 2 gene using a direct identification of repeat expansion and cloning technique, DIRECT”, *Nature Genet.* 14: 277-284.
- SATTERFIELD, T. F. AND L. J. PALLANCK (2006): “Ataxin-2 and its Drosophila homolog, ATX2, physically assemble with polyribosomes”, *Hum. Mol. Genet.* 15: 2523-2532.
- SCHÖLS, L. *et al.* (2004): “Autosomal dominant cerebellar ataxias: clinical features, genetics, and pathogenesis”, *Lancet* 3: 291-304.
- SHIBATA, H., D. P. HUYNH AND S. M. PULST (2000): “A novel protein with RNA-binding motifs interacts with ataxin-2”, *Hum. Mol. Genet.* 9: 1303-1313.
- SIMON, D. K. *et al.* (2006): “Mitochondrial complex I gene variant associated with early age of onset in SCA2”, *Arch. Neurol.* [En prensa].
- SOTO, C. (2003): “Unfolding the role of protein misfolding in neurodegenerative diseases”, *Nat. Rev. Neurosci.* 4(1):49-60.
- TAKEDA, A., M. HIRATE, H. TAMANO AND N. OKU (2003): “Release of glutamate and GABA in the hippocampus under Zn deficiency”, *J. Neurosci Res.* 72(4): 534-542.
- VALLÉS, L., G. L. ESTRADA Y S. L. BASTECHEEREA (1978): “Algunas formas de heredoataxia en una región de Cuba”, *Rev. Neurol.* 27:163-176.
- VELÁZQUEZ, L. Y OTROS (2001): “Las ataxias hereditarias en Cuba. Aspectos históricos, epidemiológicos, clínicos, electrofisiológicos y de neurología cuantitativa”, *Rev. Neurol.* 32:71-76.
- VELÁZQUEZ PÉREZ, L., Y OTROS (2005): “Evaluación de parámetros clínicos, neurofisiológicos y neuroquímicos en pacientes con SCA2 antes y después de la neurorrehabilitación”, *Plast & Rest. Neurol.* 4(12): 110.
- (2002): “Neuroepidemiología de las ataxias hereditarias en Cuba”, *Rev. Cub. Farmacia* 36(2):30-32.
- (2011): “A Comprehensive Review of Spinocerebellar Ataxia Type 2 in Cuba”, *Cerebellum.*, 10:184–198.



- (2011): “A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial”, *Neurochem Res.* [In press].
- (2011): “Sleep Disorders in Spinocerebellar Ataxia Type 2 Patients”, *Neurodegenerative Dis.* 8(6):447-454.
- WALL, M. J. (2005): “A role for zinc in cerebellar synaptic transmission?”, *Cerebellum.* 4: 224-229.
- WANG, Z. Y. *et al.* (2005): “Abundant expression of zinc transporters in Bergman glia of mouse cerebellum”, *Brain Res. Bull.* 64:441–448.
- YING, S. H. *et al.* (2005): “Relative Atroph of the Flocculus and Ocular Motor Dysfunction in SCA2 and SCA6”, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1039: 430-435.
- ZECCI, L., M. YODIM, P. RIEDERER AND J. R. CONNOR (2004): “Crichton RR. Iron, brain ageing and Neurodegenerative disorders”, *Nat. Rev. Neurosci.* 5: 863-873.
- ZOGHBI, H. AND H. T. ORR (2000): “Glutamine repeats and Neurodegeneration”, *Annu Rev. Neurosci.* 23:217-247.

A Comprehensive Review of Spinocerebellar Ataxia Type 2 in Cuba

Luis Velázquez-Pérez · Roberto Rodríguez-Labrada · Julio Cesar García-Rodríguez · Luis Enrique Almaguer-Mederos · Tania Cruz-Mariño · José Miguel Laffita-Mesa

Published online: 12 March 2011
© Springer Science+Business Media, LLC 2011

Abstract Spinocerebellar ataxia type 2 (SCA2) is an autosomal dominant cerebellar ataxia characterized by a progressive cerebellar syndrome associated to saccadic slowing, peripheral neuropathy, cognitive disorders, and other multisystem features. SCA2 is caused by the abnormal expansion of cytosine–adenine–guanine triplet repeats in the encoding region of the *ATXN2* gene and therefore the expression of toxic polyglutamine expansions in the ataxin 2 protein, which cause progressive neuronal death of Purkinje cells in the cerebellum and several pontine, mesencephalic, and thalamic neurons among other cells. Worldwide, SCA2 is the second most frequent type of spinocerebellar ataxia, only surpassed by SCA3. Nevertheless, in Holguin, Cuba, the disease reaches the highest prevalence, resulting from a putative foundational effect. This review discusses the most important advances in the genotypical and phenotypical studies of SCA2, highlighting the comprehensive characterization reached in Cuba through clinical, neuroepidemiological, neurochemical, and neurophysiological evaluation of SCA2 patients and pre-symptomatic subjects, which has allowed the identification of new disease biomarkers and therapeutical opportunities. These findings provide guidelines, from a Cuban viewpoint, for the clinical management of the disease, its diagnosis, genetic counseling, and therapeutical options

through rehabilitative therapy and/or pharmacological options.

Keywords Spinocerebellar ataxia · Cerebellar ataxia · Cerebellar syndrome

Introduction

The hereditary ataxias are a clinically, pathologically, and genetically heterogeneous group of neurodegenerative disorders caused by degeneration of cerebellum and its afferent and efferent connections, spinal cord, peripheral nerves, and the brainstem. The most common of these ataxias are the spinocerebellar ataxia (SCA) subtypes, seven of which (SCA1, SCA2, SCA3, SCA6, SCA7, SCA17, DRPLA) are caused by pathological cytosine–adenine–guanine (CAG) trinucleotide repeat expansion in the coding region on the mutated gene [1–3].

Among the almost 32 SCAs, SCA2 is the second most prevalent subtype worldwide, only surpassed by SCA3 [4]. The disorder was first recognized in India in 1971 by Wadia and Swami, who were intrigued by the early and marked slow saccade movements, associated with the cerebellar syndrome [5]. Twenty-five years later, the underlying mutation was discovered independently by three distinct laboratories in the USA, Japan, and France [6–8].

SCA2 is a relatively rare neurodegenerative disorder that reaches the highest world prevalence rate in Holguin province (Cuba) resulting from a putative founder effect [9]. Since the discovery of the disease to date, extensive research conducted on SCA2 in the fields of neuroepidemiology, population and molecular genetics, neurophysiology, pathological anatomy, neuroimaging, neuropsychology, and neuropsychiatry defined SCA2 as one of the best-known polyQ disease in the world.

L. Velázquez-Pérez (✉) · R. Rodríguez-Labrada · L. E. Almaguer-Mederos · T. Cruz-Mariño · J. M. Laffita-Mesa
Centro para la Investigación y Rehabilitación de Ataxias Hereditarias,
Carretera Central Km 5½ Reparto Edecio Pérez,
80100 Holguin, Cuba
e-mail: cirahsca2@cristal.hlg.sld.cu

J. C. García-Rodríguez
Centro para la Producción de Animales de Laboratorio,
Havana, Cuba

However, this knowledge has not been enough to prevent SCA2 from being an “orphaned of treatment” disease.

The goal of the present review is to gather the most relevant knowledge obtained in the SCA2 research, with emphasis on the Cuban contribution to the comprehension, diagnosis, clinical handling, and treatment of SCA2.

Historical Background of SCA2 Research in Cuba

The first observations about a noticeable increase of hereditary ataxias in the northeast region of Cuba were made by Prof. Rafael Estrada in 1965. In 1971, Valles et al. studied 526 patients with hereditary ataxia from the different eastern regions of the country and reported the highest prevalence in the world [10]. In 1998, the first neuroepidemiological study was carried out in the whole Holguin province by Velazquez and co-workers. This study identified 440 patients and 1,663 asymptomatic relatives [11]. Later, this study was expanded to all Cuban provinces in the first neuroepidemiological survey of hereditary ataxias in a whole country worldwide [8].

Orozco et al. [12] performed an extensive clinical evaluation of the disease which has become a necessary reference for subsequent work. In 1993, the locus 12q23-q24.1 was assigned to SCA2 by linkage analysis [13]. Further studies on 11 large pedigrees from Holguin refined the candidate region within the 6-cM interval between D12S84 and D12S79 and identified a common disease haplotype in all family ancestors, supporting an SCA2 founder effect in Holguin [14]. In 1996, the SCA2 gene was identified independently by three different groups [5–7]. In 2006, a transgenic mouse line was generated in Cuba, expressing the full-length human SCA2 gene (named *ATXN2*) with 75 reiterations of CAG trinucleotide repeats under the control of the human SCA2 promoter. It was expected that this line would allow future studies on the benefits of therapeutic molecules and the underlying neuropathological mechanisms in this human disorder [15].

Comprehensive programs for neuro-rehabilitation and for pre-symptomatic and prenatal testing of SCA2 were introduced since 1998 and 2001, respectively [16–18]. The work of the Centre for Research and Rehabilitation of Hereditary Ataxias has enabled a complete ascertaining of all families affected with SCAs in Cuba and the establishment of national guidelines to improve their clinical management and to provide genetic counseling and prenatal and pre-symptomatic testing. Following the Cuban experience in the clinical, molecular, neurophysiological, and neurochemical characterization, as well as in the management and prevention of these conditions, enormous advances have been made in understanding their pathological mechanism. This has led to the development of preclinical and clinical trials and could be expanded in international

collaborative studies to design new therapies and better palliative treatments.

Epidemiology of SCA2

The worldwide prevalence of SCAs is approximately five to seven cases per 100,000 people although the prevalence of particular SCA subtypes differs among various populations due to founder effects, such as the SCA3 in Portugal [19, 20] and SCA2 in Cuba [8, 12].

For SCA2, global prevalence is unknown because most of the few existing epidemiological studies have been performed in isolated geographical regions in families not large enough for linkage analysis. Large SCA2 families have been found in India, Martinique, Australia, Tunisia, Germany, Italy, Mexico, Poland, and especially in Cuba [8, 21–23].

A recent epidemiological survey performed in the whole Cuban population disclosed the existence of 578 SCA2 patients in 163 families and distributed in 11 of the 14 provinces, which represent 87% of patients with SCAs, giving a national prevalence rate of 6.57 cases per 10^5 inhabitants.

Furthermore, 7,173 asymptomatic at-risk individuals in the SCA2 families were identified, 3,083 of whom (42.98%) were first-degree relatives of affected individuals, accounting for a national prevalence of SCA2 mutation of approximately 28.51 cases per 10^5 inhabitants (Fig. 1). The highest concentration of SCA2 mutation was observed in the Holguin province with 1,893 SCA2 pre-symptomatic carriers and patients, representing 61.40% of all SCA2 mutations in Cuba and a prevalence of 182.75 per 10^5 inhabitants. Nevertheless, there are regions in this province where the prevalence reaches higher values, the highest being in Baguanos municipality (715.00 per 10^5 inhabitants) [8].

Despite the dissemination of Cuban families throughout the island, the SCA2 prevalence in Holguin is different from those of other regions in the country. Cultural and environmental processes have had long-lasting effects on allelic diversity, restricting mutations to selected populations [24]. The endogamous and closed cycle marriages of Holguin people living during the XVII century, in combination with putative restricted environmental factors, limited the SCA2 to this province [8]. A similar explanatory mechanism has been proposed for SCA3 founders in Azoreans [25].

Clinical Phenotype

All SCA2 patients exhibit a progressive cerebellar syndrome characterized by ataxic gait, cerebellar dysarthria, dysmetria, and dysdiadochokinesia. In addition, more than 90% of patients demonstrated slowing of saccadic eye movements and 88% had voluntary eye movements with reduced amplitude. In addition to cerebellar and oculomotor symptoms, the disease is characterized by hypoactive deep reflexes/



Fig. 1 Prevalence rate of SCA2 mutation in Cuba. Numbers outside parentheses represent the absolute number of SCA2 mutation carriers (SCA2 patients plus at-risk relatives), whereas the numbers inside parentheses are the prevalence rates (SCA2 mutation carriers per 100,000 inhabitants)

areflexia of the upper and lower limbs, defining the presence of associated peripheral neuropathy [8, 12]. Signs of motor neuron involvement such as fasciculations and amyotrophy are presented in 20% of the cases [26]. Patients also suffer from abnormal swallowing and autonomic abnormalities (urinary dysfunction, hypohydrosis, constipation, and sexual dysfunction) [8]. Additional SCA2 clinical features are sleep disturbances and cognitive disorders. In the first ones are included the restless legs syndrome [27–29], muscle cramps, and insomnia, whereas frontal-executive dysfunctions, verbal short-term memory deficits as well as reduction of attention and concentration stand out among the cognitive disorders. Patients with dementia are rare [30–33].

Patients with very large CAG expansions exhibit rare symptoms such as retinitis pigmentosa and myoclonus-epilepsy [34–36], whereas subjects with low-range CAG expansion may develop parkinsonian signs [37, 38].

SCA2 usually starts during adulthood, with a mean onset age of 33 years. The commonest first symptom of the disease is the gait ataxia (97%), followed by the cerebellar dysarthria (3%). Genetic anticipation of age at onset is observed in 80% of transmissions [8]. Clinical features develop progressively with an increase in cerebellar syndrome, saccade slowing, and other features which confine the patients first to a wheelchair and following to a bed, where they die approximately 15–20 years after the initial symptoms. The CAG repeat length and female gender are associated with shortened survival [39]. The main death causes of SCA2 patients is bronchi-pneumonia (63%), followed by bronchi-aspiration and cardiovascular diseases among others.

The progression of cerebellar ataxia in SCA2 can be assessed by the Scale for the Assessment and Rating of Ataxia (SARA), which was developed by European neurologists and is characterized by high interrater and test–retest reliability as well as high internal consistency [40]. The application of

SARA scale in Cuban patients reveals a positive correlation of this score with the CAG repeats (Fig. 2a) and disease duration (Fig. 2b), coinciding with the findings obtained with other populations [40, 41]. Although the *r* coefficient for the correlation with CAG repeats is higher than observed by other authors, which could be explained by the high number of studied cases and the genetic and environmental homogeneity of the SCA2 population in Cuba, this marked correlation is consistent with the striking role of CAG expansion in the pathophysiology of SCA2 and consequently in the disease onset and its progression [39, 42]. Moreover, the moderate correlation observed for disease duration in comparison to CAG repeats may be explained by the effect of genetic and non-genetic modifier factors [40]. Nevertheless, this correlation has been supported by neuropathological and neuroimaging findings, which have demonstrated a significant reduction of cerebellum's weights in patients with higher disease durations [43, 44]. Also, SARA score robustly discriminate the patients in the different clinical stages (Fig. 2c), supporting their use in clinical surveys to assess the progression of cerebellar syndrome in SCA2 [8, 39, 40].

Molecular Biology of Cuban SCA2

The underlying mutation for SCA2 consists of the expansion of a translated trinucleotide CAG repeat located within the first exon of the *ATXN2* gene [6–8]. In normal individuals, alleles contain between 13 and 31 CAG repeats. Unexpanded alleles with 22 CAG repeats are the most frequent (76%) and have two CAA interruptions [(CAG)₈ CAA (CAG)₄ CAA (CAG)₈]. Five percent of the remaining normal alleles range between 13 and 21 CAG units and 19% from 23 to 31 [9].

The SCA2 pathological alleles have more than 32 CAG repeats, but in the range 32–36 they have incomplete penetrance [7, 45, 46]. The most common size of the

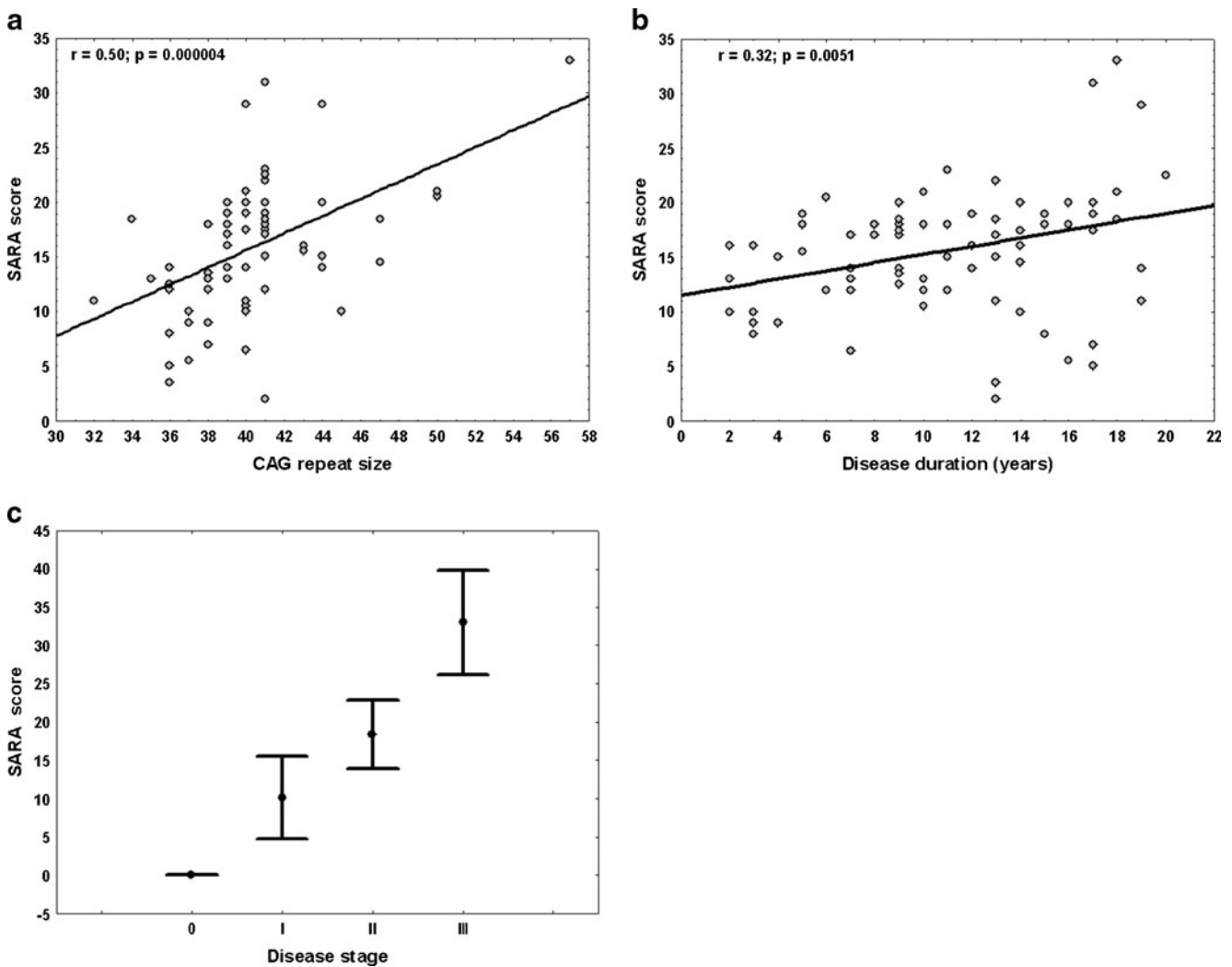


Fig. 2 Usefulness of SARA in the characterization of progression rates in SCA2. **a** Lineal regression plot showing correlation of SARA score and CAG repeat size in Cuban SCA2 subjects (Pearson's r coefficient=0.50; $p < 0.00001$). **b** Lineal regression plot showing the correlation of SARA score and disease duration in Cuban SCA2 patients (Pearson's r

coefficient=0.32; $p < 0.0001$). **c** Relationship of SARA scores to SCA2 disease stage in Cuban SCA2 subjects. *0*, pre-symptomatic stage; *I*, slight gait ataxia; *II*, loss of independent ataxia; *III*, confinement to wheelchair or bed

abnormal allele is 37 (72%). The expanded alleles lose one or both interrupting CAA triplets, which promote the length instability. Expansions occur in 89% and the contractions in 11% of the offspring of affected patients. In the paternal transmission, there is higher variability in repeat lengths compared with the maternal transmission [9].

As in other diseases caused by unstable mutations, there is a strong negative correlation between the CAG repeat and age at onset [6–9]; however, there is a large variation in age at onset for particular CAG repeat numbers, thus hampering the obtaining of accurate predictive models. The use of a large sample of affected and pre-symptomatic SCA2 individuals from the largest and most genetically uniform SCA2 population worldwide allowed one to obtain more accurate figures by the use of a non-parametric survival approach [47].

The cumulative probability for disease manifestation at a certain age given a particular CAG repeat number is shown in Fig. 3. These curves are significantly different for each CAG repeat number, stressing the importance of the expanded allele CAG repeat number as the principal factor in determining age at onset in SCA2. A significant increase in the probability of manifesting disease for a given age could be noted, as the CAG repeat number augmented from 34 to 45 units. For instance, all persons with 37 CAG repeats had simply a 3% probability of being sick by 30 years of age; this figure increased to 16% for those with 38 CAG repeat units, 53% for 41 CAG repeats, and 84% for individuals with 43 CAG repeat expansion.

The probabilistic model that we have developed has potential applications for genetic counseling of pre-

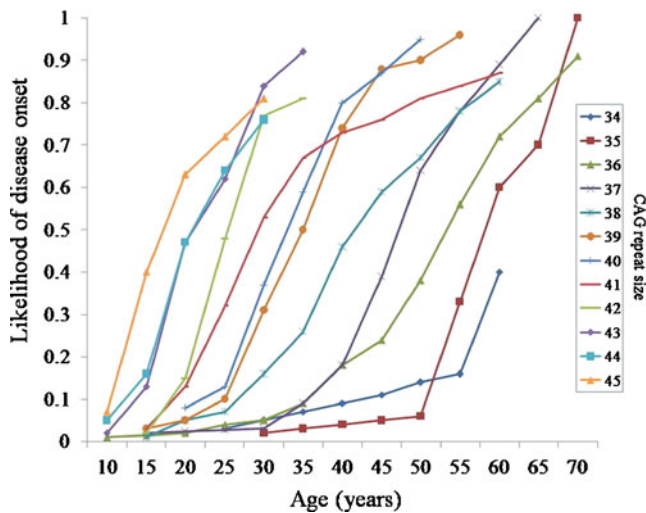


Fig. 3 Cumulative probability for disease manifestation at a certain age, given a specific CAG repeat length in the range of 34–45

symptomatic individuals. Nonetheless, because we cannot exclude from our data the possible occurrence of observation biases and a significant impact of secondary unidentified genetic and environmental factors on the age at onset, we cannot use this information to predict any individual's age at onset with confidence. However, these data may be clinically useful in predicting the expected ranges of onset for mutation carrier individuals by requesting additional information in the context of predictive testing programs. Genetic counseling based on these estimates might be helpful as they may assist the patient in making more rational decisions, regarding family planning, reproduction, financial, and health matters. Also, these figures have potential applications for the identification of novel genetic and environmental factors as modifiers of age at onset and for the design of clinical trials of therapeutic strategies for pre-symptomatic individuals.

Ataxin-2: Function and Pathophysiological Mechanisms

The *ATXN2* gene encodes for a protein denoted ataxin-2, which has a polyglutamine (polyQ) tract located within the N-terminus region, corresponding to a CAG repeat length in the gene. This protein is composed of 1,312 amino acid residues with an estimated molecular weight of 140 kDa and is expressed in brain, heart, skeletal muscle, placenta, liver, lung, pancreas, and other organs, suggesting its ubiquitous expression [6–8]. Currently, the physiological function of ataxin-2 is not well understood, but several evidences suggest that ataxin-2 is involved in RNA metabolism [48–50] and translational regulation [51, 52]. Recently, it has been claimed that the function of ataxin-2 could be related with the development of obesity [53, 54].

At the cellular level, the expanded ataxin-2 mainly targets Purkinje cell in the cerebellum as well as several

pontine neurons. It has been postulated that the polyQ expansion disrupts the physiological function through a gain of toxic function by means of the aggregation and deposition of misfolded proteins forming characteristic cytoplasmic inclusions. Nevertheless, whether these inclusions are directly or indirectly associated to the PolyQ toxicity is object of controversy [55]. Besides the formation of cytoplasmic inclusions, other pathophysiological mechanisms have been proposed for SCA2 such as disruption of genes transcription [49, 50], calcium dyshomeostasis [56, 57] as well as autophagy synaptic neurotransmission deficits (glutamate, GABA), alteration of dopaminergic signaling, and mitochondrial stress and apoptosis [55].

Candidate Modifier Genes

The Cuban SCA2 founder population in the province of Holguin provides a population with a relatively homogeneous genetic background and many shared environmental factors, which is leading to the identification of genetic factors influencing age at onset. Indeed Pulst et al. [58] estimated that 55% of residual variance of age at onset is attributable to shared genetic and environmental factors in a large sample of Cuban SCA2 patients. That study evaluated the effect of polyQ tracts in various polyQ disease genes on SCA2 onset and it demonstrated that only the polyQ tract encoded by the *CACNA1A* (*SCA6*) gene had a significant association with the age at onset in SCA2 patients [58]. In another study, a significant association between the mitochondrial complex I polymorphism 10398 G and an earlier age of SCA2 onset was observed in Cuban patients [59]. This association suggests a differential sensitivity to oxidative damage in patients carrying this polymorphic variant. Hayes et al. [60] reported a significant modifier effect of polyQ tract in the *RAI1* gene on the SCA2 onset in patients from distinct ethnic background, but in Cuban patients this association was not recognized [61].

Biochemical Measurements

The high variability of age at onset in SCA2 even for a given CAG repeat size indicates the existence of some modifier factors that could be examined with biochemical markers in the body fluids. For example, the neuroprotective capabilities in SCA2 patients have been studied by the quantification of erythropoietin, showing a significant reduction of EPO levels in CSF (Fig. 4a). This fact indicates the dysfunction of endogenous neuroprotective mechanisms in this disorder.

Regarding the microelements, SCA2 patients show reduced levels of zinc, iron, and copper in the CSF and serum [62] (Fig. 4b). Zinc depletion seems to be caused by environmental deficit and unknown metabolism factors depending on CAG repeats. In Cuban SCA2 patients, the

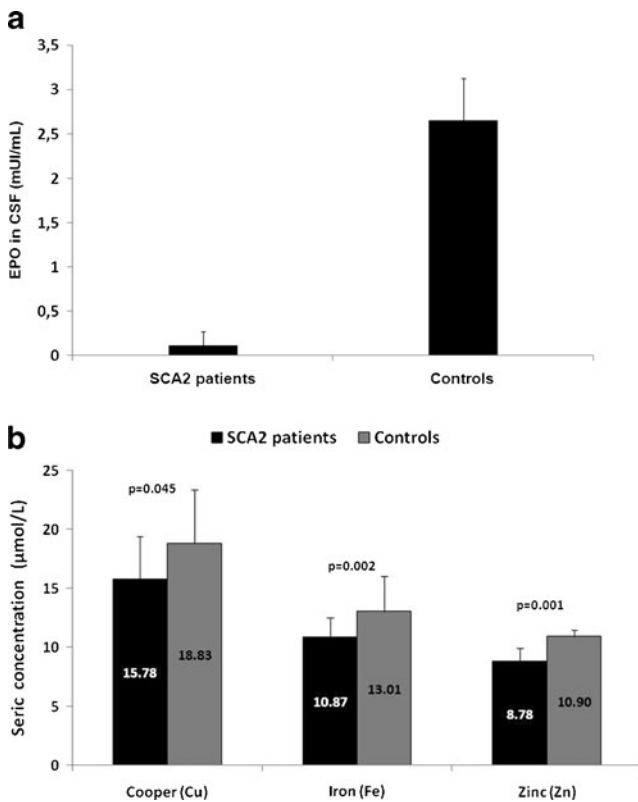


Fig. 4 Biochemical characterization of Cuban SCA2. **a** Decrease of erythropoietin (*EPO*) levels (in mUI/mL) in CSF of SCA2 patients. **b** Reduction of oligoelements Cu, Fe, and Zn in serum ($\mu\text{mol/L}$) of SCA2 patients

reduction of zinc in CSF and serum were associated with cognitive dysfunction, nerve conduction slowing, and immunodepression at the final stages of the disease (unpublished data).

Also, most biomarkers of antioxidant–prooxidant balance are significantly modified in SCA2 patients with a marked decrease of the total antioxidant capacity of the serum [63] as well as an increase of malondialdehyde levels as marker of lipid peroxidation. Furthermore, the concentration of the reduced glutathione and the enzymatic activity of glutathione-*S*-transferases are significantly decreased in the serum [64].

Increased levels of circulating anti-gliadin antibodies (AGA) have been found in several neurological disorders, including several forms of hereditary ataxias and Huntington's disease [65–67]. In the case of hereditary ataxias, studies on AGA prevalence were made considering dominant ataxias as a group because of a rarity of specific molecular variants. In a large cohort of Cuban patients with SCA2, an increased prevalence of AGA and strongly positive AGA was noted as compared to control subjects. No significant differences were found for clinical markers between AGA-positive and AGA-negative affected individuals [68].

These findings added new evidence for an association between gluten sensitivity and dominant hereditary ataxias,

probably reflecting a response to the failing Purkinje cells, the main pathogenic target in SCA2 and some other SCAs. However, the clinical significance of such an association seems to be very limited, if any, in polyglutamine disorders [65], and this could be conditioned by the capacity of AGA to gain access to the central nervous system to cause neurologic dysfunction. The occurrence of AGA has been observed in the cerebrospinal fluid in patients with gluten sensitivity and neurological dysfunction [69]. It could be of interest to test AGA prevalence in cerebrospinal fluid samples of SCA2 patients. Further studies are needed to get deeper in the clinical consequences of this association between AGA and SCA2 and to investigate the potential of a gluten-free diet as an environmental modifier of this disorder.

Neuropathology and Morphometric Analyses

Gross observations of nervous structures in post-mortem samples revealed a reduction of overall size of the brain with significant atrophy of the cerebellum, brainstem, frontal lobe, as well as whiteness of the midbrain substantia nigra and reduction of the cerebral and cerebellar white matter. Histological features of the cerebellum consist in an early and marked neuronal loss in Purkinje cell layer with reduction in the number of dendritic arborizations and torpedo-like deformations of their axons. The number of granular neurons is diminished, usually at the late stages of the disease, whereas the dentate nucleus is relatively spared. Parallel fibers are sparse and no climbing fibers are observed in the Purkinje cell dendritic trunks [44]. In the brainstem, the most noteworthy microscopic findings are the marked loss of inferior olive neurons and the widespread involvement of the auditory brainstem nuclei, in addition to the degeneration of pontine and other pre-cerebellar brainstem nuclei [70, 71]. Another important neuropathological marker of SCA2 is the notable reduction of neurons of the substantia nigra in the mesencephalon and the extensive degeneration of several thalamic nuclei, such as the reticular, fasciculosus, ventral anterior, lateral geniculate body, and the anterior nuclei [72]. In the spinal cord, early and progressive neuronal loss of dorsal ganglia root and reduction of motor neurons were observed, usually in the cervical level and the Clarke's column [73].

Nerve Conduction and Multimodal-Evoked Potentials

Peripheral nerve involvement and altered evoked potentials are usual features of SCA2 patients since preclinical stage [74]. Sensory nerve conduction studies consistently yield sensory axonal neuropathy with reduced or absent sensory nerve action potentials. This alteration begins approximately 8 years before ataxia onset in upper limbs and 4 years in

lower limbs and it is followed by the prolongation of sensory latencies and the slowing of sensory conduction velocity. The rate of sensory amplitudes decrease is significantly associated to the CAG repeat size and ataxia score. The impairment of motor nerve conduction appears in advanced stages of the disease, approximately 10–15 years after ataxia onset [75].

The earliest alterations of somatosensory-evoked potentials (SSEPs) and brainstem auditory-evoked potentials (BSAEPs) appear in the preclinical SCA2 stage and consist in the modification of normal morphology and lack of reproducibility of evoked potentials. The quantitative parameters became altered after the disease onset. The latency of P40, N20, and N13 components of SSEPs and the central conduction time are significantly prolonged in close association with the disease evolution, whereas the P40 latency is additionally influenced by the CAG repeat size. With regard to BSAEPs components, a significant increase of III and V wave's latencies and the interpeak III–V latency is observed with less frequency than SSEPs alterations. These abnormalities are accentuated in patients with an advanced disease so that many cases lost the SSEPs and/or BSAEPs components. Additionally, these subjects show prolongation of P100 latency of visual evoked potentials [74]. Event-related evoked potentials revealed the prolongation of P300 latencies in 40% of cases with a significant correlation of this variable with the disease duration and clinical affectation [76].

Electromyography and Motor Neuron Involvement

Electromyographical findings reveal motor unit potentials (MUPs) with slight signs of polyphasicism and isolated contraction pattern as results of the decrease of cortical excitability in the corticospinal pathway. Fibrillations, PSW, and fasciculations potentials and MUPs with increased amplitudes (≥ 10 mV) are common in patients with advanced disease, indicating the loss of motor neurons in the anterior horn of the spinal cord. Additionally, the contraction pattern becomes simple oscillations in these subjects [77]. The electromyographical features in the late stages of the disease resemble other neurodegenerative diseases such as the amyotrophic lateral sclerosis (ALS) which is in line with previous results that reported a close association between intermediate *ATXN2* gene alleles and ALS [78].

Sleep Disturbances

Patients with SCA2 regularly have sleep disturbances that impinge on the quality of life and accelerate the disease advance. The reported prevalence of sleep disturbances is near to 90%. Insomnia, nocturnal cramps,

restless syndrome, and reduction of dream recalls are the commonest sleep symptoms declared by the patients or their bed partner, which are compatible with the polysomnographical findings. The more prominent polysomnographical feature of SCA2 patients is the reduction of REM sleep percentage with decreased rapid eye movements density in approximately 70% of patients (Fig. 5a) [79, 80]. These abnormalities appear before the disease onset [81] and their progression rates depend on ataxia severity and disease duration. Also, REM sleep without atonia is observed in some patients as preclinical manifestation of REM sleep behavior disorder (Fig. 5b) [79, 80]. The marked pathology of REM sleep in SCA2 is likely the result of the degeneration of REM-on neurons in the pons. Periodic legs movements (PLMs) are common in 38% of SCA2 patients but not in pre-symptomatic subjects (Fig. 5c). The increase of PLMs indexes is directly associated with the clinical severity of the disease and suggests a dysfunction in brain dopaminergic systems (unpublished data). Other less prominent sleep abnormalities are the decrease of sleep efficiency, increase of arousal index, and central apnea index.

Oculomotor Disorders

The reduction of horizontal saccadic eye movement velocity is a key symptom of SCA2 (Fig. 6a) [82, 83], such that the disease was initially described in India as a hereditary ataxia associated with slowed eye movements [5]. This oculomotor sign is caused by the early pontine brainstem degeneration, specifically in paramedian pontine reticular formation, where a significant loss of saccadic excitatory burst neurons has been reported [84]. Similarly to age at onset, the saccadic eye velocity in SCA2 patients is markedly influenced by the CAG repeat size [82, 83] (Fig. 6b), which suggest the significant vulnerability of brainstem to the polyglutamine toxicity in the SCA2. The values of saccadic velocity have a higher interobserver reliability and test–retest reliability than age at onset and might be less dependent on environmental factors, which identify the saccadic velocity as an objective and quantitative endophenotype that is under strong genetic control and therefore appears to be a promising surrogate marker for research projects into the modulation of polyglutamine toxicity by modifier genes and future therapeutical options.

Although the saccadic slowing is clinically undetectable in pre-symptomatic SCA2 mutation carriers, the electronystagmographical evaluation reveals a significant reduction of saccadic velocity before the cerebellar ataxia onset, identifying this parameter as a sensitive preclinical biomarker [85]. Additionally to saccadic slowing, SCA2 patients display other saccadic disorders such as saccadic dysmetria and prolongation of saccadic latency. Gain

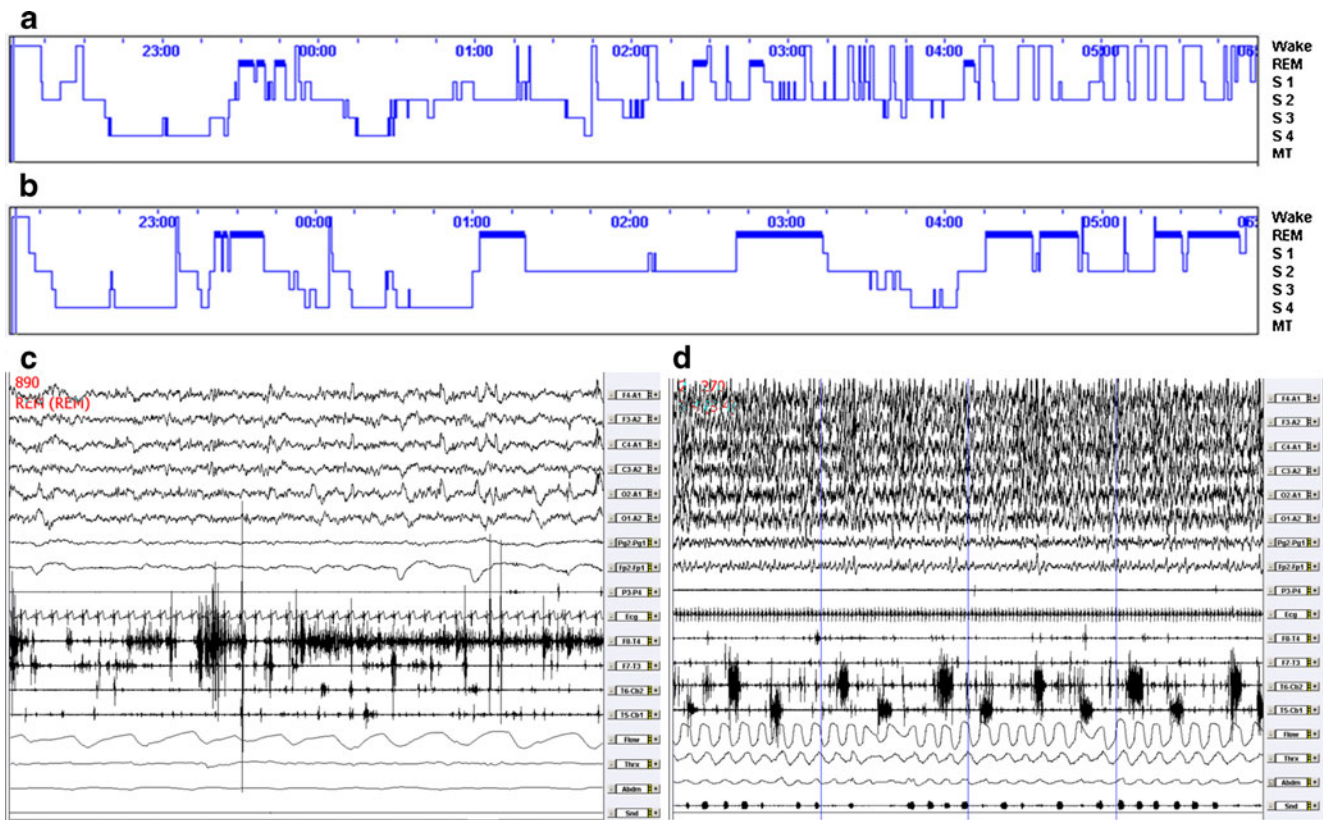


Fig. 5 Polysomnographical findings in SCA2. **a** Abnormal sleep architecture with reduction of REM sleep in a 50-year-old male SCA2 patient, with disease duration of 15 years, SARA score of 26 and 39 repeats of CAG repeats in the *ATXN2* gene. **b** Normal sleep architecture in a 50-year-old male control subject. **c** Thirty-second epoch of REM sleep without atonia in a 24-year-old male SCA2

patient, with disease duration of 8 years, SARA score of 23, and 41 repeats of CAG repeats in the *ATXN2* gene. **d** Two-minute epoch displaying PLMs in a 41-year-old patient, with disease duration of 17 years, SARA score of 23, and 41 repeats of CAG repeats in the *ATXN2* gene

measurements in smooth pursuit movements and horizontal optokinetic nystagmus are slightly reduced in SCA2 patients, whereas vestibule-ocular reflex is normal [86, 87].

Olfactory Impairment

In line with the putative roles of the cerebellum in central olfactory processing, olfactory dysfunction is a subtle clinical component of degenerative ataxias [88, 89]. The main olfactory disorders of SCA2 patients are the increase of olfactory threshold and impairment of quality, identification, and smell discrimination [90]. It adds to a larger picture of olfactory deficits in different neurodegenerative diseases. Other studies have suggested that olfactory dysfunction is an early indicator that could signify the onset of some of these disorders. Indeed asymptomatic SCA2 carriers show slight impairments in the discrimination of specific smells (unpublished data).

The analysis of the progressive changes of electrophysiological features of SCA2 patients and pre-symptomatic subjects leads to the proposal of three electrophysiological

stages in the course of the disease (Table 1). The classification of the electrophysiological abnormalities into distinct stages allows assessing the temporal profile of neurodegenerative changes in SCA2, which would allow not only choosing the optimal time for introducing a specific therapeutic option but also evaluating their effects.

Animal Models

The knowledge of pathogenesis of SCA2 has come from in vitro and cell-based experiments as well as from transgenic animal models, which may be the most enlightening. To date, two transgenic mouse models for ataxin-2 have been generated. The first one was produced by Huyng and coworkers in 2000 [91], who reported the use of the murine PcP2 (L7) promoter to direct the expression of the human *ATXN2* gene with an expanded allele of 58 CAG repeats. These animals became ataxic at 26 and 16 weeks in the heterozygous and homozygous transgenic mice, respectively, and displayed morphological alterations of Purkinje cells. In 2006, Aguiar and colleagues [15] generated transgenic mouse

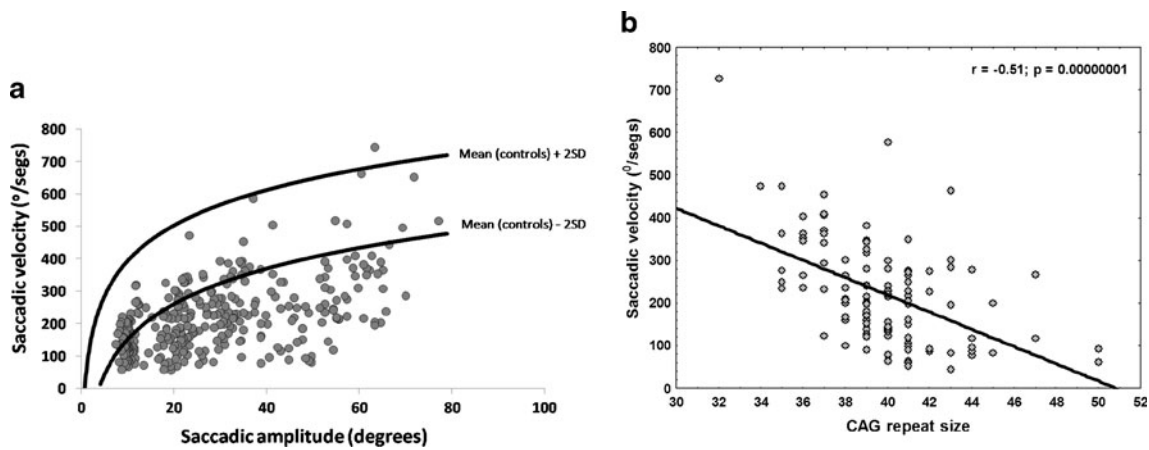


Fig. 6 Saccadic slowing in SCA2. **a** Relationship of saccadic velocity (°/segs) and amplitudes (main sequence) in SCA2 patients, showing the significant reduction of saccadic velocity in almost all subjects.

b Influence of CAG repeat size on the saccadic velocity assessed by linear regression analysis (Pearson *r* coefficient = -0.51; *p* > 0.0001). Dark lines represent the saccadic velocity ± 2 SD of controls.

lines expressing full-length human *ATXN2* gene with 75 CAG units under the control of the human SCA2 self-promoter. Heterozygous animals developed the neurological phenotype in 12 weeks, whereas the homozygous mice did it in

6 weeks, suggesting that the promoter elements of the human *ATXN2* gene are more efficient to direct the expression of the transgene. Northern blot analysis revealed the ubiquitous expression of the transgene, but immunohistochemistry

Table 1 Stages of electrophysiological features progression in SCA2

	Electrophysiological stages		
	Stage I	Stage II	Stage III
Nerve conduction studies	Decrease of sensory potentials amplitude	Progression of sensory amplitudes falls Prolongation of sensory latencies and Nerve conduction slowing	Decrease of motor potentials amplitude
Electromyography	PUMs with slightly polyphasic	PUMs with increased amplitudes Isolated maximal contraction pattern	Fasciculation and fibrillation potentials in resting Maximal contraction pattern tending to simple oscillations
Somatosensory-evoked potentials	Abnormal morphology and reproducibility	Increase of P40, N20 and N13 latencies as well as prolongation of the central conduction time Reduction of Erb amplitude	Worsening of somatosensory signs with loss of SSEPs components in many patients
Brainstem auditory evoked potentials	Abnormal morphology and reproducibility	Prolongation of III and V waves absolute latencies with increase of interpeak latencies	Worsening of BSAEPs alterations with loss of components in patients with advanced disease
Visual evoked potentials	Normal	Normal	Prolongation of P100 component latency in patients with advanced disease
Electroculography	Decrease of horizontal saccade velocity	Increase of horizontal saccadic slowing Saccadic dysmetria Prolongation of saccadic latency	Worsening of saccadic abnormalities until ophthalmoplegia in some cases
Polysomnography	Decrease of REM sleep percentage and REMs density	Worsening of REM sleep abnormalities with REM sleep without atonia in some cases Insomnia and decrease of sleep efficiency in almost all patients Restless legs movements and periodic legs movements in some cases	Worsening of sleep disorders until the loss of sleep in patients with advanced disease
Clinical stages	Preclinical stage	SCA2 clinical stage I	SCA2 clinical stages II and III

techniques demonstrated the specific degeneration of Purkinje neuron in the cerebellar cortex. The cell loss was associated with apoptosis as was demonstrated by the immunodetection of the activated form of caspase-3 and *Bax* protein overexpression. Besides, electron microscopy revealed some morphological markers of apoptosis such as chromatin condensation, loss of mitochondria crests, and dilatation of endoplasmatic reticulum and Golgi complex. Both models are compatible with a gain-of-function or toxic gain-of-function of mutant *ATXN2* gene, but they cannot help us understand the effects of in vivo ataxin-2 function. With this aim, two SCA2 knockout mice have been generated. Kiehl et al. [53] reported that these animals were viable, but their segregation studies indicated a reduced frequency of homozygotes among offspring especially of female pups. Macroscopic and microscopic analyses showed no histological alterations in the cerebellum in spite of a slight rotarod deficit. These authors were intrigued by the adult obesity that the mice developed on a fat-enriched diet. This latter feature was confirmed by Lastres-Becker and coworkers [54] in other SCA2 knock-out mouse model, which also leads to hepatosteatosis, dyslipidemia, and reduced fertility. This model showed decreased insulin receptor (Insr) protein in concordance to elevated Insr mRNA levels, indicating the post-transcriptional effect of ataxin-2 on the insulin receptor status. Furthermore, this knock-out mouse showed increased concentration of gangliosides and sulfatides in the cerebellum in addition to impaired cholesterol metabolism and disruption of sphingomyelin cycle, which suggest the dysfunction of cellular membranes and the second-messenger systems, conducting to alteration of neuronal signaling.

Pre-symptomatic and Prenatal Testing for SCA2

Pre-symptomatic diagnosis for late-onset neurological diseases became available in 1983 for Huntington's disease (HD) [92]. In Cuba, there is the only pre-symptomatic testing program for SCA2 since 2001 which involves a multidisciplinary team of neurologist, geneticists, psychologists, psychiatrists, neurophysiologists, and family doctors, and it has been applied to almost 1,000 subjects [16].

Age-Dependent Risks in Genetic Counseling for SCA2

It has been proven that the empiric risk of having inherited the mutation causing HD or SCA3 (Machado–Joseph disease) lessens with advancing age [93, 94]. This fact has significant implications in the genetic counseling of at-risk individuals. The accuracy and precision that are achieved in the estimate of the risk of developing a particular hereditary disease will have a very important impact in decision-making linked to

health, reproductive, financial matters, and family planning. Therefore, we undertook a survey of the age of onset in a cohort of SCA2 patients from Holguin province, Cuba, to estimate a more objective age-dependent risk useful for genetic counseling [95].

In contrast with HD and SCA3, the decrease of risk in SCA2 is marked (Fig. 7). These differences in the empiric risk favors the hypothesis that, for ataxin-2, the flanking translated sequences are less protective against the loss of function produced by the polyglutamine expanded tract [96–98], which in turn explain the appearance of a significant number of SCA2 juvenile cases and the relatively rapid decrease of the empiric risk for asymptomatic individuals with a priori risk of 50%.

The relatively rapid decrease in the empiric risk for SCA2 in affected families could be reassuring for many at-risk descendants of reproductive age, who constitute the great majority of the individuals requesting pre-symptomatic diagnosis (Fig. 7). Genetic counseling based on these estimates might be helpful as it may assist the patient in making more rational decisions regarding family planning, reproduction, financial, and health matters.

Psychological Assessment of Pre-symptomatic Test for SCA2

The psychological follow-up of subjects involved in the pre-symptomatic genetic testing SCA2 in Cuba reveals the progressive decrease of anxiety and depression levels both in carriers and non-carriers. Pathological levels of anxiety are seen commonly in members of dysfunctional families. Pre-symptomatic testing thus seems to have been especially beneficial for these subjects, possibly due to a greater gain from the psychosocial support received [17].

Recent studies have shown some factors that modify the psychological impact of pre-symptomatic testing for SCA2:

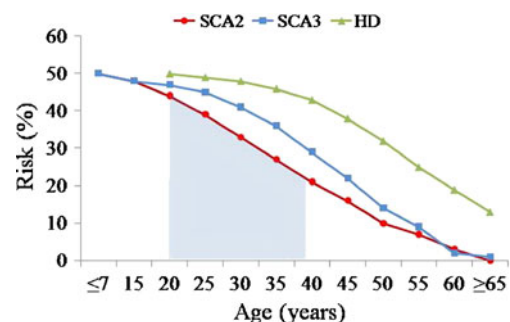


Fig. 7 Age-dependent risk (%) for clinically unaffected individuals with an a priori risk of 50% of developing SCA2, SCA3, or HD. The *shadow zone* represents the age range of about 60% of at-risk descendants requesting genetic diagnosis at the Cuban Presymptomatic and Prenatal Testing Program (SCA2 estimates according to Almaguer-Mederos et al. [68, 95]; SCA3 estimates according to Sequeiros [94]; HD estimates according to Harper and Newcombe [93])

(1) individuals with little or no experience with the disease in their family exhibited more anxiety; (2) at-risk subjects for SCA2 who had a first-degree relative with the disease showed lower levels of anxiety and depression during pre-symptomatic testing; (3) subjects with an affected mother had lower levels of depression, either immediately or 1 year after receiving the test results [18].

Demands for the prenatal diagnosis of the late-onset diseases require a comprehensive genetic counseling system. The Cuban prenatal testing program for SCA2 has been applied to almost a hundred couples with higher levels of acceptance (77.5%) than similar programs in Huntington disease [99, 100].

Physical Therapy and Neurorehabilitation

So far, there is no drug to counteract the cerebellar syndrome and other associated features of SCA2 patients [101]. Thus, physical therapy and rehabilitation seems to be the only means to attenuate the evolution of disease. The goals of neurorehabilitation treatment in SCA2 can be: improving coordination, postural function, walking distance, decreased falls, improved gait stability, more normal gait speed, step length, and cadence and increased independence in activities of daily living.

In Cuba, the application of physical therapy and rehabilitation in SCA2 patients was launched in 1998, and to date more than 400 patients have undergone this therapy at institutional and communitarian levels. Studies on the benefits of rehabilitation in Cuban SCA2 patients have been performed by means of neurological, biochemical, and neurophysiological evaluations. They have revealed that after 3 months of daily rehabilitation there is significant improvement in coordination, postural stability, ocular motility, and speech in 68% of rehabilitated subjects, as well as partial restoration of cognitive functions such as memory, concentration, and frontal-executive performances in 75% of cases [102, 103].

Therapeutic Strategies

The number of clinical trials for SCA2 is very limited due to some barriers described by Underwood and Rubinstzein [101] such as: (1) SCA2 is a rare condition, (2) once the disease is manifested, therapy is complicated by the fact that large amounts of neuronal damage have already occurred by this stage, and (3) absence of biomarkers to assess the efficacy of therapeutical options. Nevertheless, some benefits in some disease symptoms have been reported. For example, postural tremor can be alleviated with subthalamic–thalamic deep brain stimulation [104, 105], whereas the muscle cramps can be diminished using magnesium or high doses of B-complex vitamins. Also,

dopaminergic and anticholinergics drugs have been used to treat the bradykinesia or dystonia in SCA2. Recently, a randomized, double-blind, placebo-controlled pilot trial using riluzole resulted as effective to SCA2 and other subjects with cerebellar ataxias [106]. Furthermore, the oral administration of tandospirone citrate, a 5-HT_{1A} agonist, during 1 month was not effective in SCA2 patients [107]. Currently, the safety and tolerability of lithium is being assessed by a randomized placebo-controlled clinical trial. Although lithium is a hopeful drug that can be potentially beneficial to ataxia patients, clinical and biological responses should be carefully evaluated and monitored due to the adverse events [55].

Cuba has great opportunities to develop controlled clinical trial since the barriers described above are not present. Spinocerebellar ataxias have the highest prevalence worldwide, with the addition of more than 5,000 at-risk relatives. Furthermore, we have identified several disease biomarkers useful as outcome parameters in the clinical trials.

According to the significant decrease of zinc in the CSF of SCA2 patients and the importance of this microelement in the nervous system, we evaluated the efficacy of zinc supplementation in the cerebellar and cognitive functions as well as peripheral nerve conduction and oxidative stress in Cuban SCA2 patients. Usually, low doses of dopamine agonists are immediately effective on restless legs syndrome and periodic legs movements [108, 109]. The treatment with 0.1 mg of lisuride in Cuban patients with SCA2 reduced the PLMs index and subjective sleep complaints after 30 days of treatment in an open pilot trial.

Currently, high doses of B-complex vitamins are provided to treat muscle cramps and peripheral neuropathy. Other drugs such as the creatine, a compound targeting mitochondrial function, and human recombinant erythropoietin will soon be studied as therapeutic options in Cuba.

Conclusions

In conclusion, although much have been learned about SCA2 from an extensive variety of research, much more still needs to be learned in relation to molecular phenomena that cause neurodegeneration in SCA2. The identification of these mechanisms represents an essential step for the identification of targets useful to develop therapeutic strategies aimed at preventing neuronal death. While there has been some amelioration of clinical signs with conventional palliative methods of treatment such as neurorehabilitation, Cuba undoubtedly has a high potential to conduct controlled clinical trials with SCA2 patients due to the high prevalence of patients and pre-symptomatic gene carriers and the presence of a well-established diagnostic program. The establishment

of international collaborative projects will be an important step to carry out this research.

Acknowledgements We are very indebted to Professor Antoni Matilla Dueñas for the critical revision of this paper and to the Iberoamerican Multidisciplinary Network for the Movement Disorders Study: Parkinson's Disease and Spinocerebellar Ataxias. (RIBERMOV, abbreviation in Spanish).

Conflicts of interest No conflicts of interest are declared.

References

- Durr A. Autosomal dominant cerebellar ataxias: polyglutamine expansions and beyond. *Lancet Neurol.* 2010;9:885–94.
- Matilla A, Goold R, Giunti P. Molecular pathogenesis of spinocerebellar ataxias. *Brain.* 2006;129:1357–70.
- Paulson HL. The spinocerebellar ataxias. *J Neuroophthalmol.* 2009;29(3):227–37.
- Schöls L, Bauer P, Schmidt T, Schulte T, Riess O. Autosomal dominant cerebellar ataxias: clinical features, genetics, and pathogenesis. *Lancet.* 2004;3:291–304.
- Wadia NH, Swami RK. A new form of heredo-familial spinocerebellar degeneration with slow eye movements (nine families). *Brain.* 1971;94:359–74.
- Imbert G, Saudou F, Yvert G, Devys D, Trottier Y, Garnier JM, et al. 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.
- Pulst MS, Nechiporuk A, Nechiporuk T, Gispert S, Chen XN, Lopes-Cendes I, et al. Moderate expansion of a normally biallelic trinucleotide repeat in spinocerebellar ataxia type 2. *Nat Genet.* 1996;14:269–76.
- Sanpei K, Takano H, Igarashi S, Sato T, Oyake M, Sasaki H, et al. 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.
- Velázquez Pérez L, Cruz GS, Santos Falcón N, Almaguer Mederos L, Escalona Batallan K, Rodríguez Labrada R, et al. Molecular epidemiology of spinocerebellar ataxias in Cuba: insights into SCA2 founder effect in Holguin. *Neurosci Lett.* 2009;454(2):157–60.
- Vallés L, Estrada GL, Bastecherrea SL. Algunas formas de heredoataxia en una región de Cuba. *Rev Neurol (Cubana).* 1978;27:163–76.
- Velázquez-Pérez L, Santos FN, García R, Paneque HM, Hechavarría PR. Epidemiología de la Ataxia Cubana. *Rev Neurol.* 2001;32(7):606–11.
- 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.
- Gispert S, Twells R, Orozco G, Brice A, Weber J, Heredero L, et al. Chromosomal assignment of the second locus for autosomal dominant cerebellar ataxia (SCA2) to chromosome 12q23-24.1. *Nat Genet.* 1993;4:295–9.
- Hernandez A, Magarino C, Gispert S, Santos N, Lunkes A, Orozco G, et al. Genetic mapping of the spinocerebellar ataxia 2 (SCA2) locus on chromosome 12q23-q24.1. *Genomics.* 1995;25:433–5.
- Aguiar J, Fernández J, Aguilar A, Mendoza Y, Vázquez M, Suárez J, et al. Ubiquitous expression of human SCA2 gene under the regulation of the SCA2 self promoter cause specific Purkinje cell degeneration in transgenic mice. *Neurosci Lett.* 2006;392:202–6.
- Paneque HM, Prieto AL, Reynaldo RR, Cruz MT, Santos FN, Almaguer ML, et al. Psychological aspects of presymptomatic diagnosis of spinocerebellar ataxia type 2 in Cuba. *Community Genet.* 2007;10:132–9.
- Paneque M, Lemos C, Escalona K, Prieto L, Reynaldo R, Velázquez M, et al. Psychological follow-up of presymptomatic genetic testing for spinocerebellar ataxia type 2 (SCA2) in Cuba. *J Genet Couns.* 2007;16:469–79.
- Paneque M, Lemos C, Sousa A, Velázquez L, Fleming M, Sequeiros J. Role of the disease in the psychological impact of pre-symptomatic testing for SCA2 and FAP ATTRV30M: experience with the disease, kinship and gender of the transmitting parent. *J Genet Couns.* 2009;18:483–93.
- Sequeiros J, Coutinho P. Epidemiology and clinical aspects of Machado-Joseph disease. *Adv Neurol.* 1993;61:139–53.
- 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;17:124–8.
- Klockgether T. Ataxias. In: Goetz CG, editor. *Textbook of clinical neurology*, vol 1. Toronto: Saunders; 2007. p. 741–57.
- Alonso E, Martínez-Ruano L, De Biase I, Mader C, Ochoa A, Yescas P, et al. Distinct distribution of autosomal dominant spinocerebellar ataxia in the Mexican population. *Mov Disord.* 2007;22:1050–3.
- Sulek-Piatkowska A, Zdzienicka E, Raczynska-Rakowicz M, Krysa W, Rajkiewicz M, Szirkowicz, et al. The occurrence of spinocerebellar ataxias caused by dynamic mutations in Polish patients. *J Neurol Neurochir Pol.* 2010;44(3):238–45.
- Takano H, Cancel G, Ikeuchi T, Lorenzetti D, Mawad R, Stevanin G, et al. Close associations between prevalences of dominantly inherited spinocerebellar ataxias with CAG-repeat expansions and frequencies of large normal CAG alleles in Japanese and Caucasian populations. *Am J Hum Genet.* 1998;63:1060–6.
- Parduey M. The pathogenesis of Machado Joseph disease: a high manganese/low magnesium initiated CAG expansion mutation in susceptible genotypes? *J Am Coll Nutr.* 2004;23:715S–29.
- Berciano J. Olivopontocerebellar atrophy. In: Gilman S, editor. *Neurobiology of the disease*. California: Elsevier; 2007. p. 95–104.
- Schols L, Haan J, Riess O, Amoiridis G, Przuntek H. Sleep disturbance in spinocerebellar ataxias: is the SCA 3 mutation a cause of restless legs syndrome? *Neurology.* 1998;51:1603–7.
- Irazno A, Comella CL, Santamaria J, Oertel W. Restless legs syndrome in Parkinson's disease and other neurodegenerative diseases of the central nervous system. *Mov Disord.* 2007;22: S424–30.
- Abe M, Burk K, Laccone F, Dichgans J, Klockgether T. Restless legs syndrome in spinocerebellar ataxia types 1, 2, and 3. *J Neurol.* 2001;248(4):311–4.
- Burk K, Globas C, Bosch S, Klockgether T, Zuhlke C, Daum I, et al. Cognitive deficits in spinocerebellar ataxia type 1, 2, and 3. *J Neurol.* 2003;250:207–11.
- 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;35:818–21.
- 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.
- Le Pira F, Zappala G, Saponara R, Domina E, Restivo D, Reggio E, et al. Cognitive findings in spinocerebellar ataxia type 2: relationship to genetic and clinical variables. *J Neurol Sci.* 2002;201:53–7.

34. 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;79:383–7.
35. Rufa A, Dotti MT, Galli L, Orrico A, Sicurelli F, Federico A. Spinocerebellar ataxia type 2 (SCA2) associated with retinal pigmentary degeneration. *Eur Neurol.* 2002;47:128–9.
36. Tan NC, Zhou Y, Tan AS, Chong SS, Lee WL. Spinocerebellar ataxia type 2 with focal epilepsy—an unusual association. *Ann Acad Med Singapore.* 2004;33:103–6.
37. Lu CS, Wu Chou YH, Kuo PC, Chang HC, Weng YH. The parkinsonian phenotype of spinocerebellar ataxia type 2. *Arch Neurol.* 2004;61:35–8.
38. Charles P, Camuzat A, Benammar N, Sellal F, Destée A, Bonnet AM. Are interrupted SCA2 CAG repeat expansions responsible for parkinsonism? *Neurology.* 2007;69:1970–5.
39. Klockgether T, Ludtke R, Kramer B, Abele M, Burk K, Schols L, et al. The natural history of degenerative ataxia: a retrospective study in 466 patients. *Brain.* 1998;121(Pt 4):589–600.
40. Schmitz-Hubsch T, du Montcel ST, Baliko L, Berciano J, Boesch S, Depondt C, et al. Scale for the assessment and rating of ataxia: development of a new clinical scale. *Neurology.* 2006;66:1717–20.
41. Schmitz-Hubsch T, Coudert M, Bauer P, Giunti P, Globas C, Baliko L, et al. Spinocerebellar ataxia types 1, 2, 3, and 6: disease severity and nonataxia symptoms. *Neurology.* 2008;271(13):982–9.
42. Giunti P, Sabbadini G, Sweeney MG, Davis MB, Veneziano L, Mantuano E, et al. The role of the SCA2 trinucleotide repeat expansion in 89 autosomal dominant cerebellar ataxia families. Frequency, clinical and genetic correlates. *Brain.* 1998;121(Pt 3):459–67.
43. Ying SH, Choi SI, Perlman SL, Baloh RW, Zee DS, Toga AW. Pontine and cerebellar atrophy correlate with clinical disability in SCA2. *Neurology.* 2006;66(3):424–6.
44. Estrada R, Galarraga J, Orozco G, Nodarse A, Auburger G. Spinocerebellar ataxia 2 (SCA2): morphometric analyses in 11 autopsies. *Acta Neuropathol.* 1999;97:306–10.
45. Cancel G, Durr A, Didierjean O, Imbert G, Burk K, Lezin A, et al. Molecular and clinical correlations in spinocerebellar ataxia 2: a study of 32 families. *Hum Mol Genet.* 1997;6:709–15.
46. 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;60:842–50.
47. Almaguer-Mederos LE, Falcon NS, Almira YR, Zaldivar YG, Almarales DC, Gongora EM, et al. Estimation of the age at onset in spinocerebellar ataxia type 2 Cuban patients by survival analysis. *Clin Genet.* 2010;78:169–74.
48. Shibata H, Huynh DP, Pulst SM. A novel protein with RNA-binding motifs interacts with ataxin-2. *Hum Mol Genet.* 2000;9:1303–13.
49. Satterfield TF, Pallanck LJ. Ataxin-2 and its *Drosophila* homolog, ATX2, physically assemble with polyribosomes. *Hum Mol Genet.* 2006;15:2523–32.
50. Nonhoff U, Ralser M, Welzel F, Piccini I, Balzereit D, et al. Ataxin-2 interacts with the DEAD/H-box RNA helicase DDX6 and interferes with P-bodies and stress granules. *Mol Biol Cell.* 2007;18:1385–96.
51. 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.
52. Ralser M, Nonhoff U, Albrecht M, Lengauer T, Wanker EE, et al. Ataxin-2 and Huntington interact with endophilin-A complexes to function in plastin-associated pathways. *Hum Mol Genet.* 2005;14:2893–909.
53. Kiehl TR, Nechiporuk A, Figueroa KP. Generation and characterization of Sca2 (ataxin-2) knockout mice. *Biochem Biophys Res Commun.* 2006;339:17–24.
54. Lastres-Becker I, Brodesser S, Lütjohann D, Azizov M, Buchmann J, Hintermann E, et al. Insulin receptor and lipid metabolism pathology in ataxin-2 knock-out mice. *Hum Mol Genet.* 2008;17(10):1465–81.
55. Matilla-Dueñas A, Sánchez I, Corral-Juan M, Dávalos A, Alvarez R, Latorre P. Cellular and molecular pathways triggering neurodegeneration in the spinocerebellar ataxias. *Cerebellum.* 2010;9(2):148–66.
56. Liu J, Tang TS, Tu H, Nelson O, Herndon E, Huynh DP, et al. Deranged calcium signaling and neurodegeneration in spinocerebellar ataxia type 2. *J Neurosci.* 2009;29(29):9148–62.
57. Kasumu A, Bezprozvanny I. Deranged calcium signaling in purkinje cells and pathogenesis in spinocerebellar ataxia 2 (SCA2) and other ataxias. *Cerebellum.* 2010. doi:10.1007/s12311-010-0182-9.
58. Pulst SM, Santos N, Wang D, Yang H, Huynh D, et al. Spinocerebellar ataxia type 2: PolyQ repeat variation in the CACNA1A channel modifies age of onset. *Brain.* 2005;128:2297–303.
59. Simon DK, Zheng K, Velazquez L, Figueroa KP, Falcon N, Almaguer, et al. Mitochondrial complex I gene variant associated with early age of onset in SCA2. *Arch Neurol.* 2007;64:1042–4.
60. Hayes S, Turecki G, Brisebois K, Lopes-Cendes I, Gaspar C, Riess O, et al. CAG repeat length in RAI1 is associated with age at onset variability in spinocerebellar ataxia type 2 (SCA2). *Hum Mol Genet.* 2000;9(12):1753–8.
61. Pulst SM. Spinocerebellar ataxia type 2. In: Wells RD, Ashizhawa T, editors. Genetic instabilities and neurological diseases. California: Elsevier; 2006. p. 351–61.
62. González C, Sánchez G, González Quevedo A, Delgado R, Velásquez L, García Rodríguez JC, et al. Serum and cerebrospinal fluid levels of copper, iron and zinc in patients with ataxia type SCA-2 from the province of Holguin in Cuba. *Therapeutic basic. Dialog Clin Neurosci.* 2005;13(4):12–6.
63. Almaguer L, Almaguer D, Gonzáles Y, Martínez E, Valcárcel P. Capacidad antioxidante total de en pacientes cubanos con ataxia Espinocerebelosa tipo 2. *Rev Mex Neuroci.* 2005;6(3):201–6.
64. Velázquez L, Sánchez G, García JC, Delgado R, Márquez L, Martínez E, et al. Spinocerebellar ataxia type 2 (sca-2) in Cuba. A study of the clinical electrophysiological and redox system variations and its correlation with CAG repeats. *Rest Neurol Neurosci.* 2003;20(6):277.
65. Abele M, Schols L, Schwartz S, Klockgether T. Prevalence of anti gliadin antibodies in ataxia patients. *Neurology.* 2003;60:1674–5.
66. Bushara KO, Nance M, Gomez CM. Anti gliadin antibodies in Huntington disease. *Neurology.* 2004;62:132–3.
67. Bushara KO, Goebel SU, Shill H, Goldfarb LG, Hallet M. Gluten sensitivity in sporadic and hereditary cerebellar ataxia. *Ann Neurol.* 2001;49:540–3.
68. Almaguer-Mederos LE, Almira YR, Góngora EM, Gotay DA, Zaldivar YG, Pupo RE, et al. Anti gliadin antibodies in Cuban patients with spinocerebellar ataxia type 2. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2008;79:315–7.
69. Chinnery PF, Reading PJ, Milne D, Gardner-Medwin D, Turnbull DM. CSF anti gliadin antibodies and the Ramsay Hunt syndrome. *Neurology.* 1997;49:1131–3.
70. Gierga K, Burk K, Bauer M, Orozco Diaz G, Auburger G, Schultz C, et al. Involvement of the cranial nerves and their nuclei in spinocerebellar ataxia type 2 (SCA2). *Acta Neuropathol.* 2005;109:617–31.
71. Hoche F, Seidel K, Brunt ER, Auburger G, Schols L, Burk K, et al. Involvement of the auditory brainstem system in spinocerebellar

- ataxia type 2 (SCA2), type 3 (SCA3) and type 7 (SCA7). *Neuropathol Appl Neurobiol.* 2008;34:479–91.
72. Rub U, Del Turco D, Burk K, Diaz GO, Auburger G, Mittelbronn M, et al. Extended pathoanatomical studies point to a consistent affection of the thalamus in spinocerebellar ataxia type 2. *Neuropathol Appl Neurobiol.* 2005;31:127–40.
 73. Rub U, Seidel K, Ozerden I, Gierva K, Brunt ER, Schols L, et al. 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;53:235–49.
 74. Velazquez Perez L, Sanchez Cruz G, Canales Ochoa N, Rodriguez Labrada R, Rodriguez Diaz J, Almaguer Mederos L, et al. Electrophysiological features in patients and presymptomatic relatives with spinocerebellar ataxia type 2. *J Neurol Sci.* 2007;263:158–64.
 75. Velazquez-Perez L, Rodriguez-Labrada R, Canales-Ochoa N, Sanchez-Cruz G, Fernandez-Ruiz J, Montero JM, et al. Progression markers of spinocerebellar ataxia 2. A twenty years neurophysiological follow up study. *J Neurol Sci.* 2010;290:22–6.
 76. Kremlacek J, Valis M, Masopust J, Talab R, Kuba M, Kobova Z, et al. Electrophysiological study of visual processing in spinocerebellar ataxia type 2 (SCA2). *Cerebellum.* 2010. doi:10.1007/s12311-010-0220-7.
 77. Velazquez-Perez L, Rodriguez-Labrada R, Medrano-Montero J, Sanchez-Cruz G, Canales-Ochoa N, Torres-Parra C, et al. Electromyographic pattern in patients and asymptomatic carriers of the SCA2 mutation. *Rev Neurol.* 2009;49:55–6.
 78. Elden AC, Kim HJ, Hart HP, Chen-Plotkin AS, Johnson BS, Fang X, et al. Ataxin-2 intermediate-length polyglutamine expansions are associated with increased risk for ALS. *Nature.* 2010;466:1069–75.
 79. Tuin I, Voss U, Kang JS, Kessler K, Rub U, Nolte D, et al. Stages of sleep pathology in spinocerebellar ataxia type 2 (SCA2). *Neurology.* 2006;67:1966–72.
 80. Boesch SM, Frauscher B, Brandauer E, Wenning GK, Hogg B, Poewe W. Disturbance of rapid eye movement sleep in spinocerebellar ataxia type 2. *Mov Disord.* 2006;21:1751–4.
 81. Rodriguez-Labrada R, Velazquez-Pérez L, Canales-Ochoa N, Galicia-Polo L, Haro-Valencia R, Sánchez-Cruz G, et al. Subtle REM sleep abnormalities in presymptomatic spinocerebellar ataxia type 2 gene carriers. *Mov Disord.* 2010. doi:10.1002/mds.23409.
 82. Velazquez-Perez L, Seifried C, Santos-Falcon N, Abele M, Ziemann U, Almaguer LE, et al. Saccade velocity is controlled by polyglutamine size in spinocerebellar ataxia 2. *Ann Neurol.* 2004;56:444–7.
 83. Seifried C, Velazquez-Perez L, Santos-Falcon N, Abele M, Ziemann U, Almaguer LE, et al. Saccade velocity as a surrogate disease marker in spinocerebellar ataxia type 2. *Ann N Y Acad Sci.* 2005;1039:524–7.
 84. 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.
 85. Velazquez-Perez L, Seifried C, Abele M, Wirjatijasa F, Rodriguez-Labrada R, Santos-Falcon N, et al. Saccade velocity is reduced in presymptomatic spinocerebellar ataxia type 2. *Clin Neurophysiol.* 2009;120:632–5.
 86. 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.
 87. Burk K, Fetter M, Abele M, Laccone F, Brice A, Dichgans J, et al. Autosomal dominant cerebellar ataxia type I: oculomotor abnormalities in families with SCA1, SCA2, and SCA3. *J Neurol.* 1999;246:789–97.
 88. Connelly T, Farmer JM, Lynch DR, Doty RL. Olfactory dysfunction in degenerative ataxias. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2003;74:1435–7.
 89. Fernandez-Ruiz J, Diaz R, Hall-Haro C, Vergara P, Fiorentini A, Nunez L, et al. Olfactory dysfunction in hereditary ataxia and basal ganglia disorders. *Neuroreport.* 2003;14:1339–41.
 90. Velazquez-Perez L, Fernandez-Ruiz J, Diaz R, Gonzalez RP, Ochoa NC, Cruz GS, et al. Spinocerebellar ataxia type 2 olfactory impairment shows a pattern similar to other major neurodegenerative diseases. *J Neurol.* 2006;253:1165–9.
 91. Huynh DP, Figueroa K, Hoang N, Pulst SM. Nuclear localization or inclusion body formation of ataxin-2 are not necessary for SCA2 pathogenesis in mouse or human. *Nat Genet.* 2000;26:44–50.
 92. European Community Huntington Disease Collaborative Study Group: ethical and social issues in presymptomatic testing for Huntington's disease. A European Community collaborative study. *J Med Genet.* 1993;1028–35.
 93. Harper PS, Newcombe RG. Age at onset and life table risks in genetic counselling for Huntington's disease. *J Med Genet.* 1992;29(4):239–42.
 94. Sequeiros J. Machado-Joseph disease: epidemiology, genetics and genetic epidemiology. In: Lechtenberg R, editor. *Handbook of cerebellar diseases.* New York: Dekker; 1993. p. 345–51.
 95. Almaguer-Mederos LE, Proenza CL, Rodríguez Almira Y, Escalona Batallán K, Santos Falcón N, Martínez Góngora E, et al. Age-dependent risks in genetic counseling for spinocerebellar ataxia type 2. *Clin Genet.* 2008;74:571–3.
 96. Chai Y, Wu L, Griffin JD, Paulson HL. The role of protein composition in specifying nuclear inclusion formation in polyglutamine diseases. *J Biol Chem.* 2001;276(48):44889–97.
 97. Nozaki K, Onodera O, Takano H, Tsuji S. Amino acid sequences flanking polyglutamine stretches influence their potential for aggregate formation. *Neuroreport.* 2001;12(15):3357–64.
 98. Leznicki P. Aggregation and toxicity of the proteins with polyQ repeats. *Postepy Biochem.* 2005;51(2):215–22.
 99. Adam S, Wiggins S, Whyte P, Bloch M, Shokeir MHK, Soltan H, et al. Five year study of prenatal testing for Huntington's disease: demand, attitudes, and psychological assessment. *J Med Genet.* 1993;30:549–56.
 100. Quaid KA. Presymptomatic testing for Huntington disease in the United States. *Am J Hum Genet.* 1993;53:785–7.
 101. Underwood BR, Rubinsztein DC. Spinocerebellar ataxias caused by polyglutamine expansions: a review of therapeutic strategies. *Cerebellum.* 2008;7:215–21.
 102. Perez-Avila I, Fernandez-Vieitez JA, Martinez-Gongora E, Ochoa-Mastrapa R, Velazquez-Manresa MG. Effects of a physical training program on quantitative neurological indices in mild stage type 2 spinocerebellar ataxia patients. *Rev Neurol.* 2004;39:907–10.
 103. Rodríguez JC, Velázquez L, Sánchez G, Almaguer L, Almaguer D, García JC, et al. Evaluación de la restauración neurológica en pacientes con ataxia SCA2 cubana. *Plast & Rest Neurol.* 2008;7(1):13–8.
 104. Pirker W, Back C, Gerschlag W, Laccone F, Alesch F. Chronic thalamic stimulation in a patient with spinocerebellar ataxia type 2. *Mov Disord.* 2003;18:222–5.
 105. Freund HJ, Barnikol UB, Nolte D, Treuer H, Auburger G, Tass PA, et al. Subthalamic-thalamic DBS in a case with spinocerebellar ataxia type 2 and severe tremor-A unusual clinical benefit. *Mov Disord.* 2007;22:732–5.
 106. Ristori G, Romano S, Visconti A, Cannoni S, Spadaro M, Frontali M, et al. Riluzole in cerebellar ataxia: a randomized, double-blind,

- placebo-controlled pilot trial (CME) (LOE Classification). *Neurology*. 2010;74(10):839–45.
107. Takei A, Hamada S, Homma S, Hamada K, Tashiro K, Hamada T. Difference in the effects of tandospirone on ataxia in various types of spinocerebellar degeneration: an open-label study. *Cerebellum*. 2010. doi:10.1007/s12311-010-0199-0.
108. Manconi M, Ferri R, Feroah TR, Zucconi M, Ferini-Strambi L. Defining the boundaries of the response of sleep leg movements to a single dose of dopamine agonist. *Sleep*. 2008;31(9):1229–37.
109. Vetrugno R, D'Angelo R, Montagna P. Periodic limb movements in sleep and periodic limb movement disorder. *Neurol Sci*. 2007;28:S9–14.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados que conforman la tesis y su discusión, aparecen recogidos en una serie de artículos científicos y/o capítulos de dos libros. Previamente a cada uno, se resume la importancia y aplicación de sus resultados. En los capítulos 1 al 7, se describen las principales características neurofisiológicas de los enfermos y portadores asintomáticos de la mutación SCA2. Estos incluyen el análisis de los estudios de conducción nerviosa periférica, potenciales evocados multimodales, movimientos oculares sacádicos, evaluación del sueño a través de videopolisomnografía, aprendizaje visuomotor y función olfatoria.

El estudio de los pacientes permitió ampliar la caracterización fenotípica de la enfermedad y definió marcadores neurofisiológicos de progresión y daño genético. El análisis de los sujetos portadores de la mutación caracterizó las primeras alteraciones neurofisiológicas precerebelosas y el tiempo estimado en que estas aparecen. El último capítulo incluye tres artículos, que abordan la aplicación de los estudios electrofisiológicos en la identificación de blancos terapéuticos y/o variables respuestas útiles en investigaciones clínicas de intervención.

Capítulo 1. Caracterización clínico-electrofisiológica en enfermos y portadores asintomáticos de la mutación SCA2

Publicados en:

- **Rev Neurol** (2000); 30(2):109-115 (Factor de impacto: 1,28)
- **Rev Neurol** (1998); 27 (160): 921-926 (Factor de impacto: 1,28)
- **J Neurol Sci** (2007); 263: 158–164 (Factor de impacto: 2,492)

En este capítulo presentamos las principales características clínicas y electrofisiológicas de la ataxia SCA2. En el primer artículo, se discuten las manifestaciones clínicas de los pacientes, su evolución a través del tiempo y la correlación con una serie de variables electrofisiológicas. Se demostró que los trastornos de la coordinación, es decir la ataxia, progresa significativamente cada dos años. Existe correlación entre el grado de severidad de la ataxia, los reflejos osteotendinosos y el signo de Romberg con las variables electrofisiológicas. En el segundo artículo se presentan los principales resultados de la evaluación neurofisiológica de porciones proximales del sistema neuromuscular a través de la onda F, reflejo H y electromiograma.

El tercero, incluye la evaluación electrofisiológica de 82 pacientes con SCA2, 62 portadores de la mutación y 80 controles, a los cuales se les realizaron estudios moleculares, de conducción nerviosa periférica y potenciales evocados multimodales. Las alteraciones electrofisiológicas aparecen desde estadios presintomáticos.

Estudio clínico-neurofisiológico de 70 enfermos con ataxia espinocerebelosa tipo 2

L. Velázquez, E. Medina, A. Álvarez, N. Santos, R. García, N. Oliveros, M. Paneque

NEUROPHYSIOLOGICAL CLINICAL STUDY OF 70 PATIENTS WITH TYPE 2 SPINOCEREBELLAR ATAXIA

Summary. Introduction. *The prevalence of hereditary ataxia in Holguín, Cuba, is 43 per 100,000 inhabitants, but in some regions reaches 503 per 100,000 inhabitants, a figure never previously recorded in the international literature.* Objectives. *To evaluate the part played by non-cerebellar structures and vias in causing some of the clinical signs of the disorder by means of clinico-electro physiological correlation.* Patients and methods. *A neurological examination, peripheral nerve conduction studies and somato-sensorial evoked potentials of the median and posterior tibial nerves were done in 70 patients with type 2 spinocerebellar ataxia.* Results. *The commonest clinical signs were ataxia on walking, dysarthria, dysmetria and adiadochokinesia. Correlation analysis showed that the variable most significantly correlated with the degree of ataxia and Romberg's sign was latency of the P40 component, whilst tendon reflexes were best correlated with H reflex latency. However, the duration of the disease was not found to have statistical correlation.* Conclusions. *These results suggest that degeneration of long peripheral nerves and sensory paths contributes to the degree of ataxia and other clinical signs. At present no correlation has been found between the duration of the illness and increasing electrophysiological changes, and therefore seems not to have a major effect on neurodegenerative mechanisms.* [REV NEUROL 2000; 30: 109-15] [<http://www.revneurolog.com/3002/i020109.pdf>]
Key words. Ataxia. Cuban ataxia. Electrophysiology. Type 2 spinocerebellar ataxia.

INTRODUCCIÓN

En Cuba las primeras observaciones acerca de un incremento de las ataxias hereditarias fueron realizadas por el Dr. Estrada [1,2]. En 1970, Vallés [3] llevó a cabo un estudio en la antigua región Oriente Norte y comunicó una prevalencia de 41,3 para la forma clínica de ataxia autosómica dominante de Pierre Marie. En 1977, Veguería [4] informó sobre las alteraciones de la motilidad ocular en un grupo de estos de pacientes.

En 1985, Cordovés [5] realizó un estudio epidemiológico en Tacajó, un pequeño pueblo de la provincia de Holguín, sobre este tipo de ataxia hereditaria y detectó una prevalencia de 133,8 por 100.000 habitantes. Orozco et al [6], en 1990, destacaron como criterios diagnósticos básicos la ataxia de la marcha, disartria, dismetría y adiadococinesia. La edad de inicio variaba entre los 2 y los 65 años, con una media de 31,7.

En 1993, a partir de un estudio genético-molecular realizado por Gispert et al [7] en genealogías de familias cubanas procedentes de Holguín, se publicó el descubrimiento del cromosoma donde se localizaba el *locus* productor de esta enfermedad. El mismo fue cartografiado en el intervalo comprendido entre PLA2 y D12S58 sobre el cromosoma 12q23-24.1. A esta forma de ataxia se le denominó molecularmente ataxia espinocerebelosa tipo 2.

En noviembre de 1996, se publicó el *locus* del gen productor de la enfermedad así como el tipo de mutación génica, consistente en la expansión anormal del trinucleótido CAG [8-10].

Nodarse et al [11], a partir de un estudio electrofisiológico, describieron como resultados fundamentales alteraciones en la conducción de los cordones posteriores de la médula espinal, la vía auditiva en el tronco cerebral y algunas alteraciones de la conducción nerviosa periférica. Fue posible determinar que el comienzo de la enfermedad es el mismo a cualquier edad y que su evolución o

progresión no parece estar influenciada por el tiempo. Posteriormente, Velázquez et al [12-15] realizaron estudios neurofisiológicos a familiares asintomáticos de ataxia espinocerebelosa tipo 2 y a enfermos, en los que sugirieron la existencia de alteraciones presintomáticas en el 92% de los casos portadores de la mutación génica, así como degeneración axonal en fibras sensitivas de los nervios periféricos y lesión axonomielínica en cordones posteriores de la médula espinal y en el tronco cerebral. Con el propósito de establecer correlaciones entre parámetros clínicos y electrofisiológicos, así como evaluar la participación de estructuras y vías no cerebelosas en la producción de algunos signos clínicos típicos de la enfermedad se realizó la presente investigación.

PACIENTES Y MÉTODOS

Estudio clínico

A través de un estudio transversal se evaluó un grupo de 70 enfermos, 36 mujeres y 34 varones, procedentes de diferentes partes del país y con tiempo de evolución variable, remitidos al Laboratorio de Neurofisiología Clínica (Tabla I). En 17 enfermos se pudo evaluar el curso progresivo de la enfermedad entre dos y ocho años posteriores a la aparición de la enfermedad. El diagnóstico se realizó a partir de los criterios clínicos y genéticos. Todos los enfermos presentaron ataxia de la marcha como síntoma inicial, disartria cerebelosa, dismetría y adiadococinesia. Ninguno de ellos presentó atrofia óptica, espasticidad ni degeneración retiniana. Se excluyeron los pacientes con antecedentes de alcoholismo, hipertiroidismo, ingestión de anticonvulsivos crónicos u otras afecciones que primaria o secundariamente afectaran al sistema nervioso.

Examen neurológico

Cada individuo fue interrogado en busca de síntomas de compromiso del sistema nervioso central o periférico y, posteriormente, se le realizó un examen neurológico completo.

El examen clínico se llevó a cabo teniendo en cuenta los parámetros utilizados en la Clínica Mayo para el examen neurológico [16], esto es:

1. Examen de los pares craneales
2. Estado sistema motor en miembros superiores e inferiores (marcha, tono muscular y fuerza muscular)
3. Sensibilidad superficial y profunda
4. Reflejos osteotendinosos para miembros superiores e inferiores
5. Coordinación (extremidades superiores e inferiores), donde se evaluaron las siguientes maniobras: índice dedo-nariz; índice dedo-dedo y talón-rodilla
6. Examen clínico de la motilidad ocular

Recibido: 26.11.99. Aceptado tras revisión externa sin modificaciones: 04.12.99.

Centro de Investigaciones y Asistencia Médica para la Ataxia Cubana Carlos J. Finlay. Holguín, Cuba.

Correspondencia: Dr. Luis Velázquez Pérez. Ave. de Los Álamos, 25 (Altos). Esq. Independencia. Rpto. Santiesteban. CP 80100 Holguín, Cuba. E-mail: luis@ataxia.hlg.sld.cu

© 2000, REVISTA DE NEUROLOGÍA

8. Examen del signo de Romberg, que se consideró presente cuando el paciente caía al cerrar los ojos con los pies unidos y los brazos extendidos
9. Estudio de la facies. La facies anormal se caracterizó por hendiduras palpebrales exageradamente abiertas, atrofia de los músculos temporales, periorbitarios y buccinadores
10. Temblor cinético, que se consideró presente cuando se le indicaba al paciente la ejecución de un movimiento preciso, exigente y proyectado, por ejemplo al tocar un objetivo tal como la nariz del propio paciente o un dedo del examinador.

Para realizar los análisis de correlación entre los parámetros clínicos y las variables electrofisiológicas, se establecieron las siguientes clasificaciones de algunos de los signos clínicos:

Para indicar los grados de gravedad de la ataxia:

1. *Grado 1*. Corresponde a ataxia ligera que se hace evidente cuando el paciente camina con un pie delante y otro detrás. El paciente puede valerse por sí mismo para las actividades de la vida diaria tanto personales como sociales.
2. *Grado 2*. En esta forma el paciente presenta un grado mayor de la enfermedad, no puede ejecutar la marcha con un pie delante del otro y tiene imposibilidad para ejecutar movimientos o realizar acciones motoras que requieren de gran precisión.
3. *Grado 3*. El paciente necesita apoyo para caminar o no deambula y no puede valerse por sí mismo para las actividades de la vida diaria.

Para los reflejos osteotendinosos:

1. Normal
2. Hiporreflexia
3. Arreflexia.

Para el signo de Romberg:

1. No hay Romberg
2. El paciente cae.

Estudio electrofisiológico

Estudios de conducción nerviosa periférica sensitiva

La conducción nerviosa sensitiva se estudió en los nervios mediano y sural. En el mediano, el potencial de acción nervioso conducido ortodrómicamente se registró con electrodos de superficie colocados sobre el trayecto nervioso en el carpo en respuesta a la estimulación supramaximal del III dedo en su tercera falange. Se empleó un pulso eléctrico rectangular de 0,2 ms de duración con una frecuencia de 1 Hz, un tiempo de análisis de 10 ms, una sensibilidad de 5 μ v por división y filtros de 20 y 2.000 Hz; se promediaron un total de 64 respuestas. En el nervio sural se estimuló por debajo del maleólo lateral y se registró el potencial sensitivo sobre el trayecto del nervio, lateralmente al tendón de Aquiles, mediante electrodos de superficie. Se utilizaron los mismos parámetros de estimulación y de registro que se emplearon para el nervio mediano. Se midió la latencia, duración, amplitud pico a pico y se calculó la velocidad de conducción sensitiva (VCS) entre los sitios de estimulación y registro.

Potenciales evocados somatosensoriales por estimulación del nervio mediano

Los potenciales evocados somatosensoriales (PESS) del nervio mediano se obtuvieron mediante la estimulación eléctrica de dicho nervio en el carpo con una frecuencia de 5 Hz y con una intensidad mínima suficiente para provocar la aducción del dedo pulgar. Los potenciales evocados se registraron con electrodos de superficie desde tres sitios: punto de Erb ipsilateral frente a punto de Erb contralateral, apófisis espinosa de CVII frente a Fz y Cc' frente a Fz [17]. Se empleó un tiempo de análisis de 30-50 ms con una sensibilidad de 5 μ v por división y con un filtraje de 20 y 1.000 Hz para los potenciales del punto de Erb y cérvico-bulbar, y 0,5-1.000 Hz para el registro cortical. Se realizaron un total de 2.000 promediaciones y hasta tres repeticiones para obtener cada potencial evocado y, finalmente, se midieron la latencia del potencial obtenido en el punto de Erb y las latencias absolutas de los componentes N9, N13, y N20, registrados en la derivación CVII-Fz [17].

Potenciales evocados somatosensoriales por estimulación del nervio tibial posterior

Los PESS del nervio tibial posterior se obtuvieron mediante la estimulación de dicho nervio por detrás del maleólo medial con electrodos de superficie

Tabla I. Características de los sujetos enfermos estudiados.

Grupos	N.º	Mínima	Máxima	Media	Desviación estándar
Femenino	36	16	75	43,00	15,53
Masculino	34	20	73	36,76	12,77
Total	70	16	75	39,97	14,50

a una frecuencia de 5 Hz y con una intensidad mínima suficiente para provocar una ligera flexión plantar de los artoes. El registro del potencial evocado se realizó en la derivación Cz-Fz [17]. Se empleó un tiempo de análisis de 100 ms, una sensibilidad de 5 μ v por división y un filtraje de 5-200 Hz para el cortical. Se promediaron 1.500 respuestas y se replicaron dos o tres veces para lograr una mejor evaluación de los componentes. Se midió la latencia del componente P40 que se obtuvo en la derivación de Cz para establecer el análisis de correlación con los parámetros clínicos.

Reflejo H

Se estimuló el nervio tibial posterior en el punto medio de la fosa poplíteica. Se empleó un estimulador bipolar de superficie TECA TE-4. El cátodo se colocó en sentido proximal para aplicar estimulación. La intensidad del estímulo osciló entre 30-40 v, mientras que la duración empleada fue de 0,1 ms, la frecuencia de estimulación fue de un estímulo por segundo. El sitio de registro se ubicó en el vientre del músculo gemelo medial y el de referencia en la porción distal del tendón de Aquiles, mientras que la tierra se colocó entre los sitios de registro y estimulación. Se obtuvieron dos réplicas en ambas piernas y se analizaron las variables latencia (ms) y amplitud (μ v).

Estos registros se realizaron en la Neurónica (sistema computarizado para potenciales evocados y electromiografía) de fabricación nacional.

RESULTADOS

Caracterización clínica

La edad de inicio osciló entre 4 y 73 años (media de 31,4). El síntoma inicial más frecuente fue la dificultad para la marcha en 66 enfermos (94,28%), mientras que los otros cuatro debutaron con dificultad para hablar e incoordinación de los movimientos en los miembros superiores e inferiores.

Las manifestaciones clínicas más frecuentes detectadas en los pacientes estudiados fueron la ataxia de la marcha (100%), disartria cerebelosa (98,57%), dismetría (98,57%) y adiadococinesia (97,14%). Otros hallazgos clínicos menos frecuentes fueron los movimientos sacádicos enlentecidos y oculares limitados (84,28%), hipotonía (62,85%), temblor cinético de miembros superiores e inferiores (58,57%), contracturas musculares dolorosas (57,14%), signo de Romberg (41,42%), arreflexia osteotendinosa de miembros inferiores (41,42%), apalestesia en los miembros inferiores (30,00%), hiporreflexia osteotendinosa (11,42%), *clonus* (10,00%), hiperreflexia osteotendinosa, signo de Babinski y trastornos de la sensibilidad superficial (5,71%) (Fig. 1).

En nuestros pacientes no se detectaron signos extrapiramidales, atrofia óptica, degeneración retiniana pigmentaria ni macular.

Curso evolutivo de la enfermedad

Para determinar la importancia de las manifestaciones clínicas, se utilizó el grado de intensidad de la ataxia (descrito en el apartado Pacientes y métodos), que constituyó la manifestación clínica más frecuente de la enfermedad y el síntoma inicial de la misma (Fig. 2). Se demostró el curso inexorablemente progresivo en el tiempo. Un total de ocho enfermos presentaron, a los dos años de evolución, un grado ligero y se mantuvieron sin variación hasta los cuatro años. Entre 4-6 años, se alcanzó el grado moderado en tres enfermos, uno de ellos se mantuvo hasta los ocho años, mientras que los otros dos evolucionaron hacia el estado de intensidad más grave entre los 6-8 años. Sin embargo, los otros nueve pacientes presentaron un curso evolutivo más rápido hacia el estado de mayor gravedad, es decir, hacia la invalidez. Por lo tanto, el comportamiento evolutivo de los 17 enfermos se dividió en dos subgrupos, uno con evolución más rápida hacia la invalidez (seis años) y otro más lenta (ocho años).

Estudio electrofisiológico

En la tabla II se muestra la comparación de medias para las variables de los

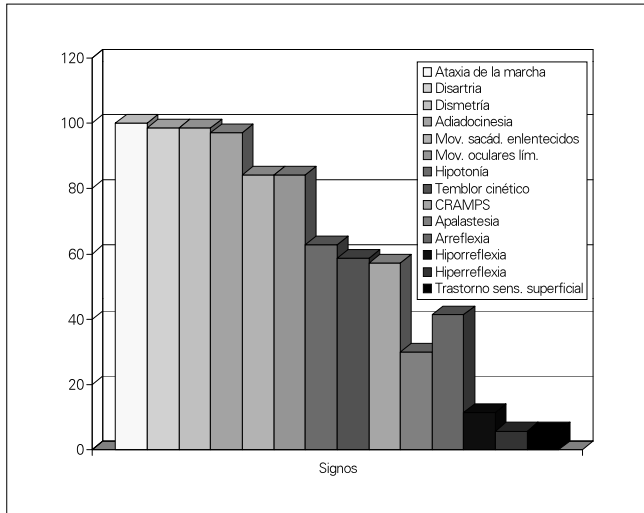


Figura 1. Manifestaciones clínicas más frecuentes en los enfermos.

Tabla II. Estudios de conducción nerviosa periférica sensitiva de nervio mediano y sural. Comparación de medias.

VARIABLES	GRUPO SANOS	ENFERMOS	P
Nervio mediano			
Latencia	2,42	2,45	0,778
Duración	2,42	2,65	0,120
Amplitud	17,98	2,45	0,000
VCS	58,10	55,58	0,098
Nervio sural			
Latencia	2,43	2,59	0,140
Duración	2,33	2,45	0,134
Amplitud	19,21	3,47	0,000
VCS	59,84	51,78	0,045

potenciales sensitivos de los nervios mediano y sural entre el grupo de sujetos sanos y el de enfermos. Se observan diferencias estadísticamente muy significativas para las amplitudes de ambos nervios estudiados y en menor grado para la VCS del nervio sural, aunque ésta se mantiene dentro del intervalo de normalidad de esta variable. Sin embargo, para el resto de las variables analizadas no se detectaron diferencias estadísticamente significativas.

Las alteraciones más frecuentes detectadas en los PESS fueron latencias prolongadas con cambios en la morfología y la replicabilidad de los potenciales, mientras que en el reflejo H, además del incremento en las latencias, se encontraron amplitudes disminuidas. Por otra parte, en el 37,5% de los sujetos estudiados no se obtuvieron los potenciales sensitivos entre los 4-8 años posteriores al inicio de la enfermedad. El 58,3% de los pacientes no mostraron respuestas a la estimulación del nervio mediano y/o el tibial posterior, mientras que en el 47,05% de los pacientes no se detectó el reflejo H.

Correlación clínico-neurofisiológica

El análisis de correlación entre las variables electrofisiológicas (de los estudios de conducción, PESS y reflejo H), y los parámetros clínicos (grado de gravedad de la ataxia, el signo de Romberg y las alteraciones de los reflejos osteotendinosos) aparece reflejado en la tabla III. Se demostró que las latencias de los nervios mediano y sural, así como la del reflejo H y la de los componentes N20 y P40 fueron las variables que presentaron las correlaciones más significativas estadísticamente con estos parámetros clínicos. Con

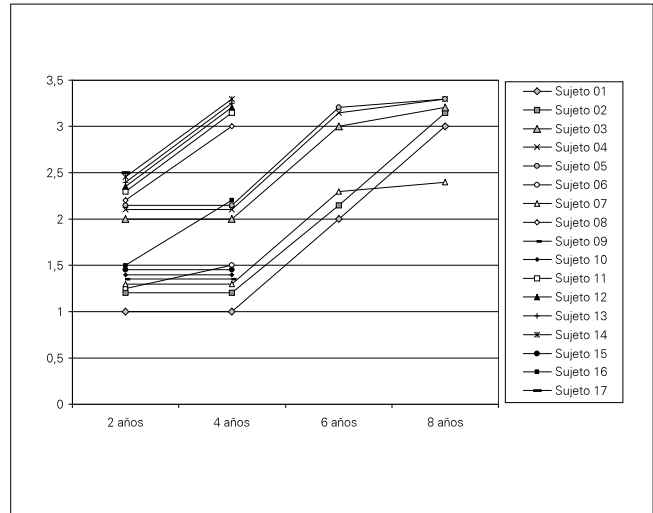


Figura 2. Curso evolutivo de la gravedad de la ataxia a través del tiempo.

Tabla III. Análisis de correlación entre algunos parámetros clínicos, tiempo de evolución y variables electrofisiológicas. Valores del coeficiente de correlación.

VARIABLES	LMS	AMS	LS	AS	LH	AH	LN20	LP40
Grado ataxia	0,78 ^a	-0,68 ^a	0,76 ^a	-0,51 ^a	0,70 ^a	-0,56 ^a	0,69 ^a	0,82 ^a
Reflejos OT	0,70 ^a	-0,60 ^a	0,74 ^a	-0,47 ^a	0,82 ^a	-0,49 ^a	0,49 ^a	0,61 ^a
Romberg	0,55 ^a	-0,42 ^a	0,46 ^a	-0,34	0,53 ^a	-0,35	0,54 ^a	0,60 ^a
T. de evolución	0,24	-0,40	0,23	-0,34	0,30	-0,30	0,12	0,20

^a Variables con p ≤ 0,05, el resto no fueron estadísticamente significativas; LMS: latencia del potencial sensitivo del nervio mediano; AMS: amplitud del potencial sensitivo del nervio mediano; LS: latencia del potencial del nervio sural; AS: amplitud del potencial del nervio sural; LH: latencia del reflejo H; AH: amplitud del reflejo H; LN20: latencia del componente N20 de los PESS de nervio mediano; LP40: latencia del componente P40 de los PESS de nervio tibial posterior.

el grado de gravedad de la ataxia, las que más correlacionaron fueron las latencias de los potenciales sensitivos (nervios mediano y sural), latencias del reflejo H y de los componentes N20 y P40. Sin embargo, con los reflejos osteotendinosos, se observó lo mismo para las variables del reflejo H y la latencia del potencial del nervio mediano. Con el signo de Romberg, el mayor nivel de significación se alcanzó para latencia de P40. Sin embargo, para el tiempo de evolución no se detectó nivel de correlación estadísticamente significativo con ninguna de las variables electrofisiológicas.

DISCUSIÓN

Primeras manifestaciones clínicas y su comportamiento a través del tiempo

El signo clínico cardinal para realizar el diagnóstico de la ataxia espinocerebelosa tipo 2 es la ataxia de la marcha, acompañada de otras manifestaciones clínicas de tipo cerebelosas (disartria, dismetría, adiadocinesia), así como trastornos de la motilidad ocular, de los reflejos osteotendinosos, etc. [6,18]. Este signo clínico se ha utilizado como marcador para cuantificar el proceso neurodegenerativo a través del tiempo, desde ligera hasta la forma grave en la cual el paciente necesita apoyo o no puede caminar. El análisis del comportamiento de la gravedad de la ataxia en nuestro estudio demostró el curso inexorablemente progresivo de la enfermedad en todos los pacientes. Los cambios en la intensidad de la ataxia, en los diferentes períodos estudiados, ocurrieron aproximadamente cada

dos años. Sin embargo, un grupo de estos pacientes evolucionó de forma más rápida hacia los estadios de mayor gravedad, lo que coincidió con una edad de inicio más temprana desde el punto de vista clínico y con un tamaño mayor en la cadena expandida, según los resultados moleculares. Este hecho evidenció que el efecto neurotóxico sobre las estructuras periféricas y centrales del sistema nervioso depende del tamaño de la expansión, dato que se ha comunicado también en otras familias no cubanas con ataxia espinocerebelosa tipo 2 y en la tipo 1 [8-10,19,20].

Otros autores han analizado el comportamiento evolutivo de la enfermedad a través del tiempo en la ataxia espinocerebelosa tipo 2 [6,18,21] y han demostrado el curso progresivo e invalidante en todos los enfermos, quienes, por otra parte, han quedado finalmente limitados al estado de postración.

La edad media de inicio de la enfermedad fue de 31,4 (con un intervalo de 4 a 73 años). En 1982, Harding [22] describió una edad media de inicio de 39,1 años en 11 familias estudiadas, cifra que resultó ser superior a la encontrada en nuestros enfermos. Por otra parte, Currier [23] comunicó una edad de inicio de 30 años, con valores que variaron entre 20 y 40 en la ataxia espinocerebelosa tipo 1, que sí se correspondió con la hallada en nuestro estudio. Estos resultados demuestran la variabilidad de la edad de inicio de la enfermedad a nivel intrafamiliar. Existen trabajos previos que sugieren el fenómeno de anticipación en las ataxias hereditarias dominantes, es decir, la aparición de las primeras manifestaciones clínicas en los nuevos enfermos a edades más tempranas que las generaciones precedentes [6,21,24].

La ataxia de la marcha se encontró en los 70 pacientes estudiados. Nuestros resultados coincidieron con los comunicados en otros estudios [6,18,25]. Harding [22] demostró que la ataxia de la marcha y la dismetría estuvieron presentes en el 100% de los casos estudiados. Otros autores informan de que se trata de un signo muy frecuente en las ataxias hereditarias [24,26,27]. Este signo clínico se explica por la degeneración del cerebelo y de los cordones posteriores demostrados por los estudios neuropatológicos y los PESS de nervios mediano y tibial posterior [2,14,21].

La dismetría, disartria cerebelosa y adiadococinesia fueron los otros signos clínicos encontrados en casi todos los enfermos. Estos hallazgos obedecen a la disfunción cerebelosa demostrada en los estudios anatomopatológicos realizados a pacientes fallecidos con ataxia espinocerebelosa tipo 2 [21].

Otros hallazgos clínicos presentes en nuestros enfermos fueron los movimientos sacádicos enlentecidos y los movimientos oculares limitados hacia arriba, abajo y horizontalmente. Wadia [28,29] encontró que todos sus enfermos presentaron movimientos oculares lentos; sin embargo, los de seguimiento sólo se afectaron en la fase final de la enfermedad. Este hecho también se observó en los pacientes estudiados por nosotros. Las alteraciones de los movimientos oculares sacádicos relacionadas con las ataxias hereditarias se han descrito en otros estudios [22,28,29]. Brown [30] comentó la existencia de movimientos oculares enlentecidos en algunos de sus casos. Las vías anatómicas que intervienen en los movimientos oculares son complejas y el conocimiento existente a cerca de ellas es incompleto; sin embargo, Harding [22] sugiere la existencia de un centro para la mirada vertical en el área pretectal en el colículo superior y otra para la horizontal en la formación reticular paramediana. A pesar de que las alteraciones degenerativas se encuentran a nivel del cerebelo y la protuberancia, existen también cambios morfológicos a nivel del mesencéfalo, lo que podría relacionarse con las alteraciones de los movimientos oculares en los enfermos. Por otra parte, la corteza cerebelosa desempeña un papel importante

en el control de los movimientos oculares sacádicos y de seguimiento, y—como es conocido— se afecta tempranamente en estos pacientes. Por otra parte, las lesiones corticales y subcorticales pueden ser también las responsables de estas alteraciones.

En nuestros pacientes el tono muscular estaba disminuido o normal y no se encontraron signos extrapiramidales (espasticidad ni rigidez de tipo extrapiramidal) en ninguno de los enfermos examinados; estos datos permiten diferenciar nuestros pacientes de los de las Islas Azores [21,27].

El temblor cinético de miembros superiores e inferiores fue otro de los hallazgos clínicos detectados en los enfermos estudiados. Eadie [25] menciona este signo como expresión de la degeneración del cerebelo y sus vías.

Las contracturas musculares dolorosas (*cramps*) aparecen desde estadios muy precoces en los sujetos portadores del gen. Los pacientes lo refieren en cualquier parte del cuerpo, aunque tienden a predominar en los músculos gemelos medial y lateral. Se supone la posibilidad de un origen neurogénico [24].

El signo de Romberg presente en algunos enfermos es la expresión de los fenómenos neurodegenerativos en el sistema cordonal posterior, dato corroborado por los estudios morfológicos y los resultados de los PESS de los nervios mediano y tibial posterior [13-15,21].

Los reflejos osteotendinosos mostraron gran variabilidad, lo cual fue descrito previamente por los estudios clínicos realizados por Orozco et al [6] en las familias cubanas; otros autores han descrito resultados similares [22,24]. La hiporreflexia y la arreflexia osteotendinosa se presentaron en los individuos de mayor tiempo de evolución, aunque en algunos se evidenciaron en estadios iniciales. Esta alteración obedece a la pérdida de las fibras propioceptivas Ia de grueso calibre, demostrado por los resultados de los estudios de conducción nerviosa periférica sensitiva.

El efecto neurotóxico de la mutación génica sobre el sistema motor piramidal se evidenció en los enfermos de más de ocho años de evolución y se caracterizó clínicamente por la hiperreflexia osteotendinosa, signo de Babinski y *clonus* del tobillo. En otras formas de ataxias, estos hallazgos clínicos se han descrito unidos a manifestaciones de tipo extrapiramidales [22,24,27]; sin embargo, la ausencia de éstas permitió diferenciar la ataxia espinocerebelosa 2 de la tipo 1 y 3.

Las alteraciones de la fascias encontradas en nuestros pacientes fueron descritas por otros autores que estudiaron la ataxia cerebelosa dominante cubana previamente [6]. Los trastornos de la sensibilidad superficial detectadas en nuestros pacientes obedecieron a alteraciones polineuropáticas. Hacia los estadios más avanzados de la enfermedad se encontraron alteraciones de la sensibilidad profunda (apalestesia). La existencia de ambos tipos de anomalías de la sensibilidad podría estar relacionada con la lesión degenerativa de las células de los ganglios de las raíces dorsales que provoca la degeneración de los axones tanto periféricos como centrales; ello se ha descrito en este tipo de ataxia hereditaria [13-15]. Numerosos autores [30-33] han demostrado, a través de los estudios de conducción nerviosa periférica, la existencia de neuropatía periférica de tipo axonal predominantemente sensitiva en los diferentes tipos de ataxias.

Estudios electrofisiológicos

Los resultados de los estudios de conducción nerviosa periférica mostraron una reducción de las amplitudes de los potenciales sensitivos. Estas alteraciones son expresión de una lesión periférica de tipo axonal.

McLeod y Evans [34] detectaron pacientes con alteraciones

de la conducción sensitiva. Cruz-Martínez et al [33,35] describieron una neuropatía axonal en pacientes con atrofia olivoponto-cerebelosa en los nervios mediano y sural. En otros estudios se encontraron signos de lesión nerviosa periférica de tipo axonomielínica con predominio sensitivo en pacientes con ataxia espinocerebelosa autosómica dominante [31,33,36].

Los estudios de conducción nerviosa sensitiva confirmaron que la alteración electrofisiológica fundamental en pacientes con ataxias hereditarias dominantes es una neuropatía axonal predominantemente sensitiva. Los resultados de los estudios histológicos obtenidos mediante biopsias de nervios periféricos evidenciaron una reducción o pérdida de las neuronas en los ganglios de la raíz dorsal, con la consiguiente disminución de fibras mielinizadas de mediano y grueso calibre que provoca atrofia y desmielinización de las raíces dorsales y degeneración de las fibras de las columnas posteriores de la médula espinal [32,35].

Chokroverty [32] atribuyó un origen metabólico a la neuropatía sensitiva detectada en las ataxias hereditarias dominantes y confirmó la naturaleza axonal de la misma. Este autor destacó que la gravedad de dicha neuropatía fue mayor en los casos con deficiencia de la enzima glutamato deshidrogenasa. Schols [37] demostraron la existencia de neuropatía periférica axonomielínica sensitiva en pacientes con ataxias espinocerebelosas tipo 1, 2 y 3, independientemente de la localización del gen productor de la enfermedad [2,21].

Es válido llamar la atención sobre el hecho de que nuestros hallazgos en los estudios de conducción nerviosa periférica sustentaron una neuropatía sensitiva predominantemente axonal, que se presenta desde etapas muy tempranas en los sujetos portadores del gen de esta entidad, incluso antes de enfermar. Ello pudo corroborarse por los estudios a través del tiempo realizados por Velázquez et al [14,38], en los cuales se sugiere que la lesión periférica inicial parece producirse en el ganglio de la raíz dorsal de la médula espinal con la consiguiente degeneración periférica y central; este hecho se ha demostrado por estudios histológicos en pacientes fallecidos con esta enfermedad.

Los PESS de nervio mediano se caracterizaron por la existencia de alteraciones en las latencias de los componentes N9, N13, N20, y de N13-N20, mientras que en los del nervio tibial posterior se concentraron en la latencia del componente P40 y el tiempo de conducción central (L1-P40). Debemos destacar que, unido a las alteraciones cuantitativas de los PESS, hemos observado en estos estudios morfologías atípicas y mala replicabilidad. Estas alteraciones sugieren el compromiso de las vías sensoriales largas intraxialmente por una probable lesión axonomielínica en fibras de grueso calibre.

La literatura neurofisiológica internacional ha documentado gran variedad de alteraciones en los componentes de los PESS para las ataxias cerebelosas. Todos estos estudios sufrieron la escasez de casos de ataxia y de la heterogeneidad del síndrome y, por lo tanto, utilizaron pacientes con ataxia de Friedreich, ataxia telangiectásica y las formas dominantes en diferentes etapas de la enfermedad [39-43].

El análisis del reflejo H mostró básicamente dos tipos de respuestas anormales: latencias prolongadas con amplitudes disminuidas y la ausencia de potencial. La primera sugiere una lesión axonomielínica en fibras propioceptivas Ia de grueso calibre debido a la pérdida de las neuronas del ganglio de la raíz dorsal y la segunda, un bloqueo en la conducción aferente. La bibliografía consultada señaló como alteraciones básicas las latencias prolon-

gadas y la ausencia de respuestas como expresión de las anomalías degenerativas axonomielínicas en las porciones proximales del sistema nervioso periférico.

Chokroverty et al [32] encontraron latencia del potencial H prolongada y el bloqueo total de la conducción. Por otro lado, Cruz-Martínez et al [35] describieron este mismo comportamiento en otro grupo de pacientes con ataxias hereditarias dominantes de comienzo tardío.

Análisis de la correlación entre las variables clínicas y electrofisiológicas

Con el objetivo de demostrar el grado de relación entre algunos parámetros clínicos y electrofisiológicos se correlacionaron la ataxia (por grados de gravedad), reflejos aquileo y el signo de Romberg con las latencias y amplitudes de los estudios de conducción nerviosa periférica, PESS, onda F y reflejo H. El signo clínico más frecuentemente observado en estos enfermos fue la ataxia de la marcha, hecho que coincide con los estudios realizados en este tipo de ataxia y en otros también [6,24]. La alta correlación estadísticamente significativa observada entre ésta y las latencias y amplitudes de los potenciales sensitivos, del reflejo H y de los PESS, sugieren que el efecto degenerativo en los nervios periféricos sensitivos (como consecuencia de la lesión del ganglio de la raíz dorsal) y el daño axonomielínico de los cordones posteriores de la médula espinal, también contribuyeron a la gravedad de la ataxia con el progreso de la enfermedad, de ahí la correlación positiva con las latencias (a mayor latencia, mayor grado de gravedad de la ataxia) y negativa con las amplitudes (a menor amplitud, mayor gravedad). En los estadios finales, que se correspondió con el grado de mayor gravedad de la enfermedad desde el punto de vista clínico, se observó el bloqueo total de la conducción nerviosa aferente, que, a su vez, representó el nivel de mayor alteración electrofisiológica.

El signo de Romberg mostró una correlación altamente significativa con las variables latencia de N20 y P40, lo que corroboró el posible efecto de la lesión a nivel cordonal posterior como causa del mismo. Sin embargo, se observó un nivel de correlación similar con algunas de las variables que exploran el estado funcional de los nervios periféricos sensitivos, hecho que sugirió que la degeneración de las neuronas del ganglio de la raíz dorsal provoca la pérdida de las fibras periféricas y centrales simultáneamente.

Los disminuciones del reflejo aquileo mostró los mayores niveles de correlación altamente significativos con la latencia y amplitud del reflejo H. Este estudio neurofisiológico representa la cuantificación de dicho parámetro clínico y es el resultado de la transmisión segmentaria a través de un arco reflejo que implica las conexiones monosinápticas aferentes y eferentes [34]; de ahí que, clínicamente, se exprese por la hiporreflexia y la arreflexia aquilea y, electrofisiológicamente, por diversos grados de alteraciones de la latencia y la amplitud.

La correlación de las variables clínicas y electrofisiológicas demostraron nuevas formas de comprender la expresión fisiopatológica de la enfermedad y sus cambios a través del tiempo. Los autores que han realizado estos análisis en otras formas clínicas y moleculares se limitaron básicamente a correlacionar el grado de ataxia de la marcha con los PESS de nervio tibial posterior y el resultado de los estudios morfológicos con las alteraciones clínicas en los pacientes fallecidos [44].

BIBLIOGRAFÍA

- Vallés CL, Estrada GR, Basterrechea SL. Algunas formas de heredo-ataxias en una región de Cuba. *Rev Neurología (Cubana)* 1978; 27: 163-76.
- Estrada R, Vallés L, Galarraga J. Heredoataxias. Estudio neuropatológico en 3 casos. *Rev Cub Medic* 1980; 19: 225-37.
- Vallés L. Algunas formas de enfermedades heredo-degenerativas espinocerebelosas vistas en el norte de Oriente: Análisis de 72 familias con 11.505 miembros. Estudio epidemiológico, descriptivo y transversal de 1970. [Trabajo para optar por el título de Especialista en Neurología]. Instituto de Neurología y Neurocirugía. La Habana, 1974.
- Veguera SR. Alteraciones de la motilidad ocular en las enfermedades

- heredo-degenerativas espinocerebelosas tipo Pierre Marie del norte de Oriente. Estudio prospectivo de 30 casos. [Tesis para optar por el título de Especialista en Neurología]. Hospital Provincial Docente 'Vladimir Ilich Lenin'. Holguín, 1977.
5. Cordovés, SR. Estudio clínico epidemiológico de las enfermedades heredo-degenerativas espinocerebelosas tipo Pierre Marie en un área de salud de la provincia de Holguín. [Trabajo para optar por el título de especialista de primer grado en Medicina Interna]. Hospital Provincial Docente 'Vladimir Ilich Lenin'. Holguín, 1981.
 6. Orozco DG, Nodarse FA, Cordovés R, Aurburger G. Autosomal dominant cerebellar ataxia: Clinical analysis of 263 patients from a homogeneous population in Holguín, Cuba. *Neurology* 1990; 40: 1369-75.
 7. Gispert S, Twells R, Orozco G, Brice A, Wever J, Heredero L. Chromosomal assignment of the second locus for autosomal dominant cerebellar ataxia (SCA2) to chromosome 12q23-24.1. *Nat Genet* 1993; 4: 295-9.
 8. Imbert G, Saudou F, Yvert G, Devys D, Troyyier Y, Garnier JM, et al. 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.
 9. Pulst MS, Nechiporuk A, Nechiporuk T, Gispert S, Chen NX, Cendes LI, et al. Moderate expansion of a normally biallelic trinucleotide repeat in spinocerebellar ataxia type 2. *Nat Genet* 1996; 14: 269-76.
 10. Sanpei K, Takano H, Igarashi S, Sato T, Oyake M, Sasaki H, et al. 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.
 11. Nodarse A, Orozco DG, Gutiérrez S, Coutin P. Clinical electrophysiological correlation in patients with hereditary ataxia and asymptomatic relatives. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1987; 66: 573.
 12. Velázquez PL. Caracterización neurofisiológica en familiares asintomáticos y en enfermos de la ataxia espinocerebelosa tipo 2. [Tesis para optar por el Grado Científico de Dr. en Ciencias Médicas]. Hospital Provincial Docente 'Vladimir Ilich Lenin'. Holguín, 1998.
 13. Velázquez PL, Orozco DG. Ataxia cerebelosa dominante cubana. Estudios de conducción de nervios periféricos en pacientes y familiares asintomáticos. *Rev Medicina (Buenos Aires)* 1999; 59: 63-6.
 14. Velázquez L, Medina EE. Características electrofisiológicas en familiares asintomáticos de enfermos con ataxia espinocerebelosa tipo 2. *Rev Neurol* 1998; 27: 955-63.
 15. Velázquez L, Medina EE. Evaluación neurofisiológica en pacientes afectados por ataxia espinocerebelosa tipo 2. *Rev Neurol* 1998; 27: 921-6.
 16. Denny BD. Handbook of neurological examination and case recording. 3 ed. Cambridge: Harvard University Press; 1960.
 17. American Electroencephalographic Society. Guidelines for clinical evoked potential studies. *J Clin Neurophysiol* 1984; 1: 11-4.
 18. Orozco G, Nodarse A, Cordovés R, Aurburger G, Estrada R. Study of 225 patients with autosomal dominant cerebellar ataxia: Presumed founder effect in the province Holguín, Cuba. In Plaitakis J, ed. *Hereditary ataxias*. Berlin: Springer-Verlag; 1989. p. 345-60.
 19. Monk S. Genomic structure of the human gene for spinocerebellar ataxia type 2 (SCA2) on chromosome 12q24.1. *Genomics* 1998; 47: 359-64.
 20. Orr HT, Chung M, Banfi S, Kwiatkowski TJ, Servadio A, Beaudet AL, et al. Expansion of an unstable trinucleotide CAG repeat in spinocerebellar ataxia type 1. *Nat Genet* 1992; 4: 221-6.
 21. 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.
 22. Harding AE. The clinical features and classification of the late onset autosomal dominant cerebellar ataxy. A study of 11 families, including descendants of the drew family of Walworth. *Brain* 1982; 105: 1-28.
 23. Currier R. Spinocerebellar ataxy. Study of a large kindred I. General information and genetics. *Neurology* 1972; 22: 1040-3.
 24. Schut JW. Hereditary ataxia. Clinical study through six generations. *Arch Neurol Psychiatry* 1950; 63: 535-68.
 25. Eadie MJ. Olivoponto-cerebellar atrophy (Menzel type). In Vinken PJ, Bruyn GW, eds. *Handbook of clinical neurology*. Amsterdam: North Holland Publishing; 1975. p. 433-9.
 26. Eadie MJ. Cerebello-olivary atrophy (Holmes type). In Vinken PJ, Bruyn GW eds. *Handbook of clinical neurology*. Amsterdam: North Holland Publishing; 1975. p. 403-14.
 27. Countinho P, Andrade C. Autosomal dominant system degeneration in Portuguese families of the Azores Island. A new genetic disorder involving cerebellar, pyramidal, extrapyramidal and spinal cord motor functions. *Neurology* 1978; 28: 703-9.
 28. Wadia NH, Seami RK. The new form of heredo-familial spinocerebellar degeneration with slow eye movements. *Brain* 1971; 94: 359-74.
 29. Wadia NH. A variety of olivopontocerebellar atrophy distinguished by slow eye movements and peripheral neuropathy. In Duvoisin RC, ed. *The olivopontocerebellar atrophies*. New York: Raven Press; 1984. p. 149-77.
 30. Brown S. On hereditary ataxy, with series of twenty-one cases. *Brain* 1892; 15: 250-82.
 31. Carenni GL, Finocchiaro G, Di Donato S, Visciani A, Negri S. Electromyography and nerve conduction study in autosomal dominant olivopontocerebellar atrophy. *J Neurol* 1984; 231: 34-7.
 32. Chokroverty S, Duvoisin RC, Sachdeo R, Saje J, Lepore F, Nicklas W. Neurophysiologic study of olivoponto-cerebellar atrophy with or without glutamate dehydrogenase deficiency. *Neurology* 1985; 35: 652-8.
 33. Cruz Martínez A, Arpa J, Alonso M, Palomo F, Villoslada C. Transcranial magnetic stimulation in multiple septum and late onset cerebellar atrophies. *Acta Neurol Scand* 1995; 92: 218-24.
 34. McLeod JG, Evans WA. Peripheral neuropathy in spinocerebellar degenerations. *Muscle Nerve* 1981; 4: 51-61.
 35. Cruz MA, Anciones B, Ferrer MT, Tejedor ED, Pérez Conde MC, Barreiro P. Electrophysiological study in olivopontocerebellar atrophy. *Electromyogr Clin Neurophysiol* 1987; 27: 67-71.
 36. Rossi GA, Ciacci G, Federico A, Mondelli M, Rizzuto N. Sensory and motor peripheral neuropathy in olivopontocerebellar atrophy. *Acta Neurol Scand* 1986; 73: 363-71.
 37. Schols L. Autosomal dominant cerebellar ataxia type I. Nerve conduction and evoked potential studies in families with SCA1, SCA2 and SCA3. *Brain* 1997; 120: 2141-8.
 38. Velázquez PL, Orozco DG. Caracterización neurofisiológica en familiares asintomáticos y en enfermos de la ataxia espinocerebelosa. *Rev CNIC* 1997; 28: 137-9.
 39. Beltinger A, Riffel B, Stohr A. Somatosensory evoked potentials following median and tibial nerve stimulation in patients with Friedreich's ataxia. *Eur Arch Psychiatry Neurol Sci* 1987; 236: 358-63.
 40. Lelli S, Trevisan C, Negrin P. Ataxia-telangiectasia. Neurophysiological studies in 8 patients. *Electromyogr Clin Neurophysiol* 1995; 35: 311-5.
 41. Nuwer MR, Perlman SL, Packwood WJ, Kark RA. Evoked potential abnormalities in the various inherited ataxias. *Ann Neurol* 1983; 13: 20-7.
 42. Okajima Y, Chino N, Saitoh E, Tsubahara A, Kimura A, Mihara B. Two types of abnormal somatosensory evoked potentials in chronic cerebellar ataxias. *Am J Phys Med Rehabil* 1991; 70: 96-100.
 43. Rossino PM, Cracco JB. Somatosensory and brainstem auditory evoked potentials in neurodegenerative system disorders. *Eur Neurol* 1987; 26: 176-88.
 44. Soong BW, Link KP. Correlation of peripheral nerve fiber loss and trinucleotide repeats in Machado-Joseph disease. *Can J Neurol Sci* 1998; 25: 59-63.

ESTUDIO CLÍNICO-NEUROFISIOLÓGICO DE 70 ENFERMOS CON ATAXIA ESPINOCEREBELOSA TIPO 2

Resumen. Introducción. La prevalencia de la ataxia hereditaria en Holguín, Cuba, es de 43 por 100.000 habitantes, pero existen regiones donde alcanza 503 por 100.000 habitantes, cifra nunca antes comunicada en la literatura internacional. Objetivos. Evaluar la participación de estructuras y vías no cerebelosas en la producción de algunos signos clínicos de la enfermedad a través de la correlación clínico-electrofisiológica. Pacientes y métodos. Se realizó un examen neurológico, así como estudios de conducción nerviosa periférica y potenciales evocados somatosensoriales de nervios mediano y tibial posterior a 70 enfermos con ataxia espinocerebelosa tipo 2. Resultados. Los signos clínicos más frecuentes fueron ataxia de la marcha, disartria, dismetría y adiadocinesia. El análisis de correlación demostró que con el grado de ataxia y con el signo de Romberg, la variable

ESTUDO CLÍNICO-NEUROFISIOLÓGICO DE 70 DOENTES COM ATAXIA ESPINOCEREBELOSA TIPO 2

Resumo. Introdução. A prevalência da ataxia hereditária de Holguín, Cuba, é de 43 por 100.000 habitantes, mas existem regiões onde alcança 503 por 100.000 habitantes, valor nunca antes reportado na literatura internacional. Objetivos. Avaliar a participação de estruturas e vias não cerebelosas na produção de alguns sinais clínicos da doença através da correlação clínico-electrofisiológica. Doentes e métodos. Realizou-se um exame neurológico, assim como estudos de condução nervosa periférica e potenciais evocados somatossensoriais dos nervos mediano e tibial posterior a 70 doentes com ataxia espinocerebelosa tipo 2. Resultados. Os sinais clínicos mais frequentes foram ataxia da marcha, disartria, dismetria e adiadocinesia. A análise de correlação demonstrou que a variável que mais significativamente se correlacionou com o grau de ataxia

que correlacionó más significativamente fue la latencia del componente P40, mientras que con las alteraciones de los reflejos osteotendinosos fue la latencia del reflejo H. Sin embargo, para el tiempo de evolución no se detectó un nivel de correlación estadísticamente significativo. Conclusiones. Estos resultados sugieren que la degeneración en nervios periféricos y vías sensoriales largas contribuye a la gravedad de la ataxia y del resto de los signos clínicos. El tiempo de evolución no se relaciona con el aumento de las alteraciones electrofisiológicas, por lo que no parece tener un efecto importante sobre los mecanismos neurodegenerativos. [REV NEUROL 2000; 30: 109-15] [<http://www.revneurologia.com/3002/i020109.pdf>]

Palabras clave. Ataxia. Ataxia cubana. Ataxia espinocerebelosa tipo 2. Electrofisiología.

e com o sinal de Romberg foi a latência do componente P40, enquanto que com as alterações dos reflexos osteotendinosos foi a latência do reflexo H. Contudo, para o tempo de evolução, não se detectou um nível de correlação estatisticamente significativo. Conclusões. Estes resultados sugerem que a degenerescência em nervos periféricos e vias sensoriais longas contribui para a gravidade da ataxia e dos restantes sinais clínicos. O tempo de evolução não se relaciona com o aumento das alterações electrofisiológicas, pelo que não parece ter um efeito importante sobre os mecanismos neurodegenerativos. [REV NEUROL 2000; 30: 109-15] [<http://www.revneurologia.com/3002/i020109.pdf>]

Palavras chave. Ataxia. Ataxia cubana. Ataxia espinocerebelosa tipo2. Electrofisiologia.

Evaluación neurofisiológica en pacientes afectados por ataxia espinocerebelosa tipo 2

L. Velázquez^a, E.E. Medina^b

NEUROPHYSIOLOGICAL ASSESSMENT OF PATIENTS WITH TYPE 2 SPINOCEREBELLAR ATAXIA

Summary. Introduction. Type 2 spinocerebellar ataxia (SCA₂) is the condition most often described (to date) in patients with hereditary ataxia, its prevalence being 52 per 100,000 persons. Objective. In patients with SCA₂ neurogenic patterns are identified by means of electrophysiological techniques. Patients and methods. A transverse study was made of 70 persons with SCA₂ of different periods of duration and from different regions of the country. The control group was made up of 108 volunteers. Electrophysiological recordings made were: conventional and quantitative electromyography, late F wave and H reflex responses. Multivariate methods with a confidence interval of 95% ($\alpha=0.05$) were used for statistical analysis. Results. Conventional electromyography showed a pattern of isolated contractions, predominantly in patients who had had the disorder ≤ 5 years, classified as Grade I by the authors; in those with a history of >5 years there was a pattern of very isolated contractions with motor potentials of amplitudes $>10 \mu V$, without denervation, classified as Grade II. The patients with worse clinical condition were concentrated in this latter group. Significant differences were observed between Groups I, II and control and also regarding the late responses of the F wave and H reflex. Conclusions. For the first time two types of neurogenic patterns of SCA₂ have been established to describe alterations which denote participation of the first and second motor neurones [REV NEUROL 1998; 27: 921-6]. **Key words.** Electromyography. F wave. H reflex. Spinocerebellar ataxia. Spinocerebellar degeneration.

INTRODUCCIÓN

Las ataxias espinocerebelosas dominantes se caracterizan por su heterogeneidad clínica y genética. Desde el punto de vista anatomopatológico, presentan degeneración de los tractos ascendentes y descendentes de la médula espinal, el cerebelo y la oliva. Clínicamente se manifiestan por síntomas y signos dependientes del sustrato anatómico donde predomine la degeneración [1-6].

Los estudios moleculares permitieron definir seis formas moleculares de ataxias hereditarias, las cuales fueron designadas numéricamente desde la ataxia espinocerebelosa tipo 1 a la 6. La mutación génica para los tipos 1, 2 y 3 consistió en una expansión inestable del trinucleótido CAG con probable efecto tóxico sobre las neuronas [4,7-9].

En Cuba, la ataxia espinocerebelosa tipo 2 (AEC₂) ha constituido el segundo avance de la genética molecular en importancia para las ataxias hereditarias. Ésta representa el grupo más numeroso de enfermos descritos hasta el momento, con una prevalencia >42 por 100.000 habitantes [1,2,10].

Orozco et al [1,10] describieron como principales manifestaciones clínicas la ataxia de la marcha, dismetría, adiadococinesia y disartria cerebelosa. El 50% de los pacientes presentaron calambres, movimientos oculares limitados y sacádicos enteltecidos, hipotonía y reflejos osteotendinosos anormales. Dichos autores comunicaron la ausencia de rigidez, espasticidad, atrofia óptica, retinopatía y demencia.

A pesar de los avances logrados en las investigaciones clínicas, epidemiológicas y moleculares en la AEC₂, aún permanecen sin dilucidar múltiples interrogantes con relación a las caracterís-

ticas degenerativas, marcadores neurofisiológicos y predicción pronóstica, entre otras.

En la última década se ha producido un rápido progreso en la neurofisiología clínica, vinculado estrechamente al desarrollo de la electrónica y la informática. Estas técnicas neurofisiológicas ofrecen nuevas posibilidades para el diagnóstico y seguimiento de forma evolutiva en el tiempo de las afecciones neurológicas [11-13].

Entre esas técnicas se encuentra la electromiografía, que comprende el registro de la actividad espontánea o voluntaria de las fibras musculares; por tanto, el análisis del estado de reposo, las características de los potenciales de unidad motora, el reclutamiento y el patrón de contracción, brindan información del estado funcional de la parte motora del aparato neuromuscular. En los últimos diez años se han implementado técnicas de análisis cuantitativo de las señales electromiográficas destinadas fundamentalmente al examen automatizado del patrón por interferencia y de los potenciales de unidad motora [11,13-15].

Las respuestas tardías permiten evaluar las porciones más proximales y los segmentos interespinales del aparato neuromuscular, y se han utilizado ampliamente para obtener información objetiva del estado funcional del sistema nervioso [16,17].

Por ser esta enfermedad neurológica un problema de salud que demanda la vinculación científica, se propuso identificar con técnicas electrofisiológicas la existencia de patrones neurógenos en enfermos de AEC₂. Se incluyeron pacientes de diversas regiones del país y a su vez se extendió la experiencia a varios laboratorios de la Red Nacional de Neurofisiología Clínica.

PACIENTES Y MÉTODOS

Se estudiaron 70 enfermos con AEC₂ caracterizados molecularmente, con síntomas y signos bien definidos y tiempos de evolución variable. De ellos, 36 pertenecían al sexo masculino y 34 al femenino, con una edad media de 40 años, rango de 16-75. El grupo control lo conformaron 108 sujetos voluntarios. Ambos grupos consintieron en ser incluidos en el estudio tras ser informados. Un total de 32 pacientes procedían de la provincia de Holguín y 38 de otras regiones del país, la mayoría de estos últimos con familiares procedentes de esa provincia del oriente cubano. El diagnóstico se realizó a partir de los criterios clínicos y genéticos.

Recibido: 27.07.98. Recibido en versión revisada: 01.08.98. Aceptado: 04.08.98.

^a Laboratorio de Neurofisiología Clínica. Hospital Docente Provincial Vladimir Ilich Lenin. Holguín. ^b Departamento de Neurofisiología Clínica. Hospital General Dr. Luis Díaz Soto. La Habana, Cuba.

Correspondencia: Dr. Luis Velázquez Pérez. Hospital Docente Vladimir Ilich Lenin. Avda. Lenin, s/n. Holguín 80100, Cuba.

© 1998, REVISTA DE NEUROLOGÍA

Tabla I. Respuestas tardías onda F y reflejo H en sujetos controles y enfermos de AEC₂.

Variables	Grupo control (n= 35)	Enfermos (n= 50)
Onda F		
Latencia mínima	38,15	40,81 ^a
Latencia máxima	42,82	44,36 ^a
Latencia mínima-latencia onda M	27,39	29,66 ^b
Latencia máxima-latencia onda M	32,06	33,09
Reflejo H		
Latencia	26,35	30,60 ^b
Amplitud	1,82	0,29 ^b

^ap≤0,01; ^bp≤0,001.

Examen clínico

Todos los enfermos presentaron ataxia de la marcha como síntoma inicial, disartria cerebelosa, dismetría, adiadococinesia, calambres, hipotonía, reflejos osteotendinosos anormales y movimientos oculares limitados. Ninguno de ellos presentó atrofia óptica, espasticidad ni degeneración retiniana. Se excluyeron los pacientes con historia de alcoholismo, hipertiroidismo, ingestión de anticonvulsivos crónicos u otras afecciones que primaria o secundariamente afectaran al sistema nervioso.

El examen clínico se realizó según los parámetros utilizados en la Clínica de los Hermanos Mayo [18].

Estudios electrofisiológicos

Electromiograma convencional (EMGc)

Se realizó con electrodos de agujas concéntricas en los músculos flexor radial del carpo, abductor corto del pulgar, deltoides, tibial anterior y gemelo medial. Se registró la actividad de reposo, los potenciales de unidad motora (PUM) durante la contracción ligera del músculo y el patrón de contracción al máximo esfuerzo. Se empleó un tiempo de análisis de 300 ms y una sensibilidad variable entre 50 y 1.000 μ V/división. Los filtros entre 20 Hz y 10 kHz. Se utilizó un electromiógrafo DISA de un canal modelo 14 A 11.

El patrón electromiográfico fue considerado normal cuando la actividad postinsercional presentó una duración de 200-300 ms, ausencia de desnervación en reposo, PUM normales en morfología y amplitudes entre 1 y 4 mV [19].

El electromiograma en los enfermos fue dividido por los autores teniendo en cuenta el tiempo de evolución, las características de los PUM y el patrón de contracción en dos grados:

- *Grado I.* Actividad postinsercional prolongada, patrón de contracción aislado, PUM normales y reclutamiento disminuido.
- *Grado II.* Actividad postinsercional prolongada, PUM polifásicos, amplitudes por encima de 5 mV (hasta 15 o más mV). Patrón de contracción muy aislado casi a oscilaciones simples.

Electromiograma cuantitativo (EMGq)

Se realizó en el músculo deltoides a partir del análisis del patrón por interferencia (PI) con la utilización de parámetros comunicados por otros autores [15,20]. Se consideraron las siguientes variables:

- *Amplitud del centil superior* (UCA, del inglés *Upper Centil Amplitude*). Se utilizó para cuantificar la amplitud que es superada sólo por el 1% de todos los segmentos contenidos en una época de la señal electromiográfica. Representa los potenciales de mayor amplitud contenidos en la señal electromiográfica, es decir, la amplitud de la envolvente.
- *Actividad.* Es la cuantificación de la presencia de PUM dentro del segmento de la señal obtenida (1 segundo). Se trata de separar las zonas que verdaderamente contienen actividad contráctil, de aquellas en las que sólo existe la línea de base. Se expresó en porcentaje.

Onda F

Se realizó según la descripción clásica [21]. Se estimuló de forma supramaximal el nervio peroneo profundo a nivel de la cabeza del peroné proximalmente con un pulso eléctrico de 0,1 ms de duración. La onda M fue primeramente registrada para tener la seguridad de que el estímulo aplicado era supramaximal. La sensibilidad empleada fue de 0,2 mV por división, velocidad de barrido de 10 ms/div. Se registraron un total de 20 trazos con una frecuencia de 1 Hz. El registro se efectuó a nivel del músculo extensor corto de los dedos con electrodos de superficies. Se analizaron las variables latencia mínima y máxima, así como la diferencia entre estas latencias y la de la onda M. Se expresaron en ms.

Reflejo H

Se estimuló el nervio tibial posterior a nivel del punto medio de la fosa poplíteica. Se empleó un estimulador bipolar de superficie TECA TE-4 y se siguió la técnica clásica descrita [22]. La intensidad del estímulo varió entre 30-40 V, mientras que la duración empleada fue de 0,1 ms, la frecuencia de estimulación fue de un estímulo por segundo. El sitio de registro se ubicó a nivel del vientre del músculo gemelo medial y el de referencia en la porción distal del tendón de Aquiles, mientras que la tierra se colocó entre los sitios de registro y estimulación. Se obtuvieron dos réplicas en ambas piernas y se analizaron las variables latencia (ms) y amplitud (μ V).

Estos registros fueron realizados en la Neurónica 02 (sistema computado-rizado para potenciales evocados y electromiografía) de la firma Neuronic SA.

Análisis de los datos

Se realizó análisis de varianza para las variables de las respuestas tardías (onda F y reflejo H) con relación al grupo control para evaluar diferencias estadísticas entre ambos, mientras que para el EMGq se tuvo en cuenta la clasificación del patrón neurógeno en dos grados y se realizó un análisis de varianza multivariado entre ellos y el grupo de sujetos controles con el propósito de conocer el comportamiento de la actividad electromiográfica cuantificada y el valor de máxima amplitud que permitiera definir objetivamente un patrón neurógeno en los enfermos.

RESULTADOS

Examen neurológico

El examen neurológico demostró la existencia de ataxia de la marcha, dismetría, disartria cerebelosa y adiadococinesia en el 100% de los pacientes. En el 51% de ellos se detectaron calambres, temblores, movimientos oculares limitados, movimientos sacádicos enlentecidos, hipotonía y reflejos osteotendinosos anormales. Estos elementos clínicos unidos a los antecedentes familiares permitieron considerarlos como enfermos de AEC₂.

Estudio neurofisiológico

La comparación de las medias para las variables de la onda F entre el grupo control y el grupo de enfermos mostró alteraciones significativas para la latencia mínima y la diferencia entre ésta y la latencia de la onda M del potencial motor. Otras alteraciones detectadas fueron la ausencia de respuesta y la disminución de la cantidad de ondas F (Fig. 1).

Sin embargo, las dos variables del reflejo H (latencia y amplitud) evidenciaron diferencias significativas para los enfermos con incremento en la latencia y disminución de la amplitud (Tabla I) (Fig. 2).

La tabla II muestra los resultados del electromiograma convencional. En el grupo de sujetos enfermos con tiempo de evolución igual o menor a cinco años detectamos en 42 de ellos (61,65%) un patrón de contracción aislado con amplitudes normales, reclutamiento disminuido y potenciales de unidad motora con amplitud, morfología y duración normales. En estado de reposo no se evidenciaron signos de desnervación. A este patrón electromiográfico se le denominó patrón neurógeno grado I

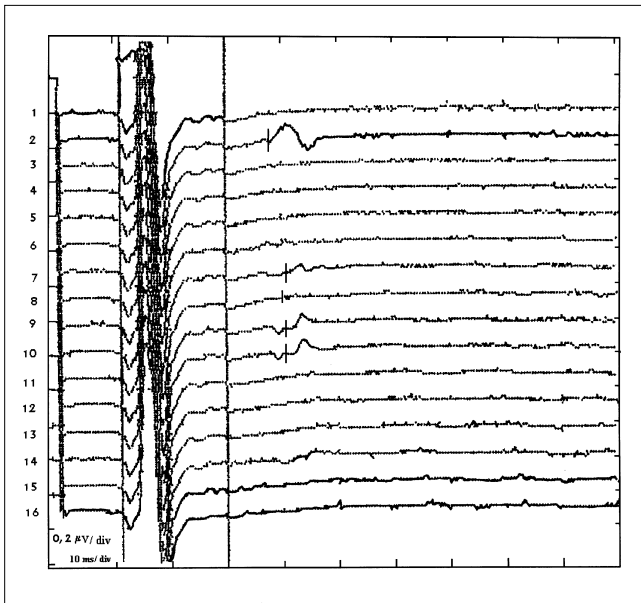


Figura 1. Registro de onda F en enfermo con AEC₂. Se observa la disminución de ondas obtenidas a partir de un tren de 16 estímulos. ms/div= milisegundos por división; µV/div= microvoltios por división.

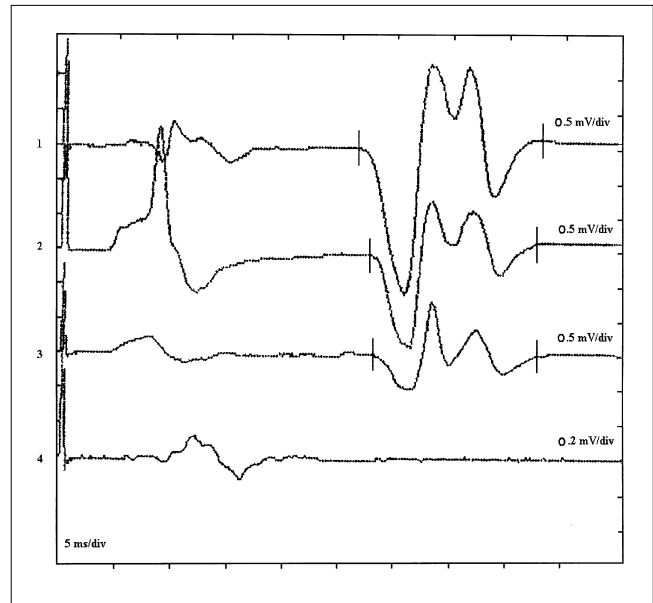


Figura 2. Comportamiento de la respuesta del reflejo H en un enfermo de AEC₂. Trazo 1: respuesta normal en sujeto del grupo control. Trazo 2: registro con amplitud disminuida en un enfermo de AEC₂. Trazo 3: significativa disminución de la amplitud con prolongación de la latencia en estudio evolutivo. Trazo 4: ausencia de respuesta. ms/div= milisegundos por división; µV/div= microvoltios por división.

Tabla II. Características del electromiograma convencional en enfermos de AEC₂.

Patrón	Enfermos	%
Grado I	42	61,65
Grado II	22	32,57
Normales	4	5,78
Total	68	100,00

Grado I: se refiere al patrón electromiográfico neurógeno de topografía central; Grado II: significa un patrón neurógeno de topografía en neurona motora inferior.

Tabla III. Análisis cuantitativo electromiográfico del patrón por interferencia en sujetos controles y en enfermos de AEC₂ en relación con los grados I y II a partir de los resultados del EMG convencional.

Variabes	Grado I	Grado II	Grupo control	p
Actividad	41,42	36,33	63,33	0,000
UCA	2,73	5,00	2,40	0,000

Sujetos controles: n= 35; sujetos enfermos, n= 64; p≤ 0,05; UCA (*Upper Centil Amplitude*): representa los potenciales con mayor amplitud contenidos en la señal electromiográfica, es decir, la amplitud de la envolvente.

(Fig. 3), mientras que en los sujetos con mayor tiempo de evolución predominó un reclutamiento enlentecido con amplitudes altas (mayores de 5 mV), patrón de contracción muy aislado, en algunos casos hasta oscilaciones simples, y potenciales de unidad motora polifásicos. En este subgrupo no se constataron signos de lesión axonal. A este patrón se le denominó patrón neurógeno grado II (Fig. 4) y fueron detectados 22 pacientes (32,57%). Este último patrón se correspondió con las manifestaciones clínicas más graves, muchos con imposibilidad para realizar la marcha y otros que necesitaban apoyo. En otros cuatro pacientes el electromiograma fue normal.

Teniendo en cuenta la clasificación realizada sobre la base de los hallazgos en el electromiograma convencional, se estableció una comparación entre los grados I y II para las variables actividad y UCA del electromiograma cuantitativo (Tabla III). Se observaron diferencias estadísticamente significativas entre las comparaciones realizadas. Los valores más altos de la UCA y los de actividad más disminuidos coincidieron con el patrón neurógeno denominado como grado II (Fig. 5).

Los valores del estadígrafo F y la probabilidad asociada para

las variables de los diferentes estudios realizados entre los enfermos, teniendo en cuenta el lugar de procedencia, no mostró diferencias significativas.

DISCUSIÓN

Electromiograma convencional

Los resultados obtenidos sustentaron la existencia de un patrón neurógeno en los sujetos enfermos, el cual se dividió en dos grados dependiendo de las características de los PUM y del patrón de contracción. En los pacientes con manifestaciones iniciales de la enfermedad, y por tanto con menor tiempo de evolución, apareció un patrón de contracción aislado con disminución del reclutamiento de las unidades motoras. Este tipo de patrón reveló una lesión central en el sistema piramidal que limita la llegada de la información eferente hasta las motoneuronas del asta anterior y, probablemente, una lesión temprana en dichas neuronas, y que explica las manifestaciones de un síndrome piramidal en el 15% de los pacientes. En el patrón neurógeno grado II, que constituyó una consecuencia evolutiva del anterior, predominaron los PUM

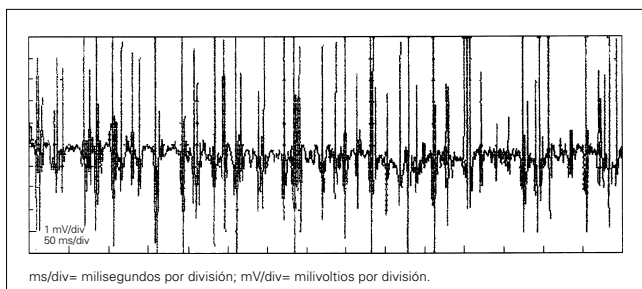


Figura 3. Patrón electromiográfico neurógeno grado I de un enfermo de AEC₂ con tiempo de evolución de tres años. Se caracteriza por un patrón de contracción aislado con disminución del reclutamiento.

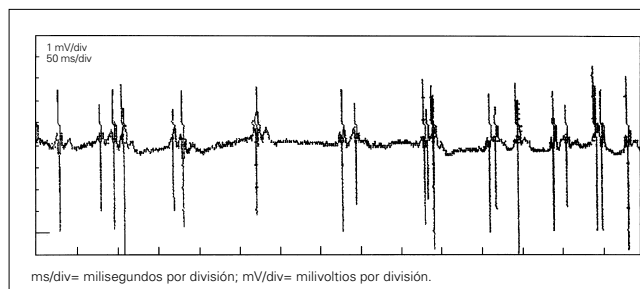


Figura 4. Patrón electromiográfico neurógeno grado II en un enfermo de AEC₂ con tiempo de evolución de diez años. Se caracteriza por un patrón de contracción significativamente aislado con disminución del reclutamiento y potenciales de unidades motoras de 8 mV de amplitud.

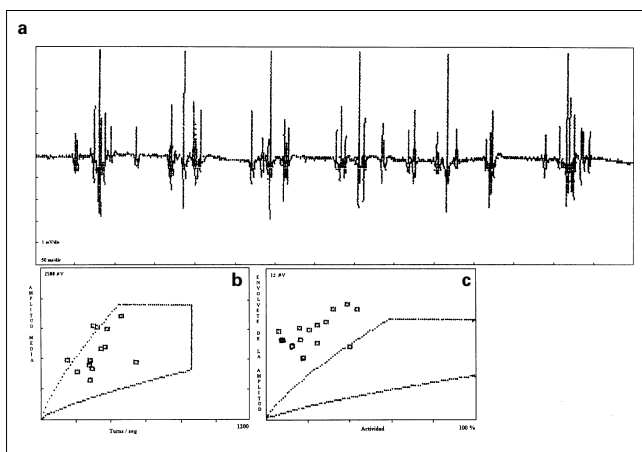


Figura 5. EMG cuantitativo en un enfermo de AEC₂ con patrón neurógeno grado II. a) Trazado de electromiograma; b) Análisis cuantitativo del trazado electromiográfico, que relaciona 'mean aptitude' vs turns/seg; c) Análisis cuantitativo del trazado electromiográfico que relaciona las variables 'mean aptitude' vs actividad expresada en % y donde se observa una nube de puntos que representan derivaciones o el análisis en cada zona donde se introdujo el electrodo concéntrico de aguja del electromiograma. La nube de puntos se concentra hacia la zona de amplitudes elevadas y actividad disminuida. ms/div= milisegundos por división; mV/div= milivoltios por división.

de amplitudes de 10 mV con patrón de contracción muy aislado llegando a oscilaciones simples sin desnervación demostrable. Algunos autores han comunicado alteraciones en el EMG de pacientes con ataxia cerebelosa [23,24], pero ninguno se ha referido a los cambios que se producen con el tiempo, lo que ha determinado que este tipo de alteraciones sólo se haya descrito en la AEC₂. Los resultados de un estudio anatomopatológico realizado en fallecidos con AEC₂ demostraron pérdida de las motoneuronas del asta anterior de la médula espinal [25,26].

En la serie estudiada no se encontraron signos de desnervación, lo que indica la posibilidad de que los procesos degenerativos ocurrieran de una manera lenta que permitió a los procesos de reinervación colateral instalarse tempranamente.

Rossi et al [27] describieron alteraciones electromiográficas en otro grupo de pacientes con ataxias hereditarias dominantes caracterizadas por desnervación en músculo tibial anterior en un paciente y signos de reinervación colateral en otros músculos examinados. Sin embargo, no encontraron fasciculaciones ni otras manifestaciones de hiperexcitabilidad neuromuscular en ningún paciente.

Otros autores [23,28,29] han comunicado resultados del estudio electromiográfico en pacientes con ataxias hereditarias dominantes caracterizados por signos de desnervación en estado de re-

poso (fibrilaciones, ondas positivas acuminadas y fasciculaciones), PUM polifásicos con amplitudes aumentadas y un patrón de contracción aislado hasta oscilaciones simples en algunos casos. Sin embargo, estos autores no tienen en cuenta en sus estudios la definición molecular de la enfermedad ni el tiempo de evolución, a diferencia del enfoque que se ha dado a este estudio. El análisis de los primeros enfermos en estadios iniciales demostró un patrón caracterizado por la disminución de la llegada de los comandos motores hacia las neuronas motoras de la médula espinal, mientras que con el transcurso del tiempo estas alteraciones se incrementaron y aparecieron los signos de reinervación colateral que en muchos casos recordaron el patrón neurógeno de la enfermedad de la neurona motor. Un elemento interesante fue la ausencia de fasciculaciones tanto clínica como electromiográficamente, a pesar de que los estudios anatomopatológicos revelaban pérdida moderada de neuronas motoras en las astas anteriores de la médula espinal [25,26].

Electromiograma cuantitativo

El análisis del EMGq se basó en el estudio de la actividad que describe el llenado del patrón de interferencia (PI) y de la UCA, que refleja los potenciales de mayor amplitud contenidos en la señal electromiográfica. Los hallazgos encontrados en los pacientes con patrón neurógeno grado I sugirieron una lesión de la vía piramidal. Se considera que ésta antecede a las lesiones de las astas anteriores de la médula espinal, que se manifestaron en los pacientes de mayor tiempo de evolución a través del patrón neurógeno II y que ha sido demostrada también en estudios anatomopatológicos [25,26] en los que existieron más alteraciones degenerativas. La existencia de PUM de gran amplitud, expresados por el aumento de la UCA y que se correspondieron con los resultados del EMGc, indicó la presencia de los procesos de reinervación colateral que aparecen de forma muy lenta en este tipo de ataxia espinocerebelosa.

En los pacientes con patrón grado I se encontró disminución de la actividad, con amplitud de la envolvente (UCA) normal, mientras que en el grado II se detectó una mayor disminución de la actividad con un incremento notable de la amplitud en comparación con el grupo de sujetos normales. La actividad expresa el porcentaje de tiempo durante el cual la señal electromiográfica contiene información proveniente de los potenciales de unidad motora, es decir, cuantifica la presencia de potenciales de unidad motora contenida dentro del segmento de la señal. Por tanto, su disminución es compatible con la pérdida de unidades motoras grandes, que es mayor en los pacientes con tiempo de evolución superior a los cinco años, lo que indicó que estos procesos degenerativos a nivel de las motoneuronas del asta anterior se incrementaron con el paso del tiempo, aunque estuvieron presentes en los

enfermos con menor tiempo de evolución. Por otro lado, la UCA se desarrolló para cuantificar los potenciales de mayor tamaño contenidos dentro de la señal electromiográfica. El incremento de esta variable se limitó a los sujetos de más tiempo de evolución, lo que coincidió con los resultados de la electromiografía convencional, y expresó la existencia de espigas de gran amplitud debido probablemente al efecto de los mecanismos de reinervación colateral ya descritos; asimismo, representó una consecuencia evolutiva de lo observado en los enfermos con menor tiempo de evolución.

Por tanto, la clasificación establecida a partir de las observaciones del EMGc es válida por la cuantificación del patrón por interferencia del EMG. No existen estudios en la literatura que permitan establecer confrontaciones con nuestros resultados.

En general, estos hallazgos en la cuantificación de la señal electromiográfica demostraron un patrón neurógeno más evidente en los sujetos de mayor evolución. El grado I reflejó la lesión del sistema piramidal, descrita en estudios morfológicos de sujetos fallecidos con ataxia espinocerebelosa tipo 2 [25,26], que se considera antecede a las lesiones de las astas anteriores de la médula espinal expresadas en los pacientes con mayor tiempo de evolución a través del patrón neurógeno II y en los cuales existieron más fenómenos degenerativos de su sistema motor.

Respuestas tardías (onda F y reflejo H)

Las respuestas tardías permiten evaluar las estructuras proximales del sistema nervioso. La onda F representa la descarga de las motoneuronas activadas antidrómicamente [30].

Los resultados obtenidos en estos enfermos fueron expresión de una lesión mielínica parcial en porciones proximales del sistema nervioso periférico, como se ha descrito en hallazgos histológicos [25,26]. La ausencia de respuesta observada en los pacientes de mayor tiempo de evolución con patrón neurógeno grado II, con estudios de conducción periférica motora normal, revelaron una pérdida importante de neuronas motoras del asta anterior de la médula espinal.

El reflejo H es el resultado de la transmisión segmentaria espinal a través de un arco reflejo que implica las conexiones monosinápticas entre las fibras aferentes y eferentes en un nervio mixto desencadenado por la estimulación submaximal [17].

Estos resultados expresaron la existencia de dos tipos de respuestas anormales, una dada por latencias prolongadas con amplitudes disminuidas y la otra por la ausencia de potencial. La primera es indicativa de una lesión axonomielínica en fibras nerviosas sensitivas debido a la pérdida de las neuronas del ganglio de la raíz dorsal, y la segunda sugirió un bloqueo en la conducción que representó la consecuencia evolutiva de la primera respuesta. Cruz Martínez [23] describió pacientes con amplitudes en el reflejo H disminuidas predominantemente y señaló una lesión axonal, a diferencia de los resultados de esta serie en los que existe una mezcla de lesión mielínica y axonal en fibras propioceptivas Ia.

La comparación de los resultados electrofisiológicos obtenidos entre enfermos de AEC₂ procedentes de diferentes provincias del país y los de la nuestra mostró un comportamiento similar, lo que sugirió que desde el punto de vista fisiopatológico el comportamiento de los mecanismos degenerativos espinocerebelosos es el mismo para los pacientes independientemente de su procedencia. La mayoría tienen familiares originarios de la provincia de Holguín.

Los estudios clínicos y moleculares también concuerdan con estos hallazgos. Ello significa que estamos frente a una misma forma molecular: la ataxia espinocerebelosa tipo 2 y que, por tanto, es aplicable el método de estudio de análisis a todos los enfermos del país. El mismo se aplica en varios hospitales, tanto en la capital como en otras provincias.

Los estudios de electromiografía son más utilizados que las respuestas tardías en las ataxias hereditarias; no obstante, éstas constituyen un estudio complementario que permitió corroborar los hallazgos anormales en porciones proximales del aparato neuromuscular y a su vez interrelacionar los mismos con los resultados de los estudios clínicos y morfológicos.

CONCLUSIÓN

Debemos desarrollar el intercambio y la colaboración entre laboratorios de neurofisiología clínica y otras ramas relacionadas en el campo de las neurociencias con el fin de contribuir a la profundización del conocimiento de los mecanismos fisiopatológicos de la AEC₂.

BIBLIOGRAFÍA

- Orozco DG, Nodarse FA, Cordovés R, Aurburger G. Autosomal dominant cerebellar ataxia: clinical analysis of 263 patients from a homogeneous population in Holguín, Cuba. *Neurology* 1990; 40: 1369-75.
- Aurburger G, Orozco G, Ferreira R. Autosomal dominant ataxia. Genetic evidence for locus heterogeneity from a Cuban founder effect population. *Am J Hum Genet* 1990; 46: 1163-77.
- Pulst SM, Nechiporuk A, Starkman S. Anticipation in spinocerebellar ataxia type 2. *Nat Genet* 1993; 1: 8-10.
- Pulst MS, Nechiporuk A, Nechiporuk T, Gispert S, Chen NX, Cendes LI, et al. Moderate expansion of a normally biallelic trinucleotide repeat in spinocerebellar ataxia type 2. *Nat Genet* 1996; 14: 269-76.
- Sanpei K, Takano H, Igarashi S, Sato T, Oyake M, Sasaki H, et al. Identification of the spinocerebellar ataxia type 2 gene using a direct identification of repeat expansion and cloning technique. *Nat Genet* 1996; 14: 277-84.
- Subramony SH. Clinical aspects of hereditary ataxias. *J Child Neurol* 1995; 10: 353-62.
- Gispert S. Localization of the candidate gene D-Amino acid oxidase outside the refined 1-cM region of spinocerebellar ataxia-2. *Am J Hum Genet* 1995; 57: 972-5.
- Gispert S, Twells R, Orozco G, Brice A, Wever J, Heredero L. Chromosomal assignment of the second locus for autosomal dominant cerebellar ataxia (SCA2) to chromosome 12q23-24.1. *Nat Genet* 1993; 4: 295-9.
- Bates G, Lehrach H. Trinucleotide repeat expansions and human genetic disease. *Bioassays* 1994; 16: 227-84.
- Orozco G, Nodarse A, Cordovés R, Aurburger G, Estrada R. Study of 225 patients with autosomal dominant cerebellar ataxia: presumed founder effect in the province Holguín, Cuba. In Plaitakis J, ed. *Hereditary ataxias*. Berlin: Springer-Verlag; 1989. p. 345-60.
- Stalberg E, Dioszeghy P. Scanning EMG in normal muscle and in neuromuscular disorders. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1991; 81: 403-16.
- Stalberg E. Invited review: electrodiagnostic assessment and monitoring of motor unit changes in disease. *Muscle Nerve* 1991; 14: 293-303.
- Stalberg E, Masahiro S. The ability of MUP parameters to discriminate between normal and neurogenic MUPs in concentric EMG: analysis of the MUP 'thickness' and the proposal of 'size index'. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1993; 89: 291-303.
- Fowler JC. Electromyography and nerve conduction. In Binnie DC Jr, Osselton WJ, eds. *Clinical neurophysiology*. Newcastle: Butterworth-Heinemann; 1995. p. 42-138.
- Nandedkar DS, Sanders DB, Stalberg EV. Automatic analysis of the electromyographic interference pattern. Part II: findings in control subjects and in some neuromuscular diseases. *Muscle Nerve* 1986; 9: 491-500.
- Fisher MA. H reflexes and F waves: physiology and Clinical indications. *Muscle Nerve* 1992; 15: 223-33.
- Falco FJ, Hennessey JW, Golberg G, Braddom RL. H reflex latency in the healthy elderly. *Muscle Nerve* 1994; 17: 161-7.
- Denny-Brown D. *Handbook of neurological examination and case recording*. 3 ed. Cambridge: Harvard University Press; 1960.

19. Kimura J. EMG. Techniques and normal findings. In Kimura J, ed. *Electrodiagnosis in diseases of nerve and muscle*. Philadelphia: FA Davis; 1989. p. 235-57.
20. Fuglsang-Frederick A. Turns amplitude analysis of the EMG interference pattern. *Methods Clin Neurophysiol* 1993; 4: 87-9.
21. Kimura J. The F wave. In Kimura J, ed. *Electrodiagnosis in diseases of nerve and muscle*. Philadelphia: FA Davis; 1989. p. 353-78.
22. Kimura J. The H reflex. In Kimura J, ed. *Electrodiagnosis in diseases of nerve and muscle*. Philadelphia: FA Davis; 1989. p. 379-98.
23. Cruz MA, Anciones B, Ferrer MT, Tejedor ED, Pérez Conde MC, Barreiro. Electrophysiological study in olivopontocerebellar atrophy. *Electromyogr Clin Neurophysiol* 1987; 27: 67-71.
24. McLeod JG, Evans W. Peripheral neuropathy in spinocerebellar degenerations. *Muscle & Nerve* 1981; 4: 51-61.
25. Estrada R, Valles L, Galarraga J. Heredoataxias. Estudio neuropatológico en 3 casos. *Rev Cub Medic* 1980; 19: 225-37.
26. 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.
27. Rossi GA, Ciacci G, Federico A, Mondelli M, Rizzuto N. Sensory and motor peripheral neuropathy in olivopontocerebellar atrophy. *Acta Neurol Scand* 1986; 73: 363-71.
28. Mondelli M, Rossi A, Scarpini C, Guazzi GC. Motor evoked potentials by magnetic stimulation in hereditary and sporadic ataxia. *Electromyogr Clin Neurophysiol* 1995; 35: 415-24.
29. Ragno M, Curatola L, Rossi R, Salvolini U. Clinical, multimodality electrophysiological study of a family with progressive cerebellar ataxia and late deafness and an autosomal recessive inheritance. *Acta Neurol* 1992; 14: 431-9.
30. Guilloff RJ, Sadeghi HM. Preferential generation of recurrent responses by groups of motor neuron in man. Conventional and single unit F waves studies. *Brain* 1991; 114: 1771-801.

EVALUACIÓN NEUROFISIOLÓGICA EN PACIENTES AFECTADOS POR ATAXIA ESPINOCEREBELOSA TIPO 2

Resumen. Introducción. *La ataxia espinocerebelosa tipo 2 (AEC₂) representa al grupo más numeroso de enfermos con ataxias hereditarias descrito hasta el momento, con una prevalencia de 52 por 100.000 habitantes.* Objetivo. *Identificar con técnicas electrofisiológicas la existencia de patrones neurógenos en enfermos de AEC₂.* Pacientes y métodos. *Se realizó un estudio transversal a 70 sujetos enfermos de AEC₂ con tiempo de evolución variable y procedentes de diferentes regiones del país. El grupo control contó con 108 sujetos voluntarios. Registros electrofisiológicos realizados: electromiografía convencional y cuantitativa, y respuestas tardías onda F y reflejo H. En el análisis estadístico se aplicaron métodos multivariados con una confiabilidad del 95% ($\alpha = 0,05$).* Resultados. *El electromiograma convencional mostró un patrón de contracción aislado, predominante en enfermos con tiempo de evolución ≤ 5 años, denominado por los autores grado I, y en los de tiempo > 5 años se encontró un patrón muy aislado con potenciales de unidades motoras de amplitudes $> 10 \mu V$, sin deservación, denominado grado II. En este último patrón neurógeno se concentraron los enfermos con manifestaciones clínicas más graves. Existieron diferencias significativas al comparar los patrones grado I y II con el grupo control, así como en las respuestas tardías onda F y reflejo H.* Conclusiones. *Se definieron por primera vez dos tipos de patrón neurógeno en la AEC₂ para describir alteraciones que denotan participación de la primera y segunda motoneurona [REV NEUROL 1998; 27:].*
Palabras clave. *Ataxia espinocerebelosa. Degeneración espinocerebelosa. Electromiografía. Onda F. Reflejo H.*

AVALIAÇÃO NEUROFISIOLÓGICA DE DOENTES COM ATAXIA ESPINOCEREBELOSA TIPO 2

Resumo. Introdução. *A ataxia espinocerebelosa tipo 2 (AEC₂) representa o grupo mais numeroso de doentes com ataxias hereditárias descrito até à data, com uma prevalência de 52 por 100.000 habitantes.* Objectivo. *Identificar com técnicas electrofisiológicas a existência de padrões neurogénios em doentes com AEC₂.* Doentes e métodos. *Realizou-se um estudo transversal a 70 doentes com AEC₂ com tempo de evolução variável e oriúndos de diferentes regiões do país. O grupo controlo consistiu em 108 indivíduos voluntários. Registos electrofisiológicos efectuados: electromiografia convencional e quantitativa, e respostas tardias onda F e reflexo H. Na análise estatística aplicaram-se métodos multivariados com grau de confiança de 95% ($\alpha = 0,05$).* Resultados. *O electromiograma convencional mostrou um padrão de contracção isolado, predominante em doentes com tempo de evolução ≤ 5 anos, denominado pelos autores grau I. Nos doentes de tempo > 5 anos encontrou-se um padrão muito isolado com potenciais de unidades motoras de amplitudes $> 10 mV$, sem deservação, denominado grau II. Neste último padrão neurógeno concentraram-se os doentes com manifestações clínicas mais graves. Existiram diferenças significativas ao comparar os padrões grau I e II com o grupo controlo, assim como nas respostas tardias onda F e reflexo H.* Conclusões. *Definiram-se pela primeira vez dois tipos de padrão neurogénio na AEC₂ para descrever alterações que traduzem participação do primeiro e segundo neurónio motor [REV NEUROL 1998; 27:].*
Palavras chave. *Ataxia espinocerebelosa. Degenerescência espinocerebelosa. Electromiografia. Onda F. Reflexo H.*

Electrophysiological features in patients and presymptomatic relatives with spinocerebellar ataxia type 2

Luis Velázquez Pérez*, Gilberto Sánchez Cruz, Nalia Canales Ochoa, Roberto Rodríguez Labrada, Julio Rodríguez Díaz, Luis Almaguer Mederos, José Laffita Mesa

Center for the Research and Rehabilitation of Hereditary Ataxias "Carlos J. Finlay" Holguín, Cuba, Carretera Central Km 51/2 (Vía Habana). Reparto Edecio Pérez, 80100, Holguín, Cuba

Received 31 January 2007; received in revised form 5 July 2007; accepted 9 July 2007
Available online 13 August 2007

Abstract

Motor and sensitive nerve conduction studies, visual (VEP), brainstem auditory (BAEP) and somatosensory (SSEP) evoked potentials in 82 patients with spinocerebellar ataxia type 2 (SCA2), 62 presymptomatic relatives and 80 controls, correlating it with CAG repeat, disease duration and ataxia score were assessed. All the groups showed differences in the amplitude of sensory action potentials in median and sural nerves. Sural amplitude was negatively correlated with disease duration and ataxia score. Differences among patients and controls in the mean latency and conduction velocity of sensory action potentials were found. Abnormal morphology and replicability of SSEPs and BSAEPs were found in patients and presymptomatics. Moreover, consistent increase in latencies of P40 component of SSEPs, III and V peaks and I–III interpeak of BSAEPs was found in patients. A positive correlation was found between latency of III and V waves, I–III and III–V interpeak latencies of BSAEPs and disease duration. CAG repeat and electrophysiological markers assessed were not correlative. Electrophysiological alterations in the SCA2 appeared in presymptomatic stages. These alterations are consistent markers which could be used to evaluate the progression of the disease.

© 2007 Elsevier B.V. All rights reserved.

Keywords: Spinocerebellar ataxia type 2 (SCA2); Cuban ataxia; Electrophysiological disorders; Sensory axonopathy; Nerve conduction studies; Evoked potentials

1. Introduction

The autosomal dominant cerebellar ataxias (ADCA) are a clinically, pathologically and genetically heterogeneous group of neurodegenerative disorders caused by degeneration of cerebellum and its afferent and efferent connections. The degenerative process may additionally involve the pontomedullary systems, pyramidal tracts, basal ganglia, cerebral cortex, peripheral nerves (ADCA I) and the retina (ADCA II), or can be limited to the cerebellum (ADCA III) [1].

The most common of these dominantly inherited autosomal ataxias, ADCA I, includes many spinocerebellar

ataxias (SCA) subtypes, some of them are caused by pathological CAG trinucleotide repeat expansion in the coding region on the mutated gene. Such it is the case of SCA1, SCA2, SCA3/MJD, SCA17 and Dentatorubral-pallidoluysian atrophy (DRPLA) [2–8].

In Cuba, there are almost 800 patients and 8000 presymptomatic relatives at risk of developing some hereditary ataxia in the next few years. The most frequent molecular form is SCA2, with a prevalence of 43 cases per 100,000 inhabitants in Holguín province, reaching 142 cases per 100,000 inhabitants in Baguanos municipality [9].

SCA2 is characterized by progressive gait and limb ataxia, cerebellar dysarthria, dysmetria, dysidiadochokinesia, tremor and slowing of horizontal saccadic eye movements [10,11]. The gene is located on the long arm of chromosome 12 (12q23-24.1) [3–5] and encodes a cytoplasmatic protein (ataxin 2) found in many body tissues and neuronal

* Corresponding author. Los Alamos Avenue No. 25 between Independencia street and Constitución street. Holguín. Cuba. Tel.: +53 24 462296, +53 24 424090, +53 24 461693.

E-mail address: ataxia@crystal.hlg.sld.cu (L. Velázquez Pérez).

populations without an as yet defined function [12]. The unstable expansion of the polyglutamine domain within ataxin-2 is directly linked to the pathogenesis of SCA2 [13].

In general, electrophysiological features of SCA2 in clinical and preclinical stages have been studied in a small number of individuals. In the present study we carry out a more detailed electrophysiological characterization of 82 SCA2 affected subjects and 62 presymptomatic first-degree relatives. This study allowed us to evaluate the peripheral and central nervous system in SCA2. To this end, we performed motor and sensory nerve conduction studies, somatosensory evoked potential, visual evoked potential and brainstem auditory evoked potential.

2. Patients and methods

2.1. Patients

Eighty-two SCA2 patients (52 males and 30 females) with ages ranging from 15 to 80 years (mean, 43.0; standard deviation [SD], 13.3), age at onset from 8 to 80 years old (mean, 29.7; SD, 12.4), disease duration from 1 to 42 years (mean, 13.3; SD, 7.9), and polyglutamine repeat sizes from 34 to 50 (mean, 40; SD, 3) were admitted to the Center for Investigation and Rehabilitation of Hereditary Ataxias in Holguin for this study. The clinical assessment was conducted using the International Cooperative Ataxia Rating Scale (ICARS) [14].

Sixty-two (22 males and 40 females) presymptomatic first-degree relatives of SCA2 patients, with ages ranging from 16 to 61 years old (mean, 34.7; SD, 10.5) and polyglutamine repeat sizes from 32 to 57 (mean, 38.4; SD, 4.3) were also studied.

A group of 80 healthy nonpaid volunteers from Holguin province (58 male and 22 female subjects) with ages ranging from 11 to 81 years (mean, 41.7; SD, 12.6) served as controls.

The Ethics Committee of the National Center of Ataxia approved the research protocol. After a description of the present study to each patient, written informed consent was obtained.

2.2. Molecular analysis

DNA was extracted according to standard phenol-chloroform protocols [15]. Polymerase chain reaction (PCR) for the detection of the SCA2 mutation was carried out using the following pairs of primers previously published: SCA2a (5'-gggccctcaccatgtcg-3', with Tet fluorescence) and SCA2b (5'-cgggcttgcg gacattgg-3') [3] or DAN1 (5'-cgtgcgagccggtgtatggg-3') and UHI0 (5'-ggcgacgcta-gaagccgct-3') [4]. PCR reactions were developed on a Perkin Elmer 9600 thermal cycler (USA) according to the following profile: 1 cycle at 95 °C for 2 min, 35 cycles at 94 °C for 1 min, 65 °C for 1 min and 72 °C for 1 min, and a final cycle at 72 °C for 5 min, using a SuperTaq-Pol kit (Perkin Elmer, USA). PCR product sizes were determined on

an Alf Express II sequencer using TAMRA 350 as internal size standard. To determine the composition of the CAG repeat, PCR products were directly sequenced on the Alf Express II at the laboratory of the CIRAH. Sequence reactions were performed on a Perkin Elmer 9600 thermal cycler according to the profile: 25 cycles at 96 °C for 30 s, 50 °C for 15 s and 60 °C for 4 min, using a Prism ready reaction Dye Deoxy Terminator kit (Applied Biosystems, USA).

2.3. Electrophysiological studies

Nerve conduction studies were performed using an electromyographer (Neuropack SIGMA, Japan) following the standard methods. Motor nerve conduction studies were recorded by percutaneous supramaximal nerve stimulation at unilateral median and peroneal nerves. Compound Muscle Action Potentials (CMAP) were recorded using surface electrodes. Sensory nerve action potentials (SNAPs) were recorded by using surface ring electrodes around third digit and surface electrodes on the lateral to the midline in the lower third of posterior aspect of the leg at unilateral median and sural nerves. Nerve conduction velocities below and latencies above 2.5 SD threshold of normal control data from our study, and amplitudes of CMAP below 2 mV and SNAPs below 5 μ V were considered abnormal.

Posterior tibial nerve somatosensory evoked potentials (Tn-SSEPs) were performed by mean of electrical stimuli through electrodes placed on the skin overlying the nerve at the posterior zone of the median malleolus. The intensity of the stimuli was the minimal required to produce a light plantar flexion movement of the toes. The subject under study was observed throughout the entire time of the test, adjusting the stimulus intensity as needed to maintain a constant to the stimulated frequency.

Tn-SSEPs were recorded from two derivations: Cz against Fz and over the low back on the skin overlying the spinous processes of the vertebra L1 vs. contralateral ileac crest (L1 vs. Ic) (19). The electrodes impedance was always below 5 KO. Band pass filter was 20 to 2000 Hz, and a gain of 100,000. The analysis time used was 100 ms and 2000 trials were averaged, 2 to 3 repetitions were obtained in order to show the reproducibility of the recorded components.

Latency of the N22 was measure on the L1-Ic channel and the latency of the P40 was measured in the Cz-Fz channel. The central conduction time (CCT) was calculated by subtracting the latency to N22 onset from P40 onset. Abnormal latencies were considered 2.5 SD above threshold of normal data from our study.

Visual evoked potentials (VEPs) were recorded from Oz electrode against a reference electrode placed on Fz. The stimulus employed for the VEPs measurement was the reversal of a checkerboard pattern composed of light and dark squares projected on displayed on a TV monitor and stimulation was performed on each eye with the subject sitting 1.5 m in front of a TV monitor (Visual angle 15°, check 15'). Following darkening of the room, 132 stimuli

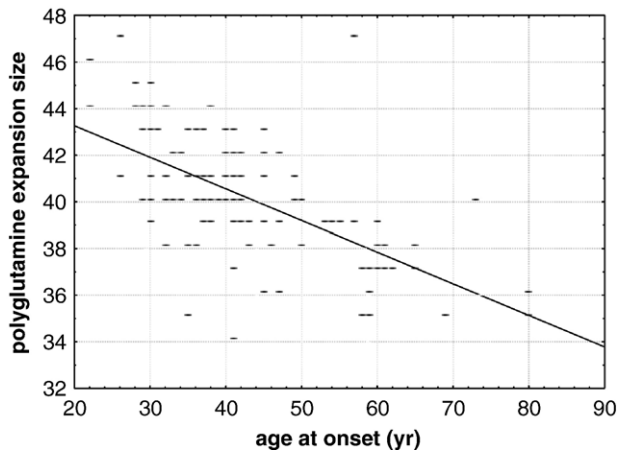


Fig. 1. Dependence of age at onset on polyglutamine expansion size in 82 SCA2 studied patients.

were given in each eye separately after a period of adaptation of 20 s with the analysis time of 400 ms. The stimulation frequency was 1 Hz. The frequency bandpass was 1 to 100 Hz. The latency to the major positive component was measured. Abnormal latencies were considered 2.5 SD above threshold of normal data from our study.

Brain Stem Auditory Evoked Potentials (BSAEPs) were recorded from an active electrode on the stimulated ipsilateral mastoid and a reference electrode on the vertex (Cz), with the contralateral mastoid grounded. Condensation clicks of duration of 100 μ s were generated by an acoustic stimulator. The stimuli were presented monaurally through a cushioned telephonic TDH-39 earphone. The stimuli were presented at a frequency of 17 Hz at an intensity of 95 Db. BSAEPs were recorded with surface applied metal disk electrodes (Ag/AgCl). The electrode impedance was always below 5 k Ω . The EEG signals were amplified by a factor of 100,000 with a bandpass filter from 20 to 2000 Hz). The digitalization was performed for 256 sample points with a 100 μ s period so that the analysis time was 10 ms. The latency components I, III and V of the BSAEPs and the interpeak differences I–III and III–V were measured with a two cursors system. The stimulus frequency was 17 Hz and 2000 trials were averaged and two to three replicas of the BSAEPs were obtained in every subject for each ear in order to show the reproducibility of the components measured.

To eliminate the influence of age on nerve conduction studies, a single sex- and age-matched control individual was selected for each SCA2 mutation carrier, and matched groups were compared thereafter.

2.4. Statistical analysis

The data from this study were entered into a data file using the computer software program Statistic for Windows (Release 6.00, 2003). Scatter plots were obtained to evaluate the data and to confirm the presence of a normal distribution before the application of parametric statistics. Mean values

and standard deviation were determined for each measured nerve conduction, Tn-SSEPs, VEPs and BSAEPs parameters.

Statistical analysis was performed using the multivariate ANOVA between patients, presymptomatic subjects, and controls. Correlation of electrophysiological parameters, ataxia score and disease duration in SCA2 patients and polyglutamine expansion size in patients and presymptomatics was performed by a simple linear regression analysis.

3. Results

3.1. Clinical study

All examined patients showed a cerebellar syndrome characterized by gait ataxic, cerebellar dysarthria, dysmetria and dysidiadochokinesia. In 78 of these, gait ataxia was the first symptom of the disease. Many patients exhibited abnormal tandem stance, slow saccadic eye movements, limited voluntary ocular movements, facial atrophy, loss of vibration sense, areflexia or hyporeflexia of DTRs, abnormal swallowing and unstable stance with feet together. Gait ataxia with cerebellar dysarthria was present in 8 patients. No retinal degeneration, optic atrophy, nor spasticity and dementia were observed.

Simple regression analyses were conducted within the SCA2 patients and best fits were obtained using a log (y) transformation. This disclosed a significant negative correlation of age of onset and polyglutamine expansion size ($r=0.647$; $p=0.000$) (see Fig. 1).

Table 1

Mean comparative values of nerve conduction variables in studied subjects

	Healthy controls	SCA2 patients	Presymptomatics
<i>Motor conduction studies</i>			
<i>Median nerve</i>			
Mean conduction velocity (m/s)	55.66 \pm 6.44	55.75 \pm 5.53	55.46 \pm 7.07
Mean latency (ms)	8.05 \pm 0.99	8.13 \pm 0.96	7.91 \pm 1.17
Mean amplitude (mV)	13.66 \pm 5.29	11.69 \pm 4.75	12.43 \pm 5.89
<i>Peroneal nerve</i>			
Mean conduction velocity (m/s)	50.60 \pm 6.34	48.46 \pm 8.26	49.47 \pm 5.77
Mean latency (ms)	10.57 \pm 1.30	11.12 \pm 1.37	10.77 \pm 1.29
Mean amplitude (mV)	7.20 \pm 3.82	6.58 \pm 4.30	7.78 \pm 3.51
<i>Sensitive conduction studies</i>			
<i>Median nerve</i>			
Mean conduction velocity (m/s)	53.47 \pm 7.30	48.54 \pm 9.79	53.24 \pm 6.02
Mean latency (ms)	2.78 \pm 0.57	3.01 \pm 0.53	2.73 \pm 0.53
Mean amplitude (μ V)	23.32 \pm 8.87	8.12 \pm 5.71	11.45 \pm 8.27
<i>Sural nerve</i>			
Mean conduction velocity (m/s)	54.72 \pm 8.55	46.62 \pm 9.35	53.75 \pm 9.00
Mean latency (ms)	2.42 \pm 0.63	3.04 \pm 0.55	2.66 \pm 0.82
Mean amplitude (μ V)	11.38 \pm 6.73	5.62 \pm 5.44	7.82 \pm 6.90

Table 2
Correlation analysis between electrophysiological and clinical variables in SCA2 patients

Variables	<i>r</i>	<i>p</i>
Sural amplitude/disease duration	−0.312	0.031
Sural amplitude/ataxia score	−0.358	0.020
Latency of III wave/disease duration	0.303	0.050
Latency of V wave/disease duration	0.497	0.001
Interpeak latencies of I–III/disease duration	0.424	0.006
Interpeak latencies of III–V/disease duration	0.320	0.041

3.2. Motor and sensitive nerve conduction studies

Mean motor (Median and Peroneal) nerve conduction velocities, latency and amplitude were in the normal range in all groups ($p > 0.05$). Two patients with SCA2 had pathological values of motor amplitude (2.4%, 0.32 mV and 0.85 mV) and abnormal velocities (2.4%, 31.60 m/s and 31.90 m/s) along the peroneal nerve (see Table 1).

3.3. Sensory nerve studies

The mean latency of sensory action potential showed significant differences between SCA2 patients and controls ($p = 0.010$ for median nerve and $p < 0.001$ for sural nerve). The differences between presymptomatic and controls were not statistically significant. Mean amplitudes of sensory nerve action potential were significantly different ($p < 0.001$) in all groups along both nerves. Abnormal results with amplitudes $< 5 \mu\text{V}$ in the median nerve were obtained in 28 out of 75 SCA2 patients (37.3%; mean, 3.07 μV ; SD, 1.4 μV), and 23 out of 62 presymptomatic subjects (37.1%; mean, 3.07 μV ; SD, 1.2 μV). Sural amplitudes below 5 μV were detected in 44 SCA2 patients (58.9%; mean, 2.27 μV ; SD, 1.53 μV) and 28 presymptomatics (45.2%; mean, 2.61 μV ; SD, 1.68 μV). Mean SCV of SCA2 patients and controls was different for sural ($p < 0.001$) and median ($p < 0.001$) nerves. There were no differences among presymptomatic and control groups (see Table 1).

Sural amplitude was negatively correlated with disease duration and ataxia score (see Table 2). However, there was no correlation with the polyglutamine expansion size ($r = 0.226$; $p = 0.149$) and age of onset ($r = 0.015$; $p = 0.924$).

3.4. Somatosensory evoked potentials of the posterior tibial nerve

The mean latency of P40 wave in Tn-SSEPs was significantly prolonged ($p < 0.001$) in SCA2 patients (mean, 57.69 ms; SD, 1.78) compared with healthy controls (mean, 38.40 ms, SD, 0.253). The Tn-SSEPs testings revealed an abnormal morphology and replicability in all 82 SCA2 patients. In 50 (60.98%) of them, the latencies of P40 waves were abnormal (> 49.5 ms), also in 6 SCA2 patients (7.32%) the P40 waves were absent.

Abnormal morphology and replicability of the Tn-SSEPs waves were also detected in the presymptomatic group. However, the intergroup differences of mean latency of the P40 wave between presymptomatics (mean, 42.85 ms; SD, 4.38) and the controls were not significant.

There was not a significant difference of mean lumbar latency between SCA2 patients (mean, 20.95; SD, 0.19), asymptomatic relatives (mean 20.60 ms, SD 0.50) and controls (mean, 19.40 ms; SD, 0.11). Mean latency of CCT Tn-SSEPs was significantly prolonged ($p = 0.0001$) in SCA2 patients (mean, 36.74 ms; SD, 1.58) compared with healthy controls (mean, 19.00 ms; SD, 0.126). In the presymptomatic relatives the CCT was normal (mean, 22.25 ms; SD, 0.14).

3.5. Visual evoked potentials

The mean (SD) latency of the major positive wave (P100) in VEPs reached 105.37 ms (SD, 5.81) in healthy controls, 105.85 ms (SD, 9.73) in the presymptomatic group and 106.34 ms (SD, 8.01) in SCA2 patients. No significant differences were detected between all groups. Abnormal P100 waves, with a latency < 120 ms was obtained in one SCA2 patient (1.2%, 123 ms).

3.6. Brainstem auditory evoked potentials

Brainstem auditory evoked potential studies were abnormal in 78 SCA2 patients (95.12%) and 55 presymptomatic relatives (87.30%) who showed abnormal morphology and replicabilities of potentials. In the other 4 patients, the BSAEPs were absent. Comparison of mean values of the BSAEPs shows significant differences ($p < 0.001$) for the absolute III and V latencies and for interpeak I–III latency between SCA2 patients and healthy controls but not between presymptomatic and controls.

There was a positive correlation between the latency of III and V waves, I–III and III–V interpeak latencies of BSAEPs and disease duration. No significant correlation was found with polyglutamine expansion size (see Table 2).

4. Discussion

Our findings are in accordance with previous reports on SCA2 [16]. The clinical presentation of SCA2 usually begins with gait ataxia, accompanied by cerebellar dysarthria, dysmetria and dysdiadochokinesia.

The clinical picture of anatomically proven SCA2 is essentially a progressive cerebellar syndrome. More than 83% of patients developed abnormal tandem stance, slow saccadic eye movements, limited voluntary ocular movements, facial atrophy, loss vibration, decreased tendon reflexes, abnormal swallowing and unstable stance feed together. More than 76% of patients showed marked genetic anticipation.

Most SCA subtypes show involvement of the peripheral nervous system [17–19]. In 1997, Abele et al. [20] found a sensory axonal neuropathy with the sural potential amplitude

reduction in 10 out of 13 SCA2 patients. Although these authors found no abnormality of conduction velocity, Van de Warrenburg et al. analyzed the peripheral nerve involvement in patients with ADCA and reported abnormalities compatible with a sensory neuropathy in all SCA2 patients [21].

In our work, we found that the reduction of amplitude of the sensory potential is the main abnormality of the peripheral nervous system in the Cuban SCA2 patients. This finding reflects a peripheral lesion of the nerves, mainly at the axonal level, but with signs of demyelination, that are interpreted as a secondary axonal disorder. The reduction of the amplitude of the sensory potential was more marked in patients with the longer duration of the disease, indicating a progressive increase in the number of affected fibers with time.

Our electrophysiological results agree with the histological data from studies of posterior and root ganglia. The neuropathological study of 13 cases with SCA2, described atrophy of the posterior ganglia, reduction in the number of ganglion cells in the dorsal root ganglia and demyelination in the posterior root [10].

The loss of ganglion cell in the dorsal root ganglia is consistent with reduced amplitude of the sensory potentials previously found in the nerve conduction studies [19]; however, a gradual pattern of alteration was not found.

Like SCA2 patients, their presymptomatic first-degree relatives show a reduction of the sensory potential amplitude along the distal segment of the median and sural nerves. This alteration suggests that the impairment of the neurons of the dorsal root ganglia seems to occur before the cerebellar syndrome appears. Other electrophysiological evidences that neuropathy may precede symptoms in SCA2 have been reported [22,23]. These alterations appear to be related to the duration of the disease but not with the expansion polyglutamine size.

Our motor nerve conduction data reflect that SCA2 is not characterized by a significant abnormality of motor responses of the peripheral nervous system. Nevertheless we have observed that the major abnormalities appear in patients with duration of the illness beyond 10 years (Velázquez et al. unpublished results).

Tn-SSEPs abnormalities, consisting of a marked delay of the P40 component and CCT latency, absence of responses and abnormal morphology, were present in a large number of our SCA2 patients, confirming the results of Perreti et al. (1996) [24] and Abele et al. (1997) [20]. The normal values of N22 wave latencies in SCA2 patients, and therefore the prolonged CCT suggest that the Tn-SSEPs abnormalities are due the disturbed conduction at the posterior columns of the spinal cord. This finding is supported by neuropathological studies in SCA2 showing degeneration and demyelination of the posterior columns in the spinal cord and reduction of ganglion cells number in dorsal root ganglia [10]. Other anatomopathological evidences of Tn-SSEPs abnormalities at central level are the severe neuronal loss in the cuneate, gracile and spinal trigeminal nuclei as well as in the ventral posterior medial, ventral posterior lateral and the destruction of the reticular nucleus in the thalamus [25–27].

Our Tn-SSEPs findings in presymptomatic relatives constitute the first report of Tn-SSEPs abnormalities in the preclinical stage of the disease, indicating a mild affectation of the somatosensory pathway before the onset of the cerebellar syndrome. The abnormal morphology and replicability of SSEPs components arising in the central pathways may be related to the low voltage and temporal dispersion of peripheral nerve input in this disorder.

Significant abnormalities in visual evoked potential have been observed in Friederich ataxia [28,29], SCA1 [29,30] and SCA7 [31] but have not been observed in SCA2. In 1983 Sridharan and his colleagues [32] reported VEP abnormalities in only one out the five patients with a dominant form of spinocerebellar degeneration that phenotypically resembled SCA2. Abele et al. (1997) [20] reported VEP abnormalities in 4 out 11 SCA2 patients, while, in the SCA1 group, they found delayed responses in 7 out 9 subjects. Recently, Rakowicz et al. 2005 [30] reported that the amplitude of the P100 was significantly lower in SCA1 than SCA2. Taking this account, the authors reported that the decrease of this variable is the unique electrophysiological parameter to differentiate between both group of patients. Therefore, SSEPs testing should be a more sensitive indicator of early involvement of afferent pathways in the Cuban form of SCA2.

Our VEP results are in agreement with these earlier studies and reflect in a large population of SCA2 patients the integrity of the visual pathway in Cuban SCA2 patients, which allows us to distinguish SCA 2 from the other Spinocerebellar ataxias such as SCA1, SCA3 and SCA7.

In general, reports on BSAEPs abnormalities in SCA2 and other spinocerebellar ataxia patients are contradictory due to the genetic heterogeneity of the studied samples, the different criteria used for classification of the ataxia and because generally the duration of the disease has not been taken into consideration [20,23,30,33–35]. Specifically, in SCA2 patients, Perreti et al. (1996) found BSAEPs abnormalities in 82% of all subjects. Also, they found an association between BSAEPs abnormalities and clinical deterioration of the patients. Abele et al. (1997) [20], report 42% of SCA2 patients with BSAEPs abnormalities. Nevertheless Wadia et al. (1998) [23] found normal responses of BSAEPs recordings in all four subjects with SCA2.

We found that BSAEPs had poor replicability and unstable morphology in 95% of the patients, indicating the varying involvement of various neurons in the auditory pathway. Also there was increased latency of the waves III and V and an increase of the I–III interpeak interval. These findings are in agreement with previous neuropathological observations in cranial nerves and nuclei involved in the auditory pathway [36]. In a patient with an age of onset age of 44 years and a duration of illness of 5 years, there was no response which suggests a possible peripheral lesion. Other abnormalities are non-specific and suggest an increased temporal dispersion in the conduction from the intraxial tracts of the brainstem.

The correlation between BSAEPs abnormalities and duration of the illness of the patients and the BSAEPs data

from presymptomatics indicate that auditory pathway damage is progressive and begins before cerebellar syndrome nevertheless longitudinal studies are necessary to clarify this issue.

Serial evoked potential studies may also aid in further defining the evolution of neurophysiological involvement of the sensory system and may also be of help in evaluating the effects of various therapies in this disorder.

In conclusion, our results suggest that the SCA2 is a neurodegenerative disease that affects not only the cerebellum and its fiber connections, but also the peripheral nervous system and extracerebellar central pathways. The electrophysiological alterations in the SCA2 are characterized by the decrease of the amplitude of the sensory potentials, SSEPs and BSAEPs with alterations in the morphology and the replicability, as well as the increase of the latency of the P40 component. Interestingly, some of these abnormalities appeared during the presymptomatic stage.

Our electrophysiological results indicate that the structures of the nervous system that are primarily affected were the peripheral sensory nerves and the dorsal roots of the spinal cord, followed by the somesthetic pathway at the intraxial level, and the auditory pathway at the brainstem level. The visual pathway was not affected. The nature of the initial lesion is of the axonal type according to the results of the axonemyelinic and peripheral sensory nerve conduction at the level of the intramedullary sensory pathway or more diffusively along the brainstem according to the SSEPs of the posterior tibial nerves. Sensitive amplitudes and latencies of III and V waves of BSAEPs were strongly influenced by the duration of the illness, identifying these variables as objective and quantitative physiological parameters. These findings may be used as highly sensitive and specific clinical biomarkers for future clinical trials of therapeutic agents.

Acknowledgment

We are grateful to the patients, SCA2 mutation carriers and the control individuals for their cooperation. We are indebted to Patrick Macleod for the critical review and style corrections. The Cuban Ministry of Health supported the study.

References

- [1] Harding AE. Clinical features and classification of inherited ataxias. In: Harding AE, Deufel T, editors. *Inherited ataxias*, vol 61. New York: Raven; 1993. p. 1–14.
- [2] Orr HT, Chung M, Banfi S, et al. Expansion of an unstable trinucleotide CAG repeats in spinocerebellar ataxia type 1. *Nat Genet* 1993;4:221–6.
- [3] Imbert G, Saudou F, Yvert G, et al. 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.
- [4] Pulst MS, Nechiporuk A, Nechiporuk T, et al. Moderate expansion of a normally biallelic trinucleotide repeat in spinocerebellar ataxia type 2. *Nat Genet* 1996;4:269–76.
- [5] Sanpei K, Takano H, Igarashi S, et al. 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.
- [6] Kawaguchi Y, Okamoto T, Taniwaki M, et al. CAG expansion in a novel gene for Machado-Joseph disease at chromosome 14q32.1. *Nat Genet* 1994;8:221–7.
- [7] Nakamura K, Jeong SY, Uchihara T, et al. SCA17, a novel autosomal dominant cerebellar ataxia caused by an expanded polyglutamine in TATA-binding protein. *Hum Mol Genet* 2001;10(14):1441–8.
- [8] Koide R, Kobayashi S, Shimohata T, Ikeuchi T, Maruyama MA. Neurological disease caused by an expanded CAG trinucleotide repeat in the TATA-binding protein gene: a new polyglutamine disease? *Hum Mol Genet* 1999;8:2047–53.
- [9] Velázquez PL, Santos FN, García ZR, Paneque HM, Hechevarría RR. Epidemiology of Cuban Hereditary ataxia. *Rev Neurol* 2001;32:606–11 [in Spanish with English abstract].
- [10] 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.
- [11] 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;60:842–50.
- [12] 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.
- [13] Zoghbi HY, Orr HT. Glutamine repeats and neurodegeneration. *Annu Rev Neurosci* 2000;23:217–47.
- [14] Trouillas P, Takayanagi T, Hallett M, et al. International cooperative ataxia rating scale for pharmacological assessment of the cerebellar syndrome. The Ataxia Neuropharmacology Committee. *J Neurol Sci* 1997;145:205–11.
- [15] John SW, Weitzner G, Rosen R, Schriver CR. A rapid procedure for extracting genomic DNA from leukocytes. *Nucleic Acids Res* 1991;19:408.
- [16] Orozco DG, Nodarse FA, Cordovés R, Aurburger G. Autosomal dominant cerebellar ataxia: clinical analysis of 263 patients from a homogeneous population in Holguín, Cuba. *Neurology* 1990;40:1369–75.
- [17] Carenni GL, Finocchiaro G, Di Donato S, Visciani A, Negri S. Electromyography and nerve conduction study in autosomal dominant olivopontocerebellar atrophy. *J Neurol* 1984;231:34–7.
- [18] Bennet RH, Ludvigson P, Deleon G, Berry G. Large fiber sensory neuronopathy in autosomal dominant spinocerebellar degeneration. *Arch Neurol* 1984;41:175–8.
- [19] Chokroverty S, Duvoisin RC, Sachdeo R, Saje J, Lepore F, Nicklas W. Neurophysiologic study of olivo-ponto-cerebellar atrophy with or without glutamate dehydrogenase deficiency. *Neurology* 1985;35:652–8.
- [20] Abele M, Burk K, Andres F, et al. Autosomal dominant cerebellar ataxia type I. Nerve conduction and evoked potential studies in families with SCA1, SCA2 and SCA3. *Brain* 1997;120:2141–8.
- [21] Van de Warrenburg BP, Notermans NC, Schelhaas HJ, et al. Peripheral nerve involvement in spinocerebellar ataxias. *Arch Neurol* 2004;61:257–61.
- [22] Filla A, De Michele G, Banfi S, et al. Has spinocerebellar ataxia type 2 a distinct phenotype? Genetic and clinical study of an Italian family. *Neurology* 1995;45:793.
- [23] Wadia N, Pang J, Desai J, Mankodi A, Desai M, Chamberlain S. A clinicogenetic analysis of six Indian spinocerebellar ataxia (SCA2) pedigrees. *Brain* 1998;121:2341–55.
- [24] Perretti A, Santoro L, Lanzillo B, et al. Autosomal dominant cerebellar ataxia type I: multimodal electrophysiological study and comparison between SCA1 and SCA2 patients. *J Neurol Sci* 1996;142:45–53.
- [25] Estrada R, Galárraga J, Orozco G, Nodarse A, Aurburger G. Spinocerebellar ataxia 2 (SCA2): morphometric analyses in 11 autopsies. *Acta Neuropathol* 1999;97:306–10.
- [26] Rub U, Del Turco D, Burk K, et al. Extended pathoanatomical studies point to a consistent affection of the thalamus in spinocerebellar ataxia type 2. *Neuropathol Appl Neurobiol* 2005;31:127–40.

- [27] Rub U, Del Turco D, Del Tredici K, et al. Thalamic involvement in a spinocerebellar ataxia type 2 (SCA2) and a spinocerebellar ataxia type 3 (SCA3) patient, and its clinical relevance. *Brain* 2003;126:2257–72.
- [28] Bogacz J, Chouza C, Romero S, Bogacz A, Correa H, Barbeau A. Visual evoked potentials and brain stem auditory potentials in Friedreich's ataxia—a longitudinal study. *Can J Neurol Sci* 1984;11:565–9.
- [29] Pinto F, Amantini A, de Scisciolo G, Scaioli V, Guidi L, Frosini R. Visual involvement in Friedreich's ataxia: PERG and VEP study. *Eur Neurol* 1988;28(5):246–51.
- [30] Rakowicz M, Zdzienicka E, Poniatowska R, et al. Spinocerebellar ataxias type 1 and 2: comparison of clinical, electrophysiological and magnetic resonance evaluation (in Polish with English abstract). *Neurol Neurochir Pol* 2005;39(4):263–75.
- [31] Enevoldson TP, Sanders MD, Harding AE. Autosomal dominant cerebellar ataxia with pigmentary macular dystrophy: a clinical and genetic study of eight families. *Brain* 1994;117:445–60.
- [32] Sridharan R. Visual evoked potentials in spinocerebellar degenerations. *Clin Neurol Neurosurg* 1983;85:235–43.
- [33] Fujita M, Hosoko M, Moyazaki M. Brain stem auditory evoked responses in spinocerebellar degeneration and Wilson disease. *Ann Neurol* 1981;9:42–7.
- [34] Nuwer MR, Perlman SL, Packwood JW, Kark RA. Evoked potential abnormalities in the various inherited ataxias. *Ann Neurol* 1983;13:20–7.
- [35] Durr A, Chneiweiss H, Khati C, et al. Phenotypic variability in autosomal dominant cerebellar ataxia type I is unrelated to genetic heterogeneity. *Brain* 1993;116:1497–508.
- [36] Gierga K, Burk K, Bauer M, et al. Involvement of the cranial nerves and their nuclei in spinocerebellar ataxia type 2 (SCA2). *Acta Neuropathol* 2005;109:617–31.

Capítulo 2. Marcadores de progresión en la Ataxia Espinocerebelosa Tipo 2

Publicados en:

- **Rev Neurol** (1998); 27 (160): 955-963 (Factor de impacto: 1,28)
- **J Neurol Sci** (2010); (290):22-26 (Factor de impacto: 2,492)

En este capítulo se presentan los resultados de una investigación longitudinal realizada en un grupo de descendientes asintomáticos de SCA2 durante 20 años. El primer artículo muestra los principales hallazgos de un corte realizado durante los primeros 10 años de la investigación con los objetivos de identificar los primeros cambios detectables objetivamente y determinar el efecto de la mutación sobre las estructuras y vías no cerebelosas. Esta investigación permitió definir diferentes etapas evolutivas (Anexo 1). Sin embargo, se consideró necesario extender el estudio hasta un periodo de tiempo mayor para una definición más completa del proceso degenerativo.

El segundo artículo es la continuidad del anterior y completa un periodo de 20 años, para definir mejor las diferentes fases del proceso degenerativo. Esta segunda evaluación longitudinal prospectiva incluyó los estudios de conducción nerviosa periférica motora y sensitiva en 21 portadores de la mutación SCA2 — inicialmente asintomáticos— y 19 no portadores de la mutación. Las primeras alteraciones electrofisiológicas fueron la reducción de las amplitudes de los potenciales sensitivos en los nervios mediano y sural. En el nervio mediano, los signos aparecieron aproximadamente 8 años antes de las manifestaciones cerebelosas, mientras que para el sural estos se detectaron más próximos al inicio de la enfermedad. Las alteraciones fueron seguidas por el incremento de

la latencia sensitiva y disminución de la velocidad de conducción. Las amplitudes sensitivas disminuyeron progresivamente de modo que casi todos los pacientes mostraron amplitudes anormales y ausencia de potenciales sensitivos. La tasa de progresión de estas manifestaciones electrofisiológicas fue mayor en los pacientes con expansiones poliglutamínicas grandes. Los nervios periféricos motores mostraron una afectación tardía en la evolución de la enfermedad. Sugerimos que las amplitudes sensitivas se pueden emplear como biomarcadores útiles para estimar la progresión de la neuropatía periférica y, de esta manera, para evaluar futuros ensayos clínicos. Con objetivo de realizar una caracterización integral de las fases evolutivas de la SCA2, se realizaron nuevos estudios electrofisiológicos, tales como, electronistagmografía, videopolisomnografía, umbral olfatorio y aprendizaje visuomotor.

Características electrofisiológicas en familiares asintomáticos de enfermos con ataxia espinocerebelosa tipo 2

L. Velázquez^a, E.E. Medina^b

ELECTROPHYSIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF ASYMPTOMATIC RELATIONS OF PATIENTS WITH TYPE 2 SPINOCEREBELLAR ATAXIA

Summary. Introduction. *Electrophysiological studies have been shown to be useful in hereditary ataxia, but only a small number of patients have been studied, and the duration of the illness, serial studies and molecular definition have not been taken into account.* Objective. *We proposed, by means of electrophysiological techniques, to characterize the functional evolutionary state of the afferent and efferent systems in asymptomatic relations of patients with type 2 spinocerebellar ataxia (SCA₂).* Patients and methods. *A 10 year longitudinal, prospective study was made of 59 children of patients with SCA₂. The sequence included four studies: 1986, 1991, 1994 and 1996, all with informed consent for the investigation. The control group consisted of 108 volunteers. The electrophysiological studies recorded were: conduction studies in peripheral nerves and multimodal evoked potentials. For statistical analysis multivariate methods were used with a confidence interval of 95% ($\alpha=0.05$).* Results. *Electrophysiological alterations were observed even in the absence of clinical signs, such as reduced amplitude of sensory potentials, morphological changes and prolonged latency of the central components of somatosensory evoked potentials, and of brain stem auditory evoked potentials, whilst the visual evoked potentials remained normal. Of 79 relations studied during the 10 year investigation, 17 had clinical signs and were considered to be patients with SCA₂.* Conclusions. *Four stages of the illness were defined: 'healthy', presymptomatic, and patients with and without nerve conduction block. These characterized the degenerative mechanisms of the afferent and efferent systems of the relations of patients with SCA₂ who became ill themselves [REV NEUROL 1998; 27: 955-63].*

Key words. *Evoked potentials. Hereditary ataxia. Nerve conduction. Spinocerebellar degeneration. Type 2 spinocerebellar ataxia.*

Recibido: 27.07.98. Recibido en versión revisada: 01.08.98. Aceptado: 04.08.98.

^a Laboratorio de Neurofisiología Clínica. Hospital Docente Provincial Vladimir Ilich Lenin. Holguín. ^b Departamento de Neurofisiología Clínica. Hospital General Dr. Luis Díaz Soto. La Habana, Cuba.

Correspondencia: Dr. Luis Velázquez Pérez. Hospital Docente Vladimir

Ilich Lenin. Avda. Lenin, s/n. Holguín 80100, Cuba.

Agradecimientos: Al Lic. Jorge González Ferrer, al Dr. Alfredo Álvarez Amador y al Lic. Jorge L. Valdés Hernández, por la cooperación brindada en la culminación de esta investigación.

© 1998, REVISTA DE NEUROLOGÍA

INTRODUCCIÓN

Las ataxias hereditarias autosómicas dominantes forman un grupo de afecciones neurodegenerativas heterogéneas clínica y genéticamente. Se caracterizan por la pérdida neuronal progresiva a nivel del cerebelo, núcleos del tronco cerebral y tractos espinocerebelares. Sus principales manifestaciones clínicas son la ataxia de la marcha, dismetría, disartria, adiadocinesia, oftalmoplejías y alteraciones en los reflejos profundos. La edad de la presentación clínica es variable aun dentro de las mismas familias [1-3].

En 1893, Pierre Marie consideró la existencia de un grupo de ataxias hereditarias con una presentación diferente a la ataxia descrita por Friedreich [4]. Los rasgos que la caracterizaban eran el modo autosómico dominante de la herencia y la edad de comienzo tardío. Los signos más prominentes fueron los cerebelosos, reflejos profundos normales o exaltados, oftalmoplejías, atrofias de los nervios ópticos y el hallazgo morfológico de una atrofia acentuada del cerebelo [5].

En Cuba, varios investigadores han informado acerca de la existencia de familias portadoras de enfermedad heredodegenerativa en las regiones orientales del país [6,7]. La mayor prevalencia comunicada corresponde a la forma clínica de ataxia autosómica dominante [6], con cifras que llegan a alcanzar hasta 133,8 por 100.000 habitantes, la más alta de todo el país y del mundo. Por ello se estimó, de forma predictiva, una población de más de 1.000 habitantes afectados en la provincia de Holguín.

Existen múltiples estudios que analizan la utilidad de las técnicas electrofisiológicas en las ataxias hereditarias [8-12]. Sin embargo, se ha estudiado una cantidad muy escasa de pacientes [12-14]; éstos han sido incluidos sin tener en cuenta el tiempo de evolución de la enfermedad y la edad de inicio, los estudios no se han realizado de forma seriada y la interpretación fisiopatológica se hace difícil al no tener en cuenta la definición molecular, que es la única forma de poder clasificar en la actualidad a las ataxias espinocerebelosas.

En 1993, a partir de un estudio genético-molecular realizado por Gispert et al [15] en la genealogía de familias cubanas procedentes de Holguín, fue publicado el descubrimiento del cromosoma donde se localizaba el locus productor de la ataxia espinocerebelosa tipo 2 (AEC₂). El mismo se cartografió en el intervalo comprendido entre PLA2 y D12S58 sobre el cromosoma 12q23-24.1. y le fue atribuido un lugar en la clasificación de las ataxias hereditarias en el *Handbook of Clinical Neurology* [16].

Nodarse et al [10] fueron los primeros en realizar estudios neurofisiológicos a familiares asintomáticos y enfermos con ataxia cerebelosa en Holguín. Fue posible determinar que el comienzo de ésta es el mismo a cualquier edad, pero no se logró conocer el efecto de los mecanismos neurodegenerativos sobre estructuras y vías no cerebelosas a través del tiempo, ni agrupar a los pacientes por fases evolutivas para realizar análisis en cada una de ellas.

En estos momentos, tras haber transcurrido 10 años desde la selección de los familiares asintomáticos, presentamos los resultados de esta investigación que combina la ventaja de utilizar pacientes del mismo tipo molecular (AEC₂), una muestra suficientemente significativa con evaluaciones neurofisiológicas durante 10 años para análisis en cada etapa de la enfermedad, con el propósito de identificar los primeros cambios detectables objetivamente y así determinar el efecto tóxico de la mutación génica sobre las estructuras y vías no cerebelosas a través de los estudios electrofisiológicos.

Tabla I. Características generales de la muestra estudiada.

Grupo control					
Sexo	n	Edades			
		Mínima	Máxima	Media	DE
Femenino	48	12	65	34,02	13,79
Masculino	60	13	57	35,56	10,72
Familiares asintomáticos y enfermos					
N.º de sujetos por estudios					
Sexo femenino	1986	1991	1994	1996	
Edad mínima	7	12	14	16	
Edad máxima	50	54	56	58	
Edad media	24	28	31	33	
DE	12,45	12,26	12,23	12,03	
Total	43	43	40	40	
Sexo masculino					
Edad mínima	11	16	18	19	
Edad máxima	44	49	52	54	
Edad media	25	30	32	34	
DE	10,19	10,68	10,63	10,71	
Total	16	16	15	15	

DE: desviación estándar.

La existencia de estos marcadores podría contribuir a la creación de las bases electrofisiológicas para la validación en el modelo de la terapéutica y acelerar los estudios moleculares con su aplicación.

PACIENTES Y MÉTODOS

Diseño experimental

El estudio diseñado es de tipo prospectivo y longitudinal, y permite examinar las relaciones entre las diferentes variables en el tiempo y obtener una evidencia más directa de las diferencias en los cambios dinámicos intra e interindividuales que se producen en los familiares de pacientes con AEC₂.

Sujetos estudiados

Estudiamos los casos de 59 hijos de pacientes con AEC₂ previamente seleccionados en 1986 bajo la clasificación de familiares asintomáticos y un grupo control con 108 sujetos cuyas características se muestran en la tabla I. Todos los sujetos consintieron en ser incluidos en el estudio tras ser informados. Como criterios de exclusión se definió que no presentaran síntomas y signos neurológicos, alteraciones en el primer registro electrofisiológico ni sufrieran enfermedades asociadas que comprometieran al sistema nervioso central y periférico, con edades inferiores a la edad de inicio de la enfermedad en su generación. Estos sujetos fueron estudiados durante 10 años: 1986, 1991, 1994 y 1996. En los dos últimos estudios fueron excluidos cuatro sujetos por abandono voluntario.

Examen neurológico

A todos los individuos se les realizó examen clínico en cada ocasión inmediatamente antes del registro electrofisiológico, se consideraron los parámetros utilizados en la Clínica de los Hermanos Mayo [17].

Tabla II. Conducción nerviosa periférica sensitiva en los cuatro estudios realizados en familiares asintomáticos clínicamente. (n= 38).

Variables	1986	1991	1994	1996	p
Nervio mediano					
Latencia	2,50 ^a	2,55 ^a	2,88 ^b	2,75 ^b	0,000
Duración	2,30 ^a	2,25 ^a	2,95 ^b	3,01 ^b	0,000
Amplitud	16,62 ^a	9,73 ^b	7,86 ^c	6,22 ^d	0,000
VCS	57,38	56,20	54,00	57,02	0,210
Nervio sural					
Latencia	–	1,75 ^a	2,33 ^b	2,69 ^b	0,000
Duración	–	2,03 ^a	2,25 ^a	2,89 ^b	0,000
Amplitud	–	15,27 ^a	11,65 ^b	10,46 ^c	0,000
VCS	–	59,71 ^a	55,03 ^b	55,16 ^b	0,019

^{a, b, c, d} Test de separación de medidas; p ≤ 0,05; VCS: velocidad de conducción sensitiva.

Acorde a los resultados del examen clínico neurológico, clasificamos a los familiares asintomáticos en una de las dos categorías siguientes:

- *Asintomático*: el que continúa sin síntomas ni signos de la enfermedad.
- *Enfermo*: el que ya tiene manifestaciones clínicas bien definidas de la enfermedad.

Según los resultados obtenidos en el estudio electrofisiológico, y teniendo en cuenta la condición de individuo asintomático o enfermo dada anteriormente, conformamos dos grupos para el análisis de los resultados:

- Grupo de familiares asintomáticos (n= 38).
- Grupo de familiares enfermos (n= 17).

Desde 1986 a 1991, 5 sujetos mostraron manifestaciones clínicas bien definidas de AEC₂. Hasta 1994 otros 9 sujetos enfermaron y en el último estudio (1996) se dieron 3 nuevos casos, lo que suma un total de 17 sujetos que enfermaron.

Estudios electrofisiológicos

Los registros de conducción nerviosa motora y sensitivas se realizaron según técnicas descritas por Kimura [18]. Utilizamos para los estudios de conducción nerviosa un electromiógrafo DISA modelo 14 A 11, de un canal acoplado a una promediadora DISA 14 G 11. Realizamos los potenciales evocados somatosensoriales (PESS), auditivos de tallo cerebral (PEATC) y visuales (PEV) según la técnica descrita por Chiappa [19-21]. Empleamos un equipo Neurónica versión 02 para potenciales evocados multimodales de la firma Neuronic SA.

Estudios de conducción en nervios periféricos motores

Estimulamos los nervios mediano y peroneo profundo. Para ello empleamos estímulos eléctricos rectangulares de 0,1 ms de duración, frecuencia de 1 Hz y filtros de entre 20 y 2.000 Hz, tiempo de análisis de 30 ms y sensibilidad de 0,5 mV por división.

Estudios de conducción en nervios periféricos sensitivos

Obtuvimos los potenciales sensitivos de los nervios mediano y sural. Empleamos un pulso rectangular de 0,1 ms de duración, tiempo de análisis de 10 ms, sensibilidad de 5 µV por división y se promedió un total de 50 respuestas.

Medimos las variables latencias, amplitudes, duración, número de fases y velocidades de conducción motora y sensitiva.

PESS por estimulación del nervio mediano

Se obtuvieron con frecuencia de 5 Hz e intensidad mínima para provocar aducción del dedo pulgar. Registramos los potenciales con electrodos de

Tabla III. Potenciales evocados somatosensoriales en familiares asintomáticos clínicamente. (n=38).

Variables	1986	1991	1994	1996	p
Nervio mediano					
Latencia N9	8,91 ^a	8,43 ^a	8,80 ^a	9,28 ^b	0,000
Latencia N13	12,69 ^a	12,55 ^a	13,13 ^b	13,36 ^b	0,000
Latencia N20	18,59	18,22	19,38	19,82	0,000
N9-N13	3,71 ^a	4,05 ^b	4,26 ^b	4,02 ^b	0,038
N13-N20	5,89 ^a	5,67 ^a	6,26 ^b	6,44 ^b	0,003
Nervio tibial posterior					
Latencia espinal	18,82	19,35	19,28	19,67	0,083
Latencia P40	35,41 ^a	36,31 ^a	38,17 ^b	39,45 ^c	0,000
Espinal-P40	14,58 ^a	15,42 ^a	17,44 ^b	17,78 ^b	0,000

^{a, b, c} Test de separación de medidas; p ≤ 0,05.

superficie desde las tres derivaciones descritas clásicamente [22]. Empleamos un tiempo de análisis de 30 ms, sensibilidad de 5 µV/división, con filtros de entre 5 y 2.000 Hz. Promediamos 2.000 respuestas y hasta tres réplicas. Medimos las latencias obtenidas en el punto de Erb (conducción a través del plexo braquial), y N13 y N20 (conducción a través de cordones posteriores cervicales y corteza somatosensorial primaria, respectivamente). Calculamos el tiempo de conducción periférica (Erb-N13) y el tiempo de conducción central (N13-N20).

PESS por estimulación del nervio tibial posterior

El registro se realizó según la técnica descrita [22]. Empleamos un tiempo de análisis de 100 ms. El resto de los parámetros fueron los mismos que los utilizados para el nervio mediano. Promediamos 1.500 respuestas con tres réplicas. Medimos la latencia del componente P40 y la del potencial registrado a nivel espinal (latencia espinal, lumbar 1 o L₁). Calculamos el tiempo de conducción central (TCC) a partir de la diferencia entre las latencias del potencial cortical y el lumbar, así como el tiempo de conducción medular según la expresión: latencia P40 (latencia espinal + latencia N13-N20).

PEATC

Se obtuvieron en respuesta a la estimulación monoaural a través de audífonos TDH-39 con clicks de condensación a una duración de 100 ms y una intensidad de 95 dB pSPL. El tiempo de análisis fue de 15 ms y los filtros de entre 20 y 2.000 Hz. Se promedió a una frecuencia de 17 Hz y de dos a tres réplicas en cada registro, con impedancias por debajo de 5 KΩ. Asimismo, medimos las latencias absolutas de los componentes I, III y V, así como los intervalos I-III y III-V.

PEV

Empleamos un tiempo de análisis de 400 ms, 132 promediaciones, filtros de entre 1 y 100 Hz y sensibilidad de 10 µV, con impedancias por debajo de 5 KΩ y una ganancia de 100.000. La estimulación a patrón se realizó de forma monocular en condiciones de baja iluminación. Medimos la latencia del componente P100.

Todos los estudios de potenciales evocados se realizaron en un equipo Neurónica versión 02 de la firma Neuronic SA.

Análisis de los datos

Se efectuó en el paquete estadístico Statistica para Windows. Realizamos *scatterplots* para los diferentes datos con el objetivo de probar la distribución normal de las variables utilizadas en el estudio antes de aplicar los métodos de estadística paramétrica. Se desarrollaron análisis de varianza

Tabla IV. Conducción nerviosa periférica sensitiva del nervio mediano en sujetos controles y familiares asintomáticos clínicamente. (Sujetos controles, n= 108; familiares asintomáticos, n= 38).

Variables	Grupo control		Familiares asintomáticos		p
	Media	DE	Media	DE	
Estudio 1991					
Latencia	2,52	0,53	2,55	0,58	0,813
Duración	2,42	0,36	2,25	0,36	0,022
Amplitud	17,98	7,72	9,73	5,63	0,000
VCS	58,10	8,60	56,20	11,24	0,212
Edad	33,10	12,32	28,81	11,70	0,790
Estudio 1994					
Latencia	2,52	0,53	2,88	0,47	0,001
Duración	2,42	0,36	2,95	0,60	0,000
Amplitud	17,98	7,72	7,86	4,60	0,000
VCS	58,10	8,60	54,00	9,65	0,012
Edad	33,10	12,32	31,15	11,66	0,434
Estudio 1996					
Latencia	2,52	0,53	2,75	0,53	0,034
Duración	2,42	0,36	3,01	0,58	0,000
Amplitud	17,98	7,72	6,22	3,89	0,000
VCS	58,10	8,60	57,02	9,97	0,391
Edad	33,10	12,32	32,97	11,45	0,911

p ≤ 0,05; VCS: velocidad de conducción sensitiva.

multivariado para medidas repetidas entre los cuatro estudios y la prueba de Newman Keulls de separación de medias para determinar la existencia de diferencias estadísticamente significativas o no entre las variables electrofisiológicas empleadas a través del tiempo, así como análisis discriminante entre los familiares que permanecieron asintomáticos y los 17 que enfermaron, con la utilización de los valores que correspondieron al estudio antes de enfermar para demostrar la existencia de alteraciones en las variables electrofisiológicas en estadios presintomáticos. Se calcularon los valores de las áreas bajo las curvas características del receptor operando (CRO o ROC, del inglés *Receiver Operating Characteristic Curve*) para un grupo de variables en un programa elaborado en el Centro de Neurociencias de Cuba para los estudios previos a la aparición de los síntomas y signos de AEC₂ en los 17 sujetos. Asumimos como criterio de verdad el valor de los sujetos enfermos y el de los sanos del estudio correspondiente a 1996 con la utilización de los valores correspondientes a 2, 3, 5 y 10 años previos a la AEC₂.

RESULTADOS

Examen neurológico

El examen neurológico demostró que de los 55 familiares asintomáticos estudiados entre 1986 y 1996, 38 de ellos permanecieron sin síntomas ni signos de afección del sistema nervioso y en 17 se encontraron manifestaciones clínicas tales como ataxia de la marcha, disartria cerebelosa, dismetría, adiadococinesia e hiporreflexia, por lo que dados sus antecedentes familiares permitió considerarlos como enfermos de AEC₂.

Tabla V. Conducción nerviosa periférica en los cuatro estudios realizados en familiares enfermos. (n= 17).

Variables	1986	1991	1994	1996	p
Nervio mediano					
Latencia	2,57 ^a	2,60 ^a	3,18 ^b	3,38 ^b	0,000
Duración	2,75	2,35	2,69	2,76	0,839
Amplitud	13,13 ^a	4,53 ^b	3,19 ^b	2,32 ^c	0,000
VCS	56,97	55,58	50,02	47,86	0,003
Nervio sural					
Latencia	-	1,95 ^a	2,66 ^b	3,69 ^c	0,000
Duración	-	1,92	2,45	2,69	0,059
Amplitud	-	11,50 ^a	6,87 ^b	4,60 ^c	0,044
VCS	-	55,09 ^a	50,98 ^a	47,35 ^b	0,031

^{a, b, c} Test de separación de medidas; p ≤ 0,05; VCS: velocidad de conducción sensitiva.

Familiares asintomáticos

La comparación entre las medias de los diferentes estudios de conducción nerviosa periférica motora realizados en 1986, 1991, 1994 y 1996 mostró diferencias significativas para la variable amplitud de los nervios mediano y peroneo profundo, con una tendencia a disminuir progresivamente en el tiempo. Los valores más bajos se presentaron en el último estudio. Sin embargo, para las variables latencia, duración y velocidad de conducción motora no se detectaron diferencias significativas.

El análisis de varianza para la conducción nerviosa periférica sensitiva se muestra en la tabla II. Observamos la existencia de un incremento de los valores de latencia y duración, mientras que la amplitud y la velocidad de conducción del nervio mediano disminuyeron con diferencias significativas a excepción de la velocidad de conducción sensitiva del sural (VCS). Las mayores alteraciones predominaron en los dos últimos estudios.

Para los PESS de nervio mediano y tibial posterior (Tabla III), pudimos apreciar un incremento significativo de los valores de latencia de todas las variables con excepción de la latencia del potencial espinal. Debemos destacar que el incremento de las latencias de estos componentes ocurre de forma moderada.

Al igual que en los estudios de conducción nerviosa periférica los mayores cambios tienden a concentrarse hacia los dos últimos estudios.

No mostraron diferencias significativas las comparaciones de medias entre los cuatro estudios realizados para los PEATC.

La existencia de diferencias significativas en los análisis de varianza anteriores tanto para los estudios de conducción nerviosa periférica como para los PESS de nervio mediano y tibial posterior a través del tiempo mostró la necesidad de realizar otros análisis de varianza multivariados con los sujetos normales, pero con el empleo de parámetros antropométricos controlados como la edad y la talla.

En la tabla IV mostramos las comparaciones de medias para los estudios de conducción nerviosa periférica sensitiva del nervio mediano entre el grupo control y los estudios realizados a

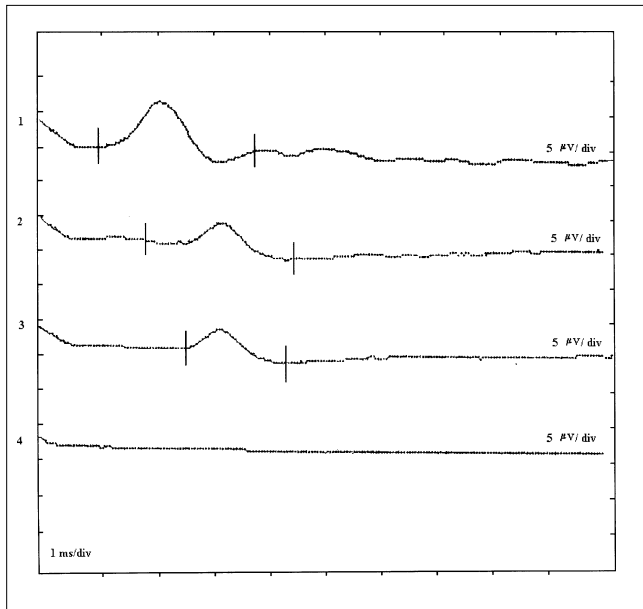


Figura 1. Comportamiento de la conducción nerviosa periférica sensitiva del nervio mediano en un familiar enfermo de AEC₂. Se observa significativa disminución de la amplitud con prolongación de la latencia en estudios evolutivos con bloqueo de la conducción en el cuarto estudio (Trazo 4). ms/div= milisegundos por división; μV/div= microvoltios por división.

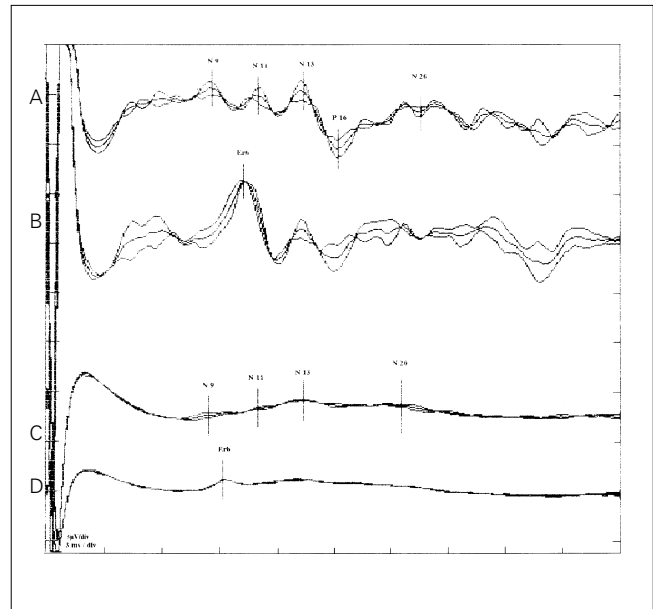


Figura 2. PESS de nervio mediano. Trazos A y B: registros normales pertenecientes a sujetos del grupo control. Trazo C: potencial cervicobulbar de un familiar enfermo con AEC₂ de un año de evolución en el que se observa alteración de la morfología con componentes de baja amplitud mal definidos. Trazo D: se observa significativa disminución de la amplitud del potencial de Erb en el mismo paciente. ms/div= milisegundos por división; μV/div= microvoltios por división.

Tabla VI. Potenciales evocados somatosensoriales en familiares enfermos. (n= 17).

Variables	1986	1991	1994	1996	p
Nervio mediano					
Latencia N9	9,34	9,04	8,82	9,76	0,050
Latencia N13	13,12 ^a	12,68 ^a	12,88 ^a	13,57 ^b	0,029
Latencia N20	18,90 ^a	18,92 ^a	19,30 ^b	21,08 ^c	0,000
N9-N13	3,77 ^a	3,68 ^a	4,06 ^b	3,80 ^b	0,557
N13-N20	5,78 ^a	6,20 ^b	6,36 ^b	7,36 ^c	0,006
Nervio tibial posterior					
Latencia espinal	20,53	20,52	20,76	20,77	0,930
Latencia P40	37,45 ^a	38,69 ^b	45,83 ^c	46,63 ^d	0,000
Espinal-P40	16,66 ^a	18,04 ^a	24,78 ^c	25,42 ^d	0,000
Tiempo de conducción medular	10,78 ^a	11,29 ^a	17,91 ^b	19,12 ^c	0,000

^{a, b, c, d} Test de separación de medidas; p ≤ 0,05.

familiares asintomáticos en los años 1991, 1994 y 1996. Se demostró la existencia de diferencias significativas para las variables duración y amplitud en el estudio realizado en 1991, mientras que en los otros dos estas diferencias se extendieron a todas las variables analizadas con mayor intensidad y predominaron en la amplitud. Observamos que la edad del grupo de sujetos controles y la de los familiares asintomáticos clínicamente se mantuvo de forma homogénea sin diferencias significativas entre los grupos analizados.

La comparación de medias para los PESS de nervio mediano entre los cuatro estudios realizados y los sujetos controles, con edades y tallas similares para estos grupos, no mostró diferencias significativas entre los tres primeros estudios y el grupo control. Sin embargo, en el examen de 1996 constatamos diferencias relevantes para las variables N9 y N20 con un aumento de sus valores en el grupo de familiares asintomáticos, lo que evidenció la existencia de un incremento progresivo en las latencias de estos componentes en los 38 familiares asintomáticos de pacientes con AEC₂, y que estos cambios ocurrieron en ausencia de manifestaciones clínicas de la enfermedad y a su vez corroboraron las comparaciones anteriores realizadas entre los diferentes estudios.

La comparación de medias para los PESS de nervio tibial posterior entre cada estudio realizado y los controles con edad y talla similares para ambos grupos mostró que en el primer estudio no se apreciaron diferencias significativas; sin embargo, a partir del segundo examen apreciamos un incremento de la latencia del tiempo de conducción medular, mientras que en el tercero y cuarto estas diferencias se extendieron al resto de los componentes con excepción del potencial espinal, el cual no presentó variaciones en relación con el grupo control en ninguna de las comparaciones establecidas.

Familiares enfermos

La comparación de medias para los estudios de conducción nerviosa periférica motora de los nervios mediano y peroneo profundo entre los cuatro estudios realizados mostró que, con excepción de la velocidad de conducción motora del nervio peroneo profundo, no se detectaron diferencias significativas en el resto de las variables de ambos nervios; no obstante, hay que destacar que las amplitudes proximales y distales presentaron una tendencia a la disminución progresiva de sus valores con predominio de los dos últimos estudios.

Tabla VII. Comportamiento de diferentes variables según el tiempo de evolución antes y después de enfermar. (n= 17).

Variables	Años antes de enfermar			Años después de enfermar			
	9	6	1	2	4	6	8
LMS	2,43	2,74	2,62	3,25	3,34	3,35	3,32 ^{nr}
AMS	14,79 ^a	8,92 ^b	4,61 ^c	2,12 ^d	0,99 ^e	1,17 ^e	0,74 ^{e*}
Latencia sural	NR	1,73	2,32	2,70	2,60	2,47	2,77 ^{nr}
Amplitud sural	NR	6,08 ^a	3,96 ^b	5,71 ^a	1,81 ^c	0,24 ^d	0,17 ^{d*}
Lat. de Erb	NR	9,40	9,22	9,38	9,97	10,20	10,30 ^{nr}
Ampl. de Erb	NR	0,65 ^a	0,15 ^b	0,09 ^c	0,04 ^d	0,03 ^d	0,02 ^{d*}
Lat. N20	18,73 ^a	18,94 ^a	19,66 ^b	22,12 ^c	22,79 ^c	26,16 ^d	26,42 ^{d**}
Lat. P40	37,60 ^a	38,21 ^a	40,05 ^b	48,48 ^c	49,60 ^c	54,06 ^d	55,96 ^{d**}
L1-P40	17,46 ^a	17,29 ^a	18,55 ^a	26,53 ^b	24,00 ^c	27,18 ^b	28,36 ^{d**}

^{a, b, c, d, e} Test de separación de medidas; *; p≤ 0,001; **; p≤ 0,01; LMS: latencia del nervio mediano sensitivo; AMS: amplitud del nervio mediano sensitivo; L1: lumbar 1; ^{nr} No se registró.

El análisis de varianza para la conducción nerviosa periférica sensitiva se muestra en la tabla V. Observamos la existencia de un incremento progresivo de los valores de latencia y duración, mientras que la amplitud y la velocidad de conducción disminuyó para ambos nervios. Estos resultados mostraron diferencias significativas para las variables latencia, amplitud y velocidades de conducción. La prueba de separación de medias evidenció que las diferencias más significativas se establecieron entre el primer estudio en relación con el tercero y cuarto (Fig. 1). En 3 pacientes no se obtuvo el potencial sensitivo en el cuarto estudio, en 1 caso no se detectó respuesta a partir del segundo examen y en otros 2 en el tercer y cuarto estudio electrofisiológico.

La comparación entre las medias para los PESS de nervio mediano (Tabla VI) mostró diferencias significativas para todas las variables excepto para las latencias del componente N9 y de N9-N13. La prueba de separación de medias evidenció que las mayores diferencias se establecieron entre los últimos estudios en relación con el primero. En 5 pacientes no se obtuvo el potencial entre los estudios de 1994 y 1996 y en otros 2 sólo se obtuvo el potencial cortical (N20). Las alteraciones en la morfología y la replicabilidad, así como la disminución de la amplitud del potencial de Erb fueron otros hallazgos anormales presentes en estos pacientes (Fig. 2).

Para los PESS de nervio tibial posterior las variables latencia absoluta de P40, la interpico L1-P40 y el tiempo de conducción medular fueron las que presentaron diferencias significativas. A pesar de que no observamos alteraciones en la latencia del potencial espinal, hay que señalar que en algunos casos no se obtuvo y en otros los valores de amplitud estaban muy disminuidos en relación con estudios anteriores. La separación de medias indicó que las diferencias se presentaron entre el último estudio y los realizados en 1986, 1991 y 1994. En 3 pacientes no logramos obtener el potencial en los dos últimos estudios y otros 2 tuvieron disminución notable de la amplitud del potencial espinal. En general, los tipos de respuestas más frecuentemente encontradas fueron morfología atípica, alteraciones de la replicabilidad, latencias prolongadas, amplitud disminuida y ausencia de potencial.

Tabla VIII. Valores de las áreas bajo las curvas CRO para un grupo de variables de significación con tiempo de evolución entre 2 y 10 años antes de enfermar.

Variables	Evolución (años previos a la enfermedad)		
	10	3-5	2
Latencia mediano motor	0,558	0,587	0,572
Amplitud mediano motor	0,551	0,565	0,567
Latencia mediano sensitiva	0,669 ^a	0,710 ^a	0,779 ^a
Amplitud mediano sensitiva	0,705 ^a	0,894 ^a	0,924 ^a
Componente N20 (PESS nervio mediano)	0,702 ^a	0,784 ^a	0,805 ^a
Componente P40 (PESS N. tibial posterior)	0,779 ^a	0,845 ^a	0,931 ^a
Potencial espinal-P40	0,754 ^a	0,866 ^a	0,950 ^a
Intervalo III-V (PEATC)	0,380	0,375	0,434

CRO: características del receptor operando. ^aValores de variables de mayor significación.

La comparación de medias para los PEATC no mostró diferencias significativas para las latencias absolutas de los componentes I y V y para la interpico III-V. En las variables que presentaron diferencias estadísticamente significativas se observaron valores muy similares entre los estudios, sin alcanzar cifras anormales en ningún caso. No obstante, la morfología anormal, la poca replicabilidad y la disminución de la amplitud constituyeron las primeras alteraciones básicas encontradas. En un sujeto no obtuvimos respuesta.

La comparación de medias, teniendo en cuenta el tiempo de evolución desde 9 años antes hasta 8 años después de enfermar, se muestra en la tabla VII. Se observó que la amplitud sensitiva del potencial del nervio mediano, sural y del punto de Erb, así como las latencias de N20, P40 y L1-P40, fueron las variables que mostraron diferencias significativas y ello nos permitió definir cuatro etapas evolutivas. Hay que señalar que en la etapa de 'sanos' los valores de amplitud de dichas variables comenzaron a disminuir, coincidiendo con un ligero incremento en las latencias de los componentes centrales de los PESS; estos cambios podrían constituir un primer estadio evolutivo en los sujetos portadores del gen que fenotípicamente no han enfermado. Entre 1 a 6 años antes de aparecer la misma, se produjo un incremento mayor en la disminución de las amplitudes sensitivas periféricas, que alcanzaron valores por debajo de lo aceptado como normal, hecho éste que ocurrió en ausencia de síntomas clínicos pertenecientes a la segunda etapa (presintomática). Coincidiendo con la aparición de las primeras manifestaciones clínicas se produjo un incremento de las alteraciones electrofisiológicas, lo cual expresa los cambios degenerativos periféricos y centrales que sucedieron en estos pacientes en estadios iniciales de la enfermedad: tercera etapa, con una duración variable. En 9 de los sujetos estudiados no obtuvimos los potenciales sensitivos entre los 4 a 8 años posteriores al inicio de la enfermedad, lo que representó el 37,5% de los enfermos con tiempo de evolución mayor de 4 años. Para los PESS, 14 enfermos no mostraron respuestas a la estimulación del nervio mediano y del tibial posterior, es decir, un 58,3% de la muestra. En 8 pacientes predominaron los bloqueos en la conducción afe-

Tabla IX. Resultado del análisis discriminante entre grupos control, familiares asintomáticos clínicamente y familiares enfermos.

Sujetos	Porcentaje de clasificación	Asintomáticos	Enfermos	Controles
Asintomáticos (n= 38)	84,21	32	1	5
Enfermos (n= 17)	100,00	0	17	0
Controles (n= 86)	97,67	2	0	84

Porcentaje total de buena clasificación= 94,28. Variables de mayor significación: amplitud mediano sensitivo (F:12,043; p: 0,0000), latencia del potencial nervio sural (F: 3,829; p: 0,0249).

rente y eferente por lo que ésta podría considerarse como la cuarta fase evolutiva.

En la tabla VIII se presentan los resultados de las áreas bajo las curvas CRO en un grupo de variables que correspondieron a estudios realizados entre los 2 y 9 años previos a la enfermedad. Observamos valores elevados en todos los estudios mayores en los dos últimos análisis, los cuales se relacionaron con un tiempo previo a la enfermedad de 2 y 4 años. Estos hallazgos predominaron en las latencias y amplitudes de los nervios mediano y sural y en los componentes N20, P40 y L1-P40.

Los resultados de la comparación de medias para los potenciales evocados visuales entre un grupo control, los familiares asintomáticos y los enfermos no mostraron diferencias significativas para la variable latencia absoluta del componente P100.

Para conocer cómo interactuaban todas las variables en la caracterización de cada individuo y cuáles fueron las que más contribuyeron a su clasificación en un grupo u otro, realizamos un análisis discriminante entre los sujetos que han permanecido asintomáticos durante los 10 años y los 17 sujetos que enfermaron, tomando para el análisis los valores de las variables del estudio previo a la enfermedad (aproximadamente 2 años). Se apreció un 94,54% de clasificación total, lo cual indica que ambos grupos se pueden diferenciar entre sí y demuestra la existencia de alteraciones en los exámenes electrofisiológicos aun antes de enfermar. La variable que presentó mayor significación en la clasificación correspondió a la amplitud del potencial sensitivo del nervio mediano (F= 3,1077, p< 0,008).

Realizamos otro análisis discriminante entre los familiares asintomáticos ('sanos'), los enfermos y el grupo control (Tabla IX) con el objetivo de evaluar predictivamente si las variables electrofisiológicas discriminan al sujeto enfermo del no enfermo. En este análisis se obtuvo el 100% de clasificación de los enfermos, el 84,21% en los asintomáticos y el 97,67% en el grupo control. Esto demostró que la división de los individuos estudiados según los criterios clínicos y electrofisiológicos en que se basó el estudio fue correcta, mientras que el análisis de la función discriminante demostró que las variables más significativas que condicionaron la diferenciación de cada grupo fueron la amplitud sensitiva del nervio mediano (F= 12,043, p< 0,0001) y la latencia del nervio sural (F= 3,829, p< 0,0249).

DISCUSIÓN

La principal anomalía detectada fue la reducción progresiva de

las amplitudes de los potenciales sensitivos, seguida por la prolongación de las latencias y el enlentecimiento en las velocidades de conducción. Estas undio lo que sugirió la existencia de una lesión axonal en fibras motoras con conservación de la mielina.

Los resultados expuestos en la bibliografía consultada coinciden en describir la existencia de alteraciones tanto motoras como sensitivas, pero predominantemente éstas últimas en los nervios periféricos de pacientes con atrofia olivopontocerebelosa (AOPC). Este término identifica la lesión anatomopatológica que caracteriza a la ataxia cerebelosa descrita por numerosos autores [9,11,23,24]. Es también la encontrada en los pacientes de Holguín [25] y conocida por las siglas OPCA, del inglés *Oливо-Ponto-Cerebellar Atrophy*.

Todos los estudios confirmaron que la alteración electrofisiológica fundamental en pacientes con AOPC fue una neuropatía axonal predominantemente sensitiva. Estos hallazgos estuvieron en concordancia con los resultados histológicos, obtenidos mediante biopsias de nervios periféricos, que coincidieron en señalar una reducción o pérdida de las neuronas en los ganglios de la raíz dorsal, con la consiguiente disminución de fibras mielinizadas de mediano y grueso calibre que provoca atrofia y desmielinización de las raíces dorsales y degeneración de las fibras de las columnas posteriores de la médula espinal, como han señalado McLeod [11], Cruz Martínez [23] y Chokroverty [12].

Estrada et al [26], en un estudio necrópsico realizado a 13 fallecidos de AEC₂, también demostraron una moderada pérdida de neuronas sensitivas y desmielinización de las fibras intraganglionares en los ganglios de la raíces dorsales de la médula espinal.

Chokroverty [12] confirmó la naturaleza axonal de esta neuropatía periférica predominantemente sensitiva en las AOPC.

Se ha descrito degeneración nerviosa axonal en presencia de desmielinización segmentaria en pacientes con AOPC; sin embargo, según nuestro criterio y coincidiendo con Nousiainen [27], consideramos que no se puede asegurar que la desmielinización sea un fenómeno primario sino que obedece a una degeneración axonal.

Los resultados de los PESS de nervios mediano mostraron dos tipos de alteraciones: en fibras nerviosas periféricas de grueso calibre expresadas por la caída de amplitud del potencial de Erb y por la ausencia de respuesta de dicho potencial; el otro tipo de anomalía se refirió a una lesión axonal a nivel intraxial ocasionada por la ausencia de respuesta de los componentes cervicobulbares y corticales de los PESS y a la prolongación de latencias de N13-N20. Éstas pusieron de manifiesto un daño axonomielínico en las fibras de grueso calibre que pueden ser secundarias a la lesión ganglionar demostrada en los pacientes con AOPC [8,9].

En los PESS de nervio tibial posterior encontramos iguales alteraciones, es decir, una lesión axonomielínica en fibras periféricas y centrales.

Las alteraciones de los PEATC, aunque inespecíficas, indican un aumento en la dispersión temporal de la conducción nerviosa en su trayecto intraxial a nivel del tronco cerebral, con afectación axonomielínica que consistió básicamente en su poca replicabilidad y morfología inestable con latencias absolutas e interpicos normales. En general, los estudios que informan sobre los resultados de los PEATC en pacientes con ataxia hereditaria son controvertidos debido a la poca homogeneidad de los enfermos estudiados, como consecuencia de los diferentes criterios de clasificación utilizados para definir el tipo de ataxia, y a que los estudios se realizan independientemente del estadio evolutivo de la enfermedad [13].

Los PEV no mostraron alteraciones significativas en los familiares asintomáticos ni en los enfermos lo que demostró la conservación de la vía visual en los pacientes con ataxia cubana.

El incremento de las alteraciones electrofisiológicas se correspondió con la aparición de los primeros síntomas clínicos de AEC₂. En estudios posteriores se comprobó el aumento de estas anomalías lo cual expresa la progresión de los mecanismos degenerativos en los sistemas aferentes y eferentes en esta entidad con el paso del tiempo.

En la bibliografía revisada no encontramos ningún estudio que describa el comportamiento neurofisiológico evolutivo en enfermos de ataxias hereditarias que permita el análisis en diferentes momentos de forma homogénea desde antes de enfermar hasta años después de la aparición de las manifestaciones clínicas.

¿Qué estructuras del sistema nervioso son las primeramente afectadas cuando se manifiestan los síntomas y signos de la enfermedad?

El análisis de la función discriminante y de las curvas CRO demostraron que la amplitud sensitiva de nervio mediano y las latencias de N20, P40, N13-N20 y L1-P40 fueron las variables que más diferenciaron a los sujetos 'sanos', enfermos y grupo control, lo que sugirió que la progresión de las alteraciones en nervios periféricos (porción sensitiva), sistema dorsal lemniscal en médula espinal y tronco cerebral coincidieron con la aparición de las primeras manifestaciones clínicas en los enfermos.

Obviamente, las alteraciones clínicas de los pacientes indicaron que el cerebelo está precozmente afectado, pero en el presente estudio no realizamos ninguna prueba que explorara vías y funciones cerebelosas.

¿Tienen valor pronóstico las alteraciones electrofisiológicas encontradas en familiares asintomáticos?

Los hallazgos electrofisiológicos actuales mostraron que estructuras del sistema nervioso están involucradas desde etapas muy tempranas de la enfermedad, muy probablemente desde antes de que se manifiesten los síntomas y signos clínicos de la misma.

El análisis de los resultados de los estudios previos en familiares que posteriormente enfermaron demostró que éstos pueden

aparecer precozmente en los portadores del gen. Por otro lado, la intensificación de las alteraciones neurofisiológicas se correspondió con la aparición de las primeras manifestaciones clínicas.

Estos hallazgos se presentan de forma homogénea en los individuos que enfermaron en 1991, 1994 y 1996, lo que nos permitió definir en familiares estudiados las cuatro etapas evolutivas:

- *Primera etapa*: caracterizada por estudios electrofisiológicos 'normales' y ausencia de síntomas y signos de AEC₂.
- *Segunda etapa*: comienzan a aparecer cambios en las variables electrofisiológicas, fundamentalmente disminución en la amplitud de los potenciales sensitivos, prolongación en las latencias absolutas e interpicos de los componentes de los PESS, así como morfología anormal en los PEATC en ausencia de manifestaciones clínicas.
- *Tercera etapa*: incremento en las alteraciones electrofisiológicas que coinciden con la aparición de las primeras manifestaciones clínicas.
- *Cuarta etapa*: aparecen bloqueos en la conducción, tanto periférica como central, expresada por ausencia en la respuesta de los estudios de conducción nerviosa sensitiva y en los PESS.

Esta clasificación por etapas realizada por primera vez en la ataxia cubana permitió conocer el proceso degenerativo de los sistemas aferentes y eferentes en la enfermedad, la existencia de alteraciones electrofisiológicas en sujetos asintomáticos que posteriormente enfermaron y permitirá indicar el momento óptimo a partir del cual podría evaluarse la acción de una terapéutica específica en la AEC₂. El enfoque metodológico al abordar el estudio de esta enfermedad se ha introducido en todos los laboratorios de la Red Nacional de Neurofisiología Clínica.

CONCLUSIÓN

Es necesario que los laboratorios de neurofisiología clínica trabajen en colaboración para la realización de estudios con estas características, lo cual contribuiría al conocimiento científico de los mecanismos fisiopatológicos de muchas enfermedades neurológicas que actualmente representan problemas de salud en varios países y a evaluar el comportamiento de determinados agentes terapéuticos sobre el sistema nervioso.

BIBLIOGRAFÍA

1. Auburger G, Orozco G, Ferreira R. Autosomal dominant ataxia. Genetic evidence for locus heterogeneity from a Cuban founder effect population. *Am J Hum Genet* 1990; 46: 1163-77.
2. Pulst MS, Nechiporuk A, Nechiporuk T, Gisper S, Chen NX, Cendes LI, et al. Moderate expansion of a normally biallelic trinucleotide repeat in spinocerebellar ataxia type 2. *Nat Genet* 1996; 14: 269-76.
3. Sanpei K, Takano H, Igarashi S, Sato T, Oyake M, Sasaki H, et al. Identification of the spinocerebellar ataxia type 2 gene using a direct identification of repeat expansion and cloning technique. *Nat Genet* 1996; 14: 277-84.
4. Barbeau A. Friedreich's Ataxia 1976. An overview. *Can J Neurol Sci* 1976; 3: 394.
5. Orozco G, Nodarse A, Cordovés R, Auburger G, Estrada R. Study of 225 patients with autosomal dominant cerebellar ataxia: presumed founder effect in the province Holguín, Cuba. In Plaitakis J, ed. *Hereditary Ataxias*. Berlin: Springer-Verlag; 1989. p. 345-60.
6. Vallés L. Algunas formas de enfermedades hereditarias espinocerebelosas vistas en el norte de Oriente: análisis de 72 familias con 11.505 miembros. Estudio epidemiológico, descriptivo y transversal de 1970 (Trabajo para optar por el título de Especialista en Neurología). Instituto de Neurología y Neurocirugía. La Habana, 1974.
7. 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.
8. Lanzillo B, Perretti A, Santoro L, Pelosi L, Filla A, de Michele G, et al. Evoked potentials in inherited ataxias: a multimodal electrophysiological study. *Ital J Neurol* 1994; 15: 25-37.
9. Cruz MA, Anciones B, Ferrer MT, Tejedor ED, Pérez Conde MC, Barreiro P. Electrophysiological study in olivopontocerebellar atrophy. *Electromyogr Clin Neurophysiol* 1987; 27: 67-71.
10. Nodarse A, Orozco DG, Gutiérrez S, Coutin P. Clinical electrophysiological correlation in patients with hereditary ataxia and asymptomatic relatives. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1987; 66: 573.
11. McLeod JG, Evans WA. Peripheral neuropathy in spinocerebellar degenerations. *Muscle Nerve* 1981; 4: 51-61.
12. Chokroverty S, Duvoisin RC, Sachdeo R, Saje J, Lepore FW. Neurophysiologic study of olivoponto-cerebellar atrophy with or without glutamate dehydrogenase deficiency. *Neurology* 1985; 35: 652-8.
13. De Pablos C, Berciano J, Calleja J. Brain stem auditory evoked potentials and blink reflex in Friedreich's ataxia. *J Neurol* 1991; 238: 212-6.
14. Banfi S, Zoghbi HY. Molecular genetics of hereditary ataxias. *Baillieres Clin Neurol* 1994; 3: 281-95.
15. Gisper S, Twells R, Orozco G, Brice A, Wever J, Heredero L. Chromosomal assignment of the second locus for autosomal dominant

- cerebellar ataxia (SCA2) to chromosome 12q23-24.1. *Nat Genet* 1993; 4: 295-9.
16. Orozco DG, Nodarse FA, Cordovés R, Aurburger G. Autosomal dominant cerebellar ataxia: clinical analysis of 263 patients from a homogeneous population in Holguín, Cuba. *Neurology* 1990; 40: 1369-75.
 17. Denny-Brown D. Handbook of neurological examination and case recording. 3 ed. Cambridge: Harvard University Press; 1960.
 18. Kimura J. Principles of nerve conduction studies. In Kimura J, ed. *Electrodiagnosis in diseases of nerve and muscle*. Philadelphia: FA Davis; 1989. p. 83-104.
 19. Chiappa KH. Short-latency somatosensory evoked potentials: methodology. In Chiappa KH, ed. *Evoked Potentials in clinical medicine*. 3 ed. Philadelphia: Lippincott Raven Publishers; 1997. p. 283-340.
 20. Chiappa KH. Brain stem auditory evoked potentials: methodology. In Chiappa KH, ed. *Evoked potentials in clinical medicine*. 3 ed. Philadelphia: Lippincott Raven Publishers; 1997. p. 157-98.
 21. Chiappa KH. Pattern-Shift visual evoked potentials: methodology. In Chiappa KH, ed. *Evoked potentials in clinical medicine*. 3 ed. Philadelphia: Lippincott Raven Publishers; 1997. p. 31-94.
 22. American Electroencephalographic Society. Guidelines for clinical evoked potential studies. *J Clin Neurophysiol* 1984; 1: 11-4.
 23. Cruz Martínez A, Arpa J, Alonso M, Palomo F, Villoslada C. Transcranial magnetic stimulation in multiple system and late onset cerebellar atrophies. *Acta Neurol Scand* 1995; 92: 218-24.
 24. Subramony SH, Currier RD. Peripheral nerve involvement in late-onset ataxias. *Muscle Nerve* 1983; 6: 537-8.
 25. Velázquez PL. Estudio neurofisiológico en familiares asintomáticos de pacientes con Ataxia Cerebelosa Dominante de Holguín (Trabajo para optar por el título de Especialista en Fisiología Normal y Patológica). Hospital Provincial V.I. Lenin. Holguín, 1992.
 26. Estrada R, Valles L, Galarraga J. Heredoataxias. Estudio neuropatológico en 3 casos. *Rev Cub Medic* 1980; 19: 225-37.
 27. Nousiainen U, Partanen J, Laulumaa V, Paakkonen A. Involvement of somatosensory and visual pathways in late onset ataxia. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1987; 67: 514-20.

CARACTERÍSTICAS ELECTROFISIOLÓGICAS EN FAMILIARES ASINTOMÁTICOS DE ENFERMOS CON ATAXIA ESPINOCEREBELOSA TIPO 2

Resumen. Introducción. Los estudios electrofisiológicos han mostrado utilidad en las ataxias hereditarias, pero el número de pacientes estudiados ha sido escaso, y no se han tenido en cuenta el tiempo de evolución, los estudios seriados y la definición molecular. Objetivo. Caracterizar con técnicas electrofisiológicas el estado funcional evolutivo de los sistemas aferentes y eferentes en familiares asintomáticos de enfermos con ataxia espinocerebelosa tipo 2 (AEC₂). Pacientes y métodos. Se realizó un estudio longitudinal prospectivo durante 10 años a 59 hijos de pacientes con AEC₂. La secuencia incluyó cuatro estudios: 1986, 1991, 1994 y 1996 con el consentimiento informado. El grupo control contó con 108 sujetos voluntarios. Registros electrofisiológicos realizados: estudios de conducción en nervios periféricos y potenciales evocados multimodales. En el análisis estadístico se aplicaron métodos multivariados con una confiabilidad del 95% ($\alpha=0,05$). Resultados. Se observó la existencia de alteraciones electrofisiológicas aun en ausencia de manifestaciones clínicas tales como disminución de las amplitudes de los potenciales sensitivos, alteraciones en la morfología y prolongación de las latencias de los componentes centrales de los potenciales evocados somatosensoriales y cambios en la replicabilidad y morfología de los potenciales evocados auditivos de tallo cerebral, mientras los visuales permanecieron normales. De los 59 familiares estudiados en los 10 años de investigación, 17 presentaron manifestaciones clínicas y se les consideró enfermos de AEC₂. Conclusiones. Se definieron cuatro etapas evolutivas: 'sanos', presintomáticos, enfermos con y sin bloqueo en la conducción nerviosa. Éstas caracterizaron los mecanismos degenerativos de sistemas aferentes y eferentes en los familiares de pacientes con AEC₂ que enfermaron [*REV NEUROL* 1998; 27: 955-63].

Palabras clave. Ataxia espinocerebelosa tipo 2. Ataxia hereditaria. Conducción neural. Degeneración espinocerebelosa. Potenciales evocados.

CARACTERÍSTICAS ELECTROFISIOLÓGICAS DE FAMILIARES ASSINTOMÁTICOS DE DOENTES COM ATAXIA ESPINOCEREBELOSA TIPO 2

Resumo. Introdução. Os estudos electrofisiológicos demonstraram-se úteis nas ataxias hereditárias, mas o número de doentes estudados foi escasso, e não tiveram em consideração o tempo de evolução, os estudos seriados e a definição molecular. Objectivo. Caracterizar com técnicas electrofisiológicas o estado funcional evolutivo dos sistemas aferentes e eferentes em familiares assintomáticos de doentes com ataxia espinocerebelosa tipo 2 (AEC₂). Doentes e métodos. Realizou-se um estudo longitudinal prospectivo durante 10 anos a 59 filhos de doentes com AEC₂. A sequência incluiu quatro estudos: 1986-1991-1994 e 1996 com o consentimento informado. O grupo controlo consistiu em 108 indivíduos voluntários. Registos electrofisiológicos realizados: estudos de condução em nervos periféricos e potenciais evocados multimodais. Na análise estatística aplicaram-se métodos multivariados com um grau de confiança de 95% ($\alpha=0,05$). Resultados. Registrou-se a existência de alterações electrofisiológicas ainda que na ausência de manifestações clínicas tais como diminuição das amplitudes dos potenciais sensitivos, alterações na morfologia e prolongamento das latências dos componentes centrais dos potenciais evocados somatosensoriais. Registaram-se ainda alterações na reprodutibilidade e morfologia dos potenciais evocados auditivos do tronco cerebral, enquanto que os visuais permaneciam normais. Dos 59 familiares estudados nos 10 anos de investigação, 17 apresentaram manifestações clínicas e foram considerados doentes de AEC₂. Conclusões. Definiram-se quatro etapas evolutivas: 'sãos', pré-sintomáticos, doentes sem e com bloqueio na condução nervosa. Estas etapas caracterizaram os mecanismos degenerativos dos sistemas aferentes e eferentes nos familiares de doentes com AEC₂ que adoeceram [*REV NEUROL* 1998; 27: 955-63].

Palavras chave. Ataxia espinocerebelosa tipo 2. Ataxia hereditária. Condução neural. Degenerescência espinocerebelosa. Potenciais evocados.



Contents lists available at ScienceDirect

Journal of the Neurological Sciences

journal homepage: www.elsevier.com/locate/jns

Progression markers of Spinocerebellar Ataxia 2. A twenty years neurophysiological follow up study

Luis Velázquez-Perez^{a,*}, Roberto Rodríguez-Labrada^a, Nalia Canales-Ochoa^a, Gilberto Sanchez-Cruz^a, Juan Fernandez-Ruiz^{b,c}, Jacqueline Medrano Montero^a, Raúl Aguilera-Rodríguez^a, Rosalinda Diaz^b, Luis E. Almaguer-Mederos^a, Agustín Palomino Truitz^d

^a Centro para la Investigación y Rehabilitación de las Ataxias Hereditarias, Holguín, Cuba

^b Laboratorio de Neuropsicología, Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México, México

^c Facultad de Psicología, Universidad Veracruzana, México

^d Hospital General Docente "Vladimir Ilich Lenin", Holguín, Cuba

ARTICLE INFO

Article history:

Received 4 November 2009

Received in revised form 15 December 2009

Accepted 15 December 2009

Available online 12 January 2010

Keywords:

SCA2

Biomarker

Hereditary ataxia

Peripheral Neuropathy

ABSTRACT

Nerve conduction is profoundly affected in Spinocerebellar ataxia 2 (SCA2) even before the onset of the disease, but there is no information regarding its progression to the final stage of SCA2. In order to study the progression patterns of nerve conduction abnormalities in SCA2 we performed a prospective follow up evaluation of sensory and motor conduction in 21 SCA2 mutation carriers-initially presymptomatics- and 19 non-SCA2 mutation carriers during 20 years. The earliest electrophysiological alterations were the reduction of sensory amplitudes in median and sural nerves, which could be found 8 to 5 years prior disease onset and in the last 4 years of the preclinical stage respectively. These abnormalities were followed by the increase of sensory latencies and decrease of conduction velocities. Sensory amplitudes progressively decreased during the follow-up clinical stage, rendering almost all patients with abnormal amplitudes and lack of sensory potentials, with faster progression rates in patients with larger CAG repeat lengths. Peripheral motor nerves showed the later involvement. These findings were used to define three distinct stages that describe the progression of the peripheral neuropathy. We suggest that sensory amplitudes could be useful biomarkers to assess the progression of peripheral nerve involvement and therefore to evaluate future clinical trials of therapeutic agents.

© 2009 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

Spinocerebellar ataxia type 2 (SCA2) is an Autosomal Dominant Spinocerebellar Ataxia, characterized by core symptoms related to cerebellar dysfunction, such as ataxic gait, cerebellar dysarthria, dysdiadochocinesia and dysmetria [1,2]. Other symptoms are also present, such as severe saccade slowing [3], peripheral neuropathy [4], cognitive dysfunctions [5], and sleep disorders [6,7].

The underlying pathological mechanism is an unstable increase of CAG repeats in the SCA2 gene, which maps to 12q24 [8–10]. The mutation produces a polyglutamine expansion in the protein ataxin 2, which result in cellular death across several brain regions, especially in cerebellar cortex, pontine nuclei, inferior olives and peripheral nerves [11]. Similar to other diseases caused by unstable trinucleotide repeats, an abnormal length of CAG is inversely correlated with age at

symptom onset [8–10]. Also, higher repeat length instability on paternal transmission to offspring is common [12,13].

The highest concentration of SCA2 families in the world have been found in the region of Holguín, Cuba, where the prevalence rate is already 40.18 cases per 100 000 inhabitants. Within this region, the most affected area is the municipality of Baguanos, with a remarkable rate of 134 cases per 100 000 inhabitants. Also, there are almost 2000 non-symptomatic untested first-degree relatives that have a 50 percent chance of carry the mutated gene, and hence, to develop the disease in years to come [14]. The disease progression and survival have been estimated previously by clinical studies. These analyses showed that the progressive course of SCA2 may lead to severe disability and death in relatively few years, with faster progression rates in those patients with larger CAG repeat lengths [15,16].

Currently there is not a cure for this disorder. The number of clinical trials in these patients is limited because, among other factors, a lack of biomarkers for the assessment of the main clinical and genetic features of the disease and the evaluation of therapeutic options [17]. An important step towards a comprehensive evaluation of any future therapy would be the detailed characterization of the disease progression stages.

* Corresponding author. Department of Clinical Neurophysiology, Centre for the Research and Rehabilitation of Hereditary Ataxias, Holguín, Cuba. Tel.: +53 24462296.
E-mail address: frankluisv@yahoo.es (L. Velázquez-Perez).

¹ Address: Carretera Central Km 51/2 Vía Habana, Reparto Edecio Pérez, Holguín, Cuba, Postal Code: 80100.

Different electrophysiological abnormalities in SCA2 patients have been characterized. The most consistent feature is an amplitude reduction of sensory potentials resulting from the loss of ganglion cells in the dorsal root ganglia [4,18–20]. However, the progression of these alterations across time has not been studied in a definite sample of SCA2 patients. The aim of this work was to measure motor and sensory nerve conduction in a large sample of SCA2 gene carriers across 20 years. The analysis of the progressive changes during that period leads us to the identification of electrophysiological abnormalities that allowed us to propose three electrophysiological stages in the course of this disease.

2. Material and Methods

2.1. Participants

The SCA2 group, composed by SCA2 patients and presymptomatic subjects (CAG repeat number above 32 units) included 13 female and 8 male subjects, that in average were 24.81 y/o (range: 7–49, SD 12.30), at the beginning of the experiments. Mean CAG expansion size of this group was 41.48 (range: 34–57, SD 5.33). The non-SCA2 mutation carrier group (non-SCA2) was integrated by 14 females and 5 males. The mean age of this group was 25.35 years (range: 9–50, SD 12.67) at beginning of the research while mean CAG repeat size was 23.39 (range: 22–30, SD 2.69).

All subjects were evaluated a total of six times (1986, 1992, 1994, 1996, 2003, 2006) across a 20 years span. The mean interval between two consecutive studies was 4.2 years with a range between 2 and 7 years. Evaluations included neurological examinations and nerve conduction tests.

The procedures followed were in accordance with the ethical standards of the committee on human experimentation of the Center for the Research and Rehabilitation of Hereditary Ataxias in Holguín. In addition, all participants gave their written informed consent prior to the experiments in accordance with the declaration of Helsinki.

2.2. Neurological evaluation

The actual neurological examinations for all subjects was performed following Mayo Clinic procedures [21] before each neurophysiological study. Clinical assessments in the last study were carried out using the Scale for Assessment and Rating of Ataxia (SARA) [22].

2.3. Nerve Conduction Tests

Nerve conduction studies were performed using an electromyographer (Neuropack SIGMA, Japan) following standard methods. Motor nerve conduction studies were recorded by percutaneous supramaximal nerve stimulation at unilateral (right) median and peroneal nerves. Motor action potentials were recorded using surface electrodes. Sensory nerve action potentials were recorded orthodromically by using surface ring electrodes around third digit and surface electrodes on the lateral to the midline in the lower third of posterior aspect of the leg at unilateral (right) median and sural nerves. A fixed distance (14 cm) between stimulation and record electrodes was used for the sensory conduction studies. We recorded and analyzed the onset latencies, amplitudes and conduction velocities. Nerve conduction velocities below and latencies above 2.5 SD threshold of normal control data from our study, and amplitudes of SNAPs below 5 μ V were considered abnormal.

2.4. Molecular Analysis

Genomic DNA was isolated from peripheral blood leucocytes using a standard protocol [23]. The SCA2 CAG repeat was assessed by PCR

amplification with the previously published UH10 and UH13 oligonucleotide primers [8]. Aliquots of the PCR products were then precisely sized by fragment analysis on an ALF Express II apparatus (Amersham Biosciences, Sweden) in comparison to internal and externals size markers using Allele Links 1.0 software (Amersham-Biosciences, Sweden).

2.5. Statistical Analysis

Collected data was analysed using the software Statistic for Windows® (Release 6.00, 2003). Scatter plots were obtained from the data to test for normal distribution before the application of parametric statistics.

3. Results

3.1. Neurological evaluation

The main clinical features of SCA2 mutation carriers during the six evaluations is showed in the Fig. 1 by means the frequency of disease stages and the means \pm SD of age at onset (AO) and disease duration (DD) by each evaluation. In the first evaluation all SCA2 subjects were presymptomatics (SCA2 stage 0) but in subsequent exams this frequency decreased progressively so that only 2 SCA2 subjects (9.5%) remained presymptomatics at the end the study. Clinical SCA2 stages I, II and III were characterized by light ataxia, need of external support and confinement to wheelchair or bed respectively and their frequencies varied interdependently during the study (Fig. 1).

All patients showed a cerebellar syndrome with gait ataxia as first symptom of the disease, cerebellar dysarthria, dysmetria and dysidiadochokinesia. Almost all patients exhibited slow saccadic eye movements, loss of vibration sense and areflexia or hyporeflexia of deep tendinous reflexes. No retinal degeneration, optic atrophy, nor dementia was observed. Simple regression analyses were conducted within the SCA2 patients and best fits were obtained using a log (y) transformation. This disclosed a significant negative correlation of age of onset and polyglutamine expansion size ($r = -0.786$; $p < 0.0001$).

All non-SCA2 mutation carriers were neurologically normal during the six evaluations. Mean SARA score was significantly different ($t = 6.86$; $p < 0.0001$) between SCA2 patients (17.34 ± 11.01) and non-SCA2 mutation carriers (0.03 ± 0.11).

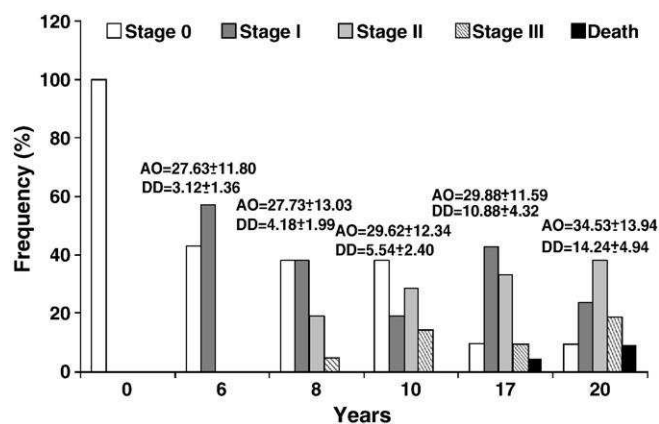


Fig. 1. Frequencies analysis of SCA2 stages in the SCA2 mutation carriers group during the six evaluations. Stage 0 represents the preclinical phase of SCA2, whereas stages I, II and III represent the light ataxia, external support and confinement phases of SCA2 respectively. Above each set of columns is showed the mean \pm SDs of age at disease onset (AO) and disease duration (DD) of SCA2 mutation carriers group for each study. Note that the “x” axes indicate the years that the tests were done.

3.2. Motor Peripheral Nerve Conduction Studies

During the first five evaluations covering 17 years, there were no significant differences between groups in the motor nerve conduction studies. However, a significant reduction of distal and proximal motor amplitudes for both nerves was observed in the last study ($p = 0.032$ for median nerve and $p = 0.015$ for peroneal nerve). Motor velocity and latencies in both groups remained normal across the 20 years period covered by this study.

3.3. Sensory Peripheral Nerve Conduction Studies

The SCA2 patients and presymptomatic relatives group showed a progressive decrease in the normal amplitudes frequency across time, resulting in an increase of abnormal sensory amplitudes frequency and absences of responses (Fig. 2).

The mean sensory action potentials amplitudes of the SCA2 patients and presymptomatic relatives group were different from the control group since the first ($t = -2.51$; $p = 0.002$) and third ($t = -2.97$; $p = 0.001$) studies for median and sural nerve respectively. The intergroup differences remained significant for the consecutive studies.

One-way ANOVA of sensory amplitudes using the SCA2 stage as factor, revealed the progressive decrease of these electrophysiological parameters with the clinical deterioration of the subjects (Table 1).

In order to estimate the period time when the sensory amplitudes decrease begins, the recordings from each presymptomatic subject (SCA2 stage 0) and SCA2 patient (SCA2 Stages I, II and III) were clustered in five different groups according to the time to manifestation and disease duration respectively.

The time intervals encompassed by each group of recordings obtained in presymptomatics subjects were from 8 to 5 as well as from 4 to 1 years prior disease onset respectively. In SCA2 patients the

Table 1

One-way ANOVA of sensory amplitudes using the SCA2 stage as factor in the SCA2 group.

Sensory Nerves	SCA2 Stage 0	SCA2 Stage I	SCA2 Stage II	SCA2 Stage III	Current effect
Median nerve	13.51 ± 0.81	3.88 ± 1.08	2.38 ± 1.33	0.55 ± 1.52	F = 21.62; p > 0.0001
Sural nerve	13.49 ± 0.66	6.11 ± 0.88	1.61 ± 1.08	0.21 ± 1.04	F = 21.23; p > 0.0001

groups of recordings were the following: from 0 to 5 years of disease duration (SCA2 stage 1: 82.61% and SCA2 stage 2: 17.39%), from 6 to 9 years of disease duration (SCA2 stage 1: 35.29%; SCA2 stage 2: 47.06% and SCA2 stage 3: 17.05%) and from 10 to 17 years of disease duration (SCA2 stage 1: 33.60%; SCA2 stage 2: 48.15% and SCA2 stage 3: 19.25%).

The earliest sensory abnormality in the median nerve occurred between 8 and 5 years prior to disease onset. In the case of sural nerve, the earliest significant mean amplitude decrease appeared 4 years before clinical stage. The intergroup differences remained significant for the consecutive groups (Fig. 3). In preclinical stage, seven (33.3%) and five (23.8%) SCA2 mutation carriers had abnormal amplitude for median and sural nerves respectively. Eleven (68.75%) and twelve (75%) out sixteen SCA2 patients with disease duration above 10 years

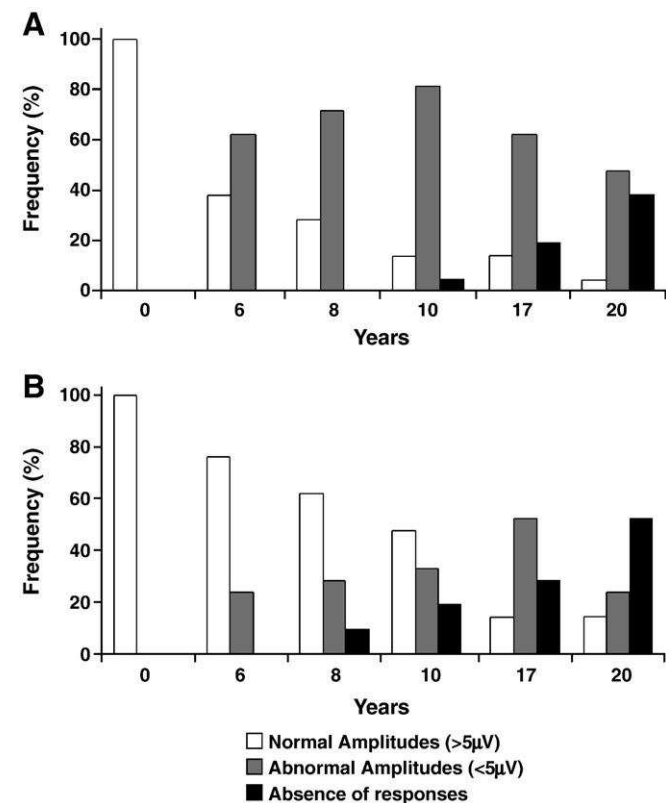


Fig. 2. Frequencies analysis of sensory potential amplitude abnormalities of median (A) and sural nerve (B) in the SCA2 group. Note that the “x” axes indicate the years that the tests were done.

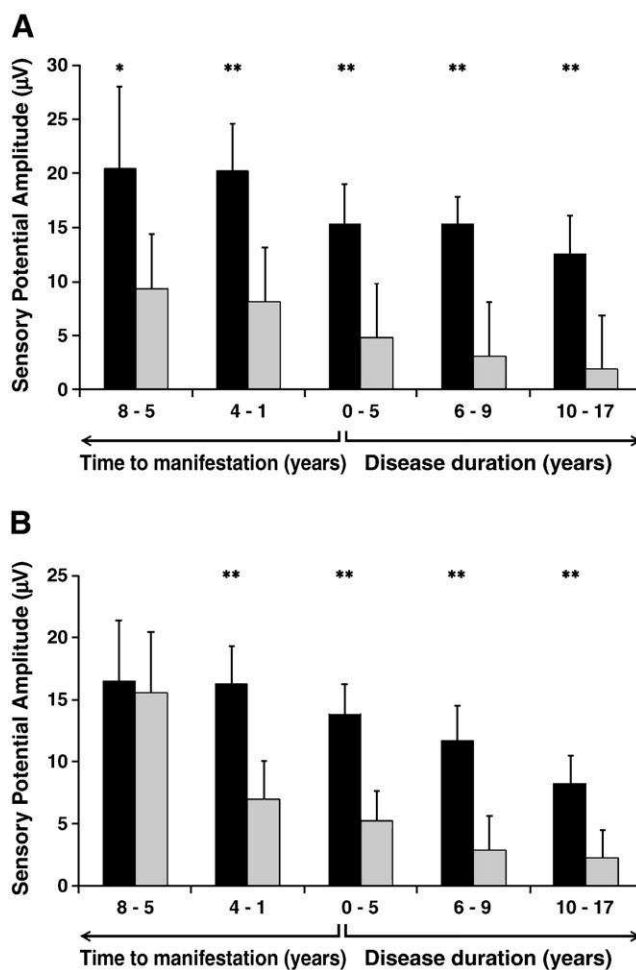


Fig. 3. Early (preclinical) onset and progressive course of sensory potential abnormalities in median (A) and sural (B) nerves in SCA2. Mean values and SDs are represented for SCA2 patients and presymptomatics group (gray columns) and control group (dark columns) respectively. One asterisk represent p values below 0.05 whereas two asterisks represent p values below 0.005.

Table 2
Correlation between sensory amplitude decrease progression rate and SARA scores and number of CAG repeats.

Sensory Nerves	SARA score	CAG repeats
Median	r = 0.38 p = 0.048	r = 0.63 p = 0.003
Sural	r = 0.65 p = 0.001	r = 0.62 p = 0.003

showed absence of responses in the median and sural nerves respectively.

Sensory amplitudes decrease was influenced by the polyglutamine expansion size. The absence response was found in 8 out of 10 (80 %) of patients with CAG repeats above 40 units, however only 4 out of 11 (36.4 %) patients with repeat units below or equal to 40 did not show sensory potentials during the study ($X^2 = 4.07$; $p = 0.043$). To estimate the velocity progression of the main electrophysiological abnormalities for each SCA2 mutation carrier and correlate it with clinical and molecular variables, an exponential mathematical model was applied to each series of data corresponding to the variables for each mutation carriers.

A simple regression analyses within the SCA2 patients group disclosed a significant positive correlation of progression velocities of amplitude abnormalities and SARA score and CAG repeats for both nerves (Table 2).

From the fourth evaluation, the increase of sensory latencies in the SCA2 group showed significant differences from the control group (*Median nerve*: SCA2 group [3.20 ± 0.63 ms], controls [2.77 ± 0.57 ms], $t = 2.21$, $p = 0.033$; *Sural nerve*: SCA2 group [3.06 ± 0.84 ms], controls [2.63 ± 0.34 ms], $t = 2.11$, $p = 0.042$).

Like sensory latencies, the sensory nerve conduction velocities become statistically different from the fourth study (*Median nerve*: SCA2 group [50.28 ± 8.49 m/s], controls [55.17 ± 6.26 m/s], $t = -2.05$, $p = 0.047$; *Sural nerve*: SCA2 group [49.48 ± 6.70 m/s], controls [55.42 ± 5.23 m/s], $t = -3.02$, $p = 0.004$).

These alterations appeared in the group of electrophysiological recordings obtained during the first 5 years of disease duration (*Sensory latencies*: median nerve: $t = 3.06$; $p = 0.003$, sural nerve: $t = 3.25$, $p = 0.001$; *Conduction velocity*: median nerve: $t = -2.17$; $p = 0.031$, sural nerve: $t = -2.25$; $p = 0.027$). There weren't correlations between the progression of those abnormalities and the SARA score or CAG repeats.

4. Discussion

Longitudinal studies are valuable designs for research questions that involve trends, changes or developments through time. In medicine, they are used to uncover predictors and progression markers of certain diseases, also to study the influence of age dependent factors on the development of these diseases. Particularly in neurophysiologic research, follow up designs have an additional advantage based in the identification of subnormal changes in subjects with any pathology, compared with normal controls.

Most neurophysiologic reports in SCA2 patients are limited to small number of cases or to poorly defined patient groups. Until now, there have been no systematic follow-up electrophysiological SCA2 studies. The present work used motor and sensory nerve conduction tests to define the onset, extent and progression of the peripheral neuropathy in 40 relatives SCA2 patients.

A recent study testing 82 SCA2 patients and 62 presymptomatic first degree relatives confirmed the sensory axonal pathology found in this disease [4,18–20]. In the same report other sensory abnormalities were identified, including an increase of the potential latency and a decrease of the sensory conduction velocity. Most of those electro-

physiological abnormalities preceded the clinical onset of the disease [4].

In the present study we describe the progression of the most important features during a twenty years period. Nerve conduction studies were measured a total of six times at an interval of 2–7 years, that is, every 4.2 years in average.

The main abnormality found in the experimental group was the progressive reduction of the potential amplitude in both studied nerves. This electrophysiological feature continued progressing during the disease, and it was more accentuated in those patients with the longer disease evolution time and marked clinical deterioration.

4.1. Progression stages

Based on these electrophysiological findings we propose the definition of three distinct stages that describe the progression of the peripheral neuropathy in SCA2.

4.1.1. First stage

Preclinical sensory axonal neuropathy. During this stage electrophysiological abnormalities appeared even before the clinical disease onset (SCA2 stage 0). These alterations consist in a decrease of sensory potential amplitudes without definitive clinical manifestations of peripheral neuropathy. These alterations could be classified as the earliest subclinical alterations in SCA2. This electrophysiological phenotype can be detected in the median nerve even 8 years prior the disease onset and in the last 4 years of the preclinical stage in the sural nerve, supporting the preferential appearance of an axonal neuropathy in the upper limbs rather than in the lower limbs in SCA2 [20,24,25]. The results of normal motor nerve conduction studies suggest the sparing of the motor nerve fibers during presymptomatic stages.

4.1.2. Second stage

Sensory axonal neuropathy. Corresponds to the initial clinical manifestations of the cerebellar syndrome. It is usually associated to the SCA2 stage I and is characterized by an increase of the sensory electrophysiological abnormalities and the emergence of other, more variable, sensory alterations such as latencies increase and nerve conduction slowing.

4.1.3. Third stage

Sensory-motor neuropathy. This stage is characterized by a mixed (sensory and motor) peripheral neuropathy with decreased motor potential amplitudes and accentuated sensory involvement. This stage is generally observed in patients with 10–15 years of disease duration and SCA2 stages II and III.

The classification of the peripheral neuropathy progression into distinct stages allows us to assess the peripheral sensory structures degenerative process during the SCA2 progressing course. The stages classification would also allow not only to choose the optimal time for introducing a specific therapeutic action, but also to evaluate their effects.

The present results also show an important influence of the mutation size over the progression rate of the sensory peripheral neuropathy [15]. Patients with large mutations (≥ 40 CAG units) were characterized by a fast evolution of sensory neuropathy, reflecting a predominant axonal damage, whereas the patients with CAG expansions below 40 showed a high variability of the sensory abnormalities. These findings support a previous report that encompassed 52 Cuban SCA2 patients who were evaluated by H reflex means and somatosensory evoked potentials (SSEP) [26].

The present article reports the first electrophysiological follow up study in a cohort of clinically and molecular diagnosed subjects with SCA2, during a period of 20 years. There is a previous study done in 3 -initially presymptomatic- SCA1 mutation carriers during

7–9 years. In contrast to SCA2, SCA1 gene carriers showed an early and common pyramidal tract involvement that resulted in a central motor conduction time increase, SSEP abnormalities and a late and moderate peripheral neuropathy, characterized by the decrease of motor and sensory conduction velocity [27]. Together, these studies would suggest distinct differences in the neurophysiological abnormalities progression patterns between SCA1 and those reported here in the SCA2 Cuban population.

5. Conclusion

The present results suggest that before any clinical manifestation, peripheral sensory pathways start to deteriorate in SCA2 presymptomatic gene carriers. Although this deterioration is most prominent in the median nerve, it can also be measured in the sural nerve. The characterization of this deterioration pattern, which is different than in SCA1, provides an important tool in the search for progression markers under genetic control in SCA2. For example, sensory amplitudes could be used as surrogate markers for research projects into the modulation of polyglutamine toxicity by modifier factors, the identification of potential targets for asymptomatic and/or symptomatic treatments and the evaluation of future clinical trials of therapeutic agents.

Author Roles

Luis Velázquez-Perez designed and organized the study, Roberto Rodríguez-Labrada, Nalia Canales-Ochoa, Gilberto Sanchez-Cruz, Raúl Aguilera-Rodríguez, Luis E. Almaguer-Mederos, Agustín Palomino Truiz and Jacqueline Medrano Montero organized and executed the project. Juan Fernandez-Ruiz, Rosalinda Diaz, Luis Velázquez-Perez and Roberto Rodríguez-Labrada participated in the statistical analysis, and discussion and writing of the first draft.

Funding

The Cuban Ministry of Health supported the study.

Acknowledgements

We are grateful to the SCA2 mutation carriers and the control individuals for their cooperation.

References

- [1] Lastres-Becker I, Rub U, Auburger G. Spinocerebellar ataxia 2 (SCA2). *Cerebellum* 2008;7(2):115–24.
- [2] Orozco Diaz G, Nodarse Fleites A, Cordoves Sagaz R, Auburger G. Autosomal dominant cerebellar ataxia: clinical analysis of 263 patients from a homogeneous population in Holguin, Cuba. *Neurology* 1990;40(9):1369–75.
- [3] Velázquez-Perez L, Seifried C, Santos-Falcon N, Abele M, Ziemann U, Almaguer-Mederos LE, et al. Saccade velocity is controlled by polyglutamine size in spinocerebellar ataxia 2. *Ann Neurol* 2004;56(3):444–7.
- [4] Velázquez-Perez L, Sanchez Cruz G, Canales Ochoa N, Rodriguez Labrada R, Rodriguez Diaz J, Almaguer Mederos LE, et al. Electrophysiological features in patients and presymptomatic relatives with spinocerebellar ataxia type 2. *J Neurol Sci* 2007;263(1–2):158–64.
- [5] Burk K, Globas C, Bosch S, Gräber S, Abele M, Brice A, et al. Cognitive deficits in spinocerebellar ataxia 2. *Brain* 1999;122(Pt 4):769–77.
- [6] Boesch SM, Frauscher B, Brandauer E, Wenning GK, Hög B, Poewe W. Disturbance of rapid eye movement sleep in spinocerebellar ataxia type 2. *Mov Disord* 2006;21(10):1751–4.
- [7] Tuin I, Voss U, Kang JS, Kessler K, Rüb U, Nolte D, et al. Stages of sleep pathology in spinocerebellar ataxia type 2 (SCA2). *Neurology* 2006;67(11):1966–72.
- [8] Imbert G, Saudou F, Yvert G, Devys D, Trotter Y, Garnier JM, et al. Cloning of the gene for spinocerebellar ataxia 2 reveals a locus with high sensitivity to expanded CAG/glutamine repeats. *Nat Genet* 1996;14(3):285–91.
- [9] Pulst SM, Nechiporuk A, Nechiporuk T, Gispert S, Chen XN, Lopes-Cendes I, et al. Moderate expansion of a normally biallelic trinucleotide repeat in spinocerebellar ataxia type 2. *Nat Genet* 1996;14(3): 269–76.
- [10] Sanpei K, Takano H, Igarashi S, Sato T, Oyake M, Sasaki H, et al. Identification of the spinocerebellar ataxia type 2 gene using a direct identification of repeat expansion and cloning technique, DIRECT. *Nat Genet* 1996;14(3):277–84.
- [11] Estrada R, Galarraga J, Orozco G, Nodarse A, Auburger G. Spinocerebellar ataxia 2 (SCA2): morphometric analyses in 11 autopsies. *Acta Neuropathol* 1999;97(3): 306–10.
- [12] Igarashi S, Tsuji S. Molecular analyses of intergenerational instability of CAG repeat in SCA2 gene. *Nippon Rinsho* 1999;57(4):811–7.
- [13] Pujana MA, Corral J, Gratacos M, Combarros O, Berciano J, Genis D, et al. Spinocerebellar ataxias in Spanish patients: genetic analysis of familial and sporadic cases. The Ataxia Study Group. *Hum Genet* 1999;104(6):516–22.
- [14] Velázquez-Perez L, Cruz GS, Santos Falcon N, Almaguer Mederos LE, Escalona Batallan K, Rodriguez Labrada R, et al. Molecular epidemiology of spinocerebellar ataxias in Cuba: insights into SCA2 founder effect in Holguin. *Neurosci Lett* 2009;454(2):157–60.
- [15] Klockgether T, Ludtke R, Kramer B, Abele M, Bürk K, Schöls L, et al. The natural history of degenerative ataxia: a retrospective study in 466 patients. *Brain* 1998;121(Pt 4):589–600.
- [16] Le Pira F, Giuffrida S, Maci T, Marturano L, Tarantello R, Zappalà G, et al. Dissociation between motor and cognitive impairments in SCA2: Evidence from a follow-up study. *J Neurol* 2007;254(10): 1455–6.
- [17] Underwood BR, Rubinsztein DC. Spinocerebellar ataxias caused by polyglutamine expansions: a review of therapeutic strategies. *Cerebellum* 2008;7(2):215–21.
- [18] Abele M, Burk K, Andres F, Topka H, Laccone F, Bösch S, et al. Autosomal dominant cerebellar ataxia type I. Nerve conduction and evoked potential studies in families with SCA1, SCA2 and SCA3. *Brain* 1997;120(Pt 12):2141–8.
- [19] Schöls L, Linnemann C, Globas C. Electrophysiology in spinocerebellar ataxias: spread of disease and characteristic findings. *Cerebellum* 2008;7(2):198–203.
- [20] van de Warrenburg BP, Notermans NC, Schelhaas HJ, van Alfen N, Sinke RJ, Knoers N, et al. Peripheral nerve involvement in spinocerebellar ataxias. *Arch Neurol* 2004;61(2):257–61.
- [21] Denny-Brown D, Dawson DM, Tyler HR. Handbook of neurological examination and case recording. 3rd ed. Cambridge, Mass.: Harvard University Press; 1982.
- [22] Schmitz-Hubsch T, du Montcel ST, Baliko L, Berciano J, Boesch S, Depondt C, et al. Scale for the assessment and rating of ataxia: development of a new clinical scale. *Neurology* 2006;66(11): 1717–20.
- [23] Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T. Molecular cloning : a laboratory manual. 2nd ed. Cold Spring Harbor, N.Y.: Cold Spring Harbor Laboratory Press; 1989.
- [24] Crum BA, Josephs KA. Varied electrophysiologic patterns in spinocerebellar ataxia type 2. *Eur J Neurol* 2006;13(2):194–7.
- [25] 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.
- [26] Velázquez-Perez L, Almaguer Mederos L, Santos Falcon N, Hechavarría R, Sanchez Cruz G, Paneque HM. Spinocerebellar ataxia type 2 in Cuba. A study of the electrophysiological phenotype and its correlation with clinical and molecular variables. *Rev Neurol* 2001;33(12):1129–36.
- [27] Ragno M, Perretti AC, Castaldo I, Scarcella M, Acciarri S, Manganelli F, et al. Multimodal electrophysiologic follow-up study in 3 mutated but presymptomatic members of a spinocerebellar ataxia type 1 (SCA1) family. *Neuro Sci* 2005;26(2):67–71.

Capítulo 3. Disfunción de los movimientos oculares en la SCA2 y su relación con el tamaño de la expansión poliglutamínica y las funciones cognitivas

Publicados en:

- ***Ann Neurol*** (2004); 56:444–447 (Factor de impacto: 10.746)
- ***Clin Neurophysiol*** (2009); 120:632–635 (Factor de impacto: 3,298)
- ***J Neurol Sci*** (2011); 306:103-107 (Factor de impacto: 2,492)

En el ser humano la visión aporta el 80 % de la información del medio ambiente. Gran parte de la neocorteza se relaciona con el procesamiento de esta información, de hecho el sistema visual se compone de aproximadamente 1.500.000 fibras, mientras que el auditivo sólo está formado por 200.000. Los movimientos oculares definen una mejor calidad de la imagen de los objetos que existen en el campo visual del individuo, ya que estabilizan la imagen de interés en la zona de máxima agudeza visual. Dentro de estos, el sistema de movimientos oculares sacádicos tiene un importante rol funcional. Las sácadas son movimientos rápidos, que le permiten al ser humano tener información sobre los objetos del medioambiente. Al igual que otros sistemas fisiológicos, estos se modifican por la edad, atención visual, estado de conciencia y grado de desplazamiento de los objetos en el medio, entre otros.

Dentro de las características clínicas frecuentes en los enfermos de SCA2 está el enlentecimiento de los movimientos oculares sacádicos, alteración que se considera como un signo patognomónico en esta entidad. Para abordar el estudio del sistema sacádico incluimos tres artículos, en el primero evaluamos la velocidad sacádica máxima (VSM) en 82 pacientes y 80 controles,

correlacionando ésta con variables demográficas, clínicas y moleculares. Se observó poco solapamiento entre los valores de la VSM de los enfermos y los controles, aún en los pacientes con poco tiempo de evolución. El análisis de regresión lineal reveló que la VSM a 60° está fuertemente influenciada por el tamaño de la expansión poliglutamínica y menos por la duración de la enfermedad. Estos resultados permiten concluir, que la velocidad sacádica es un marcador endofenotípico muy específico, sensible y objetivo, útil para las investigaciones de genes modificadores. Los estudios de la VSM poseen una significación funcional, ya que esta variable está relacionada directamente con la función del tallo cerebral, el cual está sometido a una degeneración severa en la SCA2.

En el segundo artículo, se presentan los resultados de un estudio electronistagmográfico en 54 portadores asintomáticos de la expansión poliglutamínica y 56 familiares sin la mutación, que fueron utilizados como controles. Se observó un enlentecimiento de la VSM en los presintomáticos a 60°. Para excluir a los individuos con alelos expandidos de penetrancia reducida, se conformó un subgrupo de 25 portadores con expansiones ≥ 37 CAG, comparándolos con sus respectivos controles, lo que permitió detectar enlentecimiento sacádico, también a 30°. El estudio permitió concluir que la velocidad sacádica es un endofenotipo sensible de la SCA2, que puede ser un parámetro diagnóstico útil antes del inicio de la ataxia.

En el tercer artículo, se presentaron los resultados de una investigación que se realizó en 110 enfermos y 110 controles. A todos se les realizó estudio de los movimientos oculares sacádicos y exámenes clínicos de las funciones

cognitivas tales como el test de *stroop*, examen de fluencia verbal fonémica y el test de clasificación de las cartas de Wisconsin. Los resultados demostraron la existencia de una prolongación de la latencia sacádica en el 46 % de los enfermos. Esta alteración no correlacionó con las variables demográficas, clínicas ni moleculares, pero sí con los exámenes que evaluaron las funciones frontoexecutivas. Estos elementos sugieren la existencia de un déficit de la atención visuoespacial.

16. Drachman DB, Angus CW, Adams RN, et al. Myasthenic antibodies cross-link acetylcholine receptors to accelerate degradation. *N Engl J Med* 1978;298:1116–1122.
17. Lambert EH, Lennon VA. Selected IgG rapidly induces Lambert-Eaton myasthenic syndrome in mice: complement independence and EMG abnormalities. *Muscle Nerve* 1988;11:1133–1145.
18. Peers C, Johnston I, Lang B, et al. Cross-linking of presynaptic calcium channels: a mechanism of action for Lambert-Eaton myasthenic syndrome antibodies at the mouse neuromuscular junction. *Neurosci Lett* 1993;16:153:45–48.
19. O'Hanlon GM, Plomp JJ, Chakrabarti M, et al. Anti-GQ1b ganglioside antibodies mediate complement-dependent destruction of the motor nerve terminal. *Brain* 2001;124:893–906.

Saccade Velocity is Controlled by Polyglutamine Size in Spinocerebellar Ataxia 2

Luis Velázquez-Pérez, MD,¹ Carola Seifried, MD,² Nieves Santos-Falcón,¹ Michael Abele, MD,³ Ulf Ziemann, MD,² Luis Enrique Almaguer, PhD,¹ Edilberto Martínez-Góngora, MD,¹ Gilberto Sánchez-Cruz, MD,¹ Nalia Canales, MD,¹ Ruth Pérez-González, MD,¹ Mercedes Velázquez-Manresa, MD,¹ Bettina Viebahn, MD,³ Sebastian von Stuckrad-Barre, MD,² Michael Fetter, MD,⁴ Thomas Klockgether, MD,³ and Georg Auburger, MD²

We assessed maximal saccade velocity (MSV) in 82 spinocerebellar ataxia type 2 (SCA2) patients and 80 controls, correlating it to disease duration, polyglutamine expansion size, age at onset, ataxia score, age, and sex. Little overlap with normal values was found even at earliest stages. Stepwise linear regression analysis showed that 60-degree MSV was strongly influenced by polyglutamine size and less by disease duration, whereas the reverse was found for ataxia score. Saccade velocity thus is a sensitive, quite specific, and objective endophenotype, useful to search polyglutamine modifier genes.

Ann Neurol 2004;56:444–447

Spinocerebellar ataxia type 2 (SCA2) is an autosomal dominant disorder characterized clinically by progressive cerebellar ataxia, dysarthria, action tremor, early neuropathy, and slowing of horizontal saccadic eye movements.^{1,2} The neuropathological hallmark of SCA2 is early olivopontocerebellar atrophy accompanied by degeneration of somatosensory pathways, thalamus, substantia nigra, and anterior horn.^{3,4} The underlying mutation is an unstable expansion of a polyglutamine domain within ataxin-2,⁵ which is a cytoplasmic protein found in many body tissues and neu-

From ¹Clínica para la Investigación y Rehabilitación de las Ataxias Hereditarias, Holguín, Cuba; ²Clinic for Neurology, University Hospital, Frankfurt am Main, Germany; ³Department of Neurology, University Hospital Bonn, Bonn; and ⁴Department of Neurology, Hospital Karlsbad-Langensteinbach, Karlsbad, Germany.

Received Mar 10, 2004, and in revised form May 7. Accepted for publication Jun 8, 2004.

Published online Aug 31, 2004, in Wiley InterScience (www.interscience.wiley.com). DOI: 10.1002/ana.20220

Address correspondence to Dr Auburger, Section Molecular Neurogenetics, Clinic for Neurology, Johann Wolfgang Goethe-University, Building 26, Theodor Stern Kai 7, 60590 Frankfurt am Main, Germany. E-mail: auburger@em.uni-frankfurt.de

ronal populations with an as of yet undefined function.⁶ In SCA2 as in the neurodegenerative diseases Huntington's disease (HD), spinobulbar muscular atrophy (SBMA), dentatorubropallidoluysian atrophy (DRPLA), SCA1, SCA3, SCA6, SCA7, and SCA17, the size of the polyglutamine expansion has a strong influence on the age at onset as well as the severity of disease. The modulation of both disease onset and progression by modifier factors or experimental therapies is under intense investigation, and the objective quantification of surrogate disease markers is a central issue. One objectively quantifiable endophenotype occurring in HD,⁷ SCA1,⁸ SCA2,⁹ and SCA7¹⁰ is the progressive slowing of horizontal saccadic velocity. Saccade slowing is only rarely observed in neurological conditions other than polyglutamine diseases. In SCA2, the slowing of saccades occurs so early and pronounced¹¹ that this disease originally was described as "a new form of hereditary spinocerebellar degeneration with slow eye movements."¹² The prevalence of SCA2 is particularly high in Holguín province, Cuba,^{1,13,14} where more than 1,000 patients descended from a single ancestor. In 82 SCA2 patients from these families and in 80 control individuals from Holguín, we determined maximal saccade velocity (MSV). We evaluated its correlation to disease duration, polyglutamine expansion size, age at onset, ataxia score, age, and sex, to judge its usefulness in assessing polyglutamine toxicity and clinical progression.

Subjects and Methods

Patients

The diagnosis of SCA2 was based on genealogical descent from the founder population, on the disease manifestation with cerebellar ataxia and dysarthria, and molecular genetic determination of the repeat expansion as described elsewhere.¹⁵ Eighty-two patients (52 male and 30 female patients) with ages ranging from 15 to 80 years (mean, 43.0; standard deviation [SD], 13.3), age at onset from 8 to 68 years (mean, 29.7; SD, 12.4), disease duration from 1 to 42 years (mean, 13.3; SD, 7.9), and polyglutamine repeat sizes from 34 to 50 (mean, 40; SD, 3) were admitted to the Clinic for Investigation and Rehabilitation of Hereditary Ataxias in Holguín for this study. The clinical assessment was conducted using the International Cooperative Ataxia Rating Scale.¹⁶ A group of 80 healthy nonpaid volunteers from Holguín province (58 female and 22 male subjects) with ages ranging from 11 to 81 years (mean, 41.7; SD, 12.6) served as controls.

Electronystagmographic Recordings

Horizontal and vertical eye movements were recorded binocularly with silver-silver chloride electrodes over right and left outer canthus and a two-channel Otoscreen AC electronystagmograph (Jaeger-Toennies, Höchberg, Germany) with a bandpass filter of 0.02 to 70Hz, a sensitivity of 200 μ V/division, a time base of 1,000 milliseconds/division, a time

constant of 8 seconds, and a sampling rate of 200Hz. Eye movements were elicited with a circular white target subtending an angle of 0.7 degrees on a black background. The distance between patient and monitor as well as the head position were controlled by chin/head supports. At least 10 horizontal centrifugal saccades in either direction were recorded for each 10-, 20-, 30-, and 60-degree predictable amplitudes. Comparison of independent calibrations at a 30-degree angle before and after all recordings was used to control against artefacts.

Saccade Analysis

The traces in ASCII format were imported into the MATLAB software (version 6.1; Natick, MA). An program written in-house was used for manual identification of saccade onset and offset (Fig 1). Maximal saccade velocity (MSV in degrees/sec) was obtained through third-order polynomial fits of the raw signal. Conditional MSV averages were calculated for saccade direction (left/right) and amplitude (10/20/30/60 degrees) using Microsoft Excel.

Statistical Analysis

Statistical analysis was performed using the Student's *t* test (comparison of MSV, age, age at onset, disease duration, and

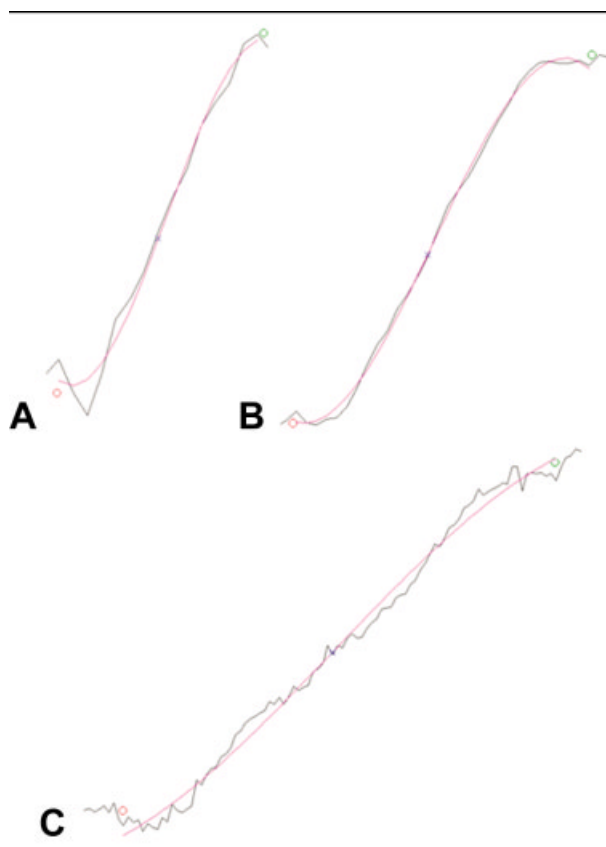


Fig 1. Maximal saccade velocity (MSV) determination. Manually identified saccade onset and offset (circles), third order polynomial fits (smooth line), and MSVs (x) are illustrated for representative saccades from (A) the control case with lowest MSV values, (B) a mild SCA2 case with polyglutamine size 35 and least MSV reduction, and (C) the most severe SCA2 case with polyglutamine size 50.

polyglutamine expansion size between men/women and patients/controls, respectively) and simple linear regression analysis (correlation of 60-degree MSV and ataxia score with age, disease duration, polyglutamine expansion size, and age at onset). To select the appropriate model for multiple regressors, we used a stepwise regression procedure based on the Akaike information criterion, included in the JMP5.0.1 software (SAS Institute, Cary, NC).

Results

MSV values showed little overlap between SCA2 patients and controls (Fig 2A) and resulted in comparably significant differences ($p < 0.0001$ each) for 10, 20, 30, and 60 degrees. Avoiding redundancy, we show 60-degree MSV values in further correlations. The controls had 60-degree MSV ranging from 277 to 678 degrees/sec (mean, 415; SD, 79), whereas the SCA2 patients had values from 17 to 464 degrees/sec (mean, 135; SD, 79). Assessing the sensitivity for SCA2 diagnosis in a plot of true-positives versus false-positives, we calculated a receiver operating characteristic (ROC) analysis for 60-degree MSV with patients as the posi-

tive level, yielding an area under the curve (AUC) of 0.98758.

Slowing of MSV was found early in the disease course, with two individuals (polyglutamine repeat size 39 and 41, respectively) showing 235 and 233 degrees/sec 1 year after onset of ataxia, and nine individuals within 5-year disease duration showing a mean value of 173 degrees/sec (SD, 56). The progression of slowing appeared insidious, because 14 individuals after 20 to 42 years of disease duration still showed mean MSV of 103 degrees/sec (SD, 49).

Simple regression analyses were conducted within the SCA2 patients and best fits were obtained using a $\log(y)$ transformation, as published previously.^{5,17} This disclosed a significant negative correlation of age of onset and polyglutamine expansion size ($p < 0.0001$) (see Fig 2B) and a significant positive correlation of age and disease duration ($p < 0.0001$).

MSV was negatively correlated with disease duration ($p = 0.088$; see Fig 2C), polyglutamine expansion size ($p < 0.0001$; see Fig 2D), and ataxia score ($p < 0.0001$) and positively correlated with age ($p < 0.01$) and age of onset ($p < 0.001$). Stepwise linear regression analysis revealed polyglutamine expansion size and, to a lesser degree, disease duration as the most effective covariables on MSV. Addition of any other covariable did not yield a better fit of the model. Therefore, the significant influence of age and age of onset on MSV in simple regression was an artefact explained by the colinearity of polyglutamine expansion size and age of onset on one hand as well as age and disease duration on the other hand. The age-dependent decrease of MSV in our controls ($p < 0.005$) and earlier reports¹⁸ thus seems to be negligible in SCA2 patients.

Ataxia score was negatively correlated with age of onset ($p < 0.05$) and positively with disease duration ($p < 0.0001$; see Fig 2E) and polyglutamine expansion size ($p = 0.092$; see Fig 2F). There was no correlation of age and ataxia score ($p = 0.37$). In contrast with MSV, the strongest influence on ataxia score was through disease duration and less through polyglutamine expansion size upon stepwise linear regression analysis. The influence of age of onset on ataxia score again seemed to be an artefact due to colinearity of polyglutamine expansion size and age of onset.

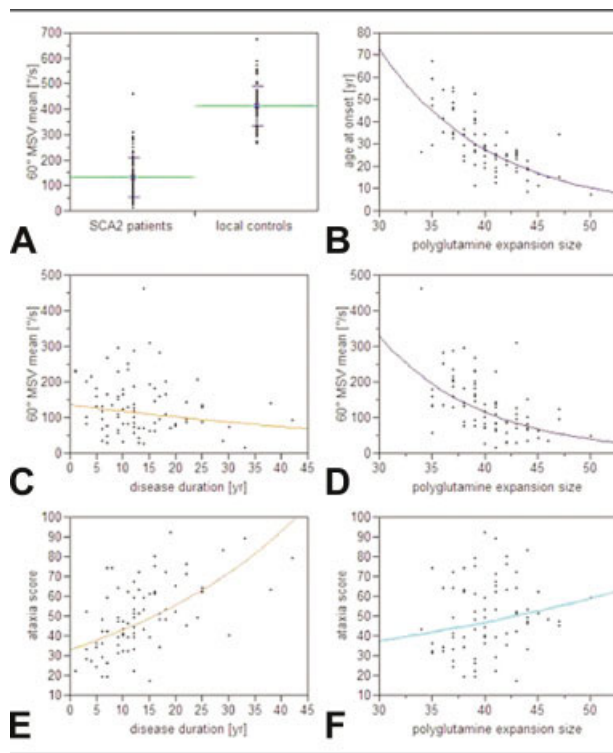


Fig 2. Surrogate disease markers in SCA2. (A) Distribution of 60-degree MSV values in SCA2 patients and local controls, displaying mean lines, standard deviation lines, and mean error bars. (B–F) Correlations as simple regression with $\log(y)$ transformation. (B) Known significant dependence of age at onset on polyglutamine expansion size in this SCA2 collective. MSV values depended less on disease duration (C) than on polyglutamine expansion size (D), with a distribution very similar to B. In contrast, the ataxia score depended more on disease duration (E) than on polyglutamine expansion size (F).

Discussion

Our investigation of maximal saccade velocities in 82 SCA2 patients and 80 controls disclosed that MSV is strongly influenced by the polyglutamine expansion size and less so by the duration of disease. There was only a small overlap of MSV values between the patient group and the control group. The clearly abnormal MSV values in patients with manifest ataxia for

only 1 to 5 years show that very early disease stages of disease can be reliably detected.

MSV was strongly influenced by the polyglutamine expansion size. This effect was similar to the relation between age at onset and polyglutamine expansion size. Compared with age at onset, MSV values are expected to have a higher interobserver reliability and test–retest reliability¹⁹ and might be less dependent on environmental factors. These observations identify MSV as an objective and quantitative physiological parameter that is under strong genetic control. Therefore, MSV appears to be a promising surrogate marker for research projects into the modulation of polyglutamine toxicity by modifier genes. Studies of MSV appear to be particularly interesting because saccade velocity is directly related to function of the brainstem, which undergoes severe and life-limiting degeneration in SCA2.

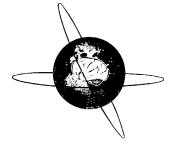
The polyglutamine expansion in Huntington's disease has a strong determinant effect on age at onset, which appears to be modified by genes on chromosomes 4p16, 6p21-23, and 6q24-26.²⁰ Whether the same chromosomal loci exert also a modifier role on age at onset and saccade velocity in SCA2 polyglutamine expansion remains to be explored in future studies of the large founder population in Holguín. In contrast with MSV, ataxia score increased with disease duration and seemed a more sensitive parameter to reflect progression.

The study was supported by the Heinrich and Erna Schaufler-Stiftung in Frankfurt/Main (G.A.) and the Deutsch Forschungsgemeinschaft (KL782/8-1, T.K.).

We are grateful to the patients, control individuals, and to the Cuban Ministry of Health for the cooperation given.

References

- Orozco G, Nodarse FA, Auburger G. Autosomal dominant cerebellar ataxia: clinical analysis of 263 patients from a homogeneous population in Holguín, Cuba. *Neurology* 1990;40:1369–1375.
- Schöls L, Gispert S, Vogerder M, et al. Spinocerebellar ataxia type 2: genotype and phenotype in German kindreds. *Arch Neurol* 1997;54:1073–1080.
- Estrada R, Galarraga J, Orozco G, et al. Spinocerebellar ataxia 2 (SCA2): morphometric analyses in 11 autopsies characterize it as an olivoponto-cerebellar atrophy (OPCA) plus. *Acta Neuropathol* 1999;97:306–310.
- Rüb U, Del Turco D, Del Tredici K, et al. Thalamic involvement in a spinocerebellar ataxia type 2 (SCA2) and spinocerebellar type 3 (SCA3) patient and its clinical relevance. *Brain* 2003;126:1–16.
- Pulst SM, Nechiporuk A, Nechiporuk T, et al. Moderate expansion of a normally biallelic trinucleotide repeat in spinocerebellar ataxia type 2. *Nat Genet* 1996;14:269–276.
- Huynh DP, Yang HT, Vakharia H, et al. Expansion of the polyQ repeat in ataxin-2 alters its Golgi localization, disrupts the Golgi complex and causes cell death. *Hum Mol Genet* 2003;12:1485–1496.
- Kirkwood SC, Siemers E, Bond C, et al. Confirmation of subtle motor changes among presymptomatic carriers of the Huntington disease gene. *Arch Neurol* 2000;57:1040–1044.
- Wessel K, Moschner C, Wandinger KP, et al. Oculomotor testing in the differential diagnosis of degenerative ataxic disorders. *Arch Neurol* 1998;55:949–956.
- Wadia N, Pang J, Desai J, et al. A clinicogenetic analysis of six Indian spinocerebellar ataxia (SCA2) pedigrees. The significance of slow saccades in diagnosis. *Brain* 1998;121:2341–2355.
- 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;49:801–804.
- Bürk K, Fetter M, Abele M, et al. Autosomal dominant cerebellar ataxia type I: oculomotor abnormalities in families with SCA1, SCA2, and SCA3. *J Neurol* 1999;246:789–797.
- Wadia NH, Swami RK. A new form of heredo-familial spinocerebellar degeneration with slow eye movements (nine families). *Brain* 1971;94:359–374.
- Auburger G, Orozco G, Ferreira R, et al. Autosomal dominant ataxia: genetic evidence for locus heterogeneity from a Cuban founder effect population. *Am J Hum Genet* 1990;46:1163–1177.
- Velázquez Pérez L, Santos Falcón N, García Zaldivar R, et al. Epidemiology of Cuban hereditary ataxia. *Rev Neurol* 2001;32:606–611.
- Santos N, Aguiar J, Fernandez J, et al. Molecular diagnosis of a sample of the Cuban population with spinocerebellar ataxia type 2. *Biotechnol Apl* 1999;16:219–221.
- Trouillas P, Takayanagi T, Hallett M, et al. International Co-operative Ataxia Rating Scale for pharmacological assessment of the cerebellar syndrome. The Ataxia Neuropharmacology Committee of the World Federation of Neurology. *J Neurol Sci* 1997;145:205–211.
- Rubinsztein DC, Leggo J, Chiano M, et al. Genotypes at the GluR6 kainate receptor locus are associated with variation in the age of onset of Huntington disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997;94:3872–3876.
- Abel LA, Troost BT, Dell'Osso LF. The effects of age on normal saccadic characteristics and their variability. *Vision Res* 1983;23:33–37.
- Wilson SJ, Glue P, Ball D, Nutt DJ. Saccadic eye movement parameters in normal subjects. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1993;86:69–74.
- Li JL, Hayden MR, Almqvist EW, et al. A genome scan for modifiers of age at onset in Huntington disease: the HD MAPS study. *Am J Hum Genet* 2003;73:682–687.



Saccade velocity is reduced in presymptomatic spinocerebellar ataxia type 2

L. Velázquez-Pérez^a, C. Seifried^b, M. Abele^c, F. Wirjatijasa^b, R. Rodríguez-Labrada^a, N. Santos-Falcón^a, G. Sánchez-Cruz^a, L. Almaguer-Mederos^a, R. Tejada^a, N. Canales-Ochoa^a, M. Fetter^d, U. Ziemann^b, T. Klockgether^c, J. Medrano-Montero^a, J. Rodríguez-Díaz^a, J.M. Laffita-Mesa^a, G. Auburger^{b,*}

^a Centro para la Investigación y Rehabilitación de las Ataxias Hereditarias (CIRAH), Holguín, Cuba

^b Department of Neurology, University Hospital, Frankfurt am Main, Germany

^c Department of Neurology, University Hospital, Bonn, Germany

^d Department of Neurology, Hospital Karlsbad-Langensteinbach, Germany

ARTICLE INFO

Article history:

Accepted 24 December 2008

Available online 7 February 2009

Keywords:

Spinocerebellar ataxia type 2

SCA2

Olivo-ponto-cerebellar atrophy

Pontine degeneration

Presymptomatic carrier

Saccadic slowing

Polyglutamine expansion

ABSTRACT

Objective: A characteristic feature of spinocerebellar ataxia type 2 (SCA2) is saccadic slowing at early disease stages. We sought to determine whether this sign is detectable before clinical manifestation and quantifies the disease progression throughout life in linear fashion.

Methods: In a specialized ataxia clinic, 54 presymptomatic carriers of SCA2 polyglutamine expansions and 56 relatives without mutation were documented with regard to their maximal saccade velocity (MSV).

Results: Among the control individuals, a significant effect of aging on MSV was observed. After elimination of this age influence through a matched-pair approach, a presymptomatic decrease of MSV could be shown. The MSV reduction was stronger in carriers of large expansions. In the years before calculated disease manifestation, the MSV impairment advanced insidiously.

Conclusion: Saccade velocity is a sensitive SCA2 endophenotype that reflects early pontine degeneration and may be a useful diagnostic parameter before the onset of ataxia.

Significance: Future neuroprotective therapies of polyglutamine neurodegeneration may be assessed by MSV from earliest to prefinal disease stages.

© 2009 International Federation of Clinical Neurophysiology. Published by Elsevier Ireland Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

Spinocerebellar ataxia type 2 (SCA2) is an autosomal dominantly inherited neurodegenerative disorder which manifests either with ataxia or with Parkinsonism (Lastres-Becker et al., 2008; Lu et al., 2004). In the clinical course progressive dysarthria, slowing of saccadic eye movements, action/postural tremor, axonal neuropathy with decrease of tendon reflexes and cramps become prominent, with dysphagia and sphincter disturbances at later stages (Cancel et al., 1997; Filla et al., 1999; Orozco Diaz et al., 1990; Schols et al., 1997; Wadia et al., 1998). The neuropathological hallmark of SCA2 is olivo-ponto-cerebellar atrophy accompanied by degeneration of somatosensory pathways, thalamus, substantia nigra and anterior horn (Lastres-Becker et al., 2008; Orozco et al., 1989). The underlying mutation causes an unstable expansion of a CAG trinucleotide repeat sequence on chromosome 12q encoding a polyglutamine domain within ataxin-2 (Imbert et al., 1996; Pulst et al., 1996; Sanpei et al., 1996), which is a ubiquitously expressed cytoplasmic protein implicated in RNA processing and in receptor endocytosis (Nonhoff et al., 2007; Nonis et al., 2008; Satterfield and Pallanck, 2006). In SCA2 as in other polyglutamine disorders like SCA1, SCA3, SCA6, SCA7, SCA17, HD (Huntington's disease), SBMA (spinobulbar muscular atrophy) and DRPLA (dentato-rubro-pallido-luysian atrophy), the age of onset and the severity of disease are strongly influenced by the polyglutamine expansion size (Orr and Zoghbi, 2007).

The prevalence of SCA2 is particularly high in Holguín province, Cuba (Orozco Diaz et al., 1990; Velazquez-Perez et al., 2001), where data on the molecular genetics and the clinical course over decades have been collected for 399 SCA2 patients (Pulst et al., 2005; Santos et al., 1999), and where presymptomatic testing has been available and in great demand for several years now (Paneque et al., 2007a,b). The progression of peripheral and central nervous pathology since preclinical stages could thus be documented with various electrophysiological techniques in patients and in first-degree relatives at-risk (Velazquez Perez et al., 2007). In a previous study, we evaluated the slowing of horizontal saccadic velocity in 82 SCA2 patients as an early and objectively quantifiable endophenotype of SCA2 and could demonstrate that maximal saccade

uitously expressed cytoplasmic protein implicated in RNA processing and in receptor endocytosis (Nonhoff et al., 2007; Nonis et al., 2008; Satterfield and Pallanck, 2006). In SCA2 as in other polyglutamine disorders like SCA1, SCA3, SCA6, SCA7, SCA17, HD (Huntington's disease), SBMA (spinobulbar muscular atrophy) and DRPLA (dentato-rubro-pallido-luysian atrophy), the age of onset and the severity of disease are strongly influenced by the polyglutamine expansion size (Orr and Zoghbi, 2007).

The prevalence of SCA2 is particularly high in Holguín province, Cuba (Orozco Diaz et al., 1990; Velazquez-Perez et al., 2001), where data on the molecular genetics and the clinical course over decades have been collected for 399 SCA2 patients (Pulst et al., 2005; Santos et al., 1999), and where presymptomatic testing has been available and in great demand for several years now (Paneque et al., 2007a,b). The progression of peripheral and central nervous pathology since preclinical stages could thus be documented with various electrophysiological techniques in patients and in first-degree relatives at-risk (Velazquez Perez et al., 2007). In a previous study, we evaluated the slowing of horizontal saccadic velocity in 82 SCA2 patients as an early and objectively quantifiable endophenotype of SCA2 and could demonstrate that maximal saccade

* Corresponding author. Tel.: +49 69 6301 7428; fax: +49 69 6301 7142.

E-mail address: auburger@em.uni-frankfurt.de (G. Auburger).

velocity (MSV) is under strong genetic control, correlating well with the polyglutamine size and less with the disease duration (Velazquez-Perez et al., 2004). Furthermore, a follow-up study obtained evidence that MSV remains quite stable after 1 year (Seifried et al., 2005). The strong genetic determination and slow progression of this trait prompted us now to assess saccadic velocity in 54 presymptomatic SCA2 mutation carriers and 56 age- and sex-matched control individuals from the same families.

2. Subjects and methods

2.1. Study group

One hundred and thirty-four asymptomatic members of SCA2 families with a risk to carry the mutation were admitted to the Center for Investigation and Rehabilitation of Hereditary Ataxias (CIRAH) in Holguín, were genotyped for SCA2 and underwent electronystagmography. The Ethics Committee of the National Center of Ataxia approved the research protocol, and written informed consent was obtained from each individual under study. Eighty of them were found to have a normal genotype (polyglutamine size 20–29, mean 22.4; 35 males, 45 females; age 15–70 years, mean 38.6). Fifty-four were found to carry a pathogenic expansion of the SCA2 gene (polyglutamine size 32–42, mean 36.6; 20 males, 34 females; age 18–61, mean 35.5) and were assessed clinically with the International Cooperative Ataxia Rating Scale (ICARS) (Trouillas et al., 1997) and the Scale for the Assessment and Rating of Ataxia (SARA, control scores below 3) (Schmitz-Hubsch et al., 2006). For a matched-pair approach, 56 out of the 80 unaffected relatives were chosen (age 18–63 years, mean 36.4) as age- and sex-matched controls for the 54 SCA2 mutation carriers. To avoid the analysis of individuals with expansion alleles of reduced penetrance, a subgroup of 25 carriers with expansion sizes 37–42 (mean 38.9; 11 males, 14 females; age 19–57, mean 31.8) was subjected to separate statistics with their age- and sex-matched controls.

2.2. Electronystagmographic recordings

Horizontal saccades were recorded binocularly with a 2-channel Otoscreen AC electronystagmograph (Jaeger-Toennies, Höchberg, Germany), using silver–silver chloride electrodes over right and left outer canthus. Saccades were triggered using digital stimulus control displays of a circular white target on a black background subtending an angle of 0.7° at a viewing distance of 66 cm and a screen width of 80 cm. At least 10 centrifugal saccades for each

10°, 20°, 30° predictable amplitudes and 10 saccades for the maximal field of view covering 60° were registered in each direction (bandpass filter of 0.02–70 Hz, time base of 1000 ms/division, sensitivity of 200 μ V/division, time constant of 8 s and sampling rate of 200 Hz). Before and after all recordings, independent calibrations at a 30° angle were compared to control against artefacts.

2.3. Saccade analysis

Maximal saccade velocity (MSV in °/s) was obtained through the automated algorithm contained in the Otoscreen software package. MSV averages were calculated for saccade direction (left/right) and all amplitudes (10°/20°/30°/60°) using the EXCEL software.

2.4. Statistical analysis

To determine factors influencing MSV, simple linear regression analysis with age, polyglutamine expansion size and Time To Manifestation (TTM) as factors were performed (Statistic for Windows, Release 6.1, 2003). The statistical distribution of 10°/20°/30° and 60° MSV in controls and carriers was analysed using the paired Student's *t*-test. Every SCA2 carrier was compared to an age- and sex-matched control (± 3 years). Delta MSV was obtained subtracting the MSV values of the carrier minus the matched control. For each carrier, TTM was calculated as years remaining from his momentary age until the calculated age at ataxia onset corresponding to his polyglutamine expansion size. The predicted age at onset correlating to each polyglutamine expansion size was derived from 399 SCA2 patients in Holguín through a regression with $\log(y)$ as best fit (Pulst et al., 2005): Age At Onset [AAO] = $1171.583 * e^{(-0.091 * \text{SCA2 polyglutamine expansion size})}$.

3. Results

Confirming previous reports (Schik et al., 2000), the maximum saccadic velocity (MSV) in 56 control individuals was found to decrease with age, both for small angles (10°) and large angles (60°) (MSV10°: $r = -0.3632$, $p = 0.0070$; MSV20°: $r = -0.3184$, $p = 0.0189$; MSV30°: $r = -0.3451$, $p = 0.0106$; MSV60°: $r = -0.4128$, $p = 0.0019$). The MSV values in unaffected family members were not significantly different from healthy unrelated controls studied previously (Velazquez-Perez et al., 2004). Gender effects were not observed. The MSV60° regression line followed the formula $\text{MSV60}^\circ = 581.3159 - 2.5574 * \text{age}$, indicating a reduction of about 2.6°/s per year (Fig. 1A).

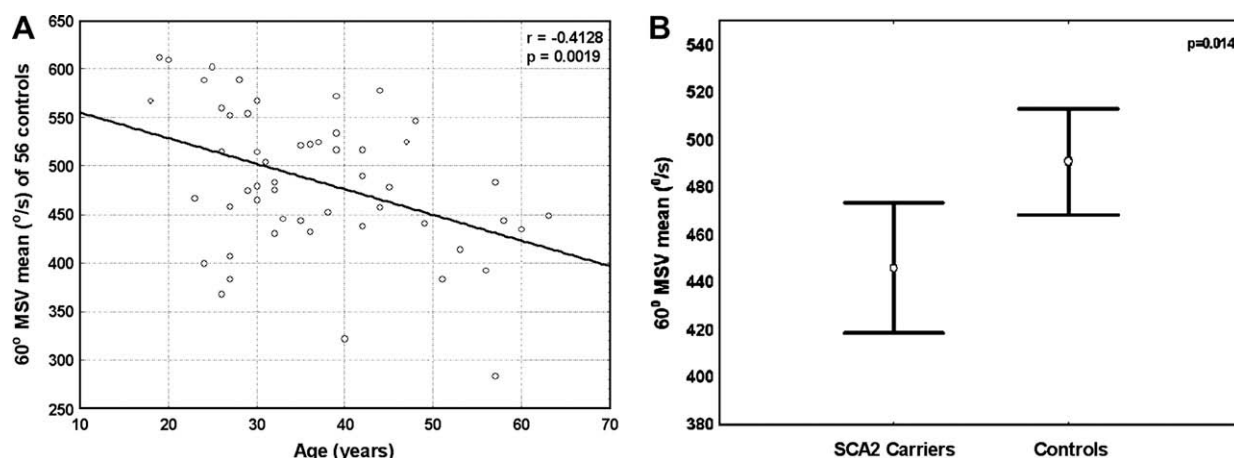


Fig. 1. MSV60° values influenced by age and genotype: (A) MSV60° values in 56 control individuals correlated to age in simple linear regression. (B) Mean MSV60° values were different in 56 matched controls from the respective 54 asymptomatic SCA2 mutation carriers; mean points and standard error lines ($\pm 1.96 * \text{SE}$) are displayed.

To eliminate the influence of age on MSV, a single age- and sex-matched control individual was selected for each SCA2 mutation carrier, and matched groups were compared thereafter. MSV among the 54 presymptomatic carriers was not different from matched controls for 10° ($p = 0.88$), 20° ($p = 0.41$), 30° jumps ($p = 0.43$), but was different for 60° jumps ($p = 0.014$). The controls had MSV60° ranging from 284 to 813°/s (mean 490.79 °/s, SD 84.37), whereas the carriers had values from 231 to 653°/s (mean 445.92°/s, SD 102.97) (Fig. 1B). To eliminate individuals with expansion alleles of reduced penetrance from the analysis, a subgroup of 25 carriers with expansion sizes ≥ 36 was analysed in comparison to their 25 age- and sex-matched controls, and MSV was found no different at 10° jumps ($p = 0.56$) and not quite at 20° jumps ($p = 0.088$), but was different at 30° ($p = 0.021$) and 60° ($p = 0.005$) jumps.

To decide whether the apparent velocity decrease was due to saccadic hypometria, a frequent feature of late-stage SCA2, the amplitude performance for predictable 60° jumps was analysed and found to be similar or even higher in SCA2 carriers than controls (Fig. 2A). Inspection of the main sequence of velocity versus amplitude confirmed the known correlation for both groups

(SCA2 carriers: $r = 0.65$, $p < 0.00001$, $y = 250.58 + 4.07x$; Controls: $r = 0.82$, $p = 0.00000$, $y = 237.61 + 5.33x$) while documenting the lack of hypometria and the reduced velocity for SCA2 carriers (Fig. 2B).

Extending the pair-wise comparison, we calculated the MSV60° difference between each carrier and the matched control (Delta MSV60°) and obtained mostly negative values, representing an overall loss of MSV60° in carriers. Multivariate analysis to assess multifactorial influences on MSV60° showed a highly significant effect of the polyglutamine expansion size ($p < 0.001$), but barely a trend for the influence of age ($p = 0.101$), as previously observed for SCA2 patients (Velázquez-Pérez et al., 2004). As expected, simple regression analysis demonstrated a strong effect of the polyglutamine expansion size on this presymptomatic MSV60° slowing ($r = -0.34$; $p = 0.02$). Carriers with a large polyglutamine expansion size had a stronger decrease of horizontal saccade velocities at 60° (Fig. 3A). It was of interest to determine how many years the saccadic slowing precedes ataxia onset. The typical age of ataxia manifestation is known to correlate with polyglutamine expansion size, and the best regression fit for this correlation in our collection of 399 SCA2 patients is represented by the formula: age at onset [AAO] = $1171.583 * e^{(-0.091 * \text{SCA2 polyglutamine expansion size})}$. Therefore, for

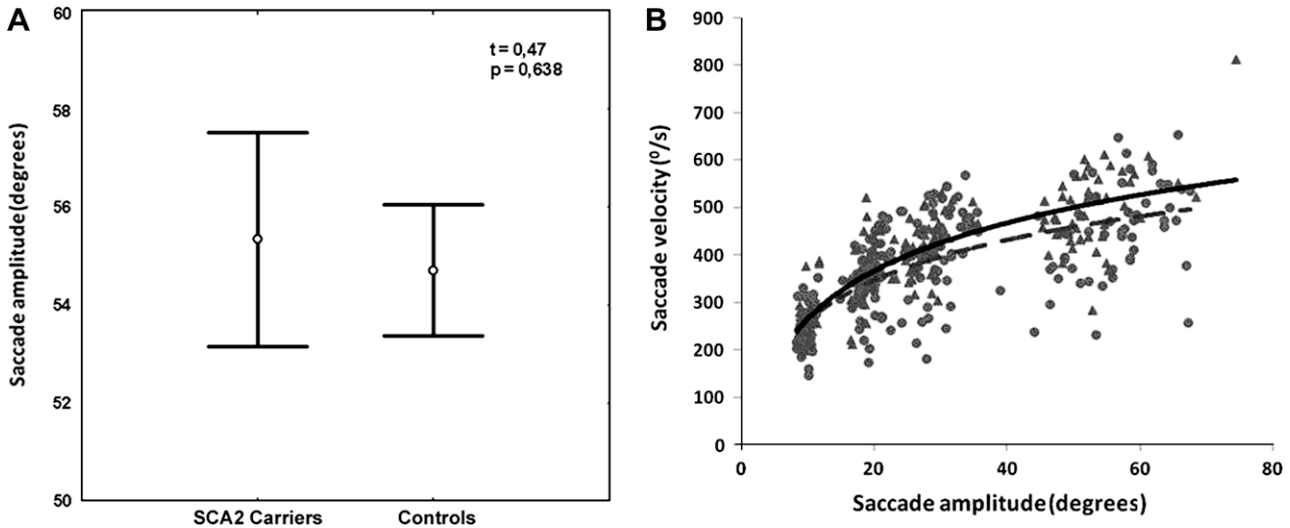


Fig. 2. Saccade amplitude is normal in SCA2 carriers. (A) Amplitude performance for predictable 60° jumps showed similar mean (circle) and variance (lines indicate $\pm 1.96 * SE$) for SCA2 carriers and controls. (B) Performance of amplitude versus velocity in predictable 10°, 20°, 30° and 60° saccades showed a highly significant correlation without evidence of saccade hypometria in SCA2 carriers.

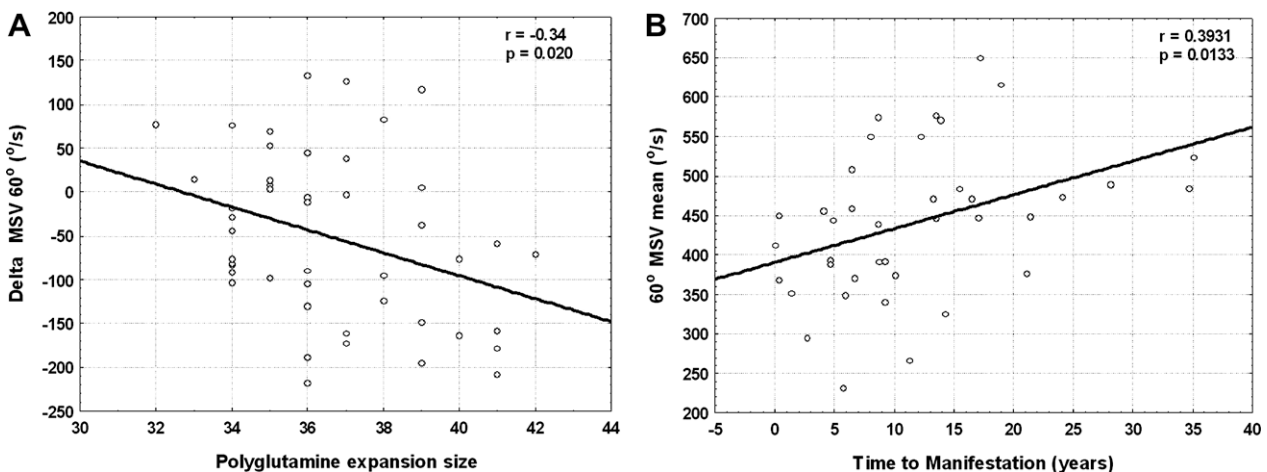


Fig. 3. Simple linear regression shows MSV60° correlation to SCA2 expansion size and to progression before onset. (A) Delta MSV values (MSV60° of carrier minus MSV60° of control) depended on the polyglutamine expansion size. (B) MSV60° in SCA2 mutation carriers correlated with Time To Manifestation (TTM).

any presymptomatic SCA2 expansion carrier at a given age (a) we calculated the individual Time To Manifestation [TTM] = $1171.583 * e^{(-0.091 * \text{SCA2 polyglutamine expansion size})} - a$. Linear regression analysis showed a significant influence of TTM on MSV60° ($r = 0.39$, $p = 0.01$). Insidious saccadic slowing with subnormal MSV60° values decades before ataxia onset seemed to fit the data (Fig. 3B).

4. Discussion

Our investigation of saccadic velocity in presymptomatic SCA2 expansion carriers disclosed a modest, but significant slowing of saccades to 60° predictable amplitudes. Regression analysis showed that saccadic slowing correlated prominently with polyglutamine expansion size. Its correlation to the calculated Time To Manifestation may also reflect the known strong effect of polyglutamine expansion size on ataxia onset age. Also for patients with manifest SCA2, saccade velocity has been observed to be under strong genetic influence and to decline over decades rather than years (Seifried et al., 2005; Velázquez-Pérez et al., 2001). Taken together, all data suggest an insidious impairment of saccadic velocity that may be detectable considerably before the ataxia onset in individuals with large SCA2 expansions. These data establish saccadic slowing as an early and sensitive SCA2 endophenotype controlled by genetic factors and age.

The early effect of SCA2 polyglutamine toxicity on saccade control cannot be easily interpreted in neurobiological terms, since brain autopsy and imaging data of presymptomatic SCA2 mutation carriers are completely lacking. Available neuropathological and physiological data suggest that the slowing of horizontal saccades in SCA2 is due to dysfunction or degeneration of neurons in the paramedian pontine reticular formation. The simplest explanation for saccadic slowing in otherwise asymptomatic SCA2 mutation carriers is that the degeneration of the respective pontine neurons begins earlier than the degeneration of cerebellar neurons. This would prompt the question why pontine neurons involved in saccade generation are particularly sensitive to the action of the SCA2 mutation. An alternative explanation is that degeneration in the pons and cerebellum starts simultaneously, but that cerebellar degeneration can be compensated for a longer period than dysfunction of pontine neurons involved in saccade generation. This hypothesis is supported by two SCA2 brain autopsies analysed only 5 years after manifestation of cerebellar ataxia that showed a comparable reduction of the number of pontine and cerebellar Purkinje neurons (Estrada et al., 1999). Poor compensation of pontine compared to cerebellar degeneration could be due to the fact that pontine neurons involved in saccade generation subserve a more downstream action than cerebellar neurons involved in motor coordination. Presymptomatic carriers of the SCA2 and other CAG repeat expansion mutations might therefore be extremely valuable to study the neuronal mechanisms underlying functional compensation of brain degeneration.

5. Conclusions

For SCA2 and its early pontine degeneration, saccade velocity appears to be a particularly sensitive diagnostic parameter which reflects the insidious progression of disease before the onset of ataxia.

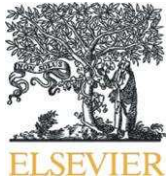
Acknowledgements

We are grateful to the SCA2 mutation carriers and the control individuals, and to the Cuban Ministry of Health for their cooperation. The study was supported by the Heinrich and Erna

Schäufli Stiftung in Frankfurt/Main (G.A.) and the DFG (KL782/8-1, T.K.).

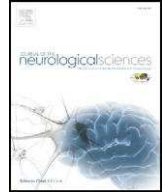
References

- Cancel G, Durr A, Didierjean O, Imbert G, Burk K, Lezin A, et al. Molecular and clinical correlations in spinocerebellar ataxia 2: a study of 32 families. *Hum Mol Genet* 1997;6:709–15.
- Estrada R, Galarraga J, Orozco G, Nodarse A, Auburger G. Spinocerebellar ataxia 2 (SCA2): morphometric analyses in 11 autopsies. *Acta Neuropathol* 1999;97:306–10.
- Filla A, De Michele G, Santoro L, Calabrese O, Castaldo I, Giuffrida S, et al. Spinocerebellar ataxia type 2 in southern Italy: a clinical and molecular study of 30 families. *J Neurol* 1999;246:467–71.
- Imbert G, Saudou F, Yvert G, Devys D, Trottier Y, Garnier JM, et al. 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.
- Lastres-Becker I, Rüb U, Auburger G. Spinocerebellar ataxia 2 (SCA2). *Cerebellum* 2008;7:115–24.
- Lu CS, Wu Chou YH, Kuo PC, Chang HC, Weng YH. The parkinsonian phenotype of spinocerebellar ataxia type 2. *Arch Neurol* 2004;61:35–8.
- Nonhoff U, Ralsler M, Welzel F, Piccini I, Balzerit D, Yaspo ML, et al. Ataxin-2 interacts with the DEAD/H-box RNA helicase DDX6 and interferes with P-bodies and stress granules. *Mol Biol Cell* 2007;18:1385–96.
- Nonis D, Schmidt MH, van de Loo S, Eich F, Dikic I, Nowock J, et al. Ataxin-2 associates with the endocytosis complex and affects EGF receptor trafficking. *Cell Signal* 2008;20:1725–39.
- Orozco Diaz G, Nodarse Fleites A, Cordoves Sagaz R, Auburger G. Autosomal dominant cerebellar ataxia: clinical analysis of 263 patients from a homogeneous population in Holguin, Cuba. *Neurology* 1990;40:1369–75.
- Orozco G, Estrada R, Perry TL, Arana J, Fernandez R, Gonzalez-Quevedo A, et al. Dominantly inherited olivopontocerebellar atrophy from eastern Cuba. Clinical, neuropathological, and biochemical findings. *J Neurol Sci* 1989;93:37–50.
- Orr HT, Zoghbi HY. Trinucleotide repeat disorders. *Annu Rev Neurosci* 2007;30:575–621.
- Paneque HM, Prieto AL, Reynaldo RR, Cruz MT, Santos FN, Almaguer ML, et al. Psychological aspects of presymptomatic diagnosis of spinocerebellar ataxia type 2 in Cuba. *Community Genet* 2007a;10:132–9.
- Paneque M, Lemos C, Escalona K, Prieto L, Reynaldo R, Velázquez M, et al. Psychological follow-up of presymptomatic genetic testing for spinocerebellar ataxia type 2 (SCA2) in Cuba. *J Genet Couns* 2007b;16:469–79.
- Pulst SM, Nechiporuk A, Nechiporuk T, Gispert S, Chen XN, Lopes-Cendes I, et al. Moderate expansion of a normally biallelic trinucleotide repeat in spinocerebellar ataxia type 2. *Nat Genet* 1996;14:269–76.
- Pulst SM, Santos N, Wang D, Yang H, Huynh D, Velázquez L, et al. Spinocerebellar ataxia type 2: polyQ repeat variation in the CACNA1A calcium channel modifies age of onset. *Brain* 2005;128:2297–303.
- Sanpei K, Takano H, Igarashi S, Sato T, Oyake M, Sasaki H, et al. 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.
- Santos N, Aguiar J, Fernández J, Vázquez M, Auburger G, Gispert S, et al. Molecular diagnosis of a sample of the Cuban population with spinocerebellar ataxia type 2. *Biotecnol Aplicada* 1999;16:219–21.
- Satterfield TF, Pallanck LJ. Ataxin-2 and its *Drosophila* homolog, ATX2, physically assemble with polyribosomes. *Hum Mol Genet* 2006;15:2523–32.
- Schik G, Mohr S, Hofferberth B. Effect of aging on saccadic eye movements to visual and auditory targets. *Int Tinnitus J* 2000;6:154–9.
- Schmitz-Hubsch T, du Montcel ST, Baliko L, Berciano J, Boesch S, Depondt C, et al. Scale for the assessment and rating of ataxia: development of a new clinical scale. *Neurology* 2006;66:1717–20.
- Schols L, Gispert S, Vorgerd M, Menezes Vieira-Saecker AM, Blanke P, Auburger G, et al. Spinocerebellar ataxia type 2. Genotype and phenotype in German kindreds. *Arch Neurol* 1997;54:1073–80.
- Seifried C, Velázquez-Pérez L, Santos-Falcon N, Abele M, Ziemann U, Almaguer LE, et al. Saccade velocity as a surrogate disease marker in spinocerebellar ataxia type 2. *Ann NY Acad Sci* 2005;1039:524–7.
- Trouillas P, Takayanagi T, Hallett M, Currier RD, Subramony SH, Wessel K, et al. International Cooperative Ataxia Rating Scale for pharmacological assessment of the cerebellar syndrome. The Ataxia Neuropharmacology Committee of the World Federation of Neurology. *J Neurol Sci* 1997;145:205–11.
- Velázquez-Pérez L, Garcia R, Santos FN, Paneque HM, Medina HE, Hechavarría PR. Hereditary ataxias in Cuba. Historical, epidemiological, clinical, electrophysiological and quantitative neurological features. *Rev Neurol* 2001;32:71–6.
- Velázquez-Pérez L, Seifried C, Santos-Falcon N, Abele M, Ziemann U, Almaguer LE, et al. Saccade velocity is controlled by polyglutamine size in spinocerebellar ataxia 2. *Ann Neurol* 2004;56:444–7.
- Velázquez-Pérez L, Sanchez Cruz G, Canales Ochoa N, Rodríguez Labrada R, Rodríguez Díaz J, Almaguer Mederos L, et al. Electrophysiological features in patients and presymptomatic relatives with spinocerebellar ataxia type 2. *J Neurol Sci* 2007;263:158–64.
- 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.



Contents lists available at ScienceDirect

Journal of the Neurological Sciences

journal homepage: www.elsevier.com/locate/jns

Saccadic latency is prolonged in Spinocerebellar Ataxia type 2 and correlates with the frontal-executive dysfunctions

Roberto Rodríguez-Labrada^a, Luis Velázquez-Pérez^{a,*}, Carola Seigfried^b, Nalia Canales-Ochoa^a, Georg Auburger^b, Jacqueline Medrano-Montero^a, Gilberto Sánchez-Cruz^a, Raúl Aguilera-Rodríguez^a, José Laffita-Mesa^a, Yaimeé Vázquez-Mojena^a, Marisleidy Verdecia-Ramírez^a, Maribel Motta^c, Yudith Quevedo-Batista^a

^a Centre for the Research and Rehabilitation of Hereditary Ataxias, Holguín, Cuba

^b Clinic for Neurology, University Hospital, Frankfurt am Main, Germany

^c Department of Neuropsychology, University of Antioquia, Antioquia, Colombia

ARTICLE INFO

Article history:

Received 5 November 2010
Received in revised form 21 March 2011
Accepted 21 March 2011
Available online 9 April 2011

Keywords:

Spinocerebellar Ataxia
SCA2
Saccadic movements
Saccadic latency
Frontal-executive functions
Biomarker

ABSTRACT

Data on saccadic latency in patients with Spinocerebellar Ataxia 2 (SCA2) are sparse and contradictory. In order to determine whether saccadic latency is definitely prolonged, identify its possible determinants and evaluate it as disease biomarker we assessed the saccadic latency by electronystagmography in 110 SCA2 patients and their paired controls. Mean saccadic latencies were significantly longer in patients when compared to controls for all tested target displacements. Forty-six percent of SCA2 patients had saccadic latencies above the normal range. Reciprobit plots of saccadic latency demonstrated a skewed distribution in the direction of longer latencies for the patients compared to controls. As saccadic latency increased, the velocity and amplitude of saccades significantly decreased in SCA2 subjects but not in controls. Saccadic latency was not influenced by any demographical, clinical or molecular SCA2 variables, but it showed a significant correlation with the performance of the Stroop test, the verbal fluency test and the Wisconsin Card Sorting Test in SCA2 patients. This paper demonstrated that saccadic latency is prolonged in SCA2 patients and it significantly correlates with the performance of frontal-executive functions, thus this parameter could be a useful biomarker to evaluate the efficiency of future therapeutical options on these dysfunctions.

© 2011 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

Spinocerebellar Ataxia type 2 (SCA2) is a neurodegenerative disorder caused by the expansion of CAG repeats in the *ATXN2* gene, which results in a long stretch of polyglutamine in the protein ataxin 2. Clinical features develop progressively and include cerebellar syndrome, peripheral neuropathy, saccadic slowing, cognitive dysfunctions and sleep disorders [1].

On a worldwide scale, the disease reaches the highest prevalence in Holguin, Cuba, at a rate of 40 cases per 100,000 inhabitants. In addition, there are almost 1400 asymptomatic first-degree subjects [1,2]. Unfortunately, there are no effective therapeutical options against SCA2; nevertheless some clinical trials are being currently developed with Cuban patients.

In SCA2, the saccadic system is characterized by the severe slowing of horizontal saccades, which appears before the disease onset and

depends on the CAG repeats [3–5]. Nevertheless, other saccadic variables such as saccadic amplitude and saccadic latency have been scarcely studied rendering limited and contradictory data [6–9].

The saccadic latency is the time interval from the target presentation to the beginning of the saccade. It depends on the activation of a large neural circuit from the retina to the visual cortex, parietal cortex, frontal lobe, superior colliculus and then to brainstem and extraocular muscles. This variable is considered as a cognitive-physiological parameter that has been widely applied to understand cortical and sub-cortical aspects of saccadic programming [10,11].

The aim of this work was to assess the saccadic latency in a large and homogeneous sample of SCA2 Cuban patients, emphasizing its relationship with other saccadic variables and the demographical, clinical, molecular and frontal-executive variables of SCA2, to evaluate this parameter as a sensitive disease biomarker.

2. Methods

2.1. Subjects

Participating subjects were 110 SCA2 patients (70 m, 40 f) aged 18 to 80 years (mean, 43.40; SD, 11.82) who were admitted to the Centre

* Corresponding author at: Head of Centre for the Research and Rehabilitation of Hereditary Ataxias, Carretera Central Km 5 ½ Reparto Edecio Pérez, Postal Code 80100, Holguín, Cuba. Tel.: +53 24 462296, +53 24 424090, +53 24 461693.

E-mail addresses: frankluisv@yahoo.es, cirahsca2@crystal.hlg.sld.cu (L. Velázquez-Pérez).

for the Research and Rehabilitation of Hereditary Ataxias in Holguin for the study. The age at onset ranged from 10 to 68 years (mean, 31.71; SD, 10.77), and the disease duration between 1 and 25 years (mean, 11.80; SD, 5.56). The CAG repeats number was relatively homogeneous (range: 32 to 50 repetitions, mean, 39.74; SD, 3.02). For a matched-pair approach, 110 healthy controls (age 15 to 79 years, mean 41.67; SD, 11.11) were chosen as age- and sex-matched controls. The study was approved by the local ethics committee and was conducted according to the declaration of Helsinki. Each subject gave a written informed consent after a complete description of the study.

2.2. Neurological measures

All subjects were clinically assessed with a standard neurological exam [12] and the Scale for the Assessment and Rating of Ataxia (SARA) [13]. The bedside examination of saccades was performed by asking the patient to alternately switch fixation between two targets located at different positions to either side of the center of the oculomotor range. Horizontal and vertical saccades were examined in each direction, paying particular attention to velocity, accuracy and conjugacy.

2.3. Molecular genetics measures

DNA extracts from peripheral venous blood underwent the amplification of CAG-rich region in the *ATXN2* gene by polymerase chain reactions and determination of CAG repeats on polyacrylamide gel electrophoresis.

2.4. Saccadic movements study

Horizontal saccades were recorded binocularly with a 2-channel Otoscreen AC electronystagmograph (Jaeger-Toennies, 97204 Hochberg, Germany), using silver–silver chloride electrodes over right and left outer canthus of the eyes. Saccades were triggered with a circular white target on a black background, subtending an angle of 0.7°. At least 10 centrifugal saccades in each direction were registered for each 10°, 30° and 60° predictable amplitudes. Before and after all recordings the signals were calibrated for a horizontal angle of 30° to control the artifacts. The signal was amplified and filtered (bandpass filter: 0.2–70 Hz). The data were sampled at a frequency of 200 Hz with a time base of 1000 ms/division, sensitivity of 200 μ V/division and a time constant of 8 s. Saccadic latency, saccadic amplitude and maximal saccadic velocity were obtained through the automated algorithm contained in the Otoscreen software package.

2.5. Assessment of frontal-executive functions

The frontal-executive functions were assessed by means of the Victoria version of the Stroop Interference Test [14], the modified version of the Wisconsin Card Sorting Test (WCST) [15] and the Phonemic Verbal Fluency Test [16]. The Stroop Interference Test consists of a color naming condition where subjects name the color of colored patches, and an interference condition where subjects are shown an array of color names printed in different colored inks. The analyzed parameters were the percentage of errors in the interference task and the corrected time to complete this task. This time was obtained by subtracting the time needed for the color naming condition from the time needed for the interference condition. The WCST assesses the ability to form and shift cognitive sets. The subject was asked to determine rules (color, shape, number of symbols) by which he or she could sort a set of cards. The subject had to change rules when a change was indicated by the experimenter. Perseverative errors occurred when the subject continued to sort according to the 'old' rule. Three WCST variables were examined: percentage of

total and perseverative errors as well as number of achieved categories. To assess the verbal fluency, the subject was asked to name as many items as possible from a phonemic category (nouns starting with the letters F, A and S) within a time limit of 1 min in each task. Mean number of successful responses was analyzed.

2.6. Statistical analysis

All mean comparisons were performed using the *Student's-t* test (two tailed). The normal range for saccadic latency was defined by the 95% confidence intervals about the regression of saccadic latency against age for the control group. The analysis of saccadic latency distribution was performed with the reciprobital plots proposed by Carpenter and Williams [17] as essential tool to the LATER model (linear approach to threshold with ergodic rate) of decision making. This consists in the plotting of cumulative latency distributions on a probit scale as a function of reciprocal latency. To improve the understanding of the plots, the scale is mirrored so that infinite time (whose reciprocal is zero) is at the right and the values showed in the x axis are the saccadic latency instead of its reciprocal. Linear regression analyses were performed to characterize the influence of saccadic latency on the saccadic velocity and the saccadic amplitude. To determine whether these associations differed among both groups, an analysis of covariance (ANCOVA) was used with the group as the main effect and the saccadic latency as the covariate. Also, linear regression analyses were carried out to identify the putative determinants of abnormal latencies in SCA2 between demographical (age), clinical (age at onset, disease duration and ataxia score) and molecular parameters (CAG repeats). Product-moment correlations were performed to assess the relationship between saccadic latency and frontal-executive variables. These analyses were performed using the commercially available *Statistica* software package (StatSoft, Inc., 2003 STATISTICA data analysis software system, version 6. www.statsoft.com).

3. Results

3.1. Clinical features

All studied patients showed gait ataxia, cerebellar dysarthria, dysdiadochocinesia and dysmetria. The age at onset was negatively influenced by CAG repeats size ($r = -0.67$; $p < 0.001$). The mean SARA score was 16.29 (S.D 4.27; range, 6–28) and it was increased with disease duration ($r = 0.39$; $p = 0.0095$) and CAG repeats ($r = 0.43$; $p = 0.0006$).

Abnormally slow saccades were detected at the bedside in 96 SCA2 patients (87.3%), whereas saccades with reduced amplitude ranges were observed in 74 patients (67.3%). No patient showed conjugacy alteration, retinal degeneration, optic atrophy, or dementia.

3.2. Saccadic movement measures

Fig. 1A shows the results of the mean comparisons for the saccadic latency at three target displacements between SCA2 patients and controls. SCA2 patients had increased Saccadic latency resulting in comparably significant differences for 10°, 30° and 60°. In order to avoid redundancy, only the parameters obtained at 60° are presented in further analyses. Fifty out 110 patients (45.5%) showed saccadic latencies abnormally increased above the normal range, which was defined as the 95% confidence intervals about the regression of saccadic latency against age for our control group (see Fig. 1B). Reciprobital plots of saccadic latencies pooled by group, showed a skewed distribution in the direction of longer latencies in SCA2 patients compared with controls (see Fig. 1C). Additionally, *Student's-t* tests revealed the significant differences of saccadic velocity ($p < 0.0001$) and saccadic amplitude ($p = 0.002$) between SCA2 patients and controls.

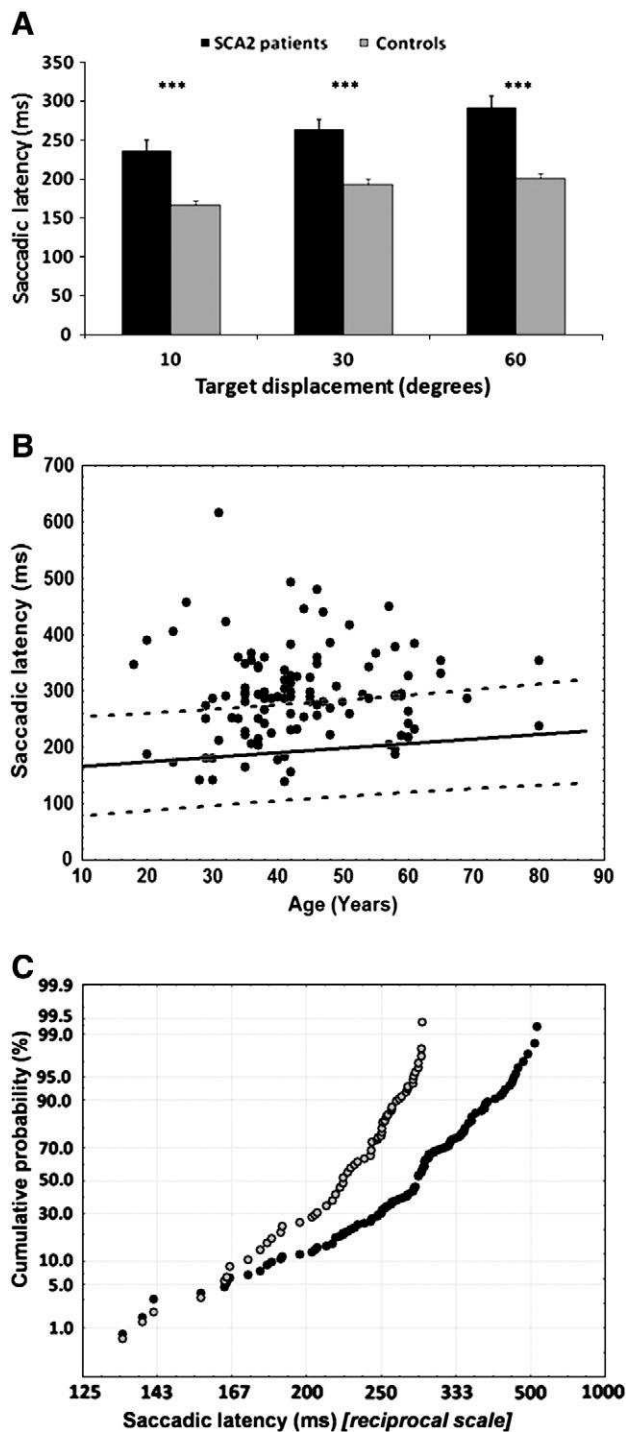


Fig. 1. Prolongation of saccadic latency in SCA2 patients. A) Mean comparisons (*t*-student) for the saccadic latency at three different target displacements between SCA2 patients and controls. The bars represent the standard deviation. (***): $p < 0.0001$. B) Proportion of SCA2 patients with abnormally prolonged saccadic latency values. The normal range was defined by the 95% confidence intervals about the regression of saccadic latency against age for the control group C) Reciprobital plots of saccadic latency at 60° for SCA2 patients and controls. Black circles represent SCA2 patients whereas brown circles represent controls. Note that SCA2 patients showed a skewed distribution in the direction of longer latencies compared with controls.

Linear regressions of saccadic latency by saccadic velocity and saccadic amplitude disclosed a significant decrease of both parameters with increasing saccadic latency in SCA2 patients but not in controls (see Fig. 2). These intergroup differences were confirmed by

the ANCOVA analyses, which revealed a significant effect of group (SCA2 patients vs. controls) for the influence of saccadic latency on the saccadic velocity ($F_{(1,219)} = 201.64$; $p = 0.0000$) and the saccadic amplitude ($F_{(1,219)} = 22.09$; $p = 0.0000$).

Linear regression analyses of saccadic latency with age, age at onset, disease duration, CAG repeats and SARA score showed no significant effect of these variables on the saccadic latency in SCA2 patients (age: $r = 0.11$, $p = 0.221$; age at onset: $r = 0.11$, $p = 0.202$; disease duration: $r = -0.05$, $p = 0.858$; CAG repeats: $r = -0.08$, $p = 0.395$; SARA: $r = 0.07$, $p = 0.395$). Nevertheless saccadic latency was positively correlated with the age ($r = 0.18$, $p = 0.020$) in the controls.

3.3. Correlation with frontal-executive parameters

Table 1 shows the descriptive statistics of frontal-executive parameters in SCA2 patients and the results of correlation analyses between these parameters with the saccadic latency and other saccadic variables. None of the test of frontal-executive dysfunction was correlated with the SARA score, disease duration or CAG repeats (data not shown).

As detailed in Table 1, saccadic latency was correlated with the corrected time needed to complete the Stroop interference task, the number of successful responses in the Phonemic Verbal Fluency test as well as the achieved categories and total errors percentage in the WSCT. Remaining frontal-executive parameters did not show significant correlation with saccadic latency. Similarly, neither the saccadic velocity nor the saccadic amplitude was correlated with any frontal-executive parameters.

4. Discussion

This paper represents the most extensive electronystagmographical study carried out in SCA2 and any other hereditary ataxia. It demonstrates for the first time in a large and homogeneous cohort of SCA2 patients that saccadic latency is notably prolonged and it correlates with the neuropsychological performance of frontal-executive functions in these patients.

The prolongation of saccadic latency in SCA2 could be explained by neuroanatomical, neurophysiological and neuropsychological findings. Neuropathological studies have revealed a severe gyral atrophy and neuronal loss in the frontal lobes [18–20] as well as neurodegenerative changes in the caudate nucleus and the *substantia nigra pars reticulata* [21], two sub-cortical structures involved in the initiation of purposive saccadic eye movements [22]. Furthermore, imaging studies have demonstrated an early hypo-metabolism of glucose in the parietal cortex [23]. A recent neurophysiological study using pattern reversal and motion-onset visual evoked potentials as well as event-related evoked potentials in 10 SCA2 patients revealed the dysfunctions of visual processing in SCA2 patients [24]. Therefore, based in the known relationship between the striate and extrastriate visual areas with the saccadic system [25], we thought that the alterations of the visual processing could account for the delay of the saccade initiation in SCA2. Finally, the neuropsychological explanation of saccadic latency prolongation in SCA2 may be reached from the recognized deficits in the visual-spatial attention in these patients [26] which is consistent with the anatomical overlap between preparatory signals for saccades and covert spatial attention [27,28].

In this article it was found that saccadic velocity declines with increasing saccadic latency in SCA2 patients, which suggests that the delay of saccadic onset could influence on the saccadic slowing, in addition to the pontine degeneration in SCA2. These findings are in line with the results of Edelman and Goldberg [29] in non-human primates, who demonstrated that the delaying of saccadic onset by the use of a visual delay produces a decrease of neural activity in the superior colliculus neurons and hence it renders slow saccades.

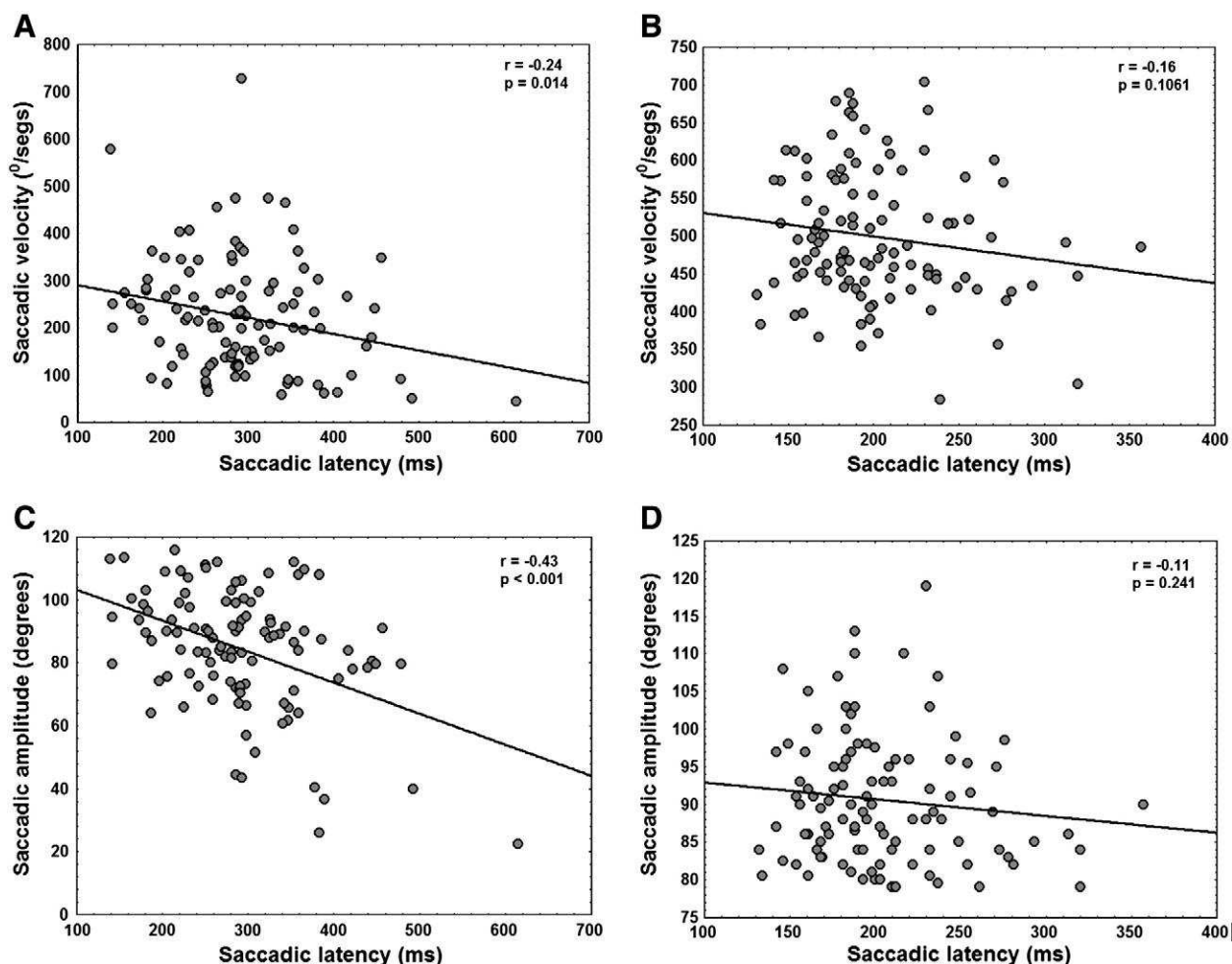


Fig. 2. Relationship of saccadic velocity and amplitude to saccadic latency in SCA2 patients (A and C) and control subjects (B and D).

Saccadic latency is known to increase with age as a result of the age-related degenerative changes in the structures that are involved in the generation of saccadic eye movements [30]. This association was confirmed in the control group but not in SCA2 patients, probably due to the influence of putative disease-related factors that increase the variability of saccadic latency. Nevertheless, neither age at onset, disease duration, SARA score nor the CAG repeats had significant effect on the saccadic latency. These findings suggest that this oculomotor parameter does not seem to be a surrogate marker to

evaluate the disease severity and polyglutamine toxicity in SCA2, in contrast to saccadic velocity which seemed to be controlled by the CAG repeats [3].

As has been previously reported, SCA2 patients have significant dysfunctions in the performance of frontal-executive tasks [7,26,31,32], but the relationship between these cognitive dysfunctions and the saccadic pathology has been reported in only one study developed by Gambardella et al. [7] in 6 patients. These authors demonstrated a significant correlation of WSCT performance with

Table 1
Descriptive statistics of frontal-executive variables in SCA2 patients and its correlation with saccadic variables.

Variables	Descriptive statistics Mean ± SD (min–max)	Correlation coefficients		
		Saccadic latency (ms)	Saccadic velocity (°/segs)	Saccadic amplitude (Degrees)
Stroop interference test				
Corrected time (segs)	51.94 ± 27.20 (9–135)	0.39*	0.04	–0.24
Errors (%)	14.25 ± 19.86 (0–84)	–0.07	–0.15	0.04
Phonemic verbal fluency				
Successful responses (N)	11.86 ± 8.58 (0–31)	–0.53**	–0.00	0.34
WSCT				
Achieved categories (N)	2.06 ± 1.44 (0–6)	–0.48*	–0.02	0.29
Total errors (%)	60.42 ± 20.43 (21–100)	0.45*	0.05	–0.26
Perseverative Errors (%)	77.76 ± 13.43 (44–100)	0.15	0.11	–0.24

S.D: Standard deviation.
WSCT: Wisconsin Card Sorting Test.
(*): $p < 0.050$; (**): $p < 0.001$.

saccadic velocity but not with saccadic latency, which contrasts with our results. Nevertheless, in the Gambardella's cohort, the three patients with higher saccadic latencies had significantly lower number of achieved categories and higher perseverative and non-perseverative errors in WSCT, which suggest that the observed discrepancy may be caused by a sample size effect.

The significant correlation observed between the saccadic latency and the frontal-executive performance is consistent with the significant anatomical overlap of cortical and subcortical structures that are involved in saccadic movements [10,33] and the frontal-executive processes, such as the dorsolateral prefrontal cortex [34–37], the anterior cingulate cortex [38] and the caudate nucleus [36,37]. In that sense, we could hypothesize that the dysfunction of these areas simultaneously impairs the initiation of saccadic eye movements and the performance on the frontal-executive functions in SCA2 patients. The close relationship between saccadic latency and frontal-executive has been previously reported in other neurodegenerative diseases such as the Parkinson disease, the Alzheimer disease, the frontotemporal lobar degeneration and others [39,40]. Nevertheless, our work is the pioneer in the identification of this correlation among the hereditary ataxias.

In conclusion, since the saccadic latency in our cohort of SCA2 patients was not influenced either by the SARA score or CAG repeats but to the frontal-executive performance, this oculomotor parameter should be used for the monitoring of these cognitive functions rather than for the assessment of disease progression or polyglutamine toxicity. Therefore, saccadic latency represents a promising biomarker to assess the effect of the cognitive rehabilitation and other therapeutical options over the frontal-executive functions in SCA2 patients.

Funding source

Cuban Ministry of Public Health.

Conflicts of interest

No.

Acknowledgements

We are grateful to the SCA2 patients, the control individuals and the Cuban Ministry of Public Health for their cooperation and Dr. Elias W. Wakoli for the critical grammatical revision.

References

- 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* 2011, doi:10.1007/s12311-011-0265-2.
- Velázquez Pérez L, Cruz GS, Santos Falcón N, Almaguer LE, Escalona K, Rodríguez R, et al. Molecular epidemiology of spinocerebellar ataxias in Cuba: insights into SCA2 founder effect in Holguín. *Neurosci Lett* 2009;454(2):157–60.
- Velázquez-Pérez L, Seifried C, Santos-Falcón N, Abele M, Ziemann U, Almaguer LE, et al. Saccadic velocity is controlled by polyglutamine size in spinocerebellar ataxia 2. *Ann Neurol* 2004;56(3):444–7.
- Seifried C, Velázquez-Pérez L, Santos-Falcón N, Abele M, Ziemann U, Almaguer LE, et al. Saccadic velocity as a surrogate disease marker in spinocerebellar ataxia type 2. *Ann N Y Acad Sci* 2005;1039:524–7.
- Velázquez-Pérez L, Seifried C, Abele M, Wirjatijasa F, Rodríguez-Labrada R, Santos-Falcón N, et al. Saccadic velocity is reduced in presymptomatic spinocerebellar ataxia type 2. *Clin Neurophysiol* 2009;120(3):632–5.
- Buttner N, Geschwind D, Jen JC, Perlman S, Pulst SM, Balow RW. Oculomotor phenotypes in autosomal dominant ataxias. *Arch Neurol* 1998;55(10):1353–7.
- Gambardella A, Annesi G, Bono F, Spadafora P, Valentino P, Pasqua AA, et al. 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.
- Rivaud-Pechoux S, Durr A, Gaymard B, Cancel G, Ploner CJ, Agid Y, et al. Eye movement abnormalities correlate with genotype in autosomal dominant cerebellar ataxia type I. *Ann Neurol* 1998;43:297–302.
- Wessel K, Moschner C, Wandinger KP, Kompf D, Wolfgang H. Oculomotor testing in the differential diagnosis of degenerative ataxic disorders. *Arch Neurol* 1998;55(7):949–56.
- Leigh RJ, Kennard C. Using saccades as a research tool in the clinical neurosciences. *Brain* 2004;127:460–77.
- Leigh RJ, Zee DS. The neurology of eye movements (Book/DVD). Fourth edition. New York: Oxford University Press; 2006.
- Denny-Brown D, David MD, Tyler HR. Handbook of neurological examination and case recording. Harvard: Harvard University Press; 1982.
- Schmitz-Hübsch T, du Montcel ST, Baliko L, Berciano J, Boesch S, Depondt C, et al. Scale for the assessment and rating of ataxia: development of a new clinical scale. *Neurology* 2006;66(11):1717–20.
- Spree O, Strauss E. A compendium of neuropsychological tests: administration norms, and commentary. New York, NY: Oxford University Press; 1991.
- Nelson HE. A modified card sorting test sensitive to frontal lobe defects. *Cortex* 1976;12:313–24.
- Spree O, Benton AL. Neurosensory center comprehensive examination for aphasia (NCCA). Victoria: University of Victoria, Neuropsychology Laboratory; 1969.
- Carpenter RH, Williams ML. Neural computation of log likelihood in control of saccadic eye movements. *Nature* 1995;377:59–62.
- Orozco G, Estrada R, Perry TL, Arana J, Fernandez R, Gonzalez-Quevedo A, et al. Dominantly inherited olivopontocerebellar atrophy from eastern Cuba. Clinical, neuropathological, and biochemical findings. *J Neurol Sci* 1989;93:37–50.
- Durr A, Smadja D, Cancel G, Lezin A, Stevanin G, Mikol J, et al. 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;118:1573–81.
- Gierga K, Burk K, Bauer M, Orozco G, Auburger G, Schultz C, et al. Involvement of the cranial nerves and their nuclei in spinocerebellar ataxia type 2 (SCA2). *Acta Neuropathol (Berl)* 2005;109:617–31.
- Estrada R, Galarraga J, Orozco G, Nodarse A, Auburger G. Spinocerebellar ataxia 2 (SCA2) a morphometric analyses in 11 autopsies. *Acta Neuropathol* 1999;97(3):306–10.
- Hikosaka O, Yoriko T, Reiko K. Role of the basal ganglia in the control of purposive saccadic eye movements. *Physiol Rev* 2000;80:953–78.
- Wüllner U, Reimold M, Abele M, Burk K, Minnerop M, Dohmen BM, et al. Dopamine transporter positron emission tomography in Spinocerebellar Ataxias type 1, 2, 3, and 6. *Arch Neurol* 2005;62:1280–5.
- Kremlacek J, Valis M, Masopust J, Talab R, Kuba M, Kobova Z, et al. An electrophysiological study of visual processing in Spinocerebellar Ataxia type 2 (SCA2). *Cerebellum* 2010, doi:10.1007/s12311-010-0220-7.
- Pierrot-Deseilligny C, Gaymard B, Müri R, Rivaud S. Cerebral ocular motor signs. *J Neurol* 1997;244(2):65–70.
- Le Pira F, Zappala G, Saponara R, Domina E, Restivo DA, Regio E, et al. Cognitive findings in spinocerebellar ataxia type 2: relationship to genetic and clinical variables. *J Neurol Sci* 2002;201:53–7.
- Corbetta M, Akbudak E, Conturo TE, Snyder AZ, Ollinger JM, Drury HA, et al. A common network of functional areas for attention and eye movements. *Neuron* 1998;21(4):761–73.
- Nobre AC, Gitelman DR, Dias EC, Mesulam MM. Covert visual spatial orienting and saccades: overlapping neural systems. *Neuroimage* 2000;11(3):210–6.
- Edelman JA, Goldberg ME. Dependence of saccade-related activity in the primate superior colliculus on visual target presence. *J Neurophysiol* 2001;86:676–91.
- Irving EL, Steinbach MJ, Lillakas L, Babur RJ, Hutchings N. Horizontal saccadic dynamics across the human life span. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2006;47(6):2478–84.
- Storey E, Forrest SM, Shaw JH, Shaw JH, Mitchell P, McKinley Gardner RJ. Spinocerebellar ataxia type 2: clinical features of a pedigree displaying prominent frontal-executive dysfunction. *Arch Neurol* 1999;56:43–50.
- Burk K, Globas C, Bosch S, Graber S, Abele M, Brice A, et al. Cognitive deficits in spinocerebellar ataxia type 1, 2, and 3. *J Neurol* 2003;250:207–11.
- Ramat S, Leigh RJ, Zee DS, Optican LM. What clinical disorders tell us about the neural control of saccadic eye movements? *Brain* 2007;130:10–35.
- Schlösser R, Hutchinson M, Joseffer S, Rusinek H, Saarikari A, Stevenson J, et al. Functional magnetic resonance imaging of human brain activity in a verbal fluency task. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1998;64(4):492–8.
- 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.
- 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):7733–41.
- Nagahama Y, Fukuyama H, Yamauchi H, Matsuzaki S, Konishi J, Shibasaki H, et al. Cerebral activation during performance of a card sorting test. *Brain* 2006;119:1667–75.
- Carter CS, Mintun M, Cohen JD. Interference and facilitation effects during selective attention: an H₂¹⁵O PET study of Stroop task performance. *NeuroImage* 1995;2:264–72.
- Garbutt S, Matlin A, Hellmuth J, Schenk AK, Johnson JK, Rosen H, et al. Oculomotor function in frontotemporal lobar degeneration, related disorders and Alzheimer's disease. *Brain* 2008;131:1268–81.
- 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;43:79–85.

Capítulo 4. Los trastornos del sueño en la Ataxia Espinocerebelosa Tipo 2

Publicados en:

- **Neurodegener Dis** (2011); 8:447–454 (Factor de impacto: 3,79)
- **Mov Disor** (2011); (26):2 347-350 (Factor de impacto: 4,48)

El sueño es un estado fisiológico que se caracteriza por la disminución natural, periódica y reversible de la percepción del medio externo, con la conservación de cierto grado de reactividad a este y de las funciones autónomas. Durante el sueño se producen cambios hormonales, metabólicos, térmicos, bioquímicos y en la actividad mental; estas funciones son importantes, ya que garantizan un equilibrio psicológico y físico, y un correcto funcionamiento durante el día.

Los trastornos del sueño son frecuentes en las ataxias espinocerebelosas, sin embargo, los estudios realizados por otros autores, tienen limitaciones en cuanto al número de enfermos. El primer artículo, que conforma este capítulo, fue una investigación epidemiológica sobre las principales quejas relacionadas con el sueño y un examen video-polisomnográfico realizado a 32 pacientes de SCA2 con sus respectivos controles. Las principales anormalidades fueron alteraciones del sueño REM y movimientos periódicos de las extremidades. Dentro de la patología del sueño REM estuvieron la reducción del porcentaje, y densidad del mismo, así como la pérdida de la atonía. Estas alteraciones se incrementaron en la medida que aumentó la severidad de la enfermedad, según la puntuación de la escala SARA. Los movimientos periódicos de las extremidades no correlacionaron con el tamaño de la expansión

poliglutamínica, pero si con el tiempo de evolución de la enfermedad y la puntuación de la ataxia.

El segundo artículo explora las alteraciones video-polisomnográficas en 36 sujetos portadores de la mutación del gen *ATXN2*, clínicamente asintomáticos. En estos sujetos, el patrón de sueño se caracterizó por la reducción de la eficiencia del sueño, porcentaje de sueño REM y la densidad de los movimientos oculares sacádicos. El porcentaje de los estados de sueño NREM, las latencias al inicio del sueño y la latencia al REM, así como el índice de microdespertares no se diferenciaron del grupo control.

Sleep Disorders in Spinocerebellar Ataxia Type 2 Patients

Luis Velázquez-Pérez^a Ursula Voss^{b,c} Roberto Rodríguez-Labrada^a
Georg Auburger^b Nalia Canales Ochoa^a Gilberto Sánchez Cruz^a
Lourdes Galicia Polo^e Reyes Haro Valencia^e Raúl Aguilera Rodríguez^a
Jacqueline Medrano Montero^a Jose M. Laffita Mesa^a Inka Tuin^{b,d}

^aCentre for the Research and Rehabilitation of Hereditary Ataxias, Holguín, Cuba; ^bDepartment of Neurology, University Hospital, Frankfurt am Main, ^cDepartment of Psychology, Bonn University, Bonn, and ^dDepartment of Psychosomatic Medicine, University Hospital, Mainz, Germany; ^eClinic for Sleep Disorders, Medical School, UNAM, Mexico City, Mexico

Key Words

Spinocerebellar ataxia · Periodic leg movements ·
Sleep disorders · REM sleep, without atonia · Biomarkers

Abstract

Background: Sleep disturbances are common features in spinocerebellar ataxias (SCAs). Nevertheless, sleep data on SCA2 come from scarce studies including few patients, limiting the evaluation of the prevalence and determinants of sleep disorders. **Objective:** To assess the frequency and possible determinants of sleep disorders in the large and homogeneous SCA2 Cuban population. **Methods:** Thirty-two SCA2 patients and their age- and sex-matched controls were studied by video-polysomnography and sleep interviews. **Results:** The most striking video-polysomnography features were rapid eye movement (REM) sleep pathology and periodic leg movements (PLMs). REM sleep abnormalities included a consistent reduction of the REM sleep percentage and REM density as well as an increase in REM sleep without atonia (RWA). REM sleep and REM density decreases were closely related to the increase in ataxia scores, whereas the RWA percentage was influenced by the cytosine-adenine-guanine (CAG) repeats. PLMs were observed in 37.5% of cases.

The PLM index showed a significant association with the ataxia score and disease duration but not with CAG repeats. **Conclusions:** REM sleep pathology and PLMs are closely related to SCA2 severity, suggesting their usefulness as disease progression markers. The RWA percentage is influenced by the CAG repeats and might thus be a sensitive parameter for reflecting polyglutamine toxicity. Finally, as PLMs are sensitive to drug treatment, they represent a new therapeutic target for the symptomatic treatment of SCA2.

Copyright © 2011 S. Karger AG, Basel

Introduction

Spinocerebellar ataxia type 2 (SCA2) is an autosomal dominant cerebellar ataxia caused by the expansion of cytosine-adenine-guanine (CAG) repeats. The disease is characterized by a progressive cerebellar syndrome associated with saccade slowing, peripheral neuropathy, cognitive dysfunctions, and sleep disorders. The neuropathological hallmark of SCA2 is early olivopontocerebellar atrophy accompanied by the degeneration of somatosensory pathways, the thalamus, substantia nigra, and the anterior horn. There is an inverse corre-

lation between CAG repeats and age at disease onset, and genetic anticipation is observed in many families [1–3]. Worldwide, the highest prevalence rates of SCA2 are observed in the Holguín province (Cuba), where there are more than 470 patients and 2,000 first-degree relatives, resulting from a founder effect of the SCA2 gene [4].

As of today, there are no known effective treatments to modify SCA2 progression. Thus, the identification of therapeutic targets and disease biomarkers is mandatory [5].

Changes in sleep architecture and sleep anomalies may constitute an important disease marker. Previous studies have identified sleep disturbances that covary with disease duration and/or disease severity. Regarding sleep architecture, Tuin et al. [6] (2006) and Boesch et al. [7] (2006) reported severe rapid eye movement (REM) sleep reduction and even REM sleep resolution in highly progressed patients. REM sleep without atonia (RWA) often occurs early in the disease [6, 7]. Evidence of periodic leg movements (PLMs) [7] and restless legs syndrome (RLS) has been observed in some [8–10] but not all cases, highlighting the potential of sleep diagnostics as a marker of disease progression in SCA2. However, all existing studies are limited by small sample sizes and heterogeneous patient cohorts.

In this paper, we assessed sleep performance in a group of 32 SCA2 patients and 32 age- and sex-matched individuals (controls). Selected SCA2 patients were homogeneous with respect to their CAG repeat number and differed in disease duration and age at onset. The study's aim was to further identify and characterize sleep disorders in SCA2 and to assess their potential use as biomarkers and research tools for therapeutic trials.

Patients and Methods

Participating patients were 32 clinically and genetically diagnosed SCA2 patients (20 males and 12 females) aged 18–64 years [mean 36.22; standard error (SE) 1.89] who were admitted to the Center for the Research and Rehabilitation of Hereditary Ataxias in Holguín, Cuba, for the purpose of participation in the study. As can be seen in table 1, the age at onset ranged from 13 to 49 years (mean 26.48; SE 1.83), and disease duration was between 1 and 20 years (mean 10.23; SE 1.49). The CAG repeat number was relatively homogeneous (range 34–44 repetitions, mean 39.84; SE 1.49). A total of 32 age- and sex-matched healthy volunteers (age 18–63 years, mean 36.03; SE 1.81) were selected as controls. The study was approved by the local ethics committee and was conducted according to the declaration of Helsinki. Written informed consent was obtained from all subjects.

Table 1. Demographic, molecular and clinical data of 32 SCA2 patients and 32 matched controls.

Variables	SCA2 patients mean \pm 2 SE (range)	Controls mean \pm 2 SE (range)	p
Age	36.22 \pm 3.78 (18–64)	36.03 \pm 3.62 (18–63)	0.942
Age at onset	26.48 \pm 3.66 (13–49)	–	–
Disease duration	10.23 \pm 2.98 (1–20)	–	–
CAG repeats	39.84 \pm 2.98 (34–44)	–	–

Neurological Measures

All subjects were screened clinically with a standard neurological exam following Mayo Clinic procedures [11] and the Scale for the Assessment and Rating of Ataxia (SARA) [12].

Molecular Genetic Measures

DNA extracts from peripheral venous blood underwent amplification of the CAG-rich region in the SCA2 gene by PCR and the determination of mutation size on polyacrylamide gel electrophoresis.

Sleep Quality Measures

All subjects were interviewed with regard to their subjective sleep quality, dream recall and content (nightmares), complex or aggressive behavior during sleep, sensory and motor complaints during sleep, sleep-related self-injuries or injuries to their bed partners, vocalizations, somnolency, bruxism, and snoring. Further, patients completed the Epworth Sleepiness Scale (ESS) [13] to document daytime sleepiness.

Video-Polysomnographic Recordings

All subjects underwent video-polysomnographic recordings for 2 consecutive nights during their routine sleeping hours between 22.00 h (lights out) and 6.00 h (lights on). Polysomnography was performed with a digital polygraph (Brain Lab, Schwarzer, Germany) using a standard montage which included electroencephalographic (EEG) recording by F3, F4, C3, C4, O1, and O2 electrodes, vertical and horizontal electrooculography, electrocardiography, and electromyography (EMG) of mental and both tibialis anterior muscles. Respiration monitoring included nasal airflow, tracheal microphone, thoracic and abdominal respiratory effort, and oxygen saturation. To avoid first-night effects, only results of the second night were analyzed. All sleep recordings were visually analyzed according to the rules of Rechtschaffen and Kales [14]. Since SCA2 subjects show saccade slowing [15] which might influence REM sleep scoring, we paid special attention to the EMG and EEG features of REM sleep in accordance with procedures described by Tuin et al. [6]. REMs were counted visually (minimum peak-to-trough amplitude 25 μ V). REM density was calculated as the percentage of 3-second miniepochs of REM sleep with at least 1 REM in accordance with previous scoring routines [6]. Phasic EMG events were also analyzed in accordance with established criteria [16]. The RWA percentage was defined as the proportion of 30-second epochs that showed loss of submental muscle atonia. A loss of muscle atonia was assigned when EMG activity was present for at least 50% of a 30-second epoch. RWA percentages above 20% were considered pathological

[17]. Phasic EMG activity was visually evaluated in 3-second miniepochs and reported as the percentage of 3-second miniepochs with at least 1 phasic EMG event. A phasic EMG event was defined as any burst of EMG activity lasting 0.1–5 s with an amplitude exceeding 4 times the background EMG activity. Respiratory variables and PLMs in sleep were also recorded and scored according to standard criteria [18, 19]. The PLM index was calculated as the number of leg movements (LMs) included in PLM sequences per hour of sleep. A PLM sequence is considered a series of PLMs with at least 4 individual LMs separated from the following and the previous LM by an interval (inter-LM interval) ranging from 5 to 90 s. The duration of the PLM sequence is defined as the time interval between the onset of the first LM and the end of the last LM.

Statistical Analysis

For descriptive statistics of demographical, clinical, molecular, and sleep variables, means and standard errors were calculated. Intergroup mean comparisons were performed by Student's *t* test (2 tailed). Frequencies of sleep disorders in both studied groups were compared using a χ^2 test. To determine factors influencing sleep disorders, we performed linear regression analyses with age, age at onset, disease duration, CAG repeat size, and the SARA score as factors. For these analyses the commercially available Statistica software package (version 6; StatSoft, Inc., www.statsoft.com) was used.

Results

Clinical Phenotype

All subjects showed a clinical phenotype characterized by cerebellar ataxia, dysarthria, dysmetria, and dysdiadochokinesia. Not a single patient displayed symptoms of parkinsonism. In this cohort of SCA2 patients, the age at disease onset was significantly influenced by the CAG repeat size ($r = -0.58$; $p < 0.001$). The mean ataxia score assessed by the SARA scale was 19.03 ± 2.90 , ranging from 10 to 31 units.

Sleep Quality Measures

Table 2 shows that 7 patients (21.8%) complained of insomnia. We did not encounter any history of nightmares and only 1 patient each showed evidence of bruxism and somnambulism, respectively. Events characteristic of REM sleep behavior disorder (RBD) were reported by 2 patients. The bed partners reported snoring in 12 patients (34.36%). In accordance with earlier findings [6], dream recall was sparse in many patients (56.25%) and absent in 1 patient. RLS was diagnosed in 8 patients (25.0%). Regarding control subjects, the most prominent symptoms suggestive of a sleep disorder were snoring (46.8%) and reduced dream recall (50%). Frequency comparisons revealed significant differences for insomnia

Table 2. Sleep symptoms in 32 SCA2 patients compared with 32 matched controls

Sleep disorders	SCA2 patients, n (%)	Controls n (%)	p
Insomnia	7 (21.8)	1 (3.1)	0.02
Nightmares	0	0	–
Bruxism	1 (3.1)	1 (3.1)	–
Somnambulism	1 (3.1)	0	0.32
RBD	2 (6.2)	0	0.15
Reduced dream recalls	20 (62.5)	16 (50)	0.31
Snoring	12 (37.5)	15 (46.8)	0.44
RLS	8 (25)	1 (3.1)	0.01
ESS score	4.41 ± 0.96	5.13 ± 0.96	0.29 ^a

^a All between-groups statistics were analyzed with χ^2 tests except the comparison of ESS scores (*t* test).

and RLS patients. Patients and controls did not differ in their ESS scores (SCA2 patients: mean 4.41; 2 SE 2.95, and healthy controls: mean 5.13; 2 SE 2.42).

Video-Polysomnographic Measures

Table 3 shows the sleep scoring parameters measured in SCA2 patients and healthy controls. Compared to controls, the sleep period time, total sleep time, and sleep efficiency were significantly decreased in SCA2 patients. Sleep stage II latency was <30 min in both patients and controls, suggesting no problems with sleep onset. However, the arousal index was increased in patients but not in controls. The analysis of sleep architecture variables revealed an increase in sleep stage I and a reduction of sleep stage II and REM. Moreover, a marginally significant increase in slow-wave sleep (SWS) was observed. Regarding REM sleep, the analysis of phasic events showed a significant reduction of REM density in SCA2 patients. Furthermore, the percentage of RWA was significantly increased in SCA2 patients, showing strongly augmented phasic EMG activity (submental). RWA amounted to more than 20% of REM sleep in 10 (31.3%) SCA2 patients. The 2 cases exhibiting RBD had RWA percentages above 40%. The central sleep apnea index was within the normal range in both groups. The analysis of LMs revealed a remarkable increase in the PLM index in SCA2 patients.

Linear regression analyses disclosed a significant association between the SARA score and REM sleep percentage ($r = -0.38$; $p = 0.03$), REM density ($r = -0.57$; $p = 0.00$), and RWA percentage ($r = 0.44$; $p = 0.01$). Moreover, the CAG repeats showed a significant influence on the

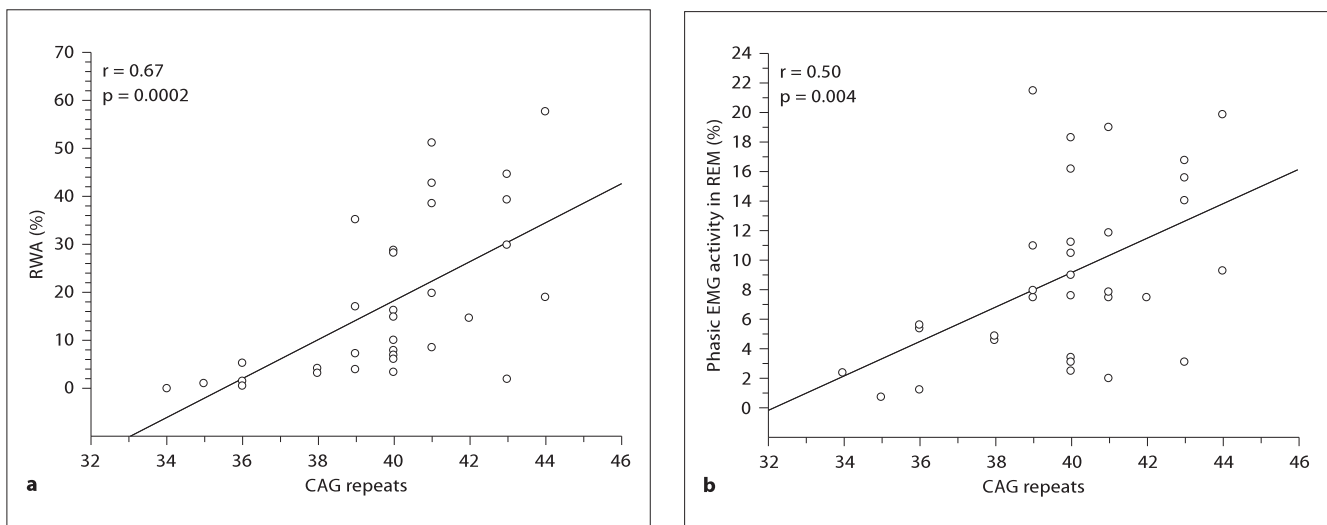


Fig. 1. Influence of the CAG repeat number on the percentage of RWA (a) and phasic EMG activity (b) during REM sleep in SCA2 patients.

Table 3. Comparison of sleep scoring parameters between SCA2 patients and controls

Variables	SCA2 patients	Controls	P
TIB, h	7.77 ± 0.22	7.92 ± 0.22	0.339
SPT, h	7.24 ± 0.24	7.64 ± 0.24	0.028
TST, h	6.35 ± 0.32	7.10 ± 0.32	0.002
Sleep efficiency, %	80.59 ± 3.52	88.62 ± 3.52	0.002
WASO, %	11.47 ± 4.60	8.93 ± 4.60	0.440
Sleep latency, min	16.69 ± 3.26	12.72 ± 3.26	0.082
Sleep stage II latency, min	21.09 ± 3.60	14.34 ± 3.60	0.001
SWS sleep latency, min	13.87 ± 3.62	13.07 ± 3.74	0.760
REM sleep latency, min	78.38 ± 15.42	82.94 ± 15.42	0.678
Arousal index, events/h	18.92 ± 2.16	10.70 ± 2.16	0.000
Stage I, %	9.93 ± 1.86	7.10 ± 1.86	0.035
Stage II, %	37.90 ± 2.98	47.56 ± 2.98	0.000
SWS, %	21.06 ± 2.46	17.80 ± 2.46	0.066
REM, %	13.97 ± 1.90	19.83 ± 1.60	0.000
REM episodes, n	3.97 ± 0.30	4.09 ± 0.30	0.562
REM density, %	12.65 ± 3.62	28.58 ± 4.62	0.000
RWA, %	17.77 ± 5.90	1.41 ± 0.62	0.000
Phasic EMG activity, %	9.02 ± 2.08	2.79 ± 0.60	0.000
OSA index, events/h	0.90 ± 0.60	0.65 ± 0.60	0.554
CSA index, events/h	0.97 ± 0.54	0.07 ± 0.54	0.022
PLM index, events/h	20.05 ± 9.56	2.86 ± 9.56	0.014

Values represent the mean ± 2 SE. TIB = Time in bed; SPT = sleep period time; TST = total sleep time; WASO = wake periods after sleep onset; OSA = obstructive sleep apnea; CSA = central sleep apnea.

RWA percentage ($r = 0.67$; $p < 0.00$; fig. 1a) and phasic EMG activity during REM sleep ($r = 0.50$; $p < 0.00$; fig. 1b).

Twelve patients (37.5%) and 5 controls (15.6%) showed abnormal PLM indices (>5 PLMs/h). Three SCA2 patients (9.4%) and the 5 controls (15.6%) were mildly affected (5–25 PLMs/h), whereas 5 patients (15.6%) had moderate signs (25–50 PLMs/h) and 4 patients (12.5%) were considered severe (>50 PLMs/h). Of the 12 patients with PLMs, 5 (41.2%) suffered from insomnia, 2 (16.7%) reported RLS and 11 (91.7%) suffered from muscle cramps.

Group means of patients and controls were compared with respect to the number of PLM sequences, their duration, and the decrease in inter-LM intervals within each sequence. As shown in figure 2, groups only differed with respect to the mean duration of PLM sequences, which was significantly increased in the SCA2 group.

In order to evaluate the relationship between PLMs and the clinical and molecular features of SCA2, we conducted linear regression analyses within the SCA2 group (table 4). PLM parameters were uncorrelated with age, age at onset, and CAG repeats. However, the PLM index and inter-LM intervals showed a significant association with disease duration and the SARA score.

Similar analyses were performed for the PLM index and sleep variables in SCA2 patients. Significant associations were obtained for sleep stage II latency ($r = 0.36$; $p = 0.04$) and SWS latency ($r = 0.39$; $p = 0.03$).

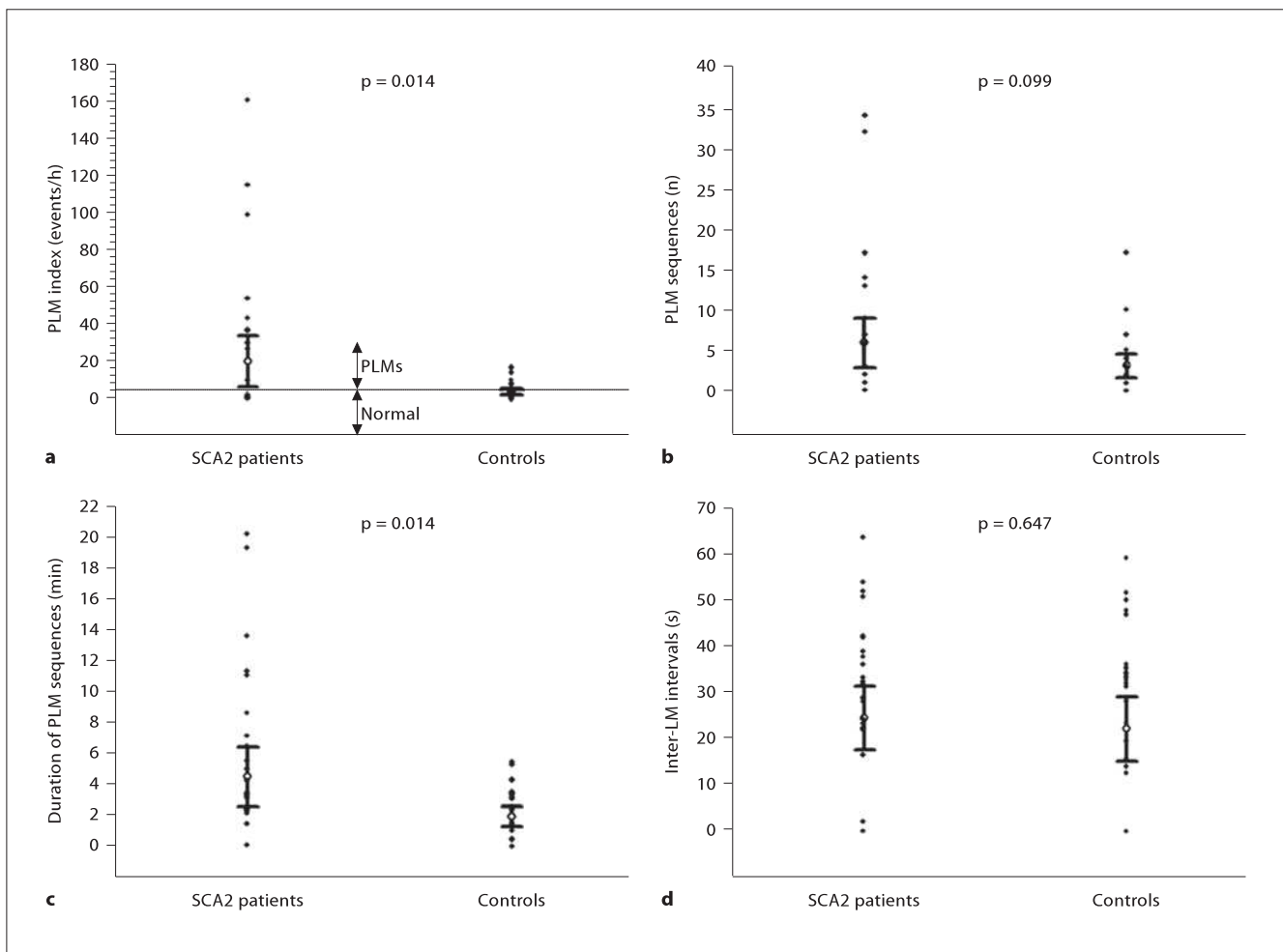


Fig. 2. Comparison of PLM parameters between SCA2 patients and controls. The PLM index is the number of LMs included in PLM sequences per hour of sleep. A PLM sequence is a series of at least 4 individual LMs separated by an interval (inter-LM interval) ranging from 5 to 90 s. The duration of PLM sequences is the time interval between the onset of the first LM and the end of the last LM.

Table 4. Regression coefficients obtained by linear regression analyses between clinical and molecular variables of SCA2 and PLM parameters in SCA2 patients

Variables	PLM index, events/h	PLM sequences, n	Duration of sequences, min	Inter-LM intervals, s
Age	0.15	0.16	-0.01	-0.21
Age at onset	-0.02	0.01	-0.03	0.01
Disease duration	0.40*	0.33	0.15	-0.52*
SARA scores	0.43*	0.26	0.23	-0.43*
CAG repeats	0.19	0.20	0.18	0.18

* Statistically significant values ($p < 0.05$).

Discussion

Sleep disturbances are common in neurodegenerative diseases and they are caused by direct or indirect pathogenetic mechanisms [20]. In 2006 Tuin et al. [6] identified an early REM sleep pathology in 8 SCA2 patients. REM sleep was markedly reduced in advanced patients. Moreover, Tuin et al. [6] observed frequent RWA. In the same year, Boesch et al. [7] added PLMs to the sleep pathology picture of a group of 5 SCA2 patients. Both studies recommended the corroboration of these findings in a homogeneous large SCA2 population such as that which exists in Cuba.

The results of the current study confirm and specify the previously reported sleep disorders in SCA2 in a larger sample in comparison to an equal-sized group of sex- and age-matched controls. We found evidence of sleep fragmentation, REM sleep abnormalities, and PLMs.

Sleep fragmentation is a key feature causing loss of sleep continuity with multiple intrusions of light sleep and waking [20]. In our SCA2 group, it was manifested by the decrease in sleep efficiency and an increase in arousals. The fact that sleep onset latency remained inconspicuous indicates that sleep maintenance is affected but sleep initiation is not.

The finding that SCA2 patients have reduced REM sleep with decreased eye movement density during this stage suggests that the REM-ON neurons, located in the brainstem, are vulnerable to the pathological effect of mutant ataxin 2. This notion may be supported by the neuropathological data that indicate early and progressive pons degeneration in SCA2 patients [21]. Moreover, the conspicuous thalamic degeneration in SCA2 may be considered a cause of REM sleep decrease because it is known that REM sleep correlates with increased metabolic activity in the thalamus [22]. Reduced REM sleep with a normal number of REM episodes suggests impairment in the maintenance of REM sleep but not in the initiation of this sleep stage; this is probably due to the disruption of the positive feedback loop to maintain REM sleep initiated by the cholinergic neurons in the pedunculopontine and lateral dorsal tegmenti and glutamatergic neurons in the medial mesencephalic reticular formation [23–25].

Regarding the presence of RWA in SCA2 patients, the main contribution of this work is the identification of the significant influence of CAG repeat numbers to the loss of atonia (enhanced muscle tone) during REM sleep. This newly recognized association is an important finding because it confers a direct role on the SCA2 mutation in REM sleep pathology. Future research should test whether the CAG repeat number is also closely associated with loss of atonia during REM sleep in other polyglutamine diseases that exhibit RBD and/or RWA, such as SCA1 [26], SCA3 [27, 28], and Huntington's disease [29]. A positive outcome would provide new clues regarding the relevance of polyglutamine expansions in the pathophysiology of RBD/RWA.

This paper reports for the first time the high frequency of PLMs in a large and homogeneous population of SCA2 patients; this accounts for approximately 38% of the prevalence in the studied sample, with 4 cases exhibiting severe indices.

PLMs have been suggested to be caused by brain dopaminergic hypoactivity characterized by the dysfunction of a supraspinally located dopaminergic region in the hypothalamus (hypothalamic A11 nucleus) with descending pathways to the spinal cord [30, 31] and dysfunction in D2 receptor binding in the striatum [32, 33]. Moreover, impairments in brain iron availability might contribute to the pathogenesis of PLMs since iron is an essential cofactor for tyrosine hydroxylase, the rate limiting enzyme in the synthesis of dopamine, and since the D2 receptor is an iron-containing protein [34, 35].

To date, there are no neuropathological data assessing A11 degeneration as a PLM-causing factor in SCA2. Nevertheless, *in vivo* studies using single photon emission computed tomography (SPECT) and *in vitro* studies applying binding studies have demonstrated the functional impairment of striatal dopaminergic pathways in SCA2 [36, 37]. In addition, neuropathological studies revealed a marked neuronal loss in the striatum and substantia nigra of dead SCA2 patients [21]. Furthermore, in a previous neurochemical characterization of SCA2 patient tissue we found a significant reduction of iron levels in serum and cerebrospinal fluid [38], which may constitute a risk factor for the development of PLMs through a reduction in central dopaminergic tone.

In SCA2 patients, LMs were not associated with a decrease in sleep efficiency, major arousals, a decrease in specific sleep stage duration, or a prolongation of sleep onset and of REM sleep latency. These findings are in agreement with previous findings in SCAs, Huntington's disease, and Parkinson's disease in which PLMs were usually not associated with arousals because most patients are unaware of these movements [29, 39]. Nevertheless, we found that PLMs increased the latency of sleep stage II and SWS in our large series of SCA2 patients. This provides evidence that PLMs play a role in the dysregulation of the general sleep architecture in SCA2, inhibiting and therefore delaying the entry to sleep stage II and SWS. No preceding study on PLMs in SCAs has reported the influence of LMs on these sleep variables.

In contrast to the usual occurrence of PLMs in elderly people [31, 40], the PLM index (and remaining PLM parameters) in our patients was not influenced by age, indicating that SCA2-related factors provoke PLMs even in young subjects. The fact that the PLM index was significantly influenced by the SARA score and disease duration identifies this parameter as a specific biomarker of the progression of SCA2.

The poor relation between CAG repeats and PLMs parameters in our SCA2 cohort is in agreement with earlier

associative studies that could not establish a link between the CAG repeat length in SCAs [8–10] and RLS. The findings suggest that the probability of developing PLMs is mainly related to the clinical status caused by the SCA2 mutation and not to the length of the CAG repeat per se, indicating the existence of other genetic and nongenetic factors contributing to PLMs such as somatic mosaicism, modifier genes, epigenetic factors, polymorphisms, and others.

Our findings on PLMs in SCA2 patients contribute to clarifying the discrepancies reported by Orozco et al. [41] and Durr et al. [42] who were intrigued by the severe neuropathological alterations of the basal ganglia with absence of clinical correlates in SCA2.

In summary, we found considerable REM sleep pathology and PLMs in SCA2 patients, which increased sig-

nificantly with the advance of the clinical state of the disease, suggesting that these disorders may be used as putative progression biomarkers. Furthermore, the loss of atonia during REM sleep was closely associated with the CAG repeats in the SCA2 gene which identify the RWA percentage as a new electrophysiological parameter for the assessment of polyglutamine toxicity in SCA2. Finally, considering that PLMs are sensible to drug treatment, their occurrence represents a new therapeutic target for the symptomatic treatment of SCA2.

Acknowledgement

We are grateful to the SCA2 patients and the control individuals and to the Cuban Ministry of Health for their cooperation.

References

- 1 Lastres-Becker I, Rüb U, Auburger G: Spinocerebellar ataxia (SCA2). *Cerebellum* 2008;7:115–124.
- 2 Pulst MS, Nechiporuk A, Nechiporuk T, et al: Moderate expansion of a normally biallelic trinucleotide repeat in spinocerebellar ataxia type 2. *Nat Genet* 1996;14:269–276.
- 3 Pulst MS, Nechiporuk A, Starkman S: Anticipation in spinocerebellar ataxia type 2. *Nat Genet* 1993;5:8–10.
- 4 Velázquez Pérez L, Cruz GS, Santos Falcón N, et al: Molecular epidemiology of spinocerebellar ataxias in Cuba: insights into SCA2 founder effect in Holguin. *Neurosci Lett* 2009;454:157–160.
- 5 Underwood BR, Rubinsztein DC: Spinocerebellar ataxias caused by polyglutamine expansions: a review of therapeutic strategies. *Cerebellum* 2008;7:215–221.
- 6 Tuin I, Voss U, Kang JS, et al: Stages of sleep pathology in spinocerebellar ataxia type 2 (SCA2). *Neurology* 2006;67:1966–1972.
- 7 Boesch SM, Frauscher B, Brandauer E, Wenning GK, Högl B, Poewe W: Disturbance of rapid eye movement sleep in spinocerebellar ataxia type 2. *Mov Disord* 2006;21:1751–1754.
- 8 Schols L, Haan J, Riess O, Amoiridis G, Przuntek H: Sleep disturbance in spinocerebellar ataxias: is the SCA 3 mutation a cause of restless legs syndrome? *Neurology* 1998;51:1603–1607.
- 9 Abele M, Burk K, Laccone F, Dichgans J, Klockgether T: Restless legs syndrome in spinocerebellar ataxia types 1, 2, and 3. *J Neuro* 2001;248:311–314.
- 10 Reimold M, Globas C, Gleichmann M, et al: Spinocerebellar ataxia type 1, 2, and 3 and restless legs syndrome: striatal dopamine D2 receptor status investigated by [11C]raclopride positron emission tomography. *Mov Disord* 2006;21:1667–1673.
- 11 Denny-Brown D, Dawson DM, Tyler HR: *Handbook of neurological examination and case recording*, ed 3. Cambridge, Harvard University Press, 1982.
- 12 Schmitz-Hubsch T, du Montcel ST, Baliko L, et al: Scale for the assessment and rating of ataxia: development of a new clinical scale. *Neurology* 2006;66:1717–1720.
- 13 Johns MW: A new method for measuring daytime sleepiness: the Epworth sleepiness scale. *Sleep* 1991;14:540–545.
- 14 Rechtschaffen A, Kales A: *A Manual of Standardized Terminology, Techniques and Scoring System for Sleep Stages of Human Subjects*. Los Angeles, Brain Research Institute, 1968.
- 15 Velázquez-Pérez L, Seifried C, Santos-Falcón N, et al: Saccade velocity is controlled by polyglutamine size in spinocerebellar ataxia 2. *Ann Neurol* 2004;56:444–447.
- 16 Lapierre O, Montplaisir J: Polysomnographic features of REM sleep behavior disorder: development of a scoring method. *Neurology* 1992;42:1371–1374.
- 17 American Academy of Sleep Medicine: *The International Classification of Sleep Disorders – Revised*. Chicago, American Academy of Sleep Medicine, 2005.
- 18 Sleep-related breathing disorders in adults: recommendations for syndrome definition and measurement techniques in clinical research. The report of an American Academy of Sleep Medicine Task Force. *Sleep* 1999;22:667–689.
- 19 Recording and scoring leg movements: the Atlas Task Force. *Sleep* 1993;16:748–759.
- 20 Mckenna JT, Tartar JL, Ward CP, et al: Sleep fragmentation elevates behavioral electrographic and neurochemical measures of sleepiness. *Neuroscience* 2007;146:1462–1473.
- 21 Estrada R, Galarraga J, Orozco G, Nodarse A, Auburger G: Spinocerebellar ataxia 2 (SCA2): morphometric analyses in 11 autopsies. *Acta Neuropathol* 1999;97:306–310.
- 22 Staunton H: Mammalian sleep. *Naturwissenschaften* 2005;92:203–220.
- 23 Reinoso-Suárez F, de Andrés I, Rodrigo-Angulo ML, Garzón M: Brain structures and mechanisms involved in the generation of REM sleep. *Sleep Med Rev* 2001;5:63–77.
- 24 Datta S, 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.
- 25 Lu J, Sherman D, Devor M, Saper CB: A putative flip-flop switch for control of REM sleep. *Nature* 2006;441:589–594.
- 26 Arnulf I, Merino-Andreu M, Durr A, Camuzat A, Derenne JP, Similowski T: Sleep disorders in autosomal dominant spinocerebellar ataxia: a genotype-phenotype study. *Sleep* 2003;26(suppl):A353–A354.
- 27 Iranzo A, Munoz E, Santamaria J, Vilaseca I, Mila M, Tolosa E: REM sleep behavior disorder and vocal cord paralysis in Machado-Joseph disease. *Mov Disord* 2003;18:1179–1183.
- 28 D'Abreu A, Franca M Jr, Conz L, et al: Sleep symptoms and their clinical correlates in Machado-Joseph disease. *Acta Neurol Scand* 2009;119:277–280.

- 29 Arnulf I, Nielsen J, Lohmann E, et al: Rapid eye movement sleep disturbances in Huntington disease. *Arch Neurol* 2008;65:482–488.
- 30 Ondo WG, He Y, Rajasekaran S, Le WD: Clinical correlates of 6-hydroxydopamine injections into A11 dopaminergic neurons in rats: a possible model for restless legs syndrome. *Mov Disord* 1998;13:271–275.
- 31 Vetrugno R, D'Angelo R, Montagna P: Periodic limb movements in sleep and periodic limb movement disorder. *Neurol Sci* 2007;28:S9–S14.
- 32 Cervenka S, Palhagen SE, Comley RA et al: Support for dopaminergic hypoactivity in restless legs syndrome: a PET study on D2-receptor binding. *Brain* 2006;129:2017–2028.
- 33 Connor JR, Boyer PJ, Menzies SL, et al: Neuropathological examination suggests impaired brain iron acquisition in restless legs syndrome. *Neurology* 2003;61:304–309.
- 34 Allen R: Dopamine and iron in the pathophysiology of restless legs syndrome (RLS). *Sleep Med* 2004;5:385–391.
- 35 Krieger J, Schroeder C: Iron, brain and restless legs syndrome. *Sleep Med Rev* 2001;5:277–286.
- 36 Varrone A, Salvatore E, De Michele G, et al: Reduced striatal [123I]FP-CIT binding in SCA2 patients without parkinsonism. *Ann Neurol* 2004;55:426–430.
- 37 Boesch SM, Donnemiller E, Muller J, et al: Abnormalities of dopaminergic neurotransmission in SCA2: a combined 123 I-βCIT and 123 I-IBZM SPECT study. *Mov Disord* 2004;19:1320–1325.
- 38 González C, Sánchez G, González A, et al: Serum and cerebrospinal fluid levels of copper, iron and zinc in patients with ataxia type SCA-2 from the province of Holguin in Cuba. *Dialogues Clin Neurosci* 2005;13:12–16.
- 39 Iranzo A, Comella CL, Santamaria J, Oertel W: Restless legs syndrome in Parkinson's disease and other neurodegenerative diseases of the central nervous system. *Mov Disord* 2007;22(suppl 18):S424–S430.
- 40 Hornyak M, Trenkwalder C: Restless legs syndrome and periodic limb movement disorder in the elderly. *J Psychosom Res* 56; 2004:543–548.
- 41 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.
- 42 Durr A, Smadja D, Cancel G, et al: 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;118:1573–1581.

Subtle Rapid Eye Movement Sleep Abnormalities in Presymptomatic Spinocerebellar Ataxia Type 2 Gene Carriers

Roberto Rodríguez-Labrada, BSc,¹ Luis Velázquez-Perez, PhD,^{1*} Nalia Canales Ochoa, BSc,¹ Lourdes Galicia Polo, BSc,² Reyes Haro Valencia, BSc,² Gilberto Sánchez Cruz, MD,¹ Jacqueline Medrano Montero, PhD,¹ José M. Laffita-Mesa, BSc,¹ Luis E. Almaguer Mederos, PhD,¹ Yanetza González Zaldívar, BSc,¹ Ciria Torres Parra, BSc,¹ Arnoy Peña Acosta, BSc,¹ and Tania Cruz Mariño, MD¹

¹Centre for the Research and Rehabilitation of Hereditary Ataxias, Holguín, Cuba; ²Clinic for Sleep Disorders, Medicine School, UNAM, México DF, México

ABSTRACT

Rapid eye movement (REM) sleep disorders are commonly associated to patients with spinocerebellar ataxia type 2 (SCA2); however, these abnormalities have not been studied in presymptomatic gene carriers. To determine whether the REM sleep pathology is detectable before clinical manifestation of SCA2 and evaluate it as a preclinical biomarker, we studied 36 presymptomatic SCA2 individuals and 36 controls by video-polysomnography (VPSG) and sleep questionnaires. Presymptomatic subjects showed significant decrease of REM sleep percentage, REMs density, total sleep time, and sleep efficiency. Aging effect on REM sleep percentage was significant in both groups. There was no correlation between cytosine-adenine-guanine (CAG) repeat length and REM sleep. Our findings identified the REM sleep pathology as a prominent herald sign of SCA2, conferring a special importance to VPSG as a sensitive neurophysiological tool to detect early changes associated with SCA2, which contributes to the understanding of disease pathophysiology and the development of therapeutic trials focused on the preclinical disease stage. © 2010 *Movement Disorder Society*

Key Words: spinocerebellar ataxias; REM sleep; sleep disorders; biomarkers

Spinocerebellar ataxia type 2 (SCA2) is an autosomal dominant cerebellar ataxia caused by the expansion of CAG repeats in the *ATXN2* gene, and therefore, the expression of an expanded polyglutamine tract in the ataxin 2 protein is responsible for the neurodegeneration of cerebellum, brainstem, substantia nigra, thalamus, and other structures.¹ The disease is characterized by a progressive cerebellar syndrome,² saccadic slowing,^{3,4} sensory peripheral neuropathy,^{5,6} cognitive dysfunction,⁷ and sleep disorders.^{8,9} Worldwide, the highest prevalence of SCA2 is in the Holguín province (Cuba), where there are more than 400 patients and 2,000 first-degree relatives, resulting from a founder effect.¹⁰

Although sleep disorders have been documented in patients with SCA2,^{8,9} there are no clues whether these abnormalities appear before the ataxia onset. In view of the early pons atrophy¹ in SCA2 and the relevance of this brain area for rapid eye movement (REM) sleep,¹¹ we assessed sleep performance in 36 presymptomatic SCA2 individuals and 36 age- and sex-matched control individuals with the aim to identify sleep abnormalities that could serve as potential preclinical biomarkers.

Subjects and Methods

Subjects

Thirty-six presymptomatic SCA2 gene carriers (11 males and 25 females) with ages ranging from 20 to 59 years [mean: 34.9; standard deviation (SD): 9.9], CAG repeat lengths from 32 to 43 units (mean: 36.5; SD: 2.9), and scores of Scale for the Assessment and Rating of Ataxia (SARA)¹² ranging from 0 to 3 (mean: 0.54; SD: 0.92) were admitted to the Center for the Research and Rehabilitation of Hereditary Ataxias in Holguín for this study. Thirty-six healthy individuals (aged from 18 to 63 years, mean: 36.0; SD: 10.7; and SARA scores from 0 to 1, mean: 0.11; SD: 0.36) were randomly chosen as age- and sex-matched controls. No subject was under any medication that would have interfered with sleep or polysomnographic findings. The study was approved by the Institutional Ethics Committee and was conducted according to the Declaration of Helsinki. Each subject gave written informed consent for the participation in the study.

Sleep Quality Measures

All subjects completed the Pittsburgh Sleep Questionnaire Inventory (PSQI)¹³ to assess sleep quality and the Epworth Sleepiness Scale (ESS)¹⁴ to document daytime sleepiness. Also, the subjects and/or their bed partners were interviewed to diagnose the REM behavior disorder (RBD), restless legs syndrome (RLS), and nocturnal cramps.

*Correspondence to: Velázquez-Perez, Centre for the Research and Rehabilitation of Hereditary Ataxias, Carretera Central Km 5 1/2 Reparto Edecio Pérez, Postal Code 80100, Holguín, Cuba.

Relevant conflicts of interest/financial disclosures: Nothing to report. Full financial disclosures and author roles may be found in the online version of this article.

Received 25 March 2010; **Revised** 3 June 2010; **Accepted** 23 July 2010

Published online 19 October 2010 in Wiley Online Library (wileyonlinelibrary.com). DOI: 10.1002/mds.23409

TABLE 1. Video-polysomnographical (VPSG) variables in SCA2 presymptomatics (n = 36) compared with matched controls (n = 36)

PSG sleep variables	SCA2 presymptomatics	Healthy controls	P value
Total record time (TRT) (hr)	7.61 ± 0.69	7.89 ± 0.44	0.096
Sleep period time (SPT) (hr)	7.13 ± 0.61	7.61 ± 0.44	<0.001
Total sleep time (TST) (hr)	6.00 ± 1.02	7.09 ± 0.68	<0.001
Sleep efficiency (%)	81.71 ± 9.14	91.19 ± 3.33	<0.001
Arousal index	13.32 ± 10.18	11.69 ± 9.89	0.119
Sleep onset latency (min)	14.83 ± 11.81	13.5 ± 8.5	0.603
REM sleep onset latency (min)	88.73 ± 31.58	82.83 ± 34.43	0.476
Wake (%)	12.85 ± 5.91	8.58 ± 7.91	0.127
Stage 1 non-REM (%)	8.26 ± 3.99	7.35 ± 4.58	0.371
Stage 2 non-REM (%)	46.12 ± 10.09	47.80 ± 8.17	0.444
Stage 3 non-REM (%)	5.20 ± 1.90	5.21 ± 1.76	0.981
Stage 4 non-REM (%)	10.31 ± 6.32	12.32 ± 6.34	0.186
REM sleep (%)	13.50 ± 4.86	19.82 ± 4.11	<0.001
REMs density (%)	13.57 ± 6.69	29.66 ± 11.92	<0.001

Values are means ± SD. Student's *t* test (two tailed). The bold values indicates mean significant differences between both groups.

Video-Polysomnographic Recordings

All subjects underwent video-polysomnographic (VPSG) recordings for two consecutive nights during their routine sleeping hours. Polysomnography was performed with a digital polygraph (MEDICID V. Neuronic S.A, Havana, Cuba) using an standard montage, which included electroencephalographical (EEG) recording by F3, F4, C3, C4, O1, O2, A1, and A2 electrodes, vertical and horizontal electroculography (EOG), electrocardiography, and electromyography (EMG) of mental and both tibialis anterior muscles. Respiration monitoring included nasal airflow, tracheal microphone, thoracic and abdominal respiratory effort, and oxygen saturation. To exclude first night effects, results of the second night were only analyzed. Sleep was scored according to the criteria of Rechtschaffen and Kales.¹⁵ As presymptomatic SCA2 subjects showed slowing of saccadic movements,⁴ which could affect the REM sleep scoring, we paid special attention to the EMG and EEG features of REM sleep, particularly to the apparition of sawtooth waves as evidence of REM sleep because these EEG waves are closely related with the bursts of REMs. Also, the REMs were visually counted from minimum peak-to-trough amplitudes of 25 µV. REMs density was calculated as the percentage of 3-second miniepochs of REM sleep with at least one REM.⁸ The tonic and phasic components of REM sleep were scored separately as suggested by Lapierre and Montplaisir.¹⁶ The evaluation of respiratory variables¹⁷ and periodic leg movements (PLMs)¹⁸ were performed using standard criteria.

Statistical Analysis

Statistical analyses were done using the Kolmogorov-Smirnov test to assess the normality of all variables, *t* test to compare the means of clinical and VPSG

variables between subjects and controls, χ^2 test to compare the frequency of REM sleep abnormalities between groups, and correlation analyses to determine factors influencing sleep disorders.

Results

Nineteen (52.8%) of 36 presymptomatic SCA2 individuals and 29 (80.6%) of 36 controls reported good subjective sleep quality estimated by PSQI scale; nevertheless, the remaining 7 controls reached the minimum abnormal score (5 points). PSQI total score ranged from 0 to 14 points in the presymptomatic subjects (mean: 4.94; SD: 3.11) and 0 to 5 in the controls (means: 3.06; SD: 1.45), with significant intergroup differences ($P = 0.002$).

None of the subject had a history of RBD or RLS. One (2.79%) and 10 (27.88%) of 36 presymptomatic SCA2 individuals reported a history of bruxism and nocturnal cramps, respectively. There were no significant differences between both groups for the ESS scores (presymptomatic subjects: mean: 6.58, SD: 3.06; controls: mean: 5.36, SD: 2.49; $P = 0.592$).

The VPSG variables measured in both groups are shown in Table 1. The SCA2 mutation carriers showed significant decrease of REM sleep percentage and REMs density, as well as reduction of sleep period time (SPT), total sleep time (TST), and sleep efficiency when compared with controls. The remaining VPSG variables were normal in presymptomatic subjects.

Nineteen (52.8%) of 36 presymptomatic SCA2 individuals had REM sleep percentages below normal limits (15% of SPT), whereas only 3 controls (8.33%) showed abnormal values of REM sleep amounts ($\chi^2 = 16.76$; $P < 0.0001$). The EEG and EMG features of REM sleep in presymptomatic SCA2 subjects were normal, which allowed us to adequately score the

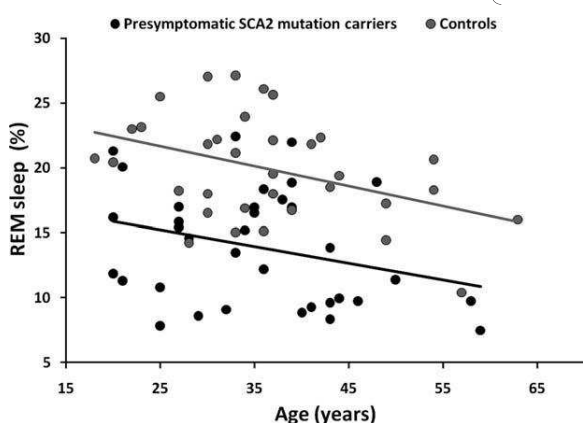


FIG. 1. Effect of age on REM sleep percentages in presymptomatic SCA2 mutation carriers (black circles) and controls (gray circles).

REM sleep epochs in spite of the reduced EOG activity.

In both groups, age showed a significant correlation with REM sleep percentage (presymptomatic subjects: $r = -0.36$; $P = 0.035$; controls: $r = -0.37$; $P = 0.033$; Fig. 1) and TST (presymptomatic subjects: $r = -0.52$; $P = 0.002$; controls: $r = -0.35$; $P = 0.048$), as well as with sleep efficiency ($r = -0.61$; $P < 0.001$) and percentage of wake periods ($r = 0.61$; $P < 0.001$) in presymptomatic subjects. No sleep variable correlated either with PSQI, ESS, or SARA scores in both groups or with CAG repeats in presymptomatic subjects.

PLMs were observed in 1 (2.78%) of 36 presymptomatic SCA2 individuals without intergroup differences. Also, no differences were found on sleep respiratory variables.

Discussion

This is the first study that investigated the sleep disorders in a large cohort of presymptomatic SCA2 mutation carriers and their sex- and age-matched controls by sleep questionnaires and VPSG. Neurological examinations could not differentiate among presymptomatic SCA2 individuals and controls, confirming the preclinical status of the presymptomatic cohort and coinciding with a previous study that found normal subjects showing SARA scores as high as 7.¹²

Subjective sleep quality measured by PSQI and ESS scales revealed no considerable sleep symptomatology in presymptomatic SCA2 carriers, which conferred a special importance to VPSG analysis. Indeed, we have demonstrated that presymptomatic SCA2 mutation carriers show early REM sleep disorders manifested by the decrease of REM sleep percentage and REMs density, which had been previously observed in patients with SCA2.^{8,9} The reduction of REM sleep in the presymptomatic subjects contributed to the decrease of TST and sleep efficiency.

Correlation analyses disclosed a significant effect of age on REM sleep percentage in presymptomatic SCA2 individuals and controls, coinciding with previous reports.^{19,20} In both groups, the correlation coefficients between age and REM sleep were very similar, which suggest that the age-dependent decrease of REM sleep in the presymptomatic cohort is not an important cause of this preclinical sleep disorder.

We considered that the decrease of REM sleep in presymptomatic SCA2 subjects was not caused by detection failures resulting from the reduced eye velocity,⁴ because the REMs were scored from a minimum amplitude of 25 μV and the EEG and EMG features of REM sleep were easily detectable. Also, considering that saccade velocity is strongly influenced by the CAG repeat size,⁴ it was expected that subjects with larger CAG repeats showed the lowest REM sleep amounts; however, no significant correlation between these variables was observed.

The REM sleep abnormalities showed by presymptomatic SCA2 individuals suggest an early dysfunction or neurodegeneration of REM-ON neurons in the pons. Nevertheless, consistent neuropathological and imaging studies in presymptomatic SCA2 subjects are mandatory to confirm the preclinical pontine involvement in SCA2, because pontine dysfunction in preclinical SCA2 has been demonstrated only in one subject by positron emission tomography.²¹

The reductions of REM sleep percentage and REMs density before the ataxia onset have not been reported in other SCA subtypes. Nonetheless, we cannot assure that these sleep abnormalities are SCA2 specific, because the lack of VPSG studies could underestimate these REM sleep disorders in asymptomatic carriers of these mutations. In fact, other REM sleep disorder, such as RBD, was previously observed in three asymptomatic SCA3 mutation carriers.^{22,23}

In conclusion, this work indicates that the decrease of REM sleep percentage and REMs density are prominent sleep disorders that herald the onset of SCA2 in presymptomatic mutation carriers. Therefore, VPSG is a sensitive neurophysiological tool to detect early changes associated with SCA2, and consequently, it may be useful to understand the disease pathophysiology from asymptomatic stages, which acquires a fundamental relevance for the development of future therapeutic options designed to delay the clinical disease onset. ■

Acknowledgment: This work was financed by the Ministry of Public Health, Cuba. We thank all the individuals in this study and the Cuban Ministry of Health for their cooperation.

References

1. Lastres-Becker I, Rüb U, Auburger G. Spinocerebellar ataxia (SCA2). *Cerebellum* 2008;7:115–124.
2. Orozco Diaz G, Nodarse Fleites A, Cordoves Sagaz R, Auburger G. Autosomal dominant cerebellar ataxia: clinical analysis of 263

- patients from a homogeneous population in Holguin, Cuba. *Neurology* 1990;40:1369-1375.
3. Velázquez-Pérez L, Seifried C, Santos-Falcon N, et al. Saccade velocity is controlled by polyglutamine size in spinocerebellar ataxia 2. *Ann Neurol* 2004;56:444-447.
 4. Velázquez-Pérez L, Seifried C, Abele M, et al. Saccade velocity is reduced in presymptomatic spinocerebellar ataxia type 2. *Clin Neurophysiol* 2009;120:632-635.
 5. Velázquez Pérez L, Sánchez Cruz G, Canales Ochoa N, et al. Electrophysiological features in patients and presymptomatic relatives with spinocerebellar ataxia type 2. *J Neurol Sci* 2007;263:158-164.
 6. Velázquez-Pérez L, Rodríguez-Labrada R, Canales-Ochoa N, et al. Progression markers of Spinocerebellar ataxia 2. A twenty years neurophysiological follow up study. *J Neurol Sci* 2010;290:22-26.
 7. Burk K, Globas C, Bosch S, et al. Cognitive deficits in spinocerebellar ataxia type 1, 2, and 3. *J Neurol* 2003;250:207-211.
 8. Tuin I, Voss U, Kang JS, et al. Stages of sleep pathology in spinocerebellar ataxia type 2 (SCA2). *Neurology* 2006;67:1966-1972.
 9. Boesch SM, Frauscher B, Brandauer E, Wenning GK, Högl B, Poewe W. Disturbance of rapid eye movement sleep in spinocerebellar ataxia type 2. *Mov Disord* 2006;21:1751-1754.
 10. Velázquez Pérez L, Cruz GS, Santos Falcón N, et al. Molecular epidemiology of spinocerebellar ataxias in Cuba: insights into SCA2 founder effect in Holguin. *Neurosci Lett* 2009;454:157-160.
 11. Reinoso-Suárez F, de Andrés I, Rodrigo-Angulo ML, Garzón M. Brain structures and mechanisms involved in the generation of REM sleep. *Sleep Med Rev* 2001;5:63-77.
 12. Schmitz-Hübsch T, du Montcel ST, Baliko L, et al. Scale for the assessment and rating of ataxia: development of a new clinical scale. *Neurology* 2006;66:1717-1720.
 13. Buysse DJ, Reynolds CF, Monk TH, Berman SR, Kupfer DJ. The Pittsburgh Sleep Quality Index: a new instrument for psychiatric practice and research. *Psychiatry Res* 1989;28:193-213.
 14. Johns MW. A new method for measuring daytime sleepiness: the Epworth sleepiness scale. *Sleep* 1991;14:540-545.
 15. Rechtschaffen A, Kales A. A manual of standardized terminology, techniques and scoring system for sleep stages of human subjects. Los Angeles: Brain Research Institute; 1968.
 16. Lapiere O, Montplaisir J. Polysomnographic features of REM sleep behavior disorder: development of a scoring method. *Neurology* 1992;42:1371-1374.
 17. Kushida CA, Littner MR, Morgenthaler T, et al. Practice parameters for the indications for polysomnography and related procedures: an update for 2005. *Sleep* 2005;28:499-521.
 18. The Atlas Task Force. Recording and scoring leg movements. *Sleep* 1993;16:748-759.
 19. Eve Van Cauter E, Leproul R, Plat L. Age-related changes in slow wave sleep and REM sleep and relationship with growth hormone and cortisol levels in healthy men. *JAMA* 2000;284:861-868.
 20. Vitiello MV, Larsen LH, Moe KE. Age-related sleep change: gender and estrogen effects on the subjective-objective sleep quality relationships of healthy, noncomplaining older men and women. *J Psychosom Res* 2004;56:503-510.
 21. 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;12:725-728.
 22. Fukutake T, Shinotoh H, Nishino H, et al. Homozygous Machado-Joseph disease presenting as REM sleep behaviour disorder and prominent psychiatric symptoms. *Eur J Neurol* 2002;9:97-100.
 23. Iranzo A, Muñoz E, Santamaria J, Vilaseca I, Milá M, Tolosa E. REM sleep behavior and vocal cord paralysis in Machado-Joseph disease. *Mov Disord* 2003;18:1179-1183.

Capítulo 5. Aprendizaje visuomotor en la Ataxia Espinocerebelosa Tipo 2

Publicados en:

- **Neuropsychologia** (2007); 45:2692–2698 (*Factor de impacto: 4,739*)
- **Plos One** (2009); 4:(4) e5398 (*Factor de impacto: 4,351*)

El examen de adaptación a prismas constituye un procedimiento de aprendizaje visuomotor. En el mismo, el sistema motor se adapta a las nuevas coordenadas visuoespaciales impuestas por la colocación del prisma, el cual desplaza el campo visual horizontalmente. Una vez que este se retira, el grado y la intensidad de adaptación pueden medirse a través del fenómeno de post-efecto, definido como la desviación espacial de las acciones motoras en dirección opuesta al desplazamiento establecido por el prisma. La adaptación al prisma induce cambios plásticos en el cerebro, lo cual depende de la interacción entre los sistemas visual y motor.

Estudios de resonancia magnética funcional demuestran la participación de áreas específicas del cerebelo y de la corteza parietal posterior extendiéndose hacia el surco intraparietal durante la fase de adaptación a prisma.

Los pacientes con SCA2 presentan una degeneración importante de los núcleos pontinos, oliva inferior y neuronas de Purkinje. Aunque la disfunción motora está bien caracterizada en estos pacientes, no se conoce el estado de las capacidades de aprendizaje motor. En un primer artículo se publicaron los resultados de un estudio en 43 enfermos, a los que se les realizó el examen de adaptación a prisma.

En el segundo trabajo fueron publicadas las alteraciones del aprendizaje visuomotor en 28 sujetos presintomáticos de la mutación. La alteración básica fue el aumento significativo del coeficiente de ejecución motora, debido al incremento de la variabilidad en el alcance de los lanzamientos durante la fase de preadaptación. Los análisis de regresión simple mostraron una correlación significativa entre el tiempo previo a la aparición del síndrome cerebeloso y el coeficiente de desempeño motor, pudiéndose estimar su aparición aproximadamente en 5 años previos al debut de la enfermedad.

El incremento del coeficiente de ejecución motora, con conservación de la capacidad de adaptación a prismas, indicó que las alteraciones en el aprendizaje motor aparecen más tardíamente que las del desempeño motor durante el curso evolutivo de la SCA2. Esta alteración constituyó un nuevo marcador preclínico de la enfermedad, con un uso potencial para la evaluación del efecto de alternativas terapéuticas sobre la función cerebelosa en estadio presintomático o iniciales de la enfermedad.

Prism adaptation in spinocerebellar ataxia type 2

Juan Fernandez-Ruiz^{a,*}, Luis Velásquez-Perez^{b,1}, Rosalinda Díaz^a, René Drucker-Colín^c, Ruth Pérez-González^b, Nalia Canales^b, Gilberto Sánchez-Cruz^b, Edilberto Martínez-Góngora^b, Yaquelín Medrano^b, Luis Almaguer-Mederos^b, Carola Seifried^d, Georg Auburger^d

^a *Laboratorio de Neuropsicología, Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México, México*

^b *Clínica para la Investigación y Rehabilitación de las Ataxias Hereditarias, Holguín, Cuba*

^c *Departamento de Neurociencias, Instituto de Fisiología Celular, Universidad Nacional Autónoma de México, México*

^d *Department of Neurology, University Hospital, Frankfurt am Main, Germany*

Received 31 October 2006; received in revised form 26 March 2007; accepted 4 April 2007

Available online 10 April 2007

Abstract

Patients with spinocerebellar ataxia type 2 (SCA2), develop severe pontine nuclei, inferior olives, and Purkinje cell degeneration. This form of autosomal dominant cerebellar ataxia is accompanied by progressive ataxia and dysarthria. Although the motor dysfunction is well characterized in these patients, nothing is known about their motor learning capabilities. Here we tested 43 SCA2 patients and their matched controls in prism adaptation, a kind of visuomotor learning task. Our results show that their pattern of brain damage does not entirely disrupt motor learning. Rather, patients had impaired adaptation decrement, but surprisingly a normal aftereffect. Moreover, the mutation degree could discriminate the degree of adaptation. This pattern could reflect the net contribution of two adaptive mechanisms: strategic control and spatial realignment. Accordingly, SCA2 patients show an impaired strategic control that affects the adaptation rate, but a normal spatial realignment measured through the aftereffect. Our results suggest that the neural areas subserving spatial realignment are spared in this form of spinocerebellar ataxia.

© 2007 Elsevier Ltd. All rights reserved.

Keywords: Cerebellum; Visuomotor learning; Procedural learning; Hereditary ataxia; Aftereffect

1. Introduction

Spinocerebellar ataxia type 2 (SCA2) is a genetic-based disorder of muscle coordination (ataxia) commonly found in Cuba, with primary symptoms of progressively diminished velocity saccades, poor coordination of speech musculature (dysarthria), and absence of neurological reflexes such as the knee jerk reaction (areflexia) (Durr et al., 1995; Orozco et al., 1989; Pang et al., 2002). SCA2 is a polyglutamine (PolyQ) disorder that arises from the repeated genetic codon (CAG) that codes for glutamine, which produces severe degeneration of pontine nuclei, inferior olives, and Purkinje cells in the cerebellum (Geschwind, Perlman, Figueroa, Treiman, & Pulst, 1997). It could be said that this degeneration triad, without any other severe nuclei degen-

eration distinguish SCA2 from the rest of the ataxias (Schols, Bauer, Schmidt, Schulte, & Riess, 2004). This degeneration is accompanied by olfactory dysfunction (Fernandez-Ruiz et al., 2003; Velazquez-Perez et al., 2006), and slower saccades that correlate highly with the number of CAG trinucleotide repetitions (Velazquez-Perez et al., 2004). Although much of their motor impairment has been characterized, nothing is known about their capacity to learn visuomotor tasks. Here we tested their capability to adapt to lateral displacing prisms. Prism adaptation is a phenomenon in which the visual and motor systems are gradually brought into correspondence in response to a visual shift introduced by the prisms (Redding & Wallace, 2006). Studies addressing the involvement of brain regions in this task have focused on the possible role played by the basal ganglia, the neocortex and the cerebellum. Several studies have demonstrated that patients with basal ganglia disorders have intact prism adaptation (Stern, Mayeux, Hermann, & Rosen, 1988; Weiner, Hallett, & Funkenstein, 1983). In contrast, studies about the neocortical role on prism adaptation, suggest a role for the ventral premotor cortex (Kurata & Hoshi, 1999). Also, the posterior

* Corresponding author at: Laboratorio de Neuropsicología, Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, U.N.A.M., A.P. 70-250, C.P. 04510, México, D.F., Mexico. Tel.: +52 55 56232123; fax: +52 55 56232395.

E-mail address: jfr@servidor.unam.mx (J. Fernandez-Ruiz).

¹ Joint authorship.

parietal cortex (PPC) has been shown to be active during a prism adaptation task using functional imaging (Clower et al., 1996). However, its contribution to the process is still unclear since two recent studies testing bilateral optic ataxia patients showed conflicting results regarding the deficits of these patients in prism adaptation (Newport & Jackson, 2006; Pisella et al., 2004).

The cerebellum has been shown to be important for prism adaptation in both animal (Baizer & Glickstein, 1974; Baizer, Kralj-Hans, & Glickstein, 1999) and patient studies (Martin, Keating, Goodkin, Bastian, & Thach, 1996; Morton & Bastian, 2004; Pisella et al., 2005; Weiner et al., 1983), though it did not show learning related activity in the prism adaptation functional imaging study (Clower et al., 1996). Although these studies showed great variability in the population tested, they suggest that there are certain areas within the cerebellum that are more critical than others for prism adaptation. In fact it has been shown that during episodic ataxia it is possible to observe normal prism adaptation (Miall & Silburn, 1997).

The aim of the present study was to test prism adaptation and its aftereffect in a large homogeneous population of SCA2 patients. The correlations of these measurements with the manifestations typical of this disease were also obtained. Our results suggest that SCA2 produces a significant deficit in the adaptation rate, and the final magnitude that depends on the CAG mutation length. However, the neuronal degeneration in these patients seems to spare the mechanisms pertaining to aftereffects.

2. Methods

2.1. Subjects

Forty-three patients (21 male and 22 female patients) with ages ranging from 26 to 70 years (mean, 41.6; standard deviation [S.D.], 11.6), age at onset from 14 to 53 years (mean, 29.56; S.D., 10.23), disease duration from 4 to 30 years (mean, 12.54; S.D., 6.06), and polyglutamine repeat sizes from 34 to 53 repetitions (mean, 40.54; S.D., 3.56) were admitted to the Centre for the Research and of Hereditary Ataxias in Holguín for this study. The diagnosis of SCA2 was based on genealogical descent from the founder population, on the disease manifestation with cerebellar ataxia and dysarthria and on molecular genetic determination of the repeat expansions described elsewhere (Auburger et al., 1990). The clinical assessment was conducted using the International Cooperative Ataxia Rating Scale (ICARS) (Trouillas et al., 1997) that evaluates the core clinical symptoms in cerebellar diseases: postural and gait ataxia, limb ataxia, speech disorders and oculomotor disorders (Storey, Tuck, Hester, Hughes, & Churchyard, 2004). The Mini-Mental State Examination (MMSE) was also applied (Folstein, Folstein, & McHugh, 1975). A group of 43 age and gender-matched unpaid healthy adult volunteers with no history of neurological injury or psychiatry disease from Holguín province (21 male and 22 female subjects) with ages ranging from 25 to 72 years (means, 41.8; S.D., 11.9) served as controls. Subjects with previous history of any other major disorder that could affect visuomotor performance were not entered into the study. All SCA2 patients and controls were right handed. The procedures followed were in accordance with the ethical standards of the committees on human experimentation of both the Centre for the Research and of Hereditary Ataxias in Holguín and the Universidad Nacional Autónoma de México. In addition, all subjects gave their informed consent prior to the experiments in accordance with the Helsinki Declaration (Council for International Organizations of Medical Sciences and World Health Organization, 2002).

2.2. Prism adaptation procedure

A detailed description of the procedure and our modifications, can be found elsewhere (Martin et al., 1996); (Fernandez-Ruiz & Diaz, 1999). The sub-

jects threw clay balls (weight: 10 g) at a 12-cm × 12-cm cross drawn on a large sheet of parcel paper centred at shoulder level and placed 2 m away. The subjects were instructed to make each toss overhand during the whole experiment, to use the right hand, and to throw the balls to the location where they saw the target. The subjects had an unobstructed view of the target during the entire session. The head was unrestrained, and no directions were given about trunk, shoulder or head/neck posture. However, they were not allowed to look down at their hand as they collected the next ball from a tray located next to them.

The experiment had three conditions. Under each condition the subjects threw 26 balls. During the baseline condition the subjects did not wear prisms. In the prism condition subjects wore 30 diopter Fresnel 3M Press-on plastic lenses (3M Health Care, Specialties Division, St. Paul, MN, USA) that produce a deviation of light to the right. During condition POST the subjects had the prisms removed before continuing to throw balls. The location of the impacts was plotted sequentially by trial number (abscissa) versus horizontal displacement (in centimetres) from a vertical line passing through the target centre (ordinate). Impacts to the left of the target were plotted as negative values and impacts to the right were plotted as positive values. Four additional measures were calculated from the collected data of both experiments. First, variable errors were calculated for each subject by obtaining the standard deviation of the horizontal distance made during the baseline throws. Second, an adaptation magnitude was obtained by subtracting the horizontal distance to the target on the final throw from that on the initial throw while wearing the prisms (PRISM condition). Third, adaptation and de-adaptation rates were obtained by analysing the rate of change of the throws distance to the target in each trial during PRISM and POST conditions respectively. Fourth, an aftereffect measure was defined as the ball's impact horizontal distance to the target on the first throw after removing the prisms. It is important to note that the first throw in the POST condition is a real measurement of aftereffect not contaminated by any kind of expectation or feedback, including possible corollary discharge information.

2.3. Electronystagmographic recordings

These recordings followed the same method as derived elsewhere (Velazquez-Perez et al., 2004). Horizontal and vertical eye movements were recorded binocularly with silver–silver chloride electrodes over the right and left outer canthi and a two-channel Otoscreen AC electronystagmograph (Jaeger-Toennies, Höchberg, Germany) with a band pass filter of 0.02–70 Hz, a sensitivity of 200_V/division, a time base of 1000 ms/division, a time constant of 8 s, and a sampling rate of 200 Hz. Eye movements were elicited with a circular white target subtending an angle of 0.7° on a black background. The distance between the patient and monitor as well as head position were controlled by chin/head supports. At least 10 horizontal centrifugal saccades in either direction were recorded for 10° predictable amplitudes. Comparison of independent calibrations at a 30° angle before and after all recordings were used to control against artifacts.

2.4. Saccade analysis

The traces in ASCII format were imported into MATLAB software (version 6.1; Natick, MA). A program written in-house was used for manual identification of saccade onset and offset (Velazquez-Perez et al., 2004). Maximal saccade velocity (MSV in °/s) was obtained through third-order polynomial fits of the raw signal. Conditional MSV averages were calculated for saccade direction (left/right) using Microsoft Excel.

3. Results

3.1. Motor and mental performance

3.1.1. Ataxia score

The SCA2 patient's ataxia score using ICARS was 36.7 ± 11.17 SDM with a range between 12 and 55.

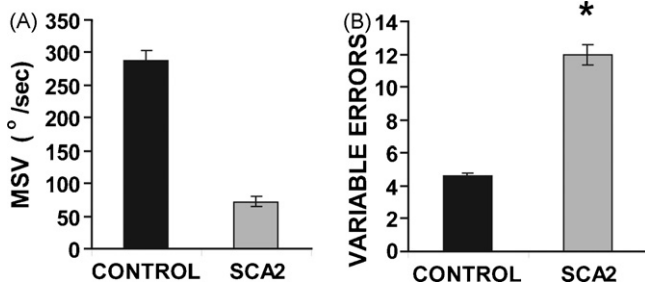


Fig. 1. Mean saccade velocity (MSV) (A) and motor performance results (B) in controls (black bars) and SCA2 (gray bars). Variable errors (B) are the baseline throws standard deviation of the mean obtained for each subject and then averaged across subjects. SCA2 patients show slower saccade velocities and larger variable errors than control subjects. Asterisk (*) denotes $p < 0.01$. Bars are S.E.M.

3.1.2. Saccade velocity

SCA2 patients showed a characteristic reduction in saccade velocity that has been previously reported. Since the Levene's Test for Equality of Variances was not significant, a t -test for equality of means with equal variances not assumed was performed. The results showed significant differences between the control group and the SCA2 patient group ($t = 11.9$, d.f. = 28, $p < 0.01$) (Fig. 1A).

3.1.3. Variable errors

During the baseline condition, subjects threw balls at the target without visual perturbation, so it was possible to evaluate their motor performance in the task. Since the Levene's Test for Equality of Variances was not significant, a t -test for equality of means with equal variances not assumed was performed showing a significant difference between controls and patients ($t = -10.6$, d.f. = 63.4, $p < 0.001$). The variable errors scores were as follows: CON = 4.58, SCA2 = 12.08 (Fig. 1B).

3.1.4. MMSE

The MMSE score for the controls was 28.8 ± 1.3 SDM and for the SCA2 patients was 27 ± 2.6 SDM.

3.2. Prism adaptation

3.2.1. Adaptation magnitude

After finishing the baseline phase, subjects donned prisms and made another 26 throws. Adaptation magnitude was calculated by subtracting the distance to the target of the 26th PRISM throw from the first PRISM throw. Fig. 2 shows the adaptation magnitude for both groups. A Student's t -test analysis for independent samples not assuming equal variances shows that there were adaptation magnitude differences between the two groups ($t = 2.6$, d.f. = 70.8, $p < 0.05$).

3.2.2. Adaptation rate

A General Linear Model (GLM) multivariate analysis showed significant differences between both groups ($F = 25.9$, d.f. = 1, 84, $p < 0.01$). A GLM pairwise comparison with Bonferroni adjustment for multiple comparisons showed significant

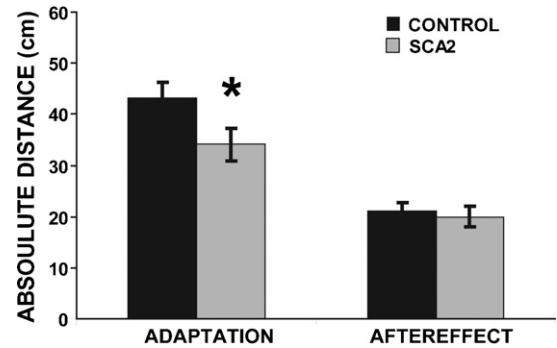


Fig. 2. Visuomotor learning results using the prism adaptation task in controls (black bars) and SCA2 (gray bars). The total adaptation magnitude (left) was impaired in SCA2 subjects compared to the control group, while the aftereffect (right) had the same magnitude in both groups. Asterisk (*) denotes $p < 0.05$. Bars are S.E.M.

differences ($p < 0.01$) between controls and SCA2 for all throws except for throws 1, 3 and 21 (Fig. 3 PRISM phase).

3.2.3. Aftereffect

The Student's t -test analysis showed that aftereffects magnitudes were similar for both groups as can be seen in Fig. 2 ($t = 2.74$, d.f. = 77.32, $p = 0.78$). A GLM pairwise comparison with Bonferroni adjustment for multiple comparisons did not show significant differences between controls and SCA2 patients either during the de-adaptation rate (after the prisms are removed and the throws distances go back to the centre with each throw) (Fig. 3, POST phase).

3.3. Correlations

3.3.1. Adaptation and aftereffect

Normally there is a correlation between adaptation and aftereffect magnitudes at the individual level (Fernandez-Ruiz & Diaz, 1999), that is absent in basal ganglia disorders (Fernandez-Ruiz et al., 2003). Here a normal adaptation aftereffect correlation was found for the normal subjects (Pearson's correlation coefficient, $r^2 = -0.38$, $p < 0.01$), but not for the SCA2 subjects ($r^2 = -0.12$, $p = 0.17$) (Fig. 4).

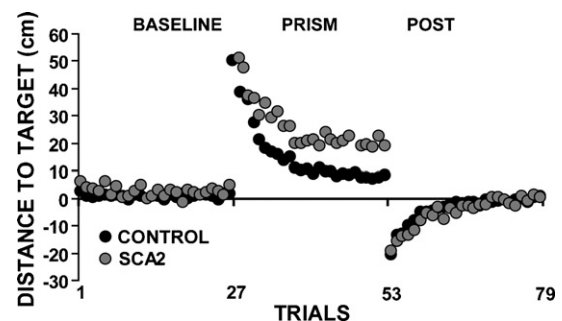


Fig. 3. Raw data per trial in the three prism adaptation conditions. The SCA2 group shows a slower adaptation rate in the prism condition (middle). During this condition there were significant differences ($p < 0.01$) between the control (black circles) and SCA2 (gray circles) group for all trials except for prism throws 1, 3 and 21.

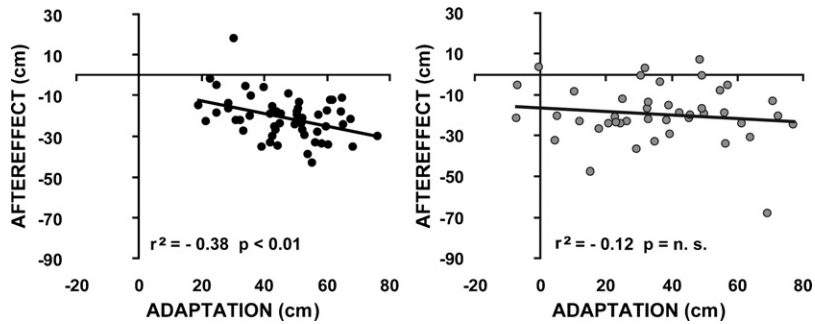


Fig. 4. Correlations between adaptation and aftereffect for control (left) and SCA2 (right) groups. The control group had a significant correlation, while the SCA2 group did not show a significant correlation between adaptation and aftereffect.

3.3.2. Disease-related variables

Among all the variables disease-related, three were significantly correlated with the adaptation magnitude. First, there was a negative correlation between adaptation magnitude and the number of CAG repetitions in the mutated allele ($r^2 = -0.41, p < 0.01$) (Fig. 5). Second, there was a positive correlation between adaptation magnitude and saccade velocity ($r^2 = 0.41, p < 0.01$). Third, there was a significant negative correlation between adaptation and the variable error ($r^2 = -0.33, p < 0.03$). The magnitude of the aftereffect did not show any significant correlation with the number of CAG repetitions, the saccade velocity, nor with the variable error.

3.4. Subdivision of the SCA2 population

The pattern of results obtained suggests that the patient population could be split into groups based on the mutation magnitude as measured with the number of CAG repeats. The comparison between the subgroup with the low mutation (37.9 ± 0.4 S.E.M.) versus the group with the high mutation (43.2 ± 0.69 S.E.M.) showed that the later group had significant impairments in the rate of adaptation ($F = 3.18, d.f. = 26, p < 0.01$), and total adaptation magnitude ($t = 3.5, d.f. = 38, p < 0.01$) but not in the aftereffect measure (Fig. 6A and B). In fact, the group with the low mutation was not different from their matched controls in

any prism adaptation measure. The large mutation group, however, was different from its control group in both adaptation rate, and magnitude ($t = 4.4, d.f. = 37.7, p < 0.01$), but not in the aftereffect. Finally, in the large mutation group the adaptation and aftereffect were similar in magnitude, while the group with the low mutation had a typical smaller aftereffect compared with the adaptation ($p < 0.01$) (Fig. 6B).

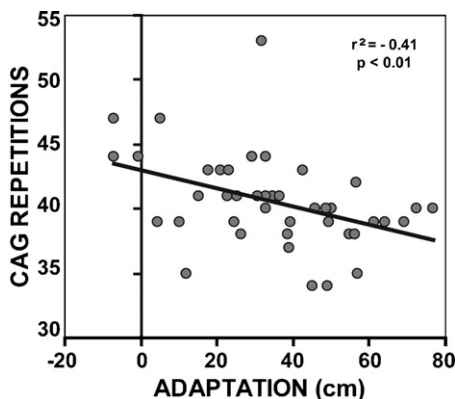


Fig. 5. Correlation between adaptation and the CAG repetitions length (negative correlation, $p < 0.01$).

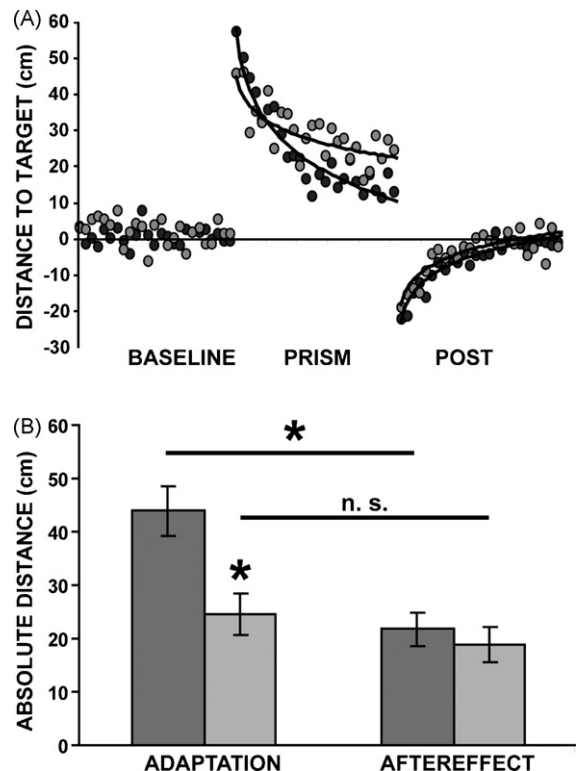


Fig. 6. Subdivision of SCA2 patients in two groups using the CAG repetition length as the discriminating parameter. (A) The low mutation group (dark circles) showed a normal adaptation rate while the high mutation group (light circles) showed an impaired adaptation rate ($p < 0.01$). Note that there were no differences in the aftereffect de-adaptation rate. Lines are log trend lines; for statistical analysis see text. (B) The low mutation group (dark bars) show a larger adaptation magnitude than the high mutation group (light bars). The aftereffect, however, was similar in both subgroups. Adaptation and aftereffect were significantly different for the low mutation group, but not for the high mutation group. Asterisk (*) denotes $p < 0.01$. n.s., non-significant. Bars are S.E.M.

4. Discussion

There are two major findings in the present study. First, SCA2 patients showed an impaired visuomotor performance during the adaptation phase of the task that depends on the CAG mutation degree. Second, they did not show an aftereffect impairment, nor a correlation between adaptation and aftereffect magnitudes (Fernandez-Ruiz & Diaz, 1999). The present results also showed that the deterioration in the adaptation correlated with the motor performance and saccade velocity, suggesting that structures that degenerate in this disease may contribute to both adaptation and motor performance.

4.1. Adaptation

The present results are the first demonstration of a visuomotor adaptation deficit in SCA2 patients. The patients show a significant adaptation impairment that correlated with their motor performance measured through the variable errors and saccadic velocity. This result contrasts with those found in basal ganglia patients that despite having different degrees of motor impairments did show normal adaptation (Fernandez-Ruiz et al., 2003a). The adaptation impairment shown by SCA2 patients was also dependent on the CAG mutation degree. This adaptation deficit supports the notion that the cerebellum is important for prism adaptation, a hypothesis initially advanced in primates (Baizer & Glickstein, 1974; Baizer et al., 1999), and later confirmed in humans (Weiner et al., 1983). However, not all the cerebellum seems to be important for the adaptation process since it has been shown that different areas of regional cerebellar damage could lead to different patterns of impairment (Martin et al., 1996). Only lesions including the climbing fibres from the contralateral inferior olive, mossy fibres (in the contralateral pontocerebellar nuclei) and the posterior inferior cerebellar artery territory cortex were critical for prism adaptation. In the present study we tested spinocerebellar ataxia type 2 patients that, as a population, are characterized by a consistent pattern of significant degeneration of the Purkinje cells, the pontine nuclei and the inferior olive, which would be critical for prism adaptation (Durr et al., 1995; Orozco et al., 1989; Pang et al., 2002; Schols et al., 2004). In light of the neurological deterioration profile of these patients, it seems surprising that they show some prism adaptation. It should be highlighted, however, that there is a correlation between the severity of the mutation and the impairment of adaptation, where the high mutation subgroup showed a larger impairment. This is important since it has been reported that larger number of CAG repetitions lead to more aggressive neurological deteriorations (Giunti et al., 1998) and in this case, larger adaptation deficits.

4.2. Aftereffects

Recent theoretical advances suggest that adaptation and aftereffect could be partly the result of independent processes. Aftereffects seem to be related to a process that has been called spatial realignment of reference frames, in contrast to strategic calibration that seems to be related to the strategic control of

the task-work space (Clower & Boussaoud, 2000; Fernandez-Ruiz, Diaz, Moreno-Briseno, Campos-Romo, & Ojeda, 2006; Redding & Wallace, 2002; Redding & Wallace, 2006). The spatial realignment is a slow developing process that brings into align the several unique sensorimotor coordinate systems (spatial maps), and does not seem to depend on cognitive processes like attention. In contrast, the strategic calibration is an attentional-dependent, fast developing process that identifies the present condition of the changing task-work space (Redding & Wallace, 2002),

This theoretical framework suggests that it could be possible to obtain normal adaptation followed by no aftereffects, and vice versa (Redding, Rossetti, & Wallace, 2005). In fact, a close analysis of the study by Martin et al. (1996) reveals that subjects showing apparent good adaptation (a much larger “During” than “Adapted” measure) showed no significant aftereffect (i.e. patients JR, JM, RL1 and LF2 left arm); and subjects with negligent adaptation showed normal aftereffects (i.e. patients DE both arms, MM right arm, and DW left arm). However, the small number of cases per condition precludes a possible generalization. The present results obtained with 43 SCA2 patients seem to fit the pattern of an impaired adaptation with normal aftereffects even after a CAG sub grouping. In fact, the aftereffect measure did not correlate with any other measure that we obtained, including MMSE, education, age, or years after the beginning of the first symptoms.

4.3. Strategic calibration and spatial realignment

The results suggest that the pattern of neurological degeneration in SCA2 patients affect the strategic calibration and therefore the prism adaptation rate, but not the aftereffect that mainly depends on spatial realignment. Evidence for these hypotheses comes first from the fact that SCA2 patients show deficits in executive functions (Burk et al., 2003) and that impairments of executive functions during aging seems to affect prism adaptation rate, but not diminish the aftereffect magnitude (Fernandez-Ruiz, Hall, Vergara, & Diaz, 2000). Following this rationale, it can be argued that if the strategic calibration were the only process affected in the SCA2 patients, then the adaptation magnitude that normally is the result of both strategic calibration and spatial realignment would be similar to the aftereffect magnitude. In fact our results showed that the SCA2 subgroup with the normal adaptation show the typical larger adaptation/smaller aftereffect pattern, however, the subgroup with an impaired adaptation shows similar adaptation and aftereffect magnitudes (Fernandez-Ruiz & Diaz, 1999). It should also be noted that not only the aftereffect magnitude is not impaired, but the normalization rate during the POST testing (de-adaptation) is similar between controls and patients, suggesting that the adaptation deficit is not merely a difference in the way patients and controls use the feedback from the previous trial to correct their response for the next trial, but there is a genuine deficit in the strategic calibration used when the patients perform while wearing the prisms. It has previously been suggested that the strategic calibration depended on the PPC integrity because a patient with bilateral optic ataxia showed prism adap-

tation (Pisella et al., 2004). However a recent report in another bilateral optic ataxia patient showed a different behavioural pattern that precludes any clear conclusion on the possible role of the PPC on prism adaptation (Newport & Jackson, 2006).

Our data does not exclude the possibility that other cerebellar regions spared in SCA2, like deep cerebellar nuclei (Raymond, Lisberger, & Mauk, 1996) contribute to the aftereffect, especially since it has been demonstrated that some cerebellar patients are impaired in this measure (Morton & Bastian, 2004; Pisella et al., 2005; Weiner et al., 1983). If that is the case, it would be important to dissect the specific contribution of each cerebellar area for the different processes involved in prism adaptation (Baizer et al., 1999; Pisella et al., 2005).

In sum, we propose that the pattern of olivopontocerebellar degeneration affecting SCA2 patients partly disrupts the adaptation rate of prism adaptation by affecting the strategic calibration process, however, the SCA2 degeneration pattern does not affect the spatial realignment, and in consequence the patients still show some adaptation and its associated aftereffect. Other cerebellar areas spared in SCA2 may contribute to the spatial realignment.

4.4. Conclusions

Here we report that SCA2 patients show a significant visuomotor deficit. The degree of this deficit is directly related to the number of CAG repetitions in the mutation, so it is possible to cluster SCA2 patients depending on the mutation extent. Such grouping helped to classify SCA2 patients into two groups: adaptation normal versus adaptation impaired. Regardless of the grouping, SCA2 patients are not impaired in the prism aftereffect suggesting that the neural areas subserving the spatial alignment process are spared in this disease.

Acknowledgements

Authors are indebted to patients, control individuals, and to the Cuban Ministry of Health for the cooperation given. The research was supported in part by a UNAM grant PAPIIT IN213802. We are grateful to Aarlenne Khan and Isaac Kurtzer for their useful comments and language related editing.

References

- Auburger, G., Diaz, G. O., Capote, R. F., Sanchez, S. G., Perez, M. P., del Cueto, M. E., et al. (1990). Autosomal dominant ataxia: Genetic evidence for locus heterogeneity from a Cuban founder-effect population. *American Journal of Human Genetics*, *46*, 1163–1177.
- Baizer, J. S., & Glickstein, M. (1974). Proceedings: Role of cerebellum in prism adaptation. *Journal of Physiology*, *236*, 34P–35P.
- Baizer, J. S., Kralj-Hans, I., & Glickstein, M. (1999). Cerebellar lesions and prism adaptation in macaque monkeys. *Journal of Neurophysiology*, *81*, 1960–1965.
- Bock, O. (2005). Components of sensorimotor adaptation in young and elderly subjects. *Experimental Brain Research*, *160*, 259–263.
- Burk, K., Globas, C., Bosch, S., Klockgether, T., Zuhlke, C., Daum, I., et al. (2003). Cognitive deficits in spinocerebellar ataxia type 1, 2, and 3. *Journal of Neurology*, *250*, 207–211.
- Cancel, G., Durr, A., Didierjean, O., Imbert, G., Burk, K., Lezin, A., et al. (1997). Molecular and clinical correlations in spinocerebellar ataxia 2: A study of 32 families. *Human Molecular Genetics*, *6*, 709–715.
- Clower, D. M., & Boussaoud, D. (2000). Selective use of perceptual recalibration versus visuomotor skill acquisition. *Journal of Neurophysiology*, *84*, 2703–2708.
- Clower, D. M., Hoffman, J. M., Votaw, J. R., Faber, T. L., Woods, R. P., & Alexander, G. E. (1996). Role of posterior parietal cortex in the recalibration of visually guided reaching. *Nature*, *383*, 618–621.
- Council for International Organizations of Medical Sciences and World Health Organization. (2002). *International ethical guidelines for biomedical research involving human subjects*. Geneva: CIOMS.
- Durr, A., Smadja, D., Cancel, G., Lezin, A., Stevanin, G., Mikol, J., et al. (1995). Autosomal dominant cerebellar ataxia type I in Martinique (French West Indies). Clinical and neuropathological analysis of 53 patients from three unrelated SCA2 families. *Brain*, *118*(Pt 6), 1573–1581.
- Fernandez-Ruiz, J., & Diaz, R. (1999). Prism adaptation and aftereffect: Specifying the properties of a procedural memory system. *Learning & Memory*, *6*, 47–53.
- Fernandez-Ruiz, J., Diaz, R., Hall-Haro, C., Vergara, P., Fiorentini, A., Nunez, L., et al. (2003). Olfactory dysfunction in hereditary ataxia and basal ganglia disorders. *Neuroreport*, *14*, 1339–1341.
- Fernandez-Ruiz, J., Diaz, R., Hall-Haro, C., Vergara, P., Mischner, J., Nunez, L., et al. (2003). Normal prism adaptation but reduced Aftereffect in basal ganglia disorders using a throwing task. *European Journal of Neuroscience*, *18*, 689–694.
- Fernandez-Ruiz, J., Diaz, R., Moreno-Briseno, P., Campos-Romo, A., & Ojeda, R. (2006). Rapid topographical plasticity of the visuomotor spatial transformation. *Journal of Neuroscience*, *26*(7), 1986–1990.
- Fernandez-Ruiz, J., Hall, C., Vergara, P., & Diaz, R. (2000). Prism adaptation in normal aging: Slower adaptation rate and larger aftereffect. *Brain Research Cognitive Brain Research*, *9*, 223–226.
- Folstein, M. F., Folstein, S. E., & McHugh, P. R. (1975). “Mini-mental state”. A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *Journal of Psychiatric Research*, *12*, 189–198.
- Geschwind, D. H., Perlman, S., Figueroa, C. P., Treiman, L. J., & Pulst, S. M. (1997). The prevalence and wide clinical spectrum of the spinocerebellar ataxia type 2 trinucleotide repeat in patients with autosomal dominant cerebellar ataxia. *American Journal of Human Genetics*, *60*, 842–850.
- Giunti, P., Sabbadini, G., Sweeney, M. G., Davis, M. B., Veneziano, L., Mantuano, E., et al. (1998). The role of the SCA2 trinucleotide repeat expansion in 89 autosomal dominant cerebellar ataxia families. Frequency, clinical and genetic correlates. *Brain*, *121*(Pt 3), 459–467.
- Kurata, K., & Hoshi, E. (1999). Reacquisition deficits in prism adaptation after muscimol microinjection into the ventral premotor cortex of monkeys. *Journal of Neurophysiology*, *81*, 1927–1938.
- Martin, T. A., Keating, J. G., Goodkin, H. P., Bastian, A. J., & Thach, W. T. (1996). Throwing while looking through prisms. I. Focal olivocerebellar lesions impair adaptation. *Brain*, *119*(Pt 4), 1183–1198.
- Miall, R. C., & Silburn, P. (1997). A study of motor performance and motor learning in episodic ataxia. *Neuroreport*, *8*, 2159–2164.
- Morton, S. M., & Bastian, A. J. (2004). Prism adaptation during walking generalizes to reaching and requires the cerebellum. *Journal of Neurophysiology*, *92*, 2497–2509.
- Newport, R., & Jackson, S. R. (2006). Posterior parietal cortex and the dissociable components of prism adaptation. *Neuropsychologia*, *44*, 2757–2765.
- Orozo, G., Estrada, R., Perry, T. L., Arana, J., Fernandez, R., Gonzalez-Quevedo, A., et al. (1989). Dominantly inherited olivopontocerebellar atrophy from eastern Cuba. Clinical, neuropathological, and biochemical findings. *Journal of Neurological Sciences*, *93*, 37–50.
- Pang, J. T., Giunti, P., Chamberlain, S., An, S. F., Vitaliani, R., Scaravilli, T., et al. (2002). Neuronal intranuclear inclusions in SCA2: A genetic, morphological and immunohistochemical study of two cases. *Brain*, *125*, 656–663.
- Pisella, L., Michel, C., Grea, H., Tilikete, C., Vighetto, A., & Rossetti, Y. (2004). Preserved prism adaptation in bilateral optic ataxia: Strategic versus adaptive reaction to prisms. *Experimental Brain Research*, *156*, 399–408.

- Pisella, L., Rossetti, Y., Michel, C., Rode, G., Boisson, D., Pelisson, D., et al. (2005). Ipsidirectional impairment of prism adaptation after unilateral lesion of anterior cerebellum. *Neurology*, *65*, 150–152.
- Raymond, J. L., Lisberger, S. G., & Mauk, M. D. (1996). The cerebellum: A neuronal learning machine? *Science*, *272*, 1126–1131.
- Redding, G. M., Rossetti, Y., & Wallace, B. (2005). Applications of prism adaptation: A tutorial in theory and method. *Neuroscience Biobehavioral Reviews*, *29*, 431–444.
- Redding, G. M., & Wallace, B. (2002). Strategic calibration and spatial alignment: A model from prism adaptation. *Journal of Motor Behavior*, *34*, 126–138.
- Redding, G. M., & Wallace, B. (2006). Generalization of prism adaptation. *Journal of Experimental Psychology: Human Perception and Performance*, *32*, 1006–1022.
- Schols, L., Bauer, P., Schmidt, T., Schulte, T., & Riess, O. (2004). Autosomal dominant cerebellar ataxias: Clinical features, genetics, and pathogenesis. *Lancet Neurology*, *3*, 291–304.
- Stern, Y., Mayeux, R., Hermann, A., & Rosen, J. (1988). Prism adaptation in Parkinson's disease. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry*, *51*, 1584–1587.
- Storey, E., Tuck, K., Hester, R., Hughes, A., & Churchyard, A. (2004). Inter-rater reliability of the International Cooperative Ataxia Rating Scale (ICARS). *Movement Disorders*, *19*(2), 190–192.
- Trouillas, P., Takayanagi, T., Hallett, M., Currier, R. D., Subramony, S. H., Wessel, K., et al. (1997). International cooperative ataxia rating scale for pharmacological assessment of the cerebellar syndrome. The Ataxia Neuropharmacology Committee of the World Federation of Neurology. *Journal of Neurological Sciences*, *145*, 205–211.
- Velazquez-Perez, L., Fernandez-Ruiz, J., Diaz, R., Gonzalez, R. P., Ochoa, N. C., Cruz, G. S., et al. (2006). Spinocerebellar ataxia type 2 olfactory impairment shows a pattern similar to other major neurodegenerative diseases. *Journal of Neurology*, *253*, 1165–1169.
- Velazquez-Perez, L., Seifried, C., Santos-Falcon, N., Abele, M., Ziemann, U., Almaguer, L. E., et al. (2004). Saccade velocity is controlled by polyglutamine size in spinocerebellar ataxia 2. *Annals of Neurology*, *56*, 444–447.
- Weiner, M. J., Hallett, M., & Funkenstein, H. H. (1983). Adaptation to lateral displacement of vision in patients with lesions of the central nervous system. *Neurology*, *33*, 766–772.

Motor Decline in Clinically Presymptomatic Spinocerebellar Ataxia Type 2 Gene Carriers

Luis Velázquez-Perez¹, Rosalinda Díaz², Ruth Pérez-González¹, Nalia Canales¹, Roberto Rodríguez-Labrada¹, Jacquelin Medrano¹, Gilberto Sánchez¹, Luis Almaguer-Mederos¹, Cira Torres¹, Juan Fernandez-Ruiz^{2,3*}

1 Centro para la Investigación y Rehabilitación de las Ataxias Hereditarias, Holguín, Cuba, **2** Laboratorio de Neuropsicología, Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México, Distrito Federal, México, **3** Facultad de Psicología, Universidad Veracruzana, Xalapa, Veracruzana, México

Abstract

Background: Motor deficits are a critical component of the clinical characteristics of patients with spinocerebellar ataxia type 2. However, there is no current information on the preclinical manifestation of those motor deficits in presymptomatic gene carriers. To further understand and characterize the onset of the clinical manifestation in this disease, we tested presymptomatic spinocerebellar ataxia type 2 gene carriers, and volunteers, in a task that evaluates their motor performance and their motor learning capabilities.

Methods and Findings: 28 presymptomatic spinocerebellar ataxia type 2 gene carriers and an equal number of control volunteers matched for age and gender participated in the study. Both groups were tested in a prism adaptation task known to be sensible to both motor performance and visuomotor learning deficits. Our results clearly show that although motor learning capabilities are intact, motor performance deficits are present even years before the clinical manifestation of the disease start.

Conclusions: The results show a clear deficit in motor performance that can be detected years before the clinical onset of the disease. This motor performance deficit appears before any motor learning or clinical manifestations of the disease. These observations identify the performance coefficient as an objective and quantitative physiological biomarker that could be useful to assess the efficiency of different therapeutic agents.

Citation: Velázquez-Perez L, Díaz R, Pérez-González R, Canales N, Rodríguez-Labrada R, et al. (2009) Motor Decline in Clinically Presymptomatic Spinocerebellar Ataxia Type 2 Gene Carriers. PLoS ONE 4(4): e5398. doi:10.1371/journal.pone.0005398

Editor: Raphael Schiffmann, National Institutes of Health, United States of America

Received: January 29, 2009; **Accepted:** April 4, 2009; **Published:** April 29, 2009

Copyright: © 2009 Velázquez-Perez et al. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

Funding: The study was supported by the Cuban Ministry of Health, Mexico-CONACYT, and UNAM-PAPIIT grants. The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

Competing Interests: The authors have declared that no competing interests exist.

* E-mail: jfr@servidor.unam.mx

Introduction

Spinocerebellar ataxia type 2 (SCA2) is a genetic-based disorder with primary symptoms of progressive gait ataxia, diminished saccade velocity [1], poor coordination of speech musculature (dysarthria), olfactory deficits [2,3] and absence of neurological reflexes such as the knee jerk reaction (areflexia) [4–6]. This polyglutamine (PolyQ) disorder produces severe degeneration of pontine nuclei, inferior olives, and Purkinje cells in the cerebellum [7,8].

A general characteristic of hereditary neurodegenerative diseases is that clinical symptoms not necessarily emerge from birth, but can appear throughout different life stages. The specific age at which overt clinical manifestations appear is in close relationship to the individual repeat length [9]. Nevertheless, different studies have demonstrated that in several neurodegenerative diseases, specific deficiencies can be detected in presymptomatic gene carrier individuals. For example, deficits has been found in clinically presymptomatic familial autosomic dominant Alzheimer [10], or in clinically presymptomatic Huntington gene

carriers individuals, who show deficits in motor control [11–14], learning of motor sequences [15], and other non-motor functions, like memory and executive functions [16–18], visuospatial processing [19] and olfaction [20]. These kinds of deficits are usually detected only through specialized testing.

Early symptoms reported by SCA2 patients appearing before gait ataxia, which is the most notorious clinical deficit, include dysarthria, problems with hand writing, and sleep disturbances [21]. However, to our knowledge (based on public Medline and scholar Google searches) there are only two studies that have found preclinical deficits in SCA2 gene carriers. Those reports show brisk deep-tendon reflexes [22] and electrophysiological alterations in sensory nerve conduction, and somatosensory and auditory evoked potentials [23].

To understand the progressive changes taking place before the onset of the clinical manifestations in SCA2, we evaluated the performance and visuomotor learning capabilities of presymptomatic gene carrier individuals. For this purpose, we used a task sensible to both, SCA2 gene mutation [24] and cerebellar damage [25].

Methods

Subjects

Twenty eight clinically presymptomatic SCA2 gene carriers (11 male and 17 female patients) with ages ranging from 27 to 63 years (mean, 39.6; standard deviation (S.D)±9.1), probable age of onset from 28 to 63 years (mean, 45; S.D.±2), and polyglutamine repeat sizes from 32 to 41 repetitions (mean, 36.6; S.D.±2.6) were admitted to the Center for the Research and Rehabilitation of Hereditary Ataxias in Holguín for this study (see Table 1 for individual demographic information). The diagnosis of SCA2 was based on genealogical descent from the founder population, and on molecular genetic determination of the repeat expansions. The clinical assessment was conducted using a standard neurological exam [26] and the Scale for the assessment and rating of ataxia (SARA) [27]. This scale comprise eight items: evaluation of gait (score 0–8), stance (score 0–6), sitting (score 0–4) and speech (score 0–6), and four tests assessing limb kinetic function (finger chase [score 0–4], fast alternating hand movements [score 0–4], finger-nose-finger test [score 0–4] and heel-shin test [score 0–4]) evaluates the core clinical symptoms in ataxia diseases [27].

The predicted age at clinical onset (AACO) correlating to each polyglutamine expansion size was calculated after the formula originally published in the article describing the SCA2 mutation: $[AACO] = 1171.583 * e^{(-0.091 * \text{polyglutamine expansion size})}$ [9]. A group of 28 age and gender-matched unpaid healthy adult volunteers with no history of neurological injury or psychiatry disease from Holguín province (11 male and 17 female subjects) with ages ranging from 27 to 61 years (means, 38; S.D.±9.6) served as controls (CON). The control group also had the same clinical assessment and SARA evaluations as the SCA2 patients. Subjects with previous history of any other major disorder that could affect visuomotor performance were not entered into the study. All SCA2 patients and controls were right handed. The study plan was approved by the Center for the Research and Rehabilitation of Hereditary Ataxias in Holguín and National Autonomous University of Mexico ethics committees before recruitment of participants started. Therefore, all the experimentation procedures followed were in accordance with the ethical standards of both committees. In addition, all subjects signed an informed consent prior to the experiments in accordance with the Helsinki Declaration (Council for International Organizations of Medical Sciences and World Health Organization, 2002).

Table 1. Presymptomatic SCA2 gene carriers demographic information.

Ss	Age	Gender	Lineage	Normal allele repetitions	Mutated allele repetitions	Predicted AACO	Years to AACO	SARA score
1	41	f	Paternal	22	36	44.26	3.00	0
2	31	f	Paternal	22	32	63.70	32.70	1
3	63	f	Maternal	22	34	53.10	-9.90	0
4	61	f	Maternal	22	34	53.10	-7.90	0
5	27	f	Maternal	22	35	30.76	3.76	0
6	47	f	Paternal	22	32	63.70	16.70	0
7	34	f	Paternal	22	34	53.10	19.10	0
8	31	f	Paternal	24	39	33.69	2.69	0
9	38	f	Maternal	29	34	33.69	-4.31	0
10	37	f	Paternal	29	37	40.41	3.41	0
11	44	f	Maternal	24	39	48.48	4.48	0
12	32	f	Paternal	22	38	36.90	4.90	1
13	40	f	Paternal	34	39	53.10	13.10	0
14	32	f	Paternal	22	33	58.15	26.15	0
15	37	f	Maternal	22	36	44.26	7.26	1
16	42	f	Paternal	22	38	36.90	-5.10	0
17	39	f	Paternal	22	35	48.48	9.48	0
18	35	m	Paternal	22	35	48.48	13.48	0
19	39	m	Maternal	23	38	48.48	9.48	0
20	41	m	Maternal	22	36	44.26	3.26	1
21	41	m	Maternal	24	38	36.90	-4.10	0
22	35	m	Paternal	22	36	44.26	9.26	0
23	34	m	Maternal	22	41	28.08	-5.92	0
24	50	m	Paternal	22	35	48.48	-1.52	1
25	58	m	Maternal	22	34	53.10	-4.90	0
26	32	m	Paternal	22	36	44.26	12.26	0
27	41	m	Maternal	22	41	28.08	-12.92	0
28	28	m	Paternal	23	41	28.08	0.08	2

AACO is the probable age at clinical onset. SARA is the Scale for the assessment and rating of ataxia. doi:10.1371/journal.pone.0005398.t001

Behavioral task

A detailed description of the procedure and our modifications can be found elsewhere [25,28]. Subjects threw clay balls (weight: 10 g) at a 12-cm×12-cm cross drawn on a large sheet of parcel paper centered at shoulder level and placed 2 m away in front of them. Subjects were instructed to make each toss overhand during the whole experiment, to use the right hand, and to throw the balls to the location where they saw the target. The subjects had an unobstructed view of the target during the entire session. Subjects stood, the head was unrestrained, and no directions were given about trunk, shoulder or head/neck posture [25]. However, they were not allowed to look down at their hand as they collected the next ball from a tray located next to them. Subjects were asked to throw at their own pace, so they were free to take rests if they felt tired. If such event occurred, they were asked to remain still as possible with their eyes closed.

The experiment had three conditions. Under each condition the subjects threw 26 balls. During the baseline condition (PRE) subjects did not wear prisms. After finishing the baseline condition subjects were tested in the PRISM condition, where they wore 30 diopter Fresnel 3 M Press-on plastic lenses (3 M Health Care, Specialties Division, St. Paul, MN, USA) that produce a light refraction to the right. Once that condition was finished, subjects had the prisms removed and started the POS condition where they continued throwing balls. The location of the balls impacts were plotted sequentially by trial number (abscissa) versus horizontal displacement (in centimeters) from a vertical line passing through the target centre (ordinate). Impacts to the left of the target were plotted as negative values and impacts to the right were plotted as positive values. The three experimental conditions were carried out consecutively after the donning or doffing of the prisms was completed.

Three additional measures were calculated from the collected data of both experiments. First, a motor performance coefficient (PC) (or called variable errors [24,25]) was calculated from the baseline phase. To obtain the PC, the horizontal errors (distance from each impact location to a vertical line passing through the target) of the PRE trials were measured. The PC is the standard deviation obtained from these errors [25]. Second, an adaptation magnitude was obtained by subtracting the horizontal distance to the target on the final throw from that on the initial throw while wearing the prisms (PRISM condition). Third, an aftereffect measure was defined as the ball's impact horizontal distance to the target on the first throw after removing the prisms.

Results

Predicted time to clinical manifestations

Time to clinical manifestation was calculated as years remaining from subjects' current age at the time of testing to the calculated age of onset accordingly to their polyglutamine expansion size. The analysis suggested that the mean time to start clinical manifestations for this specific population of presymptomatic subjects was 5.97 ± 2.21 years.

Ataxia score

All the pre-SCA2 gene carriers had a SARA score between 0 and 2 (mean 0.23 ± 0.49 SDM), of the possible maximum score of 40. Since previous studies have found normal subjects showing scores as high as 7, all the pre-SCA2 participants could not be differentiated from normal volunteers based on the SARA score, confirming their clinically presymptomatic status [27]. In the present study all the control volunteers had a score between 0 and 0.5, so they did not show any deficit measured with the SARA.

Motor performance coefficient

Measurements from the throws made during the baseline condition without visual perturbation were used to evaluate motor performance. Motor performance coefficients for each group were as follows: CON = 4.77 ± 0.26 s.e.m., and pre-SCA2 = 6.2 ± 0.45 s.e.m. (Figure 1). A Kolmogorov-Smirnov normality test shows that although the data distribution for the control group passed ($p = 0.066$) the test, the pre-SCA2 group failed it ($p < 0.05$). Therefore a Mann-Whitney rank sum test was used to compare between both groups. The results showed a significant difference between controls and patients ($U = 541$, $T = 649$, $n = 28$, $p = 0.01$).

Adaptation

The adaptation measures obtained during the prism phase were as follows: CON = 44.9 ± 2.2 , and preSCA2 = 42.1 ± 2.8 (Figure 2 Left). A Kolmogorov-Smirnov normality test showed that both groups data passed the normality ($p = 0.794$) and equal variance tests ($p = 0.195$). A two-tailed Student's t test was performed to look for adaptation differences between control subjects and presymptomatic gene SCA2 carriers. The analysis showed no differences between groups ($t = 0.7$, $d.f. = 54$, $p = 0.43$) (Figure 2A).

To analyze de adaptation rate, a two way repeated measures ANOVA was used. The conditions were groups (Controls and pre-SCA2) and throws. The analysis showed that there were no differences between both groups ($d.f. = 1$, $F = 1.156$, $p = 0.287$), but, as expected, there were significant differences among throws ($d.f. = 25$, $F = 77.213$, $p < 0.01$). However, the analysis also showed that there were no significant interactions between groups and throws ($d.f. = 25$, $F = 1.151$, $p = 0.276$) (Figure 2B).

Aftereffects

The aftereffect absolute values were as follows: CON = 19.6 ± 2.2 s.e.m., preSCA2 = 20 ± 2.2 s.e.m. (Figure 2A). A Kolmogorov-Smirnov normality test showed that both groups

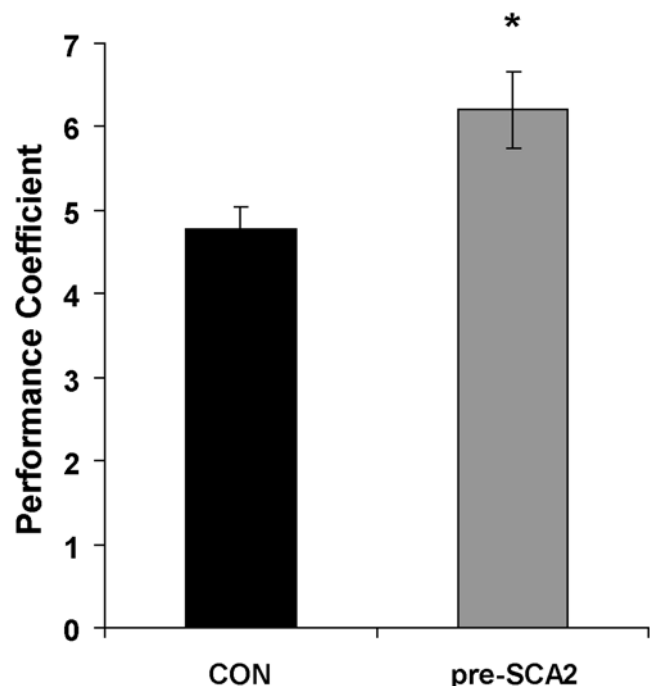


Figure 1. Motor performance coefficient of the control (black) and the pre-SCA2 (grey) groups. Error bars are SEM. * = $p < 0.01$. doi:10.1371/journal.pone.0005398.g001

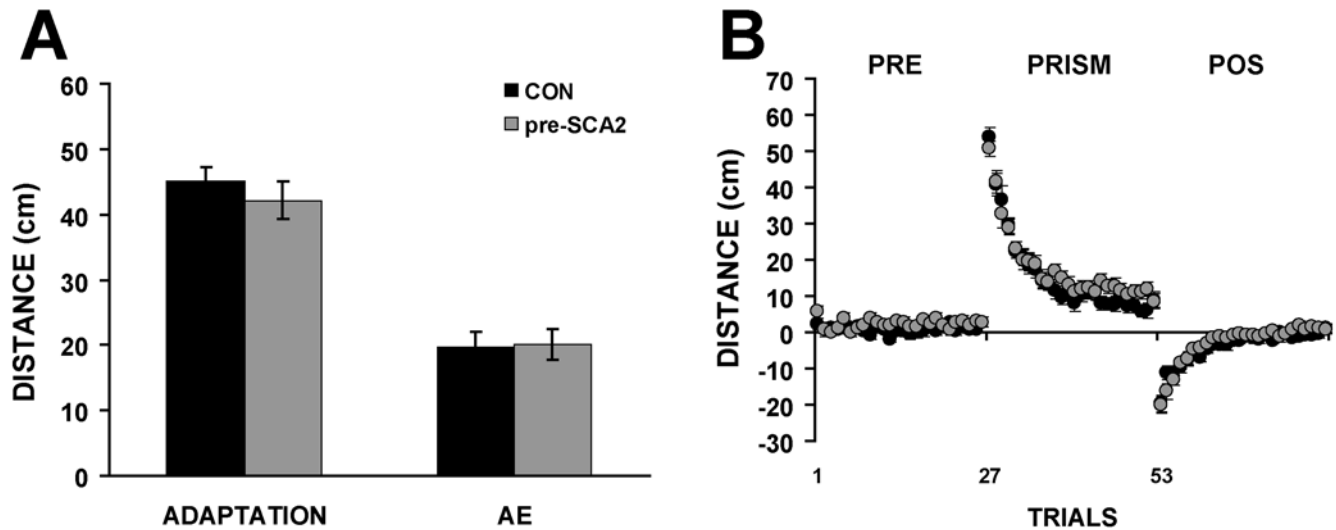


Figure 2. Adaptation, aftereffect, and trial-by-trial distance to target. (A) Adaptation (left) and aftereffect (AE) (right) distance measures for the control (black) and the pre-SCA2 (grey) groups. (B) Trial-by-trial distance to target in PRE, PRISM, and POS conditions for the control (black) and the pre-SCA2 (grey) groups. Error bars are SEM. Note the lack of differences between groups in A and B. doi:10.1371/journal.pone.0005398.g002

data passed the normality ($p=0.270$) and equal variance tests ($p=0.874$). A two-tailed Student's *t* test was performed for analyzing possible aftereffect differences between control and presymptomatic gene SCA2 carriers. The analysis showed no differences between groups ($t=0.14$, d.f. = 54, $p=0.88$).

The motor deficit and time to start clinical manifestations in SCA2 gene carriers

Since the experimental results show motor deficits in the clinical presymptomatic SCA2 gene carriers, an important question was if there is a correlation between those deficits and the years remaining to reach the predicted age at clinical onset. A Pearson product moment correlation showed a significant correlation between those two variables ($CC=0.437$, $p=0.02$).

Discussion

The present results suggest that clinically presymptomatic SCA2 gene carriers show an early motor deficit manifested as deterioration in their motor performance coefficient. This deficit can be detected on average even five years before the clinical manifestations onset. The neural deterioration causing the motor deficit is not enough, however, to disrupt neither their motor learning nor the measures obtained from the SARA scale.

The motor performance deficit in presymptomatic individuals could be explained if the neurodegeneration starts years before the clinical onset. For example, it has been established that SCA2 asymptomatic individuals show cerebellar hypometabolism and fourth ventricle dilatation even years before clinical manifestation of the disease [29]. Hence, it would be interesting to test if the motor performance deficit could be evidence of an incipient neurodegeneration, since it shows a positive correlation with the years remaining to reach the predicted age at clinical onset.

References

- Velazquez-Perez L, Seifried C, Santos-Falcon N, Abele M, Ziemann U, et al. (2004) Saccade velocity is controlled by polyglutamine size in spinocerebellar ataxia 2. *Ann Neurol* 56: 444–447.
- Fernandez-Ruiz J, Diaz R, Hall-Haro C, Vergara P, Fiorentini A, et al. (2003) Olfactory dysfunction in hereditary ataxia and basal ganglia disorders. *Neuroreport* 14: 1339–1341.

The task used here can measure both, motor performance and visuomotor learning. Initial findings suggest that these two variables are independent, since they can be dissociated in patients with different cerebellar lesions [25]. Therefore, it could be possible that SCA2 initially affects structures important for motor performance but not motor learning. On the other hand, compensatory mechanisms have been found during the course of neurodegenerative diseases, as suggested by activity changes found in regions not necessarily damaged in the course of the disease [15,30]. This evidence opens the possibility that these mechanisms could mask or protect processes or structures involved in motor learning, but not necessarily those involved in motor performance.

In conclusion, the current findings show a clear deficit in motor performance that can be detected years before the clinical onset of the disease. This motor performance deficit appears before any motor learning or clinical manifestations of the disease. These observations identify PC as an objective and quantitative physiological biomarker that could be of potential use to assess the efficiency of different therapeutic agents.

Acknowledgments

We are grateful to the SCA2-mutation carriers and the control individuals for their cooperation.

Author Contributions

Conceived and designed the experiments: LVP JFR. Performed the experiments: RD RPG NC RRL JM GS CT. Analyzed the data: RD RPG NC RRL JM GS CT JFR. Contributed reagents/materials/analysis tools: JFR. Wrote the paper: LVP RRL LAM JFR. Made the molecular diagnosis: LAM.

3. Velazquez-Perez L, Fernandez-Ruiz J, Diaz R, Gonzalez RP, Ochoa NC, et al. (2006) Spinocerebellar ataxia type 2 olfactory impairment shows a pattern similar to other major neurodegenerative diseases. *J Neurol* 253: 1165–1169.
4. Durr A, Smadja D, Cancel G, Lezin A, Stevanin G, et al. (1995) Autosomal dominant cerebellar ataxia type I in Martinique (French West Indies). Clinical and neuropathological analysis of 53 patients from three unrelated SCA2 families. *Brain* 118 (Pt 6): 1573–1581.
5. Orozco G, Estrada R, Perry TL, Arana J, Fernandez R, et al. (1989) Dominantly inherited olivopontocerebellar atrophy from eastern Cuba. Clinical, neuropathological, and biochemical findings. *J Neurol Sci* 93: 37–50.
6. Pang JT, Giunti P, Chamberlain S, An SF, Vitaliani R, et al. (2002) Neuronal intranuclear inclusions in SCA2: a genetic, morphological and immunohistochemical study of two cases. *Brain* 125: 656–663.
7. Geschwind DH, Perlman S, Figueroa CP, Treiman LJ, Pulst SM (1997) 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* 60: 842–850.
8. Schols L, Bauer P, Schmidt T, Schulte T, Riess O (2004) Autosomal dominant cerebellar ataxias: clinical features, genetics, and pathogenesis. *Lancet Neurol* 3: 291–304.
9. Pulst SM, Nechiporuk A, Nechiporuk T, Gispert S, Chen XN, et al. (1996) Moderate expansion of a normally biallelic trinucleotide repeat in spinocerebellar ataxia type 2. *Nat Genet* 14: 269–276.
10. Fox NC, Warrington EK, Seiffer AL, Agnew SK, Rossor MN (1998) Presymptomatic cognitive deficits in individuals at risk of familial Alzheimer's disease. A longitudinal prospective study. *Brain* 121 (Pt 9): 1631–1639.
11. Blekher TM, Yee RD, Kirkwood SC, Hake AM, Stout JC, et al. (2004) Oculomotor control in asymptomatic and recently diagnosed individuals with the genetic marker for Huntington's disease. *Vision Res* 44: 2729–2736.
12. Christova P, Anderson JH, Gomez CM (2008) Impaired eye movements in presymptomatic spinocerebellar ataxia type 6. *Arch Neurol* 65: 530–536.
13. Siemers E, Foroud T, Bill DJ, Sorbel J, Norton JA Jr, et al. (1996) Motor changes in presymptomatic Huntington disease gene carriers. *Arch Neurol* 53: 487–492.
14. Smith MA, Brandt J, Shadmehr R (2000) Motor disorder in Huntington's disease begins as a dysfunction in error feedback control. *Nature* 403: 544–549.
15. Feigin A, Ghilardi MF, Huang C, Ma Y, Carbon M, et al. (2006) Preclinical Huntington's disease: compensatory brain responses during learning. *Ann Neurol* 59: 53–59.
16. de Boo GM, Tibben A, Lanser JB, Jennekens-Schinkel A, Hermans J, et al. (1997) Early cognitive and motor symptoms in identified carriers of the gene for Huntington disease. *Arch Neurol* 54: 1353–1357.
17. Robins Wahlin TB, Lundin A, Dear K (2007) Early cognitive deficits in Swedish gene carriers of Huntington's disease. *Neuropsychology* 21: 31–44.
18. Verry C, Allain P, Prudean A, Malinge MC, Gohier B, et al. (2007) Cognitive changes in asymptomatic carriers of the Huntington disease mutation gene. *Eur J Neurol* 14: 1344–1350.
19. Farrow M, Chua P, Churchyard A, Bradshaw JL, Chiu E, et al. (2006) Proximity to clinical onset influences motor and cognitive performance in presymptomatic Huntington disease gene carriers. *Cogn Behav Neurol* 19: 208–216.
20. Larsson M, Lundin A, Robins Wahlin TB (2006) Olfactory functions in asymptomatic carriers of the Huntington disease mutation. *J Clin Exp Neuropsychol* 28: 1373–1380.
21. Globas C, du Montcel ST, Baliko L, Boesch S, Depondt C, et al. (2008) Early symptoms in spinocerebellar ataxia type 1, 2, 3, and 6. *Mov Disord* 23: 2232–2238.
22. Rosa AL, Molina I, Kowaljow V, Conde CB (2006) Brisk deep-tendon reflexes as a distinctive phenotype in an Argentinean spinocerebellar ataxia type 2 pedigree. *Mov Disord* 21: 66–68.
23. Velazquez Perez L, Sanchez Cruz G, Canales Ochoa N, Rodriguez Labrada R, Rodriguez Diaz J, et al. (2007) Electrophysiological features in patients and presymptomatic relatives with spinocerebellar ataxia type 2. *J Neurol Sci* 263: 158–164.
24. Fernandez-Ruiz J, Velazquez-Perez L, Diaz R, Drucker-Colin R, Perez-Gonzalez R, et al. (2007) Prism adaptation in spinocerebellar ataxia type 2. *Neuropsychologia* 45: 2692–2698.
25. Martin TA, Keating JG, Goodkin HP, Bastian AJ, Thach WT (1996) Throwing while looking through prisms. I. Focal olivocerebellar lesions impair adaptation. *Brain* 119 (Pt 4): 1183–1198.
26. Denny-Brown D, David MD, Tyler HR (1982) *Handbook of neurological examination and case recording*. Harvard University Press.
27. Schmitz-Hubsch T, du Montcel ST, Baliko L, Berciano J, Boesch S, et al. (2006) Scale for the assessment and rating of ataxia: development of a new clinical scale. *Neurology* 66: 1717–1720.
28. Fernandez-Ruiz J, Diaz R (1999) Prism adaptation and aftereffect: specifying the properties of a procedural memory system. *Learn Mem* 6: 47–53.
29. Inagaki A, Iida A, Matsubara M, Inagaki H (2005) Positron emission tomography and magnetic resonance imaging in spinocerebellar ataxia type 2: a study of symptomatic and asymptomatic individuals. *Eur J Neurol* 12: 725–728.
30. Wolf RC, Vasic N, Schonfeldt-Lecuona C, Landwehrmeyer GB, Ecker D (2007) Dorsolateral prefrontal cortex dysfunction in presymptomatic Huntington's disease: evidence from event-related fMRI. *Brain* 130: 2845–2857.

Capítulo 6. El daño olfatorio en la Ataxia Espinocerebelosa tipo 2

Publicado en:

- ***J Neurol*** (2006); 253:1165–1169 (Factor de impacto: 3,853)
- ***Patología del sistema olfatorio en portadores asintomáticos del gen SCA2***. En: Manifestaciones tempranas de la Ataxia Espinocerebelosa Tipo 2: De la fisiopatología a los biomarcadores preclínicos. Ciudad de Holguín: Ed. Holguín, 2012.

El sistema olfatorio está afectado en varias enfermedades neurodegenerativas. Recientemente se ha encontrado que algunas ataxias hereditarias muestran un daño olfatorio significativo. Sin embargo, los resultados previos no profundizan en la naturaleza de los trastornos olfatorios asociados con estas enfermedades. En el primer artículo se evaluó el efecto de la mutación SCA2 sobre el sistema olfatorio de 53 pacientes y 53 sujetos controles sanos. Se evaluó el umbral, discriminación, reconocimiento e identificación olfatoria. Los resultados mostraron un daño significativo, en todas las mediciones olfatorias, lo que pudiera obedecer a una alteración primaria de la vía olfatoria o por la relación del cerebelo con esta función. El patrón de daño olfatorio sugirió la existencia de similitudes con otras enfermedades neurodegenerativas tales como Parkinson y Alzheimer.

Los resultados del estudio de la patología olfatoria en sujetos presintomáticos demostraron la afectación en los dominios de identificación y umbral olfatorio, lo que sugiere que la vía sensorial se afecta tanto a nivel periférico como central. Otra posible interpretación, se basa en la contribución del daño

cerebeloso sobre las alteraciones olfatorias, teniendo en cuenta el rol que desempeña el cerebelo en la olfacción.

En sujetos presintomáticos no existen reportes previos sobre el estado de la vía olfatoria. El descubrimiento del déficit olfatorio en portadores asintomáticos, identifica un nuevo biomarcador preclínico de la enfermedad, con una gran utilidad pronóstica, ya que el mismo es un indicador temprano que pudiera señalar el inicio de la neurodegeneración en la SCA2.

Luis Velázquez-Pérez*
Juan Fernandez-Ruiz*
Rosalinda Díaz
Ruth Pérez- González
Nalia Canales Ochoa
Gilberto Sánchez Cruz
Luis Enrique Almaguer Mederos
Edilberto Martínez Góngora
Robyn Hudson
René Drucker-Colin

Spinocerebellar ataxia type 2 olfactory impairment shows a pattern similar to other major neurodegenerative diseases

Received: 4 October 2005
Received in revised form:
24 January 2006
Accepted: 2 February 2006
Published online: 11 April 2006

* Equal contribution

L. Velázquez-Pérez, MD ·
R. Pérez- González, MD · N.C. Ochoa, MD ·
G.S. Cruz, MD · L.E.A. Mederos, PhD ·
E.M. Góngora, MD
Centro para la Investigación y
Rehabilitación de las Ataxias Hereditarias
“Carlos J. Finlay”
Holguín, Cuba

J. Fernandez-Ruiz, PhD · R. Díaz, MSc
Departamento de Fisiología
Facultad de Medicina
Universidad Nacional Autónoma
de México México

R. Hudson, PhD
Departamento de Biología Celular y
Fisiología Instituto de Investigaciones
Biomédicas, UNAM
México

R. Drucker-Colin, PhD (✉)
Departamento de Neurociencias
Instituto de Fisiología Celular, UNAM
Apdo. Postal 70-600
04510 México, D.F.
Tel.: +52-55/5550-0904
E-Mail: drucker@servidor.unam.mx

■ **Abstract** Olfactory function is affected in different neurodegenerative diseases. Recently, it has been found that some hereditary ataxias are also associated with significant olfactory impairment. However, the initial findings did not examine the nature of the olfactory impairment associated with these ataxias. In the present

article the effect of spinocerebellar ataxia type 2 (SCA2) on olfactory function was studied in 53 SCA2 patients and 53 healthy control subjects from Holguín, Cuba. Several tests were applied to evaluate olfactory threshold, description, identification and discrimination. The results show significant impairment in SCA2 patients on all olfactory measurements, and the pattern of olfactory deficits found suggests that they have much in common with those reported for other neurodegenerative diseases such as Parkinson's and Alzheimer's diseases.

■ **Key words** spinocerebellar ataxia · olfactory function · olfactory impairment · neurodegenerative diseases

Introduction

One of the most prevalent deficits among different neurodegenerative disorders is a deterioration in olfactory function. [7, 13, 15, 17]. However, olfactory integrity in the hereditary ataxias had not been evaluated until several reports studying the neural pathways of the olfactory system showed a distinct cerebellar participation in olfaction [20, 25]. The convergence of these two fields led to a quick succession of reports showing a significant olfactory impairment in patients with different kinds of cerebellar ataxias [1, 4, 11].

We investigated spinocerebellar ataxia type 2 (SCA2) olfactory deficits [11]. In general, the dominantly-inherited autosomal ataxias are a heterogeneous group of neurodegenerative disorders characterized by progressive ataxia that results from degeneration of the cerebellum and its afferent and efferent connections. SCA2 patients manifest a lack of coordination in gait, limb movements and speech, an early slowing of horizontal eye movements and an early neuropathy [18, 23, 29]. Clinical onset is usually in midlife [2]. Neuropathological analysis has demonstrated severe olivopontocerebellar atrophy early in the course of the disease, progressing to the involve-

ment of the anterior horn, substantia nigra, thalamus and somatosensory pathways[10, 21].

In the present report we address the nature of the olfactory deficit in a large number of Cuban SCA2 patients [18, 22]. We tested olfactory threshold, identification and discrimination and analyzed their relation to the motor and cognitive impairment, the number of CAG trinucleotide repetitions, the age of onset and the years of disease duration.

Subjects and methods

■ Subjects

The diagnosis of SCA2 was based on genealogical descent from the founder population, on the disease manifestation with cerebellar ataxia and dysarthria, and on molecular genetic determination of the repeat expansions described elsewhere [28].

Fifty three patients (28 men and 25 women) ranging in age from 26 to 70 years (mean, 41.8; standard deviation [SD], 11.51), age at onset from 14 to 53 years (mean, 29.56; SD, 10.23), disease duration from 4 to 30 years (mean, 12.54; SD, 6.06), and polyglutamine repeat sizes from 34 to 53 repetitions (mean, 40.38; SD, 3.49) were admitted to the Center for the Research and Rehabilitation of Hereditary Ataxias in Holguín for this study. The clinical assessment was conducted using the International Cooperative Ataxia Rating Scale (ICARS)[26]. The Mini-Mental State Examination (MMSE) was also administered to all subjects[12]. A group of 53 healthy unpaid volunteers from Holguín Province (28 men and 25 women) ranging in age from 25 to 72 years (mean, 41.94; SD, 11.6) matched with the patients for gender, age, and smoking history served as controls. Although nasal endoscopy was not performed, subjects with a history of sinus or nasal surgery, head trauma, diabetes, sinusitis, nasal difficulties or any other major disorder that could have affected their olfactory performance, were excluded from the study. The procedures followed were in accordance with the ethical standards of the committees on human experimentation of both the Center for the Research and Rehabilitation of Hereditary Ataxias in Holguín and the Universidad Nacional Autónoma de México. In addition, all subjects gave their informed consent prior to the experiments in accordance with the Helsinki Declaration of 1975, as revised in 1989[27].

Olfactory tests

■ Smell identification test

In order to assess the general odor identification capabilities of subjects, the Spanish version of the University of Pennsylvania smell identification test (UPSIT) was used (Sensonics Inc. Haddon Height, NJ, USA). This test consists of 40 scratch-and- sniff presentations of odorants in a four- alternative forced-choice identification paradigm. The UPSIT has been used to evaluate other populations with neurodegenerative disorders, and it enables comparison with published standardized scores based on large normative data sets [8]. To reduce potential sources of variance, rather than permitting self-administration,

the UPSIT was administered to the subjects (both SCA2 and control) by the experimenters. The odorant was scratched by the experimenter and then held to the subject's nose for smelling.

■ Olfactory threshold

Two common beverages (instant coffee, Nescafé Clasico, Nestlé; and an orange drink, Clight, Kraft) were presented in 250 ml polyethylene squeeze bottles equipped with a flip-up spout [6]. These odorants were chosen in preference to monomolecular substances to maximize the ecological validity of the stimuli and the ability of the subjects to accurately name them [14]. Ten concentrations of the odorants were prepared in distilled de-ionized water. Pairs consisting of the odorant and the diluent were presented to subjects in a randomized two- alternative forced- choice ascending staircase procedure, and subjects asked to identify the bottle containing the odorant. Five consecutive hits were taken as the criterion for threshold. Subjects could sample each bottle twice, and approximately 10 s elapsed between them giving their response to one pair of stimuli and presentation of the next. Substances were renewed before each session [14].

■ Olfactory quality

Once the threshold was established, testing continued by presenting the target bottles singly in ascending concentration and asking subjects to describe or to try to name the odorant. The lowest concentration which the subject gave a descriptor or name was registered as the perception of odor quality regardless of accuracy.

■ Olfactory recognition

The lowest concentration at which subjects could then correctly name the odorant was taken as their olfactory recognition capability.

■ Olfactory discrimination

Finally, to determine subjects' ability to distinguish between suprathreshold concentrations of two similar-smelling odorants, they were given 10 trials in which they were asked to distinguish between the similar-smelling odors of horchata (a drink made of rice, milk and sugar; Frescogary, D'gari) and atole de cajeta (a caramel-flavored, maize-based drink; Maizena). Subjects were presented with three bottles, one

of which contained the target (five times horchata and five times atole in randomized order) and were asked to identify the bottle that smelled differently. Again, these substances were chosen to maximize ecological validity and their usefulness in discriminating between different populations [14].

Results

Patients UPSIT scores were significantly lower than those of the control subjects (Mann-Whitney test, $Z = -4.9$, $p < 0.01$) (Fig. 1). The controls had UPSIT scores ranging from 25 to 38 (mean, 31.7; SD, 2.6), whereas the SCA2 patients had values from 14 to 36 (mean, 27.3; SD, 4.9).

Simple regression analysis was conducted within the SCA2 patients. Among the 40 UPSIT odors there were some that were identified in the same proportion by both subject groups, like solvent, leather and pine, which were identified on average by 92% and 91% of the controls and SCA2 patients, respectively. There were other odors, however, that were disproportionately identified by the two groups, such as orange, chocolate and coconut, that were identified in average by 89% and 58% of the control and SCA2 subjects, respectively. There were no odors or combinations of odors that could be used to discriminate reliably between the two populations.

In the patient group there were no significant correlations between UPSIT score and age ($r = -0.16$, $p = 0.13$), disease duration ($r = 0.01$, $p = 0.46$), or polyglutamine expansion size ($r = 0.01$, $p = 0.45$). Significant UPSIT correlations were found with ataxia score ($r = 0.26$, $p = 0.03$), MMSE ($r = 0.27$, $p = 0.03$) and smoking history ($r = -0.27$, $p = 0.02$). However, after excluding 13 patients with MMSE below 25, the only correlation found in the 40 remaining patients was between UPSIT score and age ($r = -0.3$, $p = 0.03$). Excluding the demented subjects did not change the significant difference in UPSIT scores (Mann-Whitney test, $Z = -3.72$, $p < 0.001$) between control (with the corresponding 13 subjects excluded) and SCA2 subjects (mean = 31.6; SD = 2.4 and mean = 27.7; SD = 5, respectively). All subsequent analyses were done in the remaining 40 patients and their respective controls.

The olfactory threshold tests showed a significant difference (Mann-Whitney test, $Z = -2.29$, $p = 0.02$) between SCA2 patients and the control group (Fig. 2A). Although the patients did not show a correlation between age and olfactory threshold, such a correlation was found in the control group ($r = 0.3$, $p < 0.05$). Once the patients detected an odor, the concentration required for attempting to label it was also significantly different ($Z = -3.46$, $p < 0.01$), as well as the

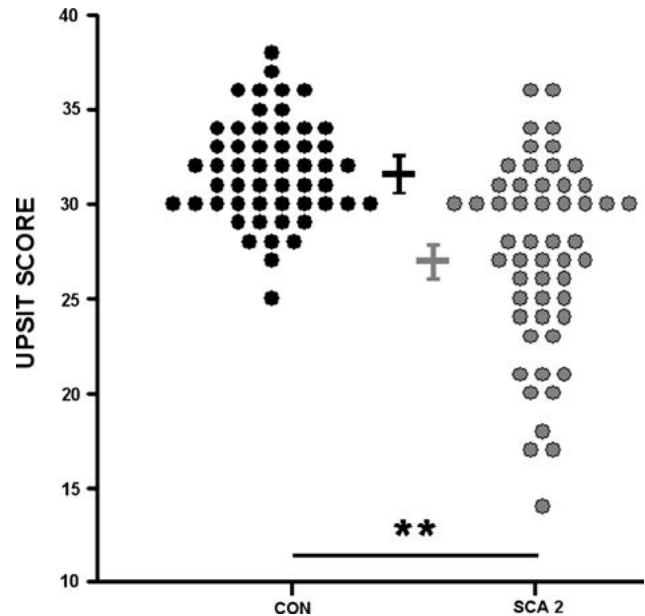


Fig. 1 Distribution and mean number of correct UPSIT responses in the SCA2 patients and control group. Bars are SEM. Mann-Whitney test, ** = $p < 0.01$

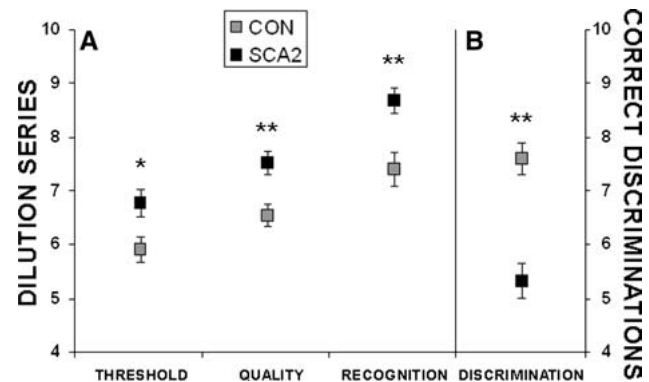


Fig. 2 Comparison of olfactory threshold, quality and recognition (left), and discrimination (right) between control subjects and SCA2 patients. Symbols are means and bars are SEM. Mann-Whitney test, * = $p < 0.05$, ** = $p < 0.01$

concentration at which it could be correctly identified ($Z = -3.73$, $p < 0.01$) (Fig. 2A), supporting the result obtained with the 40 UPSIT odors. None of these olfactory variables correlated significantly with the other non-olfactory variables such as age, MMSE, polyglutamine expansion size, disease duration or ataxia score.

In the olfactory discrimination task (Fig. 2B) there was a marked impairment in SCA2 patients compared with the control group ($Z = -4.44$, $p < 0.01$). Whereas control subjects identified the target odorant significantly above chance (≥ 7 trials correct) the SCA2 patients failed to do so. There were no correlations, however, between olfactory discrimination and the other non-olfactory variables.

Discussion

The present results show a significant impairment in a large population of SCA2 patients in olfactory threshold, quality, identification and discrimination when compared with matched control subjects. These results not only provide a robust corroboration of an initial report on an olfactory deficit in a small SCA2 population of Mexican patients [11], but more importantly, they investigate more closely the nature of the olfactory deficit of these patients.

There have been three previous studies testing olfactory function in cerebellar ataxic patients. One of these studies reported that eight patients with multiple system atrophy of cerebellar type (MSA-C) and 11 patients with sporadic cerebellar ataxia of unknown etiology had impairments in odor discrimination and identification [1]. The second study tested two patient populations, one Friedreich ataxia group (FRDA) and a combined CNS ataxic group (two SCA2, five SCA3, one SCA7 and five with unidentified cerebral degeneration)[4]. Both groups had olfactory deficits measured with UPSIT. The authors suggested that the olfactory problems of the FRDA group could be due to global loss of sensory pathways, while the deficits observed in the CNS ataxic group could reflect cerebellar damage. The third study compared hereditary ataxia patients with Parkinson's disease and Huntington's disease patients and reported the olfactory impairment of the former group to be less severe than in the basal ganglia disorders group[11]. Furthermore, the authors analyzed different groups of ataxia patients and found that SCA2, autosomal recessive ataxia and sporadic ataxia patients all showed olfactory impairments, while SCA3 patients were spared. However, the subdivided population was small so further confirmation is needed. Unfortunately, the second study [4] did not report individual scores for the mixed patient group that included 5 SCA3 patients. The present study follows from the previous studies that tested small numbers of mixed patient populations, and provides compelling confirmation that SCA2 patients have an olfactory impairment.

In general, olfactory capabilities can be measured in three main but not necessarily mutually exclusive domains; sensitivity (threshold), identification and discrimination [15]. Whereas sensitivity depends, at least in part, on the peripheral olfactory system, olfactory identification and discrimination require the participation of central olfactory structures and are considered to be more cognitive tasks [15]. SCA2 patients seem to be affected in all three domains, since they show a significant impairment in olfactory threshold, identification and discrimination. In a

comprehensive meta-analysis of olfactory function in Alzheimer's and Parkinson's disease [17], it was found that both patient populations show severe deficits in the three olfactory domains, with no differential olfactory deficits between populations. Although SCA2 patients show a milder deterioration, we found the same pattern of olfactory deficits as in the other two major neurodegenerative diseases, suggesting an intriguing resemblance between the three disorders.

We were especially interested in trying to ascertain if the olfactory deficits correlated with any other variable shown by these patients. Analysis of the whole patient population showed a positive correlation between UPSIT and MMSE scores, which is a general index of cognitive performance. As expected, demented subjects had low UPSIT scores, resulting in a significant correlation between these two measures. When dementia was discarded as a factor, the only UPSIT correlation found was with age, a finding that is consistent with previous reports [9, 24]

Previous findings suggest that damage to the cerebellar circuitry may be responsible for the olfactory impairment in SCA2 patients. Recently, it has been demonstrated that unilateral cerebellar lesions lead to olfactory impairments selective to input from the contralesional nostril [16], providing further support for a cerebellar role in olfaction. However, since SCA2 is a complex neurodegenerative disease as stated in the introduction, further studies are needed on the integrity of SCA2 patients' olfactory system. An important finding is the lack of correlation between olfactory impairment and the different disease-related variables. This finding suggests another similarity with the Parkinson's disease olfactory deficit that also seems to be independent of neurological signs, disease stage or duration [8]. To our knowledge, there has been no report describing the condition of the primary olfactory pathway, including the olfactory bulb or nasal epithelium, in SCA2 patients. Our group, however, is currently working on trying to identify pathological damage to these structures in SCA2 postmortem preparations.

The finding of an olfactory deficit in spinocerebellar ataxia patients adds to a larger picture of olfactory deficits in different neurodegenerative diseases. Other studies have suggested that olfactory dysfunction is an early indicator that could signify the onset of some of these disorders [3, 5, 19].

We believe that the evidence for olfactory dysfunction in the main neurodegenerative diseases has attained a level that deserves special attention, since its study could shed important light on disease mechanisms currently not known, and to which the olfactory system is especially susceptible.

■ **Acknowledgments** This study was partially supported by Fideicomiso UNAM to RDC and an Agreement between CIRAHA and Coordinación de la Investigación Científica, UNAM. We are grateful

to the patients, control subjects, and to the Cuban Ministry of Health for the cooperation given. We also thank Rafael Ojeda for his help during this study.

References

- Abele M, Riet A, Hummel T, Klockgether T, Wullner U (2003) Olfactory dysfunction in cerebellar ataxia and multiple system atrophy. *J Neurol* 250:1453–1455
- Babovic-Vuksanovic D, Snow K, Patterson MC, Michels VV (1998) Spinocerebellar ataxia type 2 (SCA 2) in an infant with extreme CAG repeat expansion. *Am J Med Genet* 79:383–387
- Bacon AW, Bondi MW, Salmon DP, Murphy C (1998) Very early changes in olfactory functioning due to Alzheimer's disease and the role of apolipoprotein E in olfaction. *Ann N Y Acad Sci* 855:723–731
- Connelly T, Farmer JM, Lynch DR, Doty RL (2003) Olfactory dysfunction in degenerative ataxias. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 74:1435–1437
- Devanand DP, Michaels-Marston KS, Liu X, Pelton GH, Padilla M, Marder K, Bell K, Stern Y, Mayeux R (2000) Olfactory deficits in patients with mild cognitive impairment predict Alzheimer's disease at follow-up. *Am J Psychiatry* 157:1399–1405
- Distel H, Ayabe-Kanamura S, Martinez-Gomez M, Schicker I, Kobayakawa T, Saito S, Hudson R (1999) Perception of everyday odors—correlation between intensity, familiarity and strength of hedonic judgement. *Chem Senses* 24:191–199
- Doty RL (2001) Olfaction. *Annu Rev Psychol* 52:423–452
- Doty RL, Deems DA, Stellar S (1988) Olfactory dysfunction in parkinsonism: a general deficit unrelated to neurologic signs, disease stage, or disease duration. *Neurology* 38:1237–1244
- Doty RL, Shaman P, Kimmelman CP, Dann MS (1984) University of Pennsylvania Smell Identification Test: a rapid quantitative olfactory function test for the clinic. *Laryngoscope* 94:176–178
- Estrada R, Galarraga J, Orozco G, Nodarse A, Auburger G (1999) Spinocerebellar ataxia 2 (SCA2): morphometric analyses in 11 autopsies. *Acta Neuropathol (Berl)* 97:306–310
- Fernandez-Ruiz J, Diaz R, Hall-Haro C, Vergara P, Fiorentini A, Nunez L, Drucker-Colin R, Ochoa A, Yescas P, Rasmussen A, Alonso ME (2003) Olfactory dysfunction in hereditary ataxia and basal ganglia disorders. *Neuroreport* 14:1339–1341
- Folstein MF, Folstein SE, McHugh PR (1975) "Mini-mental state". A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *J Psychiatr Res* 12:189–198
- Hawkes C (2003) Olfaction in neurodegenerative disorder. *Mov Disord* 18:364–372
- Hudson R, Arriola A, Martinez-Gomez M, Distel H (2006) Effect of air pollution on olfactory function in residents of Mexico city. *Chem Senses* 31:79–85
- Kovacs T (2004) Mechanisms of olfactory dysfunction in aging and neurodegenerative disorders. *Ageing Res Rev* 3:215–232
- Mainland JD, Johnson BN, Khan R, Ivry RB, Sobel N (2005) Olfactory impairments in patients with unilateral cerebellar lesions are selective to inputs from the contralateral nostril. *J Neurosci* 25:6362–6371
- Meshulam RI, Moberg PJ, Mahr RN, Doty RL (1998) Olfaction in neurodegenerative disease: a meta-analysis of olfactory functioning in Alzheimer's and Parkinson's diseases. *Arch Neurol* 55:84–90
- Orozco Diaz G, Nodarse Fleites A, Cordoves Sagaz R, Auburger G (1990) Autosomal dominant cerebellar ataxia: clinical analysis of 263 patients from a homogeneous population in Holguin, Cuba. *Neurology* 40:1369–1375
- Ponsen MM, Stoffers D, Booij J, van Eck-Smit BL, Wolters E, Berendse HW (2004) Idiopathic hyposmia as a pre-clinical sign of Parkinson's disease. *Ann Neurol* 56:173–181
- Qureshy A, Kawashima R, Imran MB, Sugiura M, Goto R, Okada K, Inoue K, Itoh M, Schormann T, Zilles K, Fukuda H (2000) Functional mapping of human brain in olfactory processing: a PET study. *J Neurophysiol* 84:1656–1666
- Rub U, Del Turco D, Del Tredici K, de Vos RA, Brunt ER, Reifemberger G, Seifried C, Schultz C, Auburger G, Braak H (2003) Thalamic involvement in a spinocerebellar ataxia type 2 (SCA2) and a spinocerebellar ataxia type 3 (SCA3) patient, and its clinical relevance. *Brain* 126:2257–2272
- Sanpei K, Takano H, Igarashi S, Sato T, Oyake M, Sasaki H, Wakisaka A, Tashiro K, Ishida Y, Ikeuchi T, Koide R, Saito M, Sato A, Tanaka T, Hanyu S, Takiyama Y, Nishizawa M, Shimizu N, Nomura Y, Segawa M, Iwabuchi K, Eguchi I, Tanaka H, Takahashi H, Tsuji S (1996) Identification of the spinocerebellar ataxia type 2 gene using a direct identification of repeat expansion and cloning technique, DIRECT. *Nat Genet* 14:277–284
- Schols L, Gispert S, Vorgerd M, Menezes Vieira-Saecker AM, Blanke P, Auburger G, Amoiridis G, Meves S, Eppelen JT, Przuntek H, Pulst SM, Riess O (1997) Spinocerebellar ataxia type 2. Genotype and phenotype in German kindreds. *Arch Neurol* 54:1073–1080
- Ship JA, Weiffenbach JM (1993) Age, gender, medical treatment, and medication effects on smell identification. *J Gerontol* 48:M26–32
- Sobel N, Prabhakaran V, Hartley CA, Desmond JE, Zhao Z, Glover GH, Gabrieli JD, Sullivan EV (1998) Odorant-induced and sniff-induced activation in the cerebellum of the human. *J Neurosci* 18:8990–9001
- Trouillas P, Takayanagi T, Hallett M, Currier RD, Subramony SH, Wessel K, Bryer A, Diener HC, Massaquoi S, Gomez CM, Coutinho P, Ben Hamida M, Campanella G, Filla A, Schut L, Timmann D, Honnorat J, Nighoghossian N, Manyam B (1997) International Cooperative Ataxia Rating Scale for pharmacological assessment of the cerebellar syndrome. The Ataxia Neuropharmacology Committee of the World Federation of Neurology. *J Neurol Sci* 145:205–211
- Vanderpool HY (1996) The ethics of research involving human subjects: facing the 21st century. University Pub. Group, Frederick, Md
- Velazquez-Perez L, Seifried C, Santos-Falcon N, Abele M, Ziemann U, Almaguer LE, Martinez-Gongora E, Sanchez-Cruz G, Canales N, Perez-Gonzalez R, Velazquez-Manresa M, Viebahn B, von Stuckrad-Barre S, Fetter M, Klockgether T, Auburger G (2004) Saccade velocity is controlled by polyglutamine size in spinocerebellar ataxia 2. *Ann Neurol* 56:444–447
- Wadia NH, Swami RK (1971) A new form of heredo-familial spinocerebellar degeneration with slow eye movements (nine families). *Brain* 94:359–374

CAPÍTULO VIII

NEURODEGENERACIÓN PRECLÍNICA DEL SISTEMA OLFATORIO EN PORTADORES DEL GEN SCA2.

8.1 Aspectos generales del sistema olfatorio.

El sistema olfatorio recibe e interpreta información química a partir de moléculas que se encuentran en el aire y que son captadas mediante las células receptoras de la mucosa olfatoria, capaces en su conjunto de detectar hasta 10 mil olores diferentes. Las investigaciones del genoma humano han identificado cerca de 400 genes relacionados con la detección de olores los que codifican para cerca de 40 millones de receptores olfatorios, resultado que mereció un premio nobel en el año 2004.

Las prolongaciones de las estas células receptoras forman el nervio olfatorio que transmite la información hacia el bulbo olfatorio, donde se inicia el procesamiento de la información y la percepción de los olores. Después del bulbo olfativo, la información viaja al núcleo olfatorio anterior, la corteza piriforme, la amígdala y la corteza entorrinal.

Aunque usualmente al cerebelo no se le atribuyen roles en la función olfatoria, numerosas evidencias indican que el mismo está relacionado con el procesamiento olfatorio. Por ejemplo, se conoce que pacientes con tumores en el cerebelo desarrollan diversos déficits olfatorios. Estas alteraciones también se han reportado en enfermos con ataxias esporádicas, hereditarias, atrofias multisistémicas y otras enfermedades que involucran al cerebelo.

Adicionalmente, en el año 1997, Deis y Baudoin reportaron la existencia de una reducción parcial de la percepción olfatoria en un modelo de ratón transgénico con alteraciones funcionales de las conexiones olivocerebelosas, mientras que los estudios de resonancia magnética funcional muestran una activación cerebelosa significativa inducida por diferentes olores, a nivel de las regiones laterales y posteriores de los hemisferios cerebelosos. La activación de estas regiones es independiente a la que ocurre durante la conducta de olfateo, en la que existe un incremento de la actividad funcional en el vermis anterior y el lóbulo central derecho del cerebelo.

De manera general, las capacidades olfatorias pueden ser interpretadas en 3 dominios no mutuamente excluyentes: sensibilidad (umbral), identificación y discriminación. La sensibilidad depende en parte del sistema olfatorio periférico, mientras que la identificación y discriminación olfatoria requieren de la participación de estructuras olfatorias centrales y se consideran como tareas cognitivas.

La evaluación de estas capacidades puede realizarse a través de diferentes métodos. Actualmente, la técnica más usada para evaluar las capacidades de identificación olfatoria es el examen de identificación de olores de la Universidad de Pensilvania (UPSIT, de sus siglas en Inglés: University of Pennsylvania Smell Identification Test). Este examen ha sido usado para evaluar grandes poblaciones con enfermedades neurodegenerativas ya que posibilita la comparación con puntuaciones estándares publicadas en grandes bases de datos normativos. El examen UPSIT consiste en la presentación de

40 etiquetas que contienen microcápsulas donde se encierran las moléculas odorantes. Al rayarse la etiqueta con un lápiz, las microcápsulas se rompen y las moléculas odoríficas son liberadas para que el sujeto realice su identificación en un paradigma de de 4 alternativas (Figura 1A). Por cada respuesta correcta se otorga un punto hasta cuantificar 40 en caso de no existir errores de identificación.

Otro examen ampliamente extendido en la práctica neurológica para el estudio de la función olfatoria es la evaluación del umbral olfatorio, el que además permite estimar la calidad, el reconocimiento y la discriminación de olores.

Para realizar este examen se preparan 10 concentraciones de dos bebidas comunes (usualmente café y jugo de naranja) en botellas presionables usando agua destilada y desionizada como diluyente. Luego se presentan parejas de estos frascos uno con la bebida diluida y el otro con el diluyente, presentándose la bebida en orden ascendente de dilución (Figura 1B). Para determinar el umbral olfatorio se toma como criterio la detección del aroma por cinco veces consecutivas en un mismo nivel de concentración. Una vez establecido el umbral, se procede a la determinación de la calidad olfatoria, la que consiste en la mínima concentración para la cual el sujeto da un descriptor o nombre de la sustancia sin considerar la exactitud. De igual modo la mínima concentración a la cual el sujeto puede nombrar correctamente el olor se considera como su capacidad de reconocimiento olfatorio. Por último para determinar la capacidad de distinguir entre concentraciones supraumbrales de dos olores semejantes (discriminación olfatoria), se realizan 10 ensayos en los cuales se le pregunta al sujeto si distingue entre olores similares.

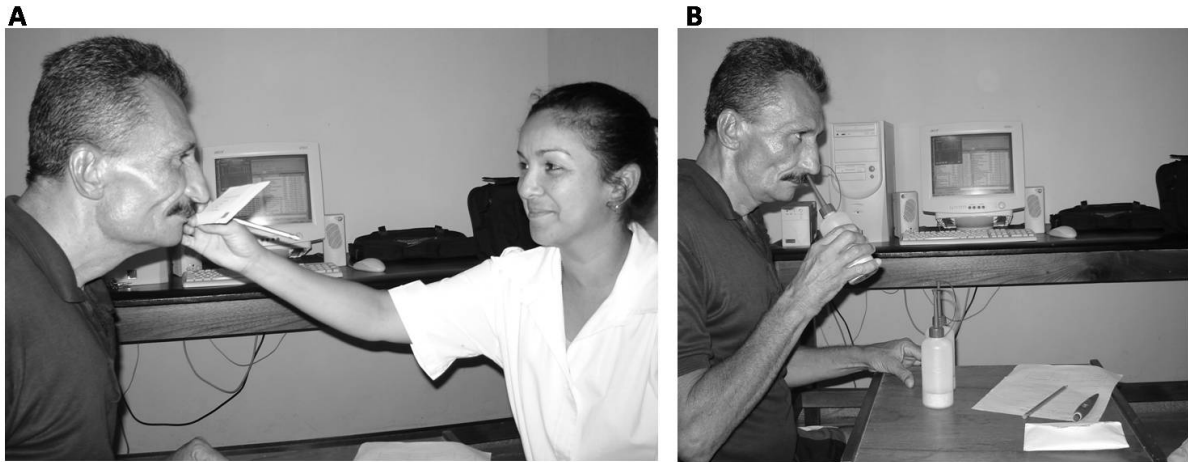


Figura 1. Evaluación de la función olfatoria mediante la aplicación del test UPSIT (A) y el estudio de umbral olfatorio (B).

8.2 Deterioro olfatorio preclínico en la SCA2

Uno de los trastornos de mayor prevalencia entre las diferentes enfermedades neurodegenerativas es la alteración de la función olfatoria. En un amplio meta-análisis acerca del funcionamiento del sistema olfatorio en las enfermedades de Alzheimer y Parkinson (17) se encontró que ambos grupos de pacientes mostraron deficiencias severas en los 3 dominios olfatorios, sin que se hayan evidenciado diferencias olfatorias entre los grupos.

Los resultados de una investigación que se desarrolló en enfermos cubanos de SCA2 demostraron alteraciones significativas en los 3 dominios de la función olfatoria. En estos se detectó un deterioro significativo en su umbral olfatorio, la discriminación e identificación, mostrándose un patrón de deficiencias olfatorias muy similar al observado en otras enfermedades neurodegenerativas. Estos hallazgos brindan nuevas evidencias sobre el papel del cerebelo en la

olfacción y sugieren que el daño en las conexiones cerebelosas pudiera ser la causa del deterioro olfatorio en pacientes con SCA2. Sin embargo no existen evidencias neuroanatómicas y funcionales que permitan fundamentar esta última hipótesis.

Una vez demostradas estas alteraciones en los enfermos de SCA2, se impuso comprobar si las mismas aparecen en los portadores asintomáticos de la mutación y de ser así estimar cuándo comienzan a expresarse dichas deficiencias.

Para evaluar la función olfatoria en estadio presintomático de la SCA2 se evaluaron 45 portadores asintomáticos de la mutación y 45 controles sanos, mediante la aplicación de los exámenes UPSIT y de umbral olfatorio. La puntuación total del examen UPSIT en los presintomáticos fue significativamente menor que en los sujetos normales ($t = -3,53711$, $p = 0,0006$). Estos últimos tuvieron puntuaciones promedios de 32,12 (DE= 2,93) mientras que los presintomáticos presentaron valores promedios 29,40 (DE= 4,05). (Figura 2A). Un análisis realizado para evaluar qué olores eran identificados con mayor dificultad por los presintomáticos arrojó diferencias estadísticamente significativas en la identificación de 7 olores, los que se presentan en la figura 2B. Este resultado difiere del obtenido en los sujetos enfermos, ya que en estos últimos se detectaron deficiencias en la identificación de todos los olores examinados.

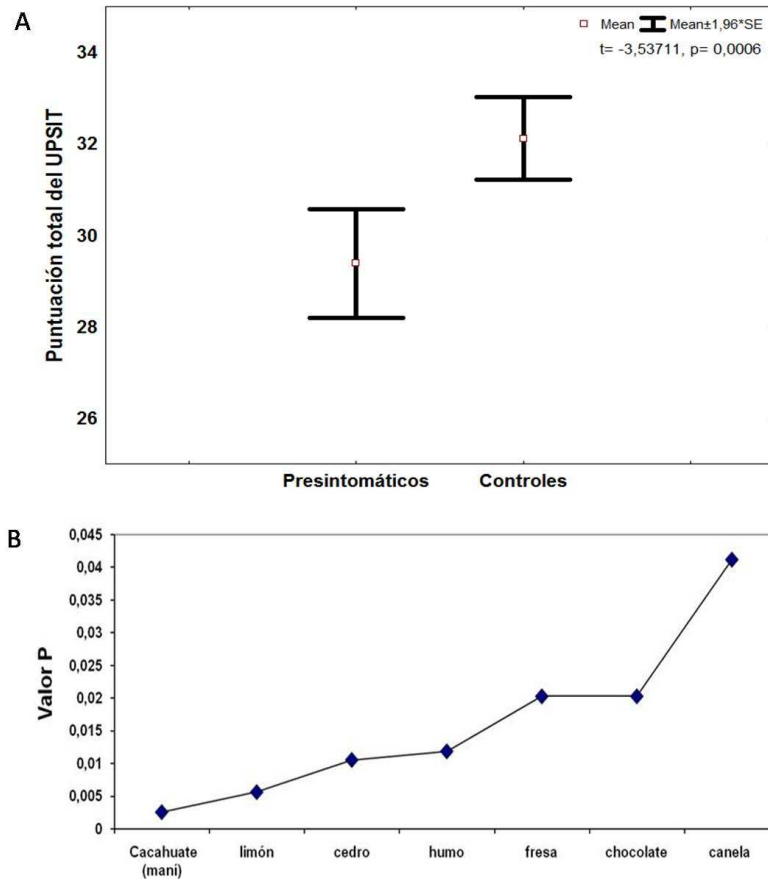


Figura 2. Alteraciones de la identificación de olores en sujetos presintomáticos de la SCA2. A) Disminución significativa de la puntuación total del UPSIT en el grupo de los presintomáticos. B) Conjunto de olores para los cuales existen diferencias significativas ($p < 0,05$) en la frecuencia de aciertos durante la identificación entre los presintomáticos y los controles. En todos los casos se observa reducción de la frecuencia de aciertos en los presintomáticos con respecto a los controles.

Adicionalmente, los portadores asintomáticos de la mutación SCA2 mostraron un incremento significativo del umbral olfatorio, por lo que necesitaron mayor concentración de los olores para lograr detectarlos. De igual modo el número de diluciones requeridas para determinar la calidad y el reconocimiento olfatorio fue significativamente mayor en los presintomáticos comparados con los controles (Figura 3). Sin embargo, no hubo diferencias significativas en cuanto a la capacidad de discriminación olfatoria.

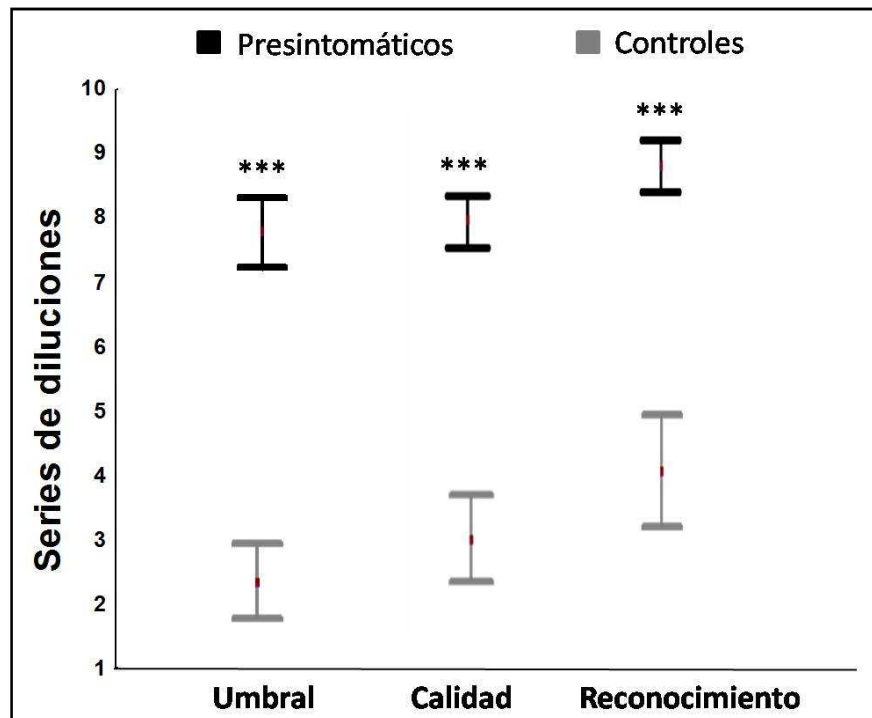


Figura 3. Alteraciones del umbral, la calidad y el reconocimiento olfatorio en portadores asintomáticos de la mutación SCA2.

El análisis de regresión lineal simple entre las variables de la función olfatoria y el tiempo previo a la aparición de la enfermedad, solo demostró la existencia de

una correlación significativa para la puntuación del UPSIT ($r=-0,48$; $p=0,012$) (Figura 4), no así para el resto de las variables. Este resultado sugiere que las alteraciones en la identificación olfatoria se inician entre 8 a 10 años previos a la edad de inicio de la enfermedad.

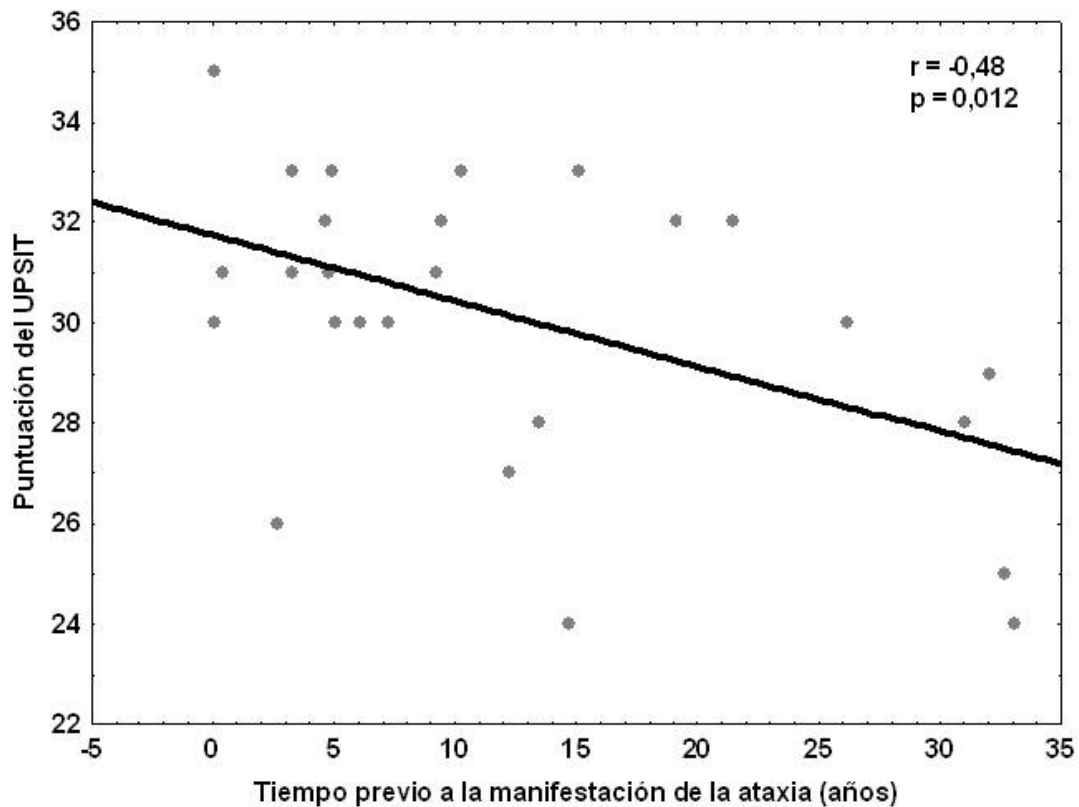


Figura 4. Resultados del análisis de regresión lineal simple donde se demuestra la correlación estadísticamente significativa entre el tiempo previo a la aparición del síndrome cerebeloso y la puntuación del UPSIT.

Estos resultados sugieren que al igual que para otras vías sensoriales previamente estudiadas en sujetos presintomáticos de la SCA2, existen

alteraciones de la vía olfatoria. En estos sujetos se afectan los dominios de identificación y umbral olfatorio lo que sugiere que la vía sensorial se afecta tanto a nivel periférico como central. Otra posible interpretación de estos resultados se basa en la contribución del daño cerebeloso sobre las alteraciones olfatorias, teniendo en cuenta el rol que desempeña el cerebelo en la olfacción. Sin embargo no existen evidencias neuropatológicas, imagenológicas ni funcionales que corroboren estas alteraciones en la SCA2. En sujetos presintomáticos no existen reportes que describan el estado de la vía olfatoria, lo que le confiere una gran novedad a estos resultados. El descubrimiento del déficit olfatorio en portadores asintomáticos de la mutación SCA2 identifica un nuevo biomarcador preclínico de la enfermedad con una gran utilidad pronóstica ya el mismo es un indicador temprano que pudiera señalar el inicio de la neurodegeneración en la SCA2.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ABELE, M., RIET, A., HUMMEL, T., KLOCKGETHER T., & WULLNER. U. (2003) Olfactory dysfunction in cerebellar ataxia and multiple system atrophy. *J Neurol*, 250, 1453–55.
2. CONNELLY, T., FARMER, J.M., LYNCH, D.R. & DOTY. R.L. (2003) Olfactory dysfunction in degenerative ataxias. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 74, 1435–7.
3. DEISS, V., & BAUDOIN, C. (1997) Hyposmia for butanol and vanillin in mutant staggerer mice. *Physiol Behav*, 61,209–13.
4. DOTY, R.L., SHAMAN, P., KIMMELMAN, C.P., & DANN, M.S. (1984) University of Pennsylvania Smell Identification Test: a rapid quantitative olfactory function test for the clinic. *Laryngoscope*, 94,176–8.
5. FERNANDEZ-RUIZ, J., DÍAZ, R., HALL-HARO, C., VERGARA, P., FIORENTINI, A., NUÑEZ, L., DRUCKER-COLÍN, R., OCHOA, A., YESCAS, P., RASMUSSEN, A. & ALONSO M.E. (2003) Olfactory dysfunction in hereditary ataxia and basal ganglia disorders. *Neuroreport*, 14, 1339–40.
6. MAINLAND, J.D., JOHNSON, B.N., KHAN, R., IVRY, R.B. & SOBEL, N. (2005) Olfactory impairments in patients with unilateral cerebellar lesions are selective to inputs from the contralesional nostril. *J Neurosci*, 25, 6362–71.
7. PEREGUD, G.M. (1931) Anosmia in tumors of the fourth ventricle. *Russk Oto-laringol*, 24,101–5.
8. QURESHY, A., R. KAWASHIMA, M.B. IMRAN, M. SUGIURA, R. GOTO, K. OKADA, INOUE, K., ITOH, M., SCHORMANN, T., ZILLES, K. &

- FUKUDA, H. (2000) Functional mapping of human brain in olfactory processing: a PET study. *J Neurophysiol*, 84,1656–66.
9. SOBEL, N., PRABHAKARAN, V. & HARTLEY, C.A. (1998) Odorant-induced and sniff-induced activation in the cerebellum of the human. *J Neurosci*, 18, 8990–9001.
10. TUCKER, BR. (1911) Report of a case of tumor of the ponto-cerebellar angle on the left side of the brain with bilateral loss of smell and disturbance of taste. *Old Dominion J Med Surg*, 13,327–34.
11. VELAZQUEZ PEREZ, L., SANCHEZ CRUZ, G., CANALES OCHOA, N., RODRIGUEZ LABRADA, R., RODRIGUEZ DIAZ, J., ALMAGUER MEDEROS, L. & LAFFITA MESA, J. (2007) Electrophysiological features in patients and presymptomatic relatives with spinocerebellar ataxia type 2. *J Neurol Sci*, 263, 158-64.
12. VELAZQUEZ-PEREZ, L., FERNANDEZ-RUIZ, J., DIAZ, R., GONZALEZ, R.P., OCHOA, N.C., CRUZ, G.S., MEDEROS, L. E., GONGORA, E.M., HUDSON, R. & DRUCKER-COLIN, R. (2006) Spinocerebellar ataxia type 2 olfactory impairment shows a pattern similar to other major neurodegenerative diseases. *J Neurol*, 253, 1165-9.
13. YOUSEM, D.M., WILLIAMS, S.C., HOWARD, R.O., ANDREW, C., SIMMONS, A., ALLIN, M., GECKLE, R.J., SUSKIND, D., BULLMORE, E.T., BRAMME, M.J. & DOTY, R.L. (1997) Functional MR imaging during odor stimulation: preliminary data. *Radiology*, 204, 833–8

Capítulo 7. Disfunción cognitiva y alteraciones psicofisiológicas en presintomáticos de SCA2

Publicado en:

- **Alteraciones cognitivas y psicofisiológicas en portadores asintomáticos de la mutación SCA2.** En: Manifestaciones tempranas de la Ataxia Espinocerebelosa Tipo 2: De la fisiopatología a los biomarcadores preclínicos. Ciudad de Holguín: Ed. Holguín, 2012.

La neuropsicología es una disciplina que integra la neurología y la psicología para la evaluación, diagnóstico y rehabilitación de las funciones cerebrales superiores, tales como memoria, atención, lenguaje, desempeño ejecutivo, praxias, gnosias e inteligencia. Los lóbulos frontales están implicados en la secuenciación de los actos motores requeridos para ejecutar eficazmente una acción.

Como complemento del estudio de las funciones cognitivas se incluyó el análisis del componente P300 para evaluar el tiempo que tarda el estímulo en percibirse, identificarse y clasificarse. Es una medida de tiempo sensible a los mecanismos de atención y memoria de trabajo.

Estas modalidades de evaluación constituyen una herramienta básica para el abordaje y caracterización clínica y psicofisiológica de los portadores asintomáticos de la mutación. Se demostró que estas alteraciones anteceden al síndrome cerebeloso y constituyen un aporte significativo de este trabajo. Dichas alteraciones pueden modularse a través de la rehabilitación cognitiva.

Capítulo XIX

ALTERACIONES COGNITIVAS Y PSICOFISIOLÓGICAS EN PORTADORES ASINTOMÁTICOS DE LA MUTACION SCA2.

Las funciones cognitivas definen la capacidad que tienen los seres humanos para percibir los estímulos del medio y en consecuencia generar un comportamiento o conducta específica deseada. Estas incluyen un conjunto de dominios o tareas complejas tales como la sensación, percepción, atención, memoria, aprendizaje, lenguaje, comunicación y funciones frontoejecutivas.

Las funciones frontoejecutivas son los procesos mentales integradores que establecen la conducta intencional y orientada a determinados fines. Además permiten solucionar los problemas internos (afectivos, motivacionales, comunicativos y creativos) y externos que surgen producto de la interacción del individuo y su medio. Además dentro de estas funciones, se encuentran la capacidad de anticipar las consecuencias ante diferentes acciones, selección precisa de comportamientos, reconocimiento de los patrones de prioridad, diseño de planes, autorregulación y monitorización de tareas, inhibición de respuestas indeseadas, desarrollo y ejecución de objetivos, planificación, organización y supervisión de respuestas. Estas funciones en su conjunto permiten obtener resultados eficaces en la resolución de los problemas.

Estos procesos dependen de la integridad del lóbulo frontal, específicamente del área pre-frontal y comienzan a formarse a partir de los 12 meses de edad desarrollándose progresivamente entre los 4 y 18 años, estabilizándose hasta alrededor de los 60 años en que comienzan a declinar.

La evaluación clínica de las funciones ejecutivas se realiza a través exámenes cualitativos y cuantitativos. Los estudios cualitativos se emplean para investigar los trastornos conductuales mientras que los cuantitativos utilizan exámenes neuropsicológicos estandarizados tales como el test de de clasificación de tarjetas de Wisconsin, fluidez verbal y el test de Stroop. Todos estos se han utilizado en el estudio de las enfermedades neurodegenerativas tales como la enfermedad de Alzheimer, Parkinson, corea de Huntington y las ataxias espinocerebelosas.

9.1 Trastornos cognitivos en portadores asintomáticos de la mutación SCA2

La evaluación cognitiva de las diferentes ataxias espinocerebelosas ha demostrado la existencia de alteraciones en las esferas frontoexecutivas, atención y memoria. Sin embargo, estos estudios se han visto limitados por el reducido número de pacientes así como la gran heterogeneidad clínica y genética de los mismos. La caracterización más amplia de los trastornos cognitivos en las Ataxias espinocerebelosas se realizó en pacientes cubanos con SCA2. El estudio incluyó a 80 pacientes con diagnóstico clínico y molecular de esta entidad y un número similar de controles sanos. Las principales alteraciones se detectaron en las funciones frontoexecutivas, memoria, reducción de las habilidades visuomotoras, atención y concentración. Adicionalmente, este estudio demostró una estrecha correlación entre las disfunciones frontoexecutivas y la patología de los movimientos oculares sacádicos, aunque no se observó relación con el número de repeticiones de CAG.

Por otra parte, evaluamos a un grupo de 35 portadores asintomáticos de la mutación SCA2 y 36 controles sanos. La aplicación del test de Stroop en los mismos demostró un incremento significativo del tiempo de ejecución (figura 1A) y del número de errores (Figura 1B) durante la tarea de conflicto. Esta tarea exige un alto grado de atención selectiva, capacidad de inhibición de respuestas automáticas y velocidad de procesamiento de la información, funciones atribuidas a la corteza orbitofrontal y prefrontal medial.

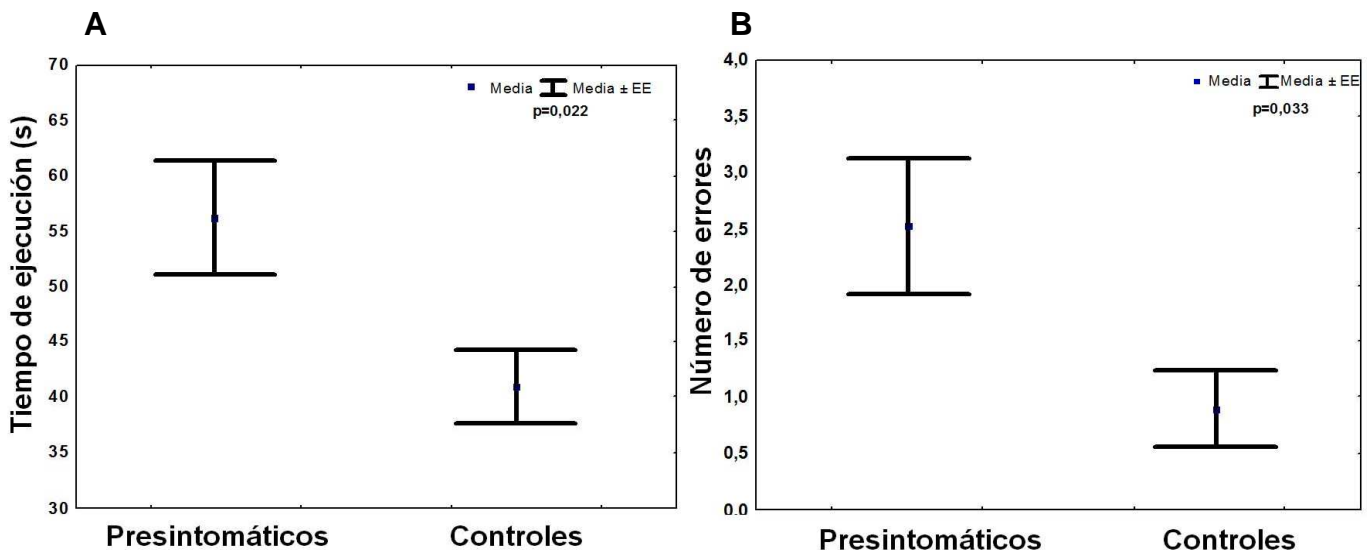


Figura 1. Alteraciones de las funciones frontoejecutivas en portadores asintomáticos de la SCA2 determinadas mediante el test de Stroop. Se observa el incremento del tiempo de ejecución (A) y del número de errores de la tarea de conflicto (B).

En el caso del test de fluencia verbal observamos una reducción del número de palabras que comienzan por F, A y S en un lapso de un minuto, así como incremento del número de repeticiones (Figura 2). Este test permite evaluar la

velocidad, precisión y productividad en la búsqueda de información lo que implica la participación activa de la corteza prefrontal dorsolateral tanto izquierda como derecha.

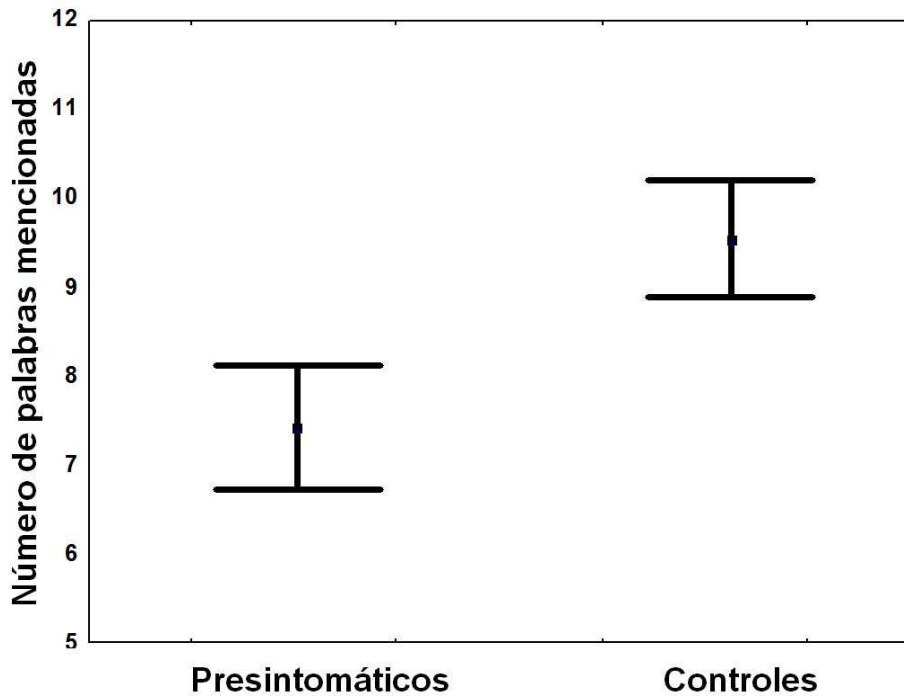


Figura 2. Reducción del número de palabras mencionadas en el test de fluencia verbal en los portadores asintomáticos de la mutación SCA2.

En estudios realizados por Burk *et al.* se relaciona la disfunción frontoexecutiva en pacientes con SCA1 y con las alteraciones del cerebelo y sus vías. Se conoce la existencia de alteraciones neuropatológicas en un grupo de estructuras neurales en pacientes con SCA2 que incluyen no solo el cerebelo y sus conexiones, sino también la atrofia de la corteza cerebral, degeneración de la sustancia nigra, ganglios basales, entre otras. Por tanto, consideramos más objetivo sugerir que la disfunción frontoexecutiva y demás alteraciones

cognitivas en enfermos y portadores asintomáticos de la mutación SCA2 pudieran relacionarse con la degeneración de las múltiples estructuras que tienen un papel en las funciones cognitivas y no sólo circunscribir estas disfunciones al cerebelo y sus vías de interconexión. En el caso de los presintomáticos, dichas anormalidades cognitivas son una evidencia de manifestaciones tempranas de la mutación SCA2.

9.2 Potenciales endógenos: componente P300 como marcador de alteraciones cognitivas preclínicas.

Las técnicas de los potenciales evocados comenzaron a desarrollarse en la década del 60 con el surgimiento de los promedidores automatizados. Consisten en el registro de los cambios de voltaje generados en el cerebro, vías sensitivas u órganos receptores tras la presentación de un estímulo breve de cualquier modalidad. Pueden clasificarse en potenciales evocados exógenos, dependientes esencialmente de los parámetros de estimulación y endógenos, los que dependen fundamentalmente de las operaciones o tareas mentales. Teniendo en cuenta que estas respuestas son de baja amplitud (0,1 y 20 uV), se necesita de la premediación del registro EEG.

Dentro de los potenciales evocados endógenos el potencial P300 es uno de los más estudiados y fue descrito por primera vez en 1965 por Sutton y col. Se caracteriza por presentar una latencia media de 300 ms, polaridad positiva y alcanza su topografía máxima en línea media (Cz y Pz). Algunos autores sugieren que se origina de los potenciales post-sinápticos, debido a la

activación de los receptores *N-metil-D-aspartato* (NMDA) como resultado de un procesamiento cortical.

Para la obtención de este componente se utilizan paradigmas en las que el sujeto debe mantener un alto grado de atención durante la realización del estudio. Se utilizan los llamados estímulos relevantes (estímulos diana) que aparecen con menor frecuencia que el resto de estímulos. Dentro de ellos los estímulos auditivos, visuales o sensoriales son los más empleados. Por ejemplo en una tarea auditiva se le pueden presentar al sujeto de experimentación unos 100 tonos, de los cuales el 30% son más agudos, son los estímulos *infrecuentes*, mientras que el resto (70%) se caracterizan por ser más graves y se les denomina estímulos *frecuentes*. El sujeto debe estar muy atento y contar los estímulos infrecuentes, es decir los tonos agudos. Esta detección voluntaria del estímulo infrecuente genera el potencial P300 y se registra a partir de la premediación de la actividad eléctrica cerebral evocada por dicho estímulo infrecuente, mientras que la respuesta evocada por el tono frecuente presenta solamente las ondas N100 y P200.

De este potencial se analizan dos elementos fundamentales: la latencia y la amplitud. La primera refleja la rapidez con la que el sujeto es capaz de realizar operaciones, tales como identificar, discriminar, clasificar, categorizar y extraer las características relevantes de un estímulo durante la tarea. Por tanto, el componente P300 estima el tiempo que tarda el estímulo en percibirse, ser identificado y clasificado. Es una medida de tiempo sensible a los mecanismos de atención y memoria de trabajo. Por otra parte, la amplitud se relaciona con la sincronización de grupos neuronales específicos a partir de varios generadores activados por la tarea que debe realizar el sujeto.

En un estudio realizado en pacientes con SCA2 se observó un incremento significativo de las latencias de los componentes P300 auditivos y visuales, así como reducción de la amplitud de los mismos, lo que evidenció la existencia de alteraciones psicofisiológicas en estos individuos así como disfunciones en el procesamiento de la información visual y auditiva. Sin embargo, este estudio no permitió demostrar si estas alteraciones aparecían tempranamente en el curso evolutivo de la enfermedad o si se expresaban desde estadios preclínicos. Para ello se llevó a cabo un estudio similar en 30 portadores asintomáticos y 30 controles. Las latencias de estos potenciales presentan una mayor variabilidad en grupo de presintomáticos (Figura 3A). De hecho, 40% de los presintomáticos mostraron valores de latencias P300 por encima de los valores normales, los que fueron obtenidos a partir de la comparación con los controles. En la figura 3B se representa la comparación del potencial P300 auditivo registrado en la derivación Pz entre un sujeto presintomático y un control del mismo sexo y edad.

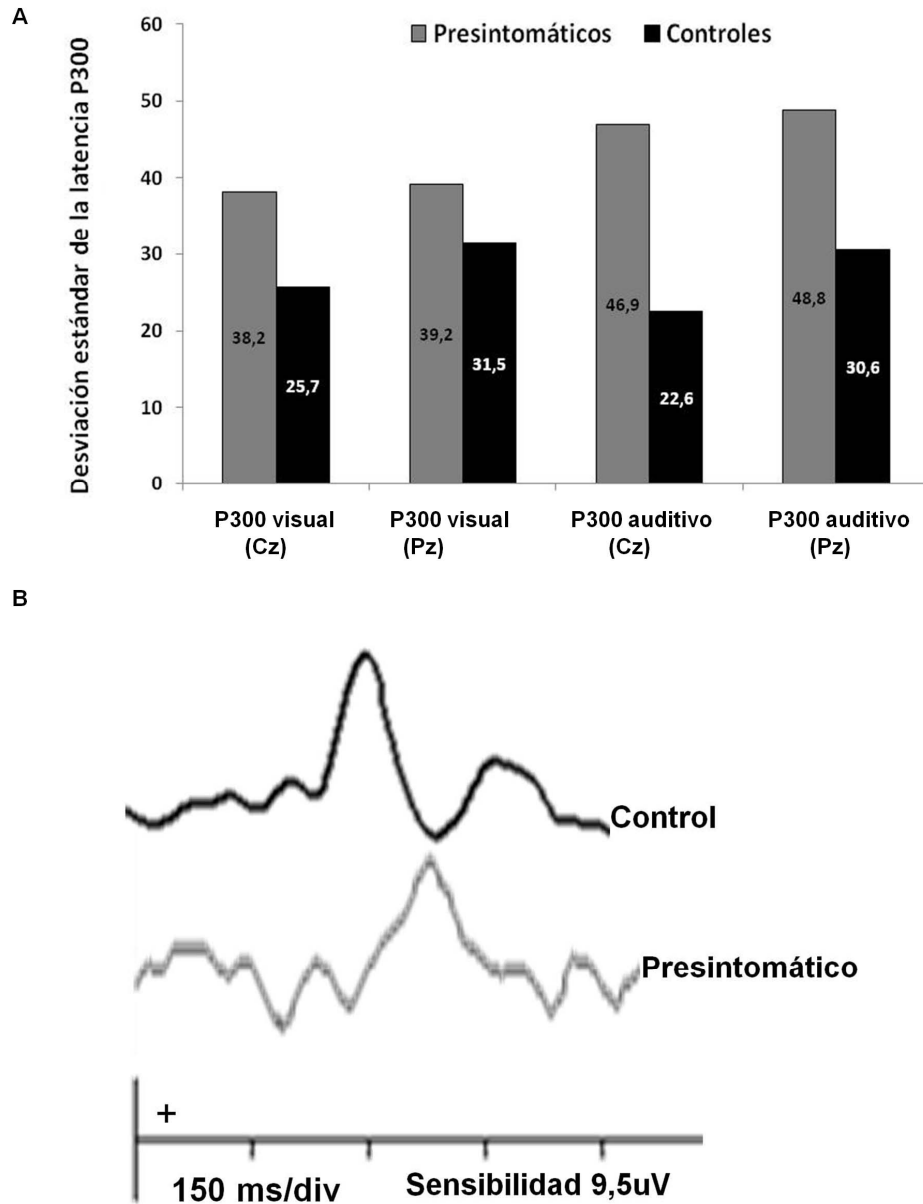


Figura 3. Alteraciones psicofisiológicas en presintomáticos de la SCA2 cubana. A) Incremento de la variabilidad de la latencia del componente P300 visual y auditivo registrado en Cz y Pz. B) Prolongación de la latencia P300 en un portador asintomático de la mutación SCA2 (en carmelita) de sexo masculino, edad de 25 años y 39 repeticiones del trinucleótido CAG en comparación con un sujeto control (en negro) del mismo sexo y edad.

Para identificar los posibles factores que generan la variabilidad encontrada en el grupo de los portadores se realizó un análisis de la influencia del tiempo previo para la manifestación de la enfermedad a través de un estudio de regresión simple. Este análisis reveló una correlación negativa significativa entre la latencia de los componentes P300 visual (Figura 4A) y auditivo (Figura 4B) y el tiempo previo al debut clínico.

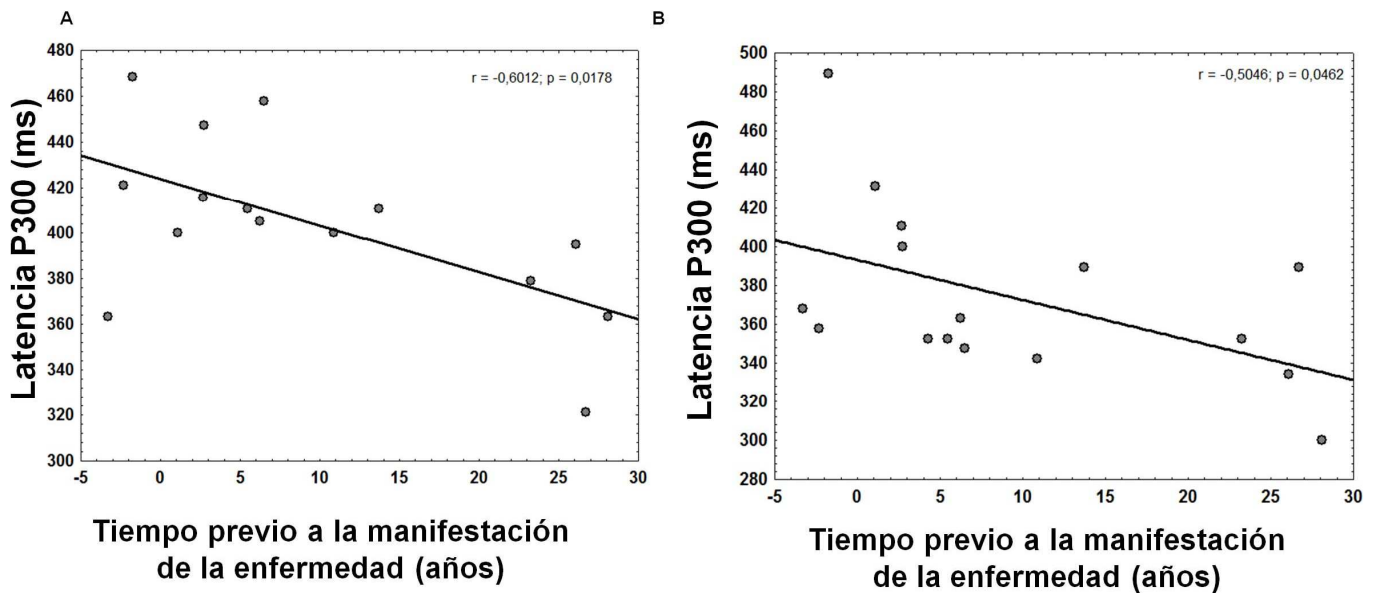


Figura 4. A) Análisis de regresión simple entre la latencia P300 visual y el tiempo previo a la manifestación de la enfermedad. B) Análisis de regresión simple entre la latencia P300 auditivo y el tiempo previo a la manifestación de la enfermedad.

Estos resultados indican que las capacidades de identificación, discriminación y categorización de estímulos, así como las habilidades para extraer las características relevantes de los mismos están afectadas en la SCA2 desde los estadios presintomáticos, lo que se evidencia por la elevada variabilidad observada para las latencias y las amplitudes. Las alteraciones preclínicas de las latencias del componente P300 reflejan trastornos en el procesamiento de la información visual y auditiva en los presintomáticos de la SCA2 mientras que las alteraciones de las amplitudes indican la desincronización de la información procedente de los diversos sitios generadores activados por la tarea que debe realizar el sujeto.

De manera general, las alteraciones cognitivas y psicofisiológicas identificadas en sujetos portadores asintomáticos de la mutación SCA2 representan manifestaciones fenotípicas que preceden al síndrome cerebeloso y son herramientas diagnósticas y pronósticas útiles ya que permiten estimar y sugerir el periodo más probable en que aparezcan las manifestaciones cerebelosas. Igualmente, estas alteraciones pueden ser susceptibles a tratamiento mediante un programa de neurorehabilitación cognitiva.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

1. BURK, K., GLOBAS, C., BOSCH, S., GRABER, S., ABELE, M., BRICE, A., DICHGANS, J., DAUM, I. & KLOCKGETHER, T. (1999) Cognitive deficits in spinocerebellar ataxia 2. *Brain*, 122 (Pt 4), 769-77.
2. BURK, K., GLOBAS, C., BOSCH, S., KLOCKGETHER, T., ZUHLKE, C., DAUM, I. & DICHGANS, J. (2003) Cognitive deficits in spinocerebellar ataxia type 1, 2, and 3. *J Neurol*, 250, 207-11.
3. COLES, M.G.H., RUGG, M.D. (1995) Event-related brain potentials: an introduction. In Coles MGH, ed. *Electrophysiology of mind*. Oxford: Oxford University Press; p. 1-26.
4. GAMBARDELLA, A., ANNESI, G., BONO, F., SPADAFORA, P., VALENTINO, P., PASQUA, A.A., MAZZEI, R., MONTESANTI, R., CONFORTI, F.L., OLIVERI, R. L., ZAPPIA, M., AGUGLIA, U. & QUATTRONE, A. (1998) CAG repeat length and clinical features in three Italian families with spinocerebellar ataxia type 2 (SCA2) early impairment of Wisconsin Card Sorting Test and saccade velocity. *J Neurol*, 245, 647-52.
5. KREMLACEK, J., VALIS, M., MASOPUST, J., URBAN, A., ZUMROVA, A., TALAB, R., KUBA, M., KUBOVA, Z. & LANGROVA, J. (2011) An Electrophysiological Study of Visual Processing in Spinocerebellar Ataxia Type 2 (SCA2). *Cerebellum*, 10,32-42.
6. KUTAS, M., HILLYARD, S.A. (1984) Event-related potentials in cognitive science. In Gazzaniga MS, ed. *Handbook of cognitive science*. New York: Plenum Press; p. 387-409.

7. LASTRES-BECKER, I., RUB, U. & AUBURGER, G. (2008) Spinocerebellar ataxia 2 (SCA2). *Cerebellum*, 7, 115-24.
8. LE PIRA, F., ZAPPALA, G., SAPONARA, R., DOMINA, E., RESTIVO, D., REGGIO, E., NICOLETTI, A. & GIUFFRIDA, S. (2002) Cognitive findings in spinocerebellar ataxia type 2: relationship to genetic and clinical variables. *J Neurol Sci*, 201, 53-7.
9. MCCARTHY, R.A.W. & ARRINGTON, E.K. (1990) Cognitive neuropsychology: a clinical introduction. London: Academic Press.
10. NELSON, HE. (1976). A modified card sorting test sensitive to frontal lobe defects. *Cortex*, 12, 313-24.
11. OROZCO, G., ESTRADA, R., PERRY, TL., ARANA, J., FERNANDEZ, R. & GONZALEZ-QUEVEDO, A. (1989) Dominantly inherited olivopontocerebellar atrophy from eastern Cuba. Clinical, neuropathological, and biochemical findings. *J Neurol*, 93, 37-50.
12. PASCUAL LÓPEZ, C., ALMÁRCEGUI LAFITA, I., MORALES BARA, I., DOLZ ZAERA, E., & DE VICENTE ÁLVAREZ, M. (1989) Potenciales evocados endógenos P300 en el trastorno de somatización: un estudio controlado. Eds Garcia L, Regan D in Human brain electrophysiology. Amsterdam: C. Elsevier.
13. PERIÁÑEZ, J.A. & BARCELÓ, F. (2004) Electrofisiología de las funciones ejecutivas. *Rev Neurol*, 38, 359-65.
14. REYNALDO-ARMINAN, R.D., REYNALDO-HERNANDEZ, R., PANEQUE-HERRERA, M., PRIETO-AVILA, L. & PEREZ-RUIZ, E. (2002) [Mental disorders in patients with spinocerebellar ataxia type 2 in Cuba]. *Rev Neurol*, 35, 818-21.

15. Shmahmann, J.D. & Sherman, J.C. (1998) The cerebellar cognitive affective syndrome. *Brain*, 4, 561-79.
16. SPREEN, O. & BENTON, A.L. (1969) Neurosensory center comprehensive examination for aphasia (NCCA). Victoria: University of Victoria, Neuropsychology Laboratory.
17. SPREEN, O. & STRAUSS, E. (1991) A Compendium of Neuropsychological Tests: Administration Norms, and Commentary. New York, NY: Oxford University Press.
18. STOREY, E., FORREST, S. M., SHAW, J. H., MITCHELL, P. & GARDNER, R.J. (1999) Spinocerebellar ataxia type 2: clinical features of a pedigree displaying prominent frontal-executive dysfunction. *Arch Neurol*, 56, 43-50
19. STROOP, J.R. (1935) Studies of interference in serial verbal reactions. *J. Exp Psych*, 18, 643 – 62.
20. SUTTON, S., BRAREN, M. & ZUBIN, J. (1965) Evoked Potentials correlate of stimulus uncertainty. *Science*; 150:1187-8.
21. TROJANO, L., CHIACCHIO, L., GROSSI, D., PISACRETA, A.I., CALABRESE, O., CASTALDO, I., DE MICHELE, G. & FILLA, A. (1998) Determinants of cognitive disorders in Autosomal Dominant Cerebellar Ataxia type 1. *J Neurol Sci*, 157, 162-7.

Capítulo 8. Aplicaciones de los estudios electrofisiológicos en las estrategias de intervención clínica

Publicado en:

- **Neurochem Res** (2011); 36:1793–1800 (*Factor de impacto: 2,608*)
- **Plasticidad y Restauración Neurológica** (2008); 7(1-2): 13-18
- **Cerebellum** (2012); (*Factor de impacto: 3.288*)

Como continuidad de los capítulos precedentes, nos referiremos a la aplicación de algunos estudios electrofisiológicos en las estrategias de intervención clínica. Como ejemplos, analizaremos las variables de los movimientos oculares sacádicos y el índice de movimientos periódicos de las extremidades, durante el sueño. Estos parámetros también se han utilizados como variables secundarias en ensayos clínicos.

Movimientos oculares sacádicos

Para el análisis de las aplicaciones de los movimientos oculares se incluyeron dos artículos, el primero aborda los principales hallazgos de un ensayo clínico fase II, monocéntrico, aleatorizado, controlado con placebo y a doble ciega, utilizando el sulfato de cinc como tratamiento. En esta investigación se evaluó el efecto del cinc sobre la latencia, desviación y velocidad sacádica como variables secundarias. Un resultado importante fue la reducción significativa de la latencia sacádica en los sujetos tratados con sulfato de cinc, aunque la velocidad y la desviación no mostraron cambios significativos. La disminución de la latencia sacádica pudiera relacionarse con la recuperación de las funciones cognitivas en estos pacientes, el efecto positivo de la rehabilitación y

la contribución del cinc en la remielinización de fibras nerviosas. El pobre efecto del tratamiento y la rehabilitación sobre la velocidad y la dismetría se debe a la severidad de estas alteraciones, las que son reflejo de la pérdida neuronal a nivel del tallo cerebral y el cerebelo.

El segundo artículo evalúa el efecto de la rehabilitación física y cognitiva en 96 enfermos. Estos recibieron 6 horas de rehabilitación diarias por espacio de 8 semanas. Los enfermos fueron evaluados antes de iniciar el tratamiento y al final del mismo. También se pudo demostrar que la latencia sacádica disminuyó significativamente al final del estudio al compararse con la evaluación basal.

Índice de movimientos periódicos de las extremidades

En la actualidad, no hay ningún tratamiento eficaz para modificar la progresión de la SCA2, aunque un número limitado de medicamentos puede ofrecer alivio de algunas manifestaciones sintomáticas. Por lo tanto, los esfuerzos para identificar nuevos blancos terapéuticos y biomarcadores debe ser una prioridad. En ese sentido, la video-polisomnografía (VPSG) se ha convertido en una herramienta sensible para la identificación de biomarcadores en la SCA2.

Los estudios VPSG revelan una alta prevalencia de los movimientos periódicos de las extremidades (MPE) en pacientes con SCA2, lo que se relaciona significativamente con la gravedad de la enfermedad. Los MPE en la SCA2 parecen ser causados por disfunción de los sistemas dopaminérgicos, lo que ha sido previamente demostrada por estudios de neuroimágenes. Por lo tanto, este trastorno del sueño podría ser sensible al tratamiento con agonistas de la dopamina.

Dentro de estos, el Lisuride es un agonista de la dopamina con alta afinidad por los receptores D2 y D1. Se ha utilizado para el tratamiento del síndrome de piernas inquietas en el curso de la enfermedad de Parkinson, sin eventos adversos significativos.

Teniendo en cuenta lo anterior decidimos realizar una investigación clínica usando 0,1 mg de lisuride, administrados por vía oral durante 4 semanas. Once de 12 pacientes (91,7%) mostraron disminución del índice de MPE lo que evidenció la eficacia de este medicamento para el tratamiento de este trastorno del sueño, en pacientes con SCA2.

Oral Zinc Sulphate Supplementation for Six Months in SCA2 Patients: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial

Luis Velázquez-Pérez · Jorge Rodríguez-Chanfrou · Julio Cesar García-Rodríguez · Gilberto Sánchez-Cruz · Raúl Aguilera-Rodríguez · Roberto Rodríguez-Labrada · Julio Cesar Rodríguez-Díaz · Nalia Canales-Ochoa · Dennis Almaguer Gotay · Luis E. Almaguer Mederos · José M. Laffita Mesa · Marlene Porto-Verdecia · Consuelo González Triana · Noemí Rodríguez Pupo · Idania Hidalgo Batista · Orestes D. López-Hernandez · Iverlis Díaz Polanco · Arelis Jayme Novas

Accepted: 3 May 2011 / Published online: 12 May 2011
© Springer Science+Business Media, LLC 2011

Abstract Cuban patients with Spinocerebellar Ataxia type 2 (SCA2) have reduced concentrations of zinc in serum and cerebrospinal fluid (CSF). To assess the effect and safety of zinc supplementation, 36 Cuban SCA2 patients were randomly assigned to receive daily either 50 mg ZnSO₄ or placebo, together with neurorehabilitation therapy in a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial during 6 months. Outcome measures included the changes of zinc levels in CSF and serum, ataxia score,

oxidative stress and saccadic eye movements. At the end of the study, the Zinc-treated group showed: (i) a significant increase of the Zn levels in the CSF, (ii) mild decrease in the ataxia scale subscores for gait, posture, stance and dysdiadochocinesia (iii) reduction of lipid's oxidative damage, and (iv) reduction of saccadic latency when compared with the placebo group. The treatment was safe and well tolerated by all subjects. This study demonstrated the efficacy and safety of Zn supplementation, combined with neurorehabilitation for SCA2 patients and therefore it may encourage further studies on the clinical effect of zinc supplementation in SCA2 based in the conduction of future clinical trials with higher number of subjects.

L. Velázquez-Pérez (✉) · G. Sánchez-Cruz · R. Aguilera-Rodríguez · R. Rodríguez-Labrada · J. C. Rodríguez-Díaz · N. Canales-Ochoa · D. A. Gotay · L. E. Almaguer Mederos · J. M. Laffita Mesa · C. G. Triana
Centro Para la Investigación y Rehabilitación de las Ataxias Hereditarias, Carretera Central Km 5 ½ Reparto Edecio Pérez, 80100 Holguín, Cuba
e-mail: cirahsca2@cristal.hlg.sld.cu

J. Rodríguez-Chanfrou · M. Porto-Verdecia · O. D. López-Hernandez · I. D. Polanco
Centro de Desarrollo e Investigación de Medicamentos, Habana, Cuba

J. C. García-Rodríguez
Centro Para la Producción de Animales de Laboratorio, Habana, Cuba

N. R. Pupo
Hospital Provincial de Medicina Natural y Tradicional, Holguín, Cuba

I. H. Batista
Hospital Clínico-Quirúrgico “Lucia Iñiguez Landín”, Holguín, Cuba

A. J. Novas
Instituto Nacional de Salud del Trabajo, Habana, Cuba

Keywords Spinocerebellar ataxia 2 · SCA2 · Zn supplementation · Clinical trial

Introduction

Spinocerebellar ataxia type 2 (SCA2) is an autosomal dominant disorder characterized by progressive cerebellar ataxia, slowing of horizontal saccadic eye movements, peripheral neuropathy, cognitive dysfunction and sleep disorders. The disease is caused by the expansion of CAG triplets in the coding region of the ATXN2 gene which produces a polyglutamine expansion in the protein ataxin 2, responsible for the neurodegenerative changes in the Purkinje cells of the cerebellum, pontine nuclei, inferior olives, somatosensory pathways, thalamus, substantia nigra, and other structures [1].

SCA2 reaches the highest prevalence rates in Holguin, Cuba where exist 40 cases per 10.000 inhabitants and almost 1.400 asymptomatic first-degree subjects resulting from a foundational effect [2].

Till now there are not effective therapeutical alternative against SCA2, in addition, only a small number of clinical trials are reported, usually with a few patients at advanced stage. Nevertheless several studies have reported new therapeutical targets and disease biomarkers useful to design of promising clinical trials [1, 3].

Cuban SCA2 patients have a significant reduction of Zn levels in the serum and CSF compared with controls [4]. Almost all SCA2 patients exhibit seric Zn values below the normal limits defined by the World Health Organization [5] and the normal cuban population [4]. These observations suggest that Zn deficiency may contribute to SCA2 symptoms. Given the critical role of Zn in neural development [6], modulation of synaptic plasticity and neuroprotection [7], we tested the hypothesis that Zn supplementation could be used as a treatment for SCA2. Indeed, a clinical trial including 36 SCA2 patients suggest that oral supplementation of Zn combined with neurorehabilitation, could effectively mitigate SCA2 symptoms and signs such as cerebellar ataxia, saccadic pathology and oxidative stress. These results provide the foundation for new therapeutical intervention of SCA2, and potential for other polyglutamine diseases.

Experimental Procedure

Study Design

Standard Protocol Approvals and Patient Consents

This study was a randomized, double-blind comparison of Zinc Sulphate (50 mg/day) and placebo during 6 months, conducted at the Center for Research and Rehabilitation of Hereditary Ataxias. The trial was conducted according to Good Clinical Practice guidelines and the Declaration of Helsinki. The protocol was approved by the local ethics committee and each patient provided written informed consent. A local data and safety monitoring board oversaw the study conduct and possible safety issues.

Dosage and Course Justification

This is the first clinical trial based in Zn supplementation for hereditary ataxias, thus there are not previous experiences about the dosage and course of the Zn treatment in these patients. The 50 mg/day dosage was chosen considering the significant reduction of Zn concentration in the serum and CSF of SCA2 patients. This dosage was consistent with the more commonly used Zn supplements (15–100 mg/d) [8], and it is not usually associated with significant effects of Zn toxicity as low copper status, altered iron function, reduced immune function, and

reduced levels of high-density lipoproteins [9]. Regarding the duration of the Zn supplementation, we chose 6 months in view of two main reasons. First, SCA2 is a very severe neurodegenerative disorder characterized by a marked progressive course [1]; therefore large periods of therapeutical protocols are necessary to detect some clinical or subclinical improvements. Second, some effects of Zn are gradual and require time too [10]. Indeed, many of clinical trials conducted in spinocerebellar ataxias or based in Zn supplementations have durations of 6 months or more [3, 10].

Patients

Inclusion Criteria

Patients with clinical and molecular diagnostic of SCA2; age between 18 and 60 years, irrespective of its sex and disease duration were included.

Exclusion Criteria

Exclusion criteria for participation were: advanced disease stages (wheelchair or bed confinement), systemic diseases (cardiac arrhythmias, hematologic diseases, hepatic disorders, renal dysfunctions), pregnancy or breastfeeding, severe psychiatric disorders, chronic alcohol abuse, hypersensitivity to Zinc Sulphaate, immuno-suppressive treatments and chirurgic treatment at least 6 months before the inclusion.

Outcome Measures

Zinc Levels in Serum and CSF

After informed consent, lumbar CSF and venous blood samples were taken from each fasted patient or control between 8.00 and 10.00 a.m. Lumbar puncture was performed (interspaces L3-L4 or L4-L5) in patients and in control subjects who underwent surgery with spinal anesthesia, without any known neurological or psychiatric disease. Blood samples were collected by venipuncture and centrifuged to obtain serum. For analysis, 2 ml CSF and 3 ml serum were employed. Serum and CSF samples were frozen at -60°C and protected from light exposure with aluminum foil until analysis.

An atomic absorption spectrophotometer (AAS) equipped with a graphite oven (all from Pye Unicam) was employed for the analysis of CSF Zn. CSF samples were centrifuged 5 min at 3,500 rpm and 500 μl of the supernatant fluid were appropriately diluted with nitric acid. The triplicates aspirations of the samples were averaged for calculations. The materials employed were previously cleansed overnight with 10% nitric acid (Merck AnalaR,

Germany) and rinsed more than 4 times with deionized distilled water.

Serum Zn was determined by AAS after a 1:9 dilution. The analysis included serum deproteinization to eliminate interference from proteins. Since Zn is read in the UV region (213.9 nm) a 140 M NaCl solution was added to the standards to simulate the matrix and the scatter effect. The lamps employed were of hollow cathode type. The standard curve was prepared employing standard solutions of each metal (SIGMA) under the same instrument conditions as the samples. All sample analysis was triplicates. The control serum displayed similar values as those proposed by the commercial producers.

Neurological Outcome

Severity of ataxia was measured by the Scale for the Assessment and Rating of Ataxia (SARA) [11] at the beginning of the treatment and 6 months afterwards. Total score and subscores were analyzed.

Oxidative Stress Parameters

All biochemical parameters were determined by spectrophotometric methods using an Ultrospect Plus Spectrophotometer from Pharmacia LKB. MDA concentrations were analyzed with the LPO-586 kit obtained from Calbiochem (La Jolla, CA., USA). In this assay, a stable chromophore is produced after 40 min of incubation at 45°C and measured at a wavelength of 586 nm using a Pharmacia Spectrophotometer. Freshly prepared solutions of malondialdehyde bis [dimethyl acetal] (Sigma, St. Louis, MO., USA) assayed under identical conditions were used as reference standards. Concentrations of malondialdehyde (MDA) in serum samples were calculated using the corresponding standard curve and values were expressed as μmol [12, 13]. Catalase (CAT) activity was measured by following the decomposition of hydrogen peroxide at 240 nm at 10 s intervals for 1 min [14]. Superoxide dismutase (SOD) was measured using pyrogallol as substrate. This method follows the superoxide-driven auto-oxidation of pyrogallol at pH 8.2 in the presence of EDTA. The assay mixture contained 1 mM EDTA in 50 mM Tris-HCl buffer (pH 8.2) with or without the sample. The reaction was started by the addition of pyrogallol (final concentration 0.124 mM) and the oxidation of pyrogallol was followed for 1 min at 420 nm. The percent inhibition of the auto-oxidation of pyrogallol by SOD present in the tissue sample was determined, and standard curves using known amounts of purified SOD (Sigma) under identical conditions were established. The SOD activity was defined as the amount that reduced the absorbance change by 50% [15]. The advanced oxidation protein products (AOPP) were

measured through the oxidation of iodide anion to diatomic iodine by AOPP using chloramine-T as reference [16].

Saccadic Movements Study

Horizontal saccades were recorded binocularly with a 2-channel Otscreen AC electronystagmograph (Jaeger-Toennies, 97204 Höchberg, Germany), using silver-silver chloride electrodes over right and left outer canthus. Saccades were triggered with a circular white target on a black background, subtending an angle of 0.7°. For each 10°, 30° and 60° predictable amplitude at least 10 centrifugal saccades in each direction were registered (bandpass filter of 0.02–70 Hz, time base of 1,000 ms/division, sensitivity of 200 μV /division, time constant of 8 s and sampling rate of 200 Hz). Before and after all recordings calibrations at a 30° angle were compared to control against artifacts. Saccade latency, saccade deviation and maximal saccade velocity (MSV) were obtained through the automated algorithm contained in the Otscreen software package.

Statistical Analyses

For descriptive statistics of continuous variables, means and standard deviations were calculated, whereas categorical variables were expressed as proportions. The normality of variables was evaluated by the Kolmogorov–Smirnov test. Comparisons between the zinc sulphate and placebo groups as well as between basal and final stages were assessed using repeated measures ANOVA followed by a post hoc Newman Keuls methods. Statistical significance was defined as $p < 0.05$. Frequencies of improvement of variables between both groups were compared using a Chi-square test. Correlation analyses were performed between changes of Zn levels and the other outcome variables. For these analyses the commercially available Statistica software package (StatSoft, Inc., 2003. STATISTICA data analysis software system, version 6. www.statsoft.com) was used.

Assessment of Safety and Tolerability

Blood parameters such as hematocrit, hemoglobin, erythrocytes, creatinine, cholesterol, TGP and TGO were performed by standard procedures in a specialized laboratory. The number, type, and severity of adverse events were registered.

Results

Sixty-four patients with clinical and molecular diagnosis of SCA2 were enrolled at the Centre for the Research and

Fig. 1 Flow diagram of participants in the clinical trial

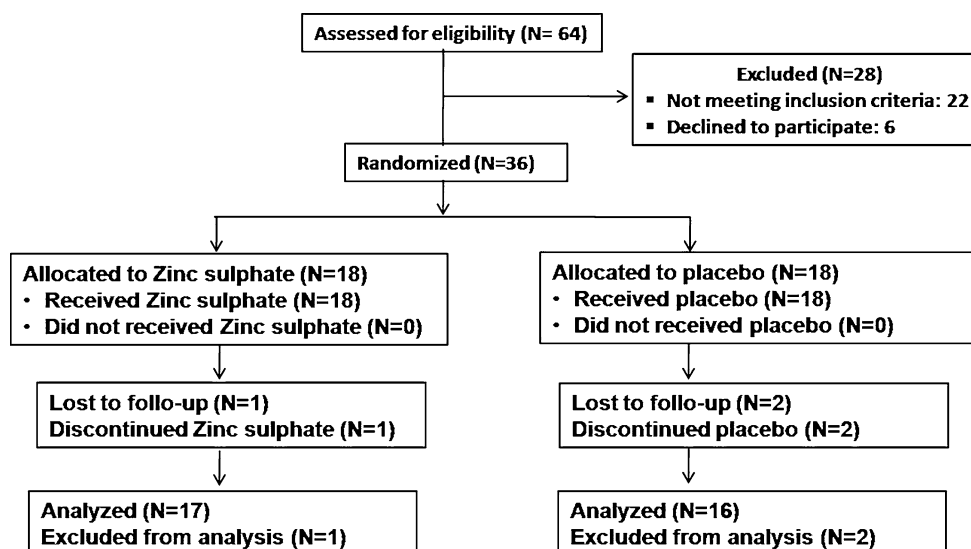


Table 1 Baseline features of enrolled SCA2 patients

Variables	Zinc sulphate Mean \pm SD (range)	Placebo Mean \pm SD (range)
Age	42.35 \pm 4.81 (33–51)	39.38 \pm 9.05 (18–58)
Age at onset	31.65 \pm 6.04 (23–45)	28.38 \pm 6.56 (15–42)
Disease duration	10.71 \pm 5.27 (3–18)	11.00 \pm 4.80 (2–19)
Expanded-alleles	38.94 \pm 2.22 (34–44)	39.88 \pm 3.24 (32–47)
Non-expanded alleles	22.00 \pm 0.00 (22–22)	22.00 \pm 0.00 (22–22)

Rehabilitation of Hereditary Ataxias, Holguin, Cuba. Twenty-two of them were excluded from the study because they do not meet the inclusion criteria and 6 individuals declined to participate. Within the remaining 36 SCA2 patients, 18 were randomly assigned to receive Zinc Sulphate and 18 to receive placebo. During the study 1 subject discontinued the zinc sulphate and 2 discontinued the placebo. All were excluded from the final analyses (Fig. 1).

No significant difference was found between the 2 groups in age, age at onset, disease duration as well as the size of expanded and unexpanded alleles (Table 1).

Zinc Levels

There was a highly increase of Zn level in serum in both groups at 3 and 6 months versus the baseline (Fig. 2a), nevertheless the main change of this oligoelement was significantly higher in the Zn group than placebo (Zn group: 12.81 \pm 5.26; Placebo: 8.28 \pm 5.46; $t = 2.43$; $p = 0.021$). The mean increase of Zn concentration in the treated group was 127.50% versus 87.71% in the placebo group. After 3 and 6 months of treatment, all subjects increased the seric Zn concentrations above the mean value defined in the Cuban healthy controls ($>9.80 \mu\text{mol/l}$) [4].

In the CSF, we observed a significant increase of Zn levels in the Zn group but not in the placebo group (Fig. 2b). As the serum, the mean increase of zinc levels was higher in the Zn group than placebo (Zn group: 0.08 \pm 0.03; Placebo: 0.02 \pm 0.02; $p > 0.0001$). All enrolled subjects increased the CSF Zn levels. The proportion of patients that reached the normal values of this parameter ($>0.12 \text{ mg/l}$) [4] was significantly higher in the Zn group (5 patients; 29.4%) than placebo group (no patients) ($\chi^2 = 33.9$; $p < 0.00001$).

Ataxia Score

Both groups showed a significant reduction of SARA score during the study without intergroup differences at baseline and final evaluation (Fig. 3a). Comparison of mean change in SARA total score and sub-scores revealed no differences between two groups. However, a significantly higher number of Zn-treated patients showed improvement in sub-scores like gait, posture, and stance than the placebo-treated (Fig. 3b).

Oxidative Parameters

Table 2 showed the ANOVA results of the oxidative parameters in serum during the study. The MDA concentration showed a significant decrease in the zinc group, compared with the placebo group. Nevertheless, the AOPP levels and the CAT/SOD enzymatic activity ratio were not significantly modified.

Correlation analyses between the changes of MDA and zinc levels in the serum disclosed a significant correlation between both parameters in the Zn group but no in the placebo group (Fig. 4).

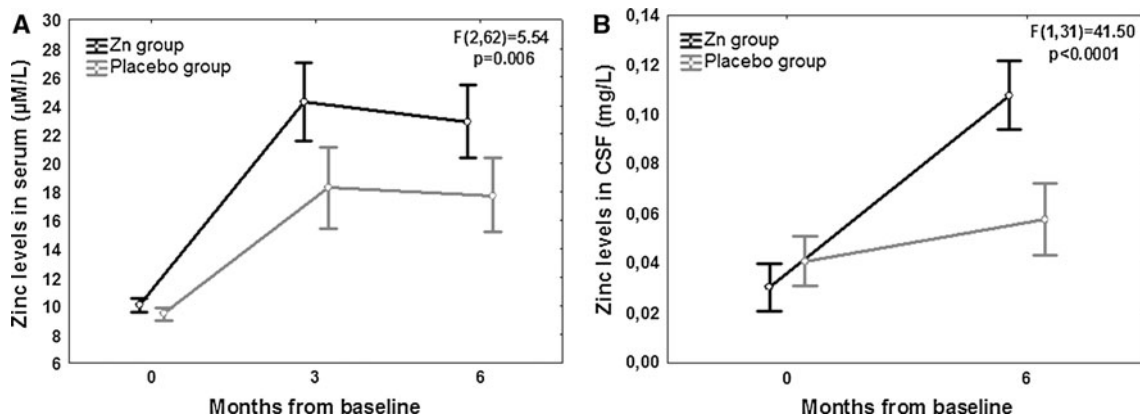


Fig. 2 Zinc levels in serum and CSF in Zinc-treated and placebo groups. **a** Repeated measures ANOVA for the Zinc levels in serum at baseline, 3 and 6 months of treatment. **b** Repeated measures ANOVA

for the Zinc levels in CSF at baseline and 6 months of treatment. The dark and grey lines Zn group and placebo group, respectively

Fig. 3 Effects of the zinc supplementation and the neurorehabilitation on the cerebellar syndrome. **a** Repeated measures ANOVA for the SARA score at baseline and 6 months of treatment. **b** Comparison of frequency of subjects that exhibit drops in the SARA subscores. The dark and grey lines or columns Zn group and placebo group, respectively

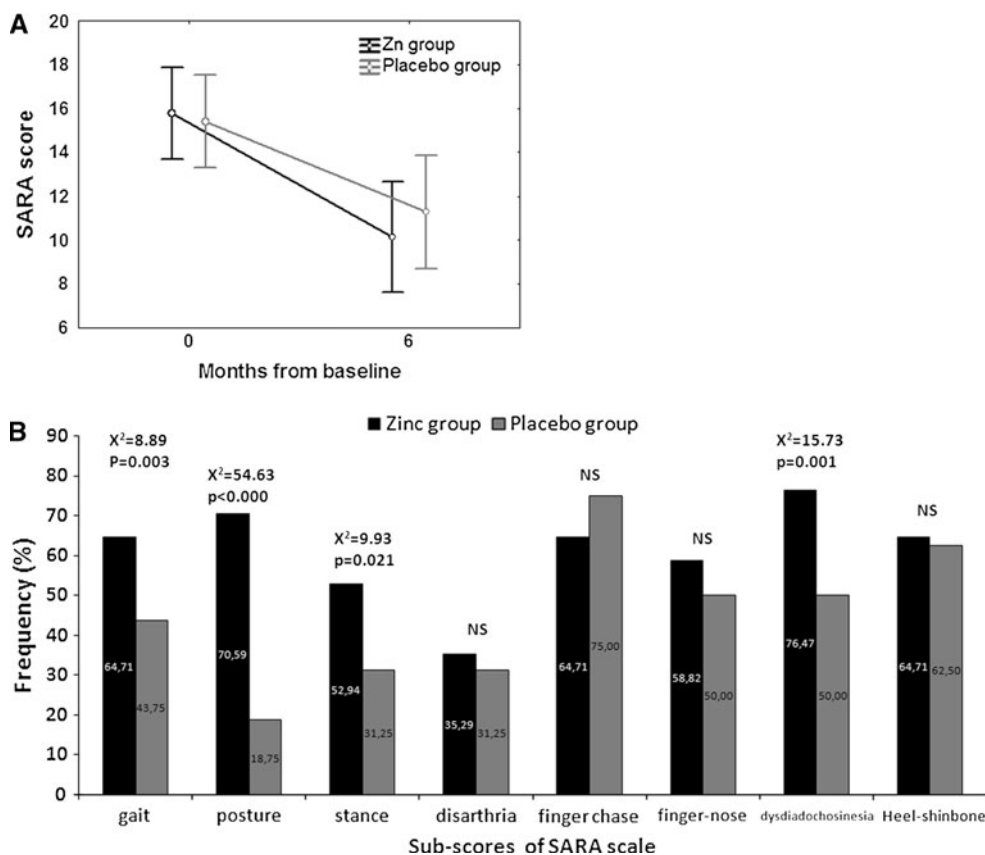


Table 2 Results of repeated measures ANOVA for the oxidative stress parameters at baseline and 6 months of treatment

Variables	Zinc			Placebo		
	Baseline Mean	Treatment Mean	p	Baseline Mean	Treatment Mean	p
MDA (µM)	6.35 ± 2.77	4.39 ± 2.05	0.007	4.55 ± 3.40	3.96 ± 1.35	ns
AOPP(µM)	103.5 ± 99.29	101.9 ± 103.2	ns	77.43 ± 70.91	59.99 ± 59.5	ns
CAT/SOD	0.01 ± 0.03	0.48 ± 0.08	ns	0.02 ± 0.05	0.07 ± 0.13	ns

MDA malondialdehyde, AOPP Advanced oxidation protein products, CAT Catalase, SOD Superoxide dismutase

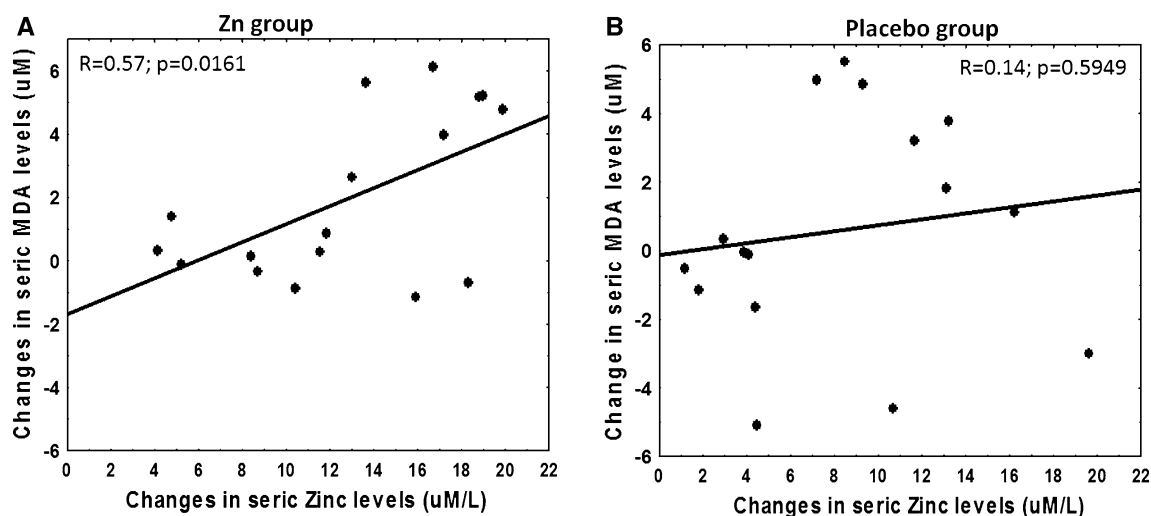


Fig. 4 Correlation between the changes in seric Zn levels and malondialdehyde (MDA) levels during the study in the Zn treated group (a) and placebo group (b)

Table 3 Results of repeated measures ANOVA for the saccadic parameters at baseline and 6 months of treatment

Saccadic variables	Zinc			Placebo		
	Baseline Mean	Treatment Mean	<i>p</i>	Baseline Mean	Treatment Mean	<i>p</i>
MSV (^o /segs)	191.52 ± 112.42	198.87 ± 152.83	ns	190.66 ± 156.58	166.36 ± 108.23	ns
Deviation (%)	86.34 ± 19.09	88.46 ± 22.26	ns	80.89 ± 19.59	83.29 ± 14.17	ns
Latency (ms)	301.63 ± 56.06	258.84 ± 56.13	0.001	280.92 ± 49.51	264.10 ± 46.48	ns

MSV Maximal saccade velocity

Saccadic Eye Movements

The analysis of saccadic eye movements disclosed a significant reduction ($p = 0.038$) in saccadic latency following zinc sulphate supplementation compared to the baseline study, whereas no differences were observed for this variable in the placebo group. Maximal saccadic velocity and saccadic deviation were unchanged in both experimental groups after the protocol (Table 3).

Safety Assessments

During the clinical trial were reported 19 adverse events in 8 patients. All adverse events were classified as mild events and only two of them were directly related with the treatment. There were not significant changes in the blood parameters of safety.

Discussion

The effect of Zn deficiency in the development and function of the cerebellum has been studied in animal models

and human beings. Cerebella from rat pups with severe Zn deficiency show decrease of granule cells, reduced arborization in Purkinje, basket and stellate cells and decrease of synapses between parallel fibers and dendrites of the Purkinje, basket and stellate cells [17, 18].

In this study we demonstrated that the daily supplement of 50 mg Zn during 6 months increase the levels of this metal in the CSF and the serum of SCA2 patients. For the CSF, all supplemented subjects increased their baseline Zn levels and nearly 30% of them reached the normal values defined for the Cuban population (>0.12 mg/l) [4]. In contrast, no patient of placebo group surpassed this threshold value. Nevertheless, for the serum, all subjects reached the normal Zn concentration for the Cuban population (~ 9.80 $\mu\text{mol/l}$) [4], regardless the Zn or placebo treatment, which is consistent with the significant increase of seric Zn in the placebo group. This result might be explained by a diet-effect because all patients kept hospitalized in a specialized institution during the protocol, where they received a balanced diet, with Zn rich foods and with no zinc-chelating phytates or other compounds that interfere the absorption of this metal. These findings indicate that a zinc-enriched diet might produce a significant

increase of circulating levels of Zn in blood, but not in the nervous system. Thus, the Zn supplementation protocols are mandatory to reduce the Zn deficiencies in CSF and therefore to treat the neurological features related with these deficiencies.

In both groups, the significant increase of Zn levels in the serum occurred during the first 3 months of the study, followed by a plateau, suggesting that SCA2 patients spared the homeostatic mechanisms that regulate the levels normal threshold, avoiding the toxic values. Also these findings revealed that the zinc deficiency in SCA2 patients is not caused by malabsorption but for environmental and/or other disease related factors.

Analyses of SARA scale demonstrated the significant reduction of total score in both groups which allow us not discriminate between the effect of Zn supplement and the neurorehabilitation on the cerebellar syndrome. Nevertheless the analysis of the proportion of patients that decreased the SARA sub-scores revealed a significant effect of Zn supplement on gait, posture, stance and dysdiadochocinesia without discard the effect of the neurorehabilitation on these cerebellar signs. These findings suggest that zinc, by itself, has limited effects on the SCA2 cerebellar syndrome. Nevertheless, based in the known role of Zn in the synaptic plasticity [19] and neuroprotection [7], we consider that this oligoelement have a positive role as enhancer of the neurorehabilitation effects on the cerebellum function.

Several findings indicate that Zn^{2+} display an important role in the antioxidant defenses of the cells since the deficiency of this metal is associated to oxidative damages to many cell components. For example, Zn deficiency caused increased susceptibility to oxidative stress in the testes of developing rats [20]. Similarly, in human neuroblastoma IMR-32, Zn deficient cells are more susceptible to iron-toxicity [21] and showed decreased cell viability and high levels of apoptotic cell death [22].

In this study, we found that 50 mg Zn supplementation significantly reduced lipid peroxidation in SCA2 patients after 6 months of treatment. In the Zn group, the patients with highest increments of zinc levels had less lipid peroxidation at the end of the study, which supports the protective effect of Zn supplementation against the lipid peroxidation. Like in SCA2 patients, the lipid peroxidation can be prevented by Zn administration in elderly subjects [23] and patients with Wilson Disease [24] and Type 2 Diabetes [25].

SCA2 patients show a severe saccadic pathology, characterized by saccadic slowing [26, 27], saccadic dysmetria [28] and prolongation of the saccadic latency [29]. In the present study, we observed a significant decrease of mean saccadic latency in the zinc group but the remaining alterations were unchanged. The prolongation of saccadic latency is closely related with the cognitive dysfunctions in

normal subjects [30] and SCA2 patients [29]. Therefore, we could to explain the reduction of this saccadic abnormality by the improvement of cognitive functions such as attention, concentration and frontal-executive functions. In fact there are several evidences about the effects of zinc deficiency on these cognitive functions [31]. In 1996, Golub et al. [32] reported attentional impairment at levels that did not cause growth retardation in moderately zinc-deprived monkeys. Also many children with Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder have reduced zinc levels compared to normal controls [33]. The non-significant changes in maximal saccadic velocity and saccadic deviation values in zinc group are in accordance with the nature and extension of these saccadic abnormalities in SCA2 patients. Saccadic velocity is strongly controlled by the CAG repeat size instead of environmental factors and it begin several years before the disease [26, 27] by that the degree of neurodegeneration in the saccadic pontine region is usually notable and therefore it is very difficult to change by mean this conventional pharmacological supplement in only 6 months.

In conclusion, the oral supplementation of 50 mg zinc sulphate during 6 months significantly increases the concentration of this metal both in serum and CSF of SCA2 patients, demonstrating that the Zn deficiency in these patients is not caused by absorption impairments but for environmental and/or other disease related factors. The increase of zinc levels was associated with mild improvement of cerebellar syndrome, the decrease of lipid peroxidation and the reduction of saccadic latency, indicating the efficacy of the zinc supplementation for the symptomatic treatment of SCA2 together the neurorehabilitation therapy. These results may encourage further studies on the clinical effect of zinc supplementation in SCA2 based in the conduction of future clinical trials that evaluated the effect on other disease features and higher number of subjects.

Acknowledgment We are grateful to the SCA2 patients, the Cuban Ministry of Health and the Iberoamerican multidisciplinary network for the movement disorders (RIBERMOV) for their cooperation.

References

1. Velázquez-Pérez L, Rodríguez-Labrada R, García-Rodríguez JC et al. (2011) Comprehensive review of spinocerebellar ataxia type 2. *Cerebellum* doi:10.1007/s12311-011-0265-2
2. Velazquez Perez L, Cruz GS, Santos Falcon N et al (2009) Molecular epidemiology of spinocerebellar ataxias in Cuba: insights into SCA2 founder effect in Holguin. *Neurosci Lett* 454(2):157–160
3. Underwood BR, Rubinsztein DC (2008) Spinocerebellar ataxias caused by polyglutamine expansions: a review of therapeutic strategies. *Cerebellum* 7(2):215–221
4. Gonzalez C, Sánchez G, Quevedo AG et al (2005) Serum and cerebrospinal fluid levels of copper, iron and zinc in patients with

- ataxia type SCA-2 from the province of Holguin in Cuba. *Therapeutic Basic Dial Clin Neurosci* 13(4):12–16
5. World Health Organization Committee (1996) Zinc. In: Trace elements in human nutrition and health. WHO, Geneva, pp 72–104
 6. Black MM (2003) The evidence linking zinc deficiency with children's cognitive and motor functioning. *J Nutr* 133:1473S–1476S
 7. Wall MJ (2005) A role for zinc in cerebellar synaptic transmission? *Cerebellum* 4:224–229
 8. Fosmire G (1990) Zn toxicity. *Am J Clin Nutr* 51:225–227
 9. Hooper PL, Visconti L, Garry PJ et al (1980) Zinc lowers high-density lipoprotein-cholesterol levels. *J Am Med Assoc* 244:1960–1961
 10. Haase H, Overbeck S, Rink L (2008) Zinc supplementation for the treatment or prevention of disease: Current status and future perspectives. *Exp Gerontol* 48:394–408
 11. Schmitz-Hubsch T, du Montcel ST, Baliko L et al (2006) Scale for the assessment and rating of ataxia: development of a new clinical scale. *Neurology* 66(11):1717–1720
 12. Esterbauer H, Cheeseman K (1990) Determination of aldehydic lipid peroxidation product: Malondialdehyde and 4-hydroxynonenal. *Meth Enzymol* 186:407–421
 13. Erdelmeier I, Gerard D, Yadan J et al (1998) Reactions of N-methyl-2-phenyl-indole with malondialdehyde and 4-hydroxyalkenals. Mechanistic aspects of the colorimetric assay of lipid peroxidation. *Chem Res Toxicol* 11(10):1184–1194
 14. Mannheim B (1987) *Biochemica information. A revised biochemical reference source enzymes for routine*, 1st edn. Boehringer Mannheim, Berlin, pp 15–16
 15. Shukla G, Hussain T, Chandra S (1987) Possible role of superoxide dismutase activity and lipid peroxide levels in cadmium neurotoxicity: in vivo and in vitro studies in growing rats. *Life Sci* 41:2215–2225
 16. Witko-Sarsat V, Gausson V, Descamps-Latscha B (2003) Are advanced oxidation protein products potential uremic toxins? *Kidney Int Suppl* 84:S11–S14
 17. Dvergsten CL, Fosmire GJ, Ollerich DA et al (1984) Alterations in the postnatal development of the cerebellar cortex due to zinc deficiency. II. Impaired maturation of Purkinje cells. *Brain Res* 318:11–20
 18. Dvergsten CL, Johnson LA, Sandstead HH (1984) Alterations in the postnatal development of the cerebellar cortex due to zinc deficiency. III. Impaired dendritic differentiation of basket and stellate cells. *Brain Res* 318:21–26
 19. Sensi SL, Paoletti P, Bush AI et al (2009) Zinc in the physiology and pathology of the CNS. *Nat Rev Neurosci* 10:780–791
 20. Oteiza PI, Olin KL, Fraga CG et al (1995) Zinc deficiency causes oxidative damage to proteins, lipids and DNA in rat testes. *J Nutr* 125:823–829
 21. Mackenzie GG, Keen CL, Oteiza PI (2002) Zinc status of human IMR-32 neuroblastoma cells influences their susceptibility to iron-induced oxidative stress. *Dev Neurosci* 24:125–133
 22. Mackenzie GG, Zago MP, Keen CL et al (2002) Low intracellular zinc impairs the translocation of activated NF- κ B to the nuclei in human neuroblastoma IMR-32 cells. *J Biol Chem* 277:34610–34617
 23. Bao B, Prasad A, Beck F et al (2010) Zinc decreases C-reactive protein, lipid peroxidation, and inflammatory cytokines in elderly subjects: a potential implication of zinc as an atheroprotective agent. *Am J Clin Nutr* 91(6):1634–1641
 24. Farinati F, Cardin R, D'Inca R et al (2003) Zinc treatment prevents lipid peroxidation and increases glutathione availability in Wilson's disease. *J Lab Clin Med* 141(6):372–377
 25. Marjani A (2005) Plasma lipid peroxidation zinc and erythrocyte Cu-Zn superoxide dismutase enzyme activity in patients with type 2 diabetes mellitus in Gorgan City (South East of the Caspian Sea). *Internet J Endocrinol* 2(1):1647–1648
 26. Velazquez-Perez L, Seifried C, Santos-Falcon N et al (2004) Saccade velocity is controlled by polyglutamine size in spinocerebellar ataxia 2. *Ann Neurol* 56(3):444–447
 27. Velazquez-Perez L, Seifried C, Abele M et al (2009) Saccade velocity is reduced in presymptomatic spinocerebellar ataxia type 2. *Clin Neurophysiol* 120(3):632–635
 28. Buttner N, Geschwind D, Jen JC et al (1998) Oculomotor phenotypes in autosomal dominant ataxias. *Arch Neurol* 55(10):1353–1357
 29. Rodríguez-Labrada R, Velázquez-Pérez L, Seifried C et al (2011) Saccadic latency is prolonged in spinocerebellar ataxia type 2 and correlates with the frontal-ecutive dysfunctions. *J Neurol Sci* doi:10.1016/j.jns.2011.03.033
 30. Hutton SB (2008) Cognitive control of saccadic eye movements. *Brain Cogn* 68(3):327–340
 31. Agget P, Harries J (1979) Current status of zinc in health and disease states. *Arch Dis Child* 54:909–917
 32. Golub M, Takeuchi P, Keen C et al (1996) Activity and attention in zinc-deprived adolescent monkeys. *Am J Clin Nutr* 64(6):908–915
 33. Arnold LE, DiSilvestro RA (2005) Zinc in attention-deficit/hyperactivity disorder. *J Child Adolesc Psychopharm* 15(4):619–627



Evaluación de la restauración neurológica en pacientes con ataxia SCA2 cubana

Julio César Rodríguez Díaz,*
 C. Luis Velázquez Pérez,*
 Gilberto Sánchez Cruz,*
 Luis Almaguer Mederos,*
 Dennis Almaguer Gotay,*
 Julio César García Fernández,**
 Roberto Rodríguez Labrada,*
 Héctor Osvaldo Soto Garcés*

- * Centro para la Investigación y Rehabilitación de las Ataxias Hereditarias (CIRAH). Holguín Cuba.
 ** Centro Nacional para la Producción de Animales de Laboratorio (CENPALAB). Holguín Cuba.

Solicitud de sobretiros:
 Julio César Rodríguez
 J. Departamento Neurorrehabilitación CIRAH.
 roberto@ataxia.hlg.sld.cu
 L. Departamento de Investigación en Ataxias Hereditarias
 Dr. C. Luis Velázquez
 ataxia@cristal.hlg.sld.cu
 Holguín, Cuba.

RESUMEN

Las ataxias hereditarias representan un problema de salud en Cuba, específicamente en la provincia de Holguín donde se concentra más del 80% de los enfermos y familiares en riesgo. El 73% de los enfermos y el 76% de los descendientes en riesgo que viven en Cuba pertenecen a la ataxia espinocerebelosa tipo 2 (SCA2, del inglés *Spinocerebellar Ataxia Type 2*). La SCA2 se caracteriza por un síndrome cerebeloso con predominio de los trastornos de la coordinación, la marcha, el habla y los movimientos oculares sacádicos, así como una neuropatía periférica temprana.

Se realizaron programas enfocados a la rehabilitación motora y neuro-cognitiva. Se realizó un estudio con 96 pacientes. El ADN fue aislado de con el «DNA Isolation kit» (Puregene - Genra Systems) a partir de leucocitos de sangre periférica. Fue realizada la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para la amplificación de la región con el segmento (CAG)_n del gen SCA2.

Los resultados del estadígrafo t de Student del análisis de varianza, en muestras pareadas, realizado a pacientes con SCA2 antes y después de la rehabilitación físico-motora, mostraron diferencias estadísticamente significativas para la variable integral de la maniobra de movimientos sacádicos y disdiadococinesia.

Se observó un incremento significativo en el porcentaje de los sujetos con valores de la integral menores o igual a 10.05 y una disminución de éstos para valores superiores a 47.54 después de la terapia de rehabilitación.

La mejoría experimentada desde el punto de vista clínico por los pacientes rehabilitados pudo relacionarse con la función del cerebelo en el aprendizaje motor, como ha sido demostrado en trabajos anteriores. Esto puede estar relacionado con fenómenos de neuroplasticidad a nivel del cerebelo.

PALABRAS CLAVE: Ataxia espinocerebelosa tipo 2, incoordinación disdiadococinesia, movimientos sacádicos, trastornos cardiacos, rehabilitación neurológica.

ABSTRACT

The Hereditary Ataxias represents a problem of health in Cuba, specifically in the province of Holguín where it concentrates more of 80% of the patients and relatives in risk. The 73% of the patients and 76% of the relatives are in risk that lives in Cuba. Belong to the spinocerebellous Ataxia Type 2 (SCA2, of the English *Spinocerebellar Ataxia Type 2*) SCA2 this Ataxia characterizes by a cerebellous syndrome with predominance of the upheavals of the coordination, the saccadic movements of the eyes, instability of walking, speech and ocular movements disorders, as well as an early peripheral neuropathy. The programs of rehabilitation focused to the motor, and the neuro-cognitive procedures. This study includes 96 patients. The DNA he was isolated

of with the «DNA Isolation kit» (Puregene - Gentra Systems) from leukocytes of peripheral blood. The reaction chain of polymerase (PCR), the amplification of the region with segment (CAG) was made in gene SCA2. The statistical results were Student's *t*, analysis of the variance, in twin samples made to patients with SCA2 before and after the physical-motor rehabilitation, showed to statistically significant differences for the Integral variable of the maneuver of saccadic movements and dysdiadococinetic. The percentage of the subjects with smaller values is significant in relation to evaluation before and after. The results were observed or equal increase 10.05 and one diminution of these for values superior to 47.54 after the rehabilitation therapy. The improvement experienced from the clinical point of view by the rehabilitated patients could be related to the function of the cerebellum in the motor learning, since it has been demonstrated in previous works. This can be associated with phenomena of neuroplasticity at cerebellum level.

KEY WORDS: Spinocerebellar ataxia type 2, incoordination, dysdiadococinetic, saccadic movement, cardiac disorders, neurologic rehabilitation.

Plast & Rest Neurol
2008;7 (1): 13-18

INTRODUCCIÓN

Las ataxias hereditarias representan un problema de salud en Cuba, específicamente en la provincia de Holguín donde se concentra más del 80% de los enfermos y familiares en riesgo. Existen casi 10 mil personas pertenecientes a 168 familias con algún tipo de ataxia, de los cuales 757 están enfermas. Como promedio, anualmente enferman 35 personas, fallecen 20 enfermos y nacen 22 niños portadores de la mutación. En la provincia de Holguín se estima una población de unos 5,533 individuos enfermos o en riesgo de enfermar, los que representan el 0.53% de la población total. En esta región, por cada 200 habitantes existe un sujeto enfermo o con riesgo de enfermar de ataxias hereditarias.^(1,2)

El 73% de los enfermos y el 76% de los descendientes en riesgo que viven en Cuba pertenecen a la ataxia espinocerebelosa tipo 2 (SCA2, del inglés *Spinocerebellar Ataxia Type 2*), una de las 28 formas moleculares de ataxias autosómicas dominantes que actualmente se conocen. Este subtipo de SCA se produce por una expansión del trinucleótido CAG en el primer exón del gen SCA2, localizado en el brazo largo del cromosoma 12. Como consecuencia de esta mutación se produce una proteína poliglutamínica que adquiere propiedades tóxicas.⁽³⁾

La SCA2 se caracteriza por un síndrome cerebeloso con predominio de los trastornos de la coordinación, la marcha, el habla y los movimientos oculares sacádicos, así como una neuropatía periférica temprana.^(3,4) En el año 2001, Sánchez et al. identificaron un síndrome disautonómico en pacientes con SCA2, caracterizado por un estado de hiperreactividad simpática y alteraciones parasimpáticas.⁽⁵⁾ En enfermos cubanos con SCA2 se ha demostrado la presencia de marcadores de estrés oxidativo, lo que sugiere una disfunción en uno o varios mecanismos endógenos de protección antioxidante.⁽⁶⁾

Recientemente, en el año 2004, Velázquez et al. identificaron a la velocidad sacádica como la variable endofenotípica que mejor caracteriza a esta enfermedad, cuya dismi-

nución está significativamente controlada por el tamaño de la expansión de CAG.⁽⁷⁾

La neurorrehabilitación es la única estrategia terapéutica que en la actualidad se brinda a los sujetos enfermos de SCA2. Ésta tiene el objetivo de recuperar en parte las capacidades físicas, coordinativas y psicológicas que son deterioradas por la neurodegeneración asociada a esta enfermedad.

En el Centro de Ataxia de Holguín se aplica un Programa de Neurorrehabilitación Integral para las Ataxias Hereditarias, con el cual se han beneficiado más de 600 enfermos, en su mayoría portadores de la SCA2.^(8,9) Este programa se ha generalizado en la provincia de Holguín a los niveles comunitario y domiciliario. Actualmente se trabaja en su aplicación a sujetos presintomáticos portadores de la mutación, con el objetivo de retardar la edad de inicio y el curso evolutivo de la enfermedad.

Aunque actualmente se le concede una mayor importancia a la terapia rehabilitadora en el tratamiento de afecciones neurológicas, basados en las evidencias de la neuroplasticidad,^(10,11) no se cuenta con un sistema de evaluación objetivo del Programa de Neurorrehabilitación que se aplica en el Centro de Ataxia. Por tal razón, en este trabajo presentamos los resultados de un sistema de evaluación que permite comprobar cuantitativamente la restauración neurológica como efecto de la neurorrehabilitación de los pacientes con SCA2 tratados en nuestro centro.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó un estudio de tipo transversal en 96 pacientes con diagnóstico clínico y molecular de SCA2 ingresados, previo consentimiento informado, en el Centro de Ataxia de Holguín, Cuba. Los sujetos se seleccionaron aleatoriamente, 34 del sexo femenino y 62 del masculino, con edades comprendidas entre 16 y 68 años (media de 39.3 años) y tiempo de evolución entre 1 y 21 años (promedio de 12.4 años).

Los pacientes fueron sometidos a una evaluación inicial previo inicio del ciclo de rehabilitación, el que se extendió

durante 8 semanas. Se realizaron sesiones diarias de 6 horas con ejercicios físicos, del habla, defectológicos y para la rehabilitación cognitiva. Se tuvieron en cuenta las potencialidades físicas individuales de cada paciente con el objetivo de dosificar correctamente la carga física y su duración. Al término de las 8 semanas se realizó la reevaluación final para cuantificar los efectos del programa de rehabilitación.

ESTUDIOS REALIZADOS

Cuantificación de la expansión poliglutamínica

El ADN fue aislado con el «DNA Isolation kit» (Puregene – Genra Systems) a partir de leucocitos de sangre periférica. Fue realizada la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para la amplificación de la región con el segmento (CAG)_n del gen SCA2 usando los siguientes cebadores previamente publicados: DAN1 (5'-cgtgagcgggtgtatggg-3', con fluorescencia Cy5) y UH10 (5'-ggcgagcctagaaggccgct-3'). Las reacciones de PCR fueron realizadas en un Termociclo-9600 de la firma Perkin Elmer de acuerdo con el siguiente protocolo: 1 ciclo a 95 °C por 4 minutos, 35 ciclos a 94 °C por 1 minuto, 65 °C por 1 minuto y 72 °C por un minuto, y un último ciclo a 72 °C por 10 minutos, usando el kit «Ready to Go» (Amersham Pharmacia Biotech). Los tamaños de los productos de PCR fueron determinados por electroforesis en gel de poliacrilamida polimerizable por luz UV en un secuenciador automático ALFexpress II (Amersham Pharmacia Biotech) utilizando el SIZER de 50-500 pb como patrón externo de peso molecular, y los SIZER de 100 y 300 pares de bases como patrones internos de peso molecular. Para el control de la corrida electroforética y colección de datos se utilizó el software ALFwinä Sequence Analyser 2.00, y para el análisis de datos y la estimación del tamaño de los alelos se utilizó el software AlleleLinksä 1.00 (Amersham Pharmacia Biotech).

Escala clínica de Tinetti

Este instrumento, validado internacionalmente, se utilizó para evaluar los principales trastornos de la marcha y el equilibrio. Su puntuación total es de 28 puntos, 16 para el equilibrio y 12 para la marcha. A menor puntuación, mayor será el grado de afectación de dichas funciones. La misma se aplicó al inicio y final del tratamiento de rehabilitación.⁽¹²⁾

ESTUDIO DE NEUROLOGÍA CUANTITATIVA

Diadococinecia

Se evaluó la ejecución de movimientos rápidos, rítmicos y alternantes de supinación-pronación y viceversa de ambas manos, pidiéndose al investigado que se golpeará el muslo con las manos, alternando al golpear con la palma y el dorso.

Para realizar este examen se utilizó un programa computarizado y un par de guantes diseñados para el efecto, adaptables al tamaño de la mano del sujeto y con interruptores a nivel del dorso y de la palma de ambas manos. Los interruptores funcionaron como sensores capaces de detectar el contacto entre el dorso o la palma de la mano y la superficie que se golpeó. Para hacer este ejercicio a ritmo más o menos constante el sujeto se orientó por la señal sonora que proporcionaba la computadora a una frecuencia de 1 Hz. La prueba se realizó con los ojos abiertos.

Se midió el valor máximo y la desviación estándar (variabilidad) del tiempo que media entre un golpe y otro para cada mano, así como la Integral, que no es más que la suma de la diferencia al cuadrado de cada golpe respecto al promedio. Teniendo esto en cuenta, si el ejercicio es regular, con una periodicidad constante, la Integral tenderá a ser 0; si existen grandes diferencias, este resultado crecerá enormemente.

Estudio movimientos oculares sacádicos

El registro se realizó con electrodos de plata clorurados (electrodo activo en el canto externo derecho, referencia en el canto externo izquierdo) en un electronistagmógrafo (Otoscreen AC electronystagmograph) de 2 canales (Jaeger-Toennies, D-97204 Höchberg, Germany) con un filtraje de 0.02-70 Hz, sensibilidad de 200 µV/división, tiempo de análisis de 1,000 ms/división, frecuencia de muestreo de 200 Hz. Se obtuvieron 10 sácadas horizontales derechas e izquierdas. Se registraron sácadas a diferentes amplitudes (10°, 20°, 30° y 60°). Para el control de los artefactos se utilizó una calibración a 30 grados antes y después de cada registro.

El análisis de las sácadas se realizó mediante la obtención de la velocidad sacádica máxima de cada paciente, así como el promedio.

Determinación de la variabilidad de ritmo cardiaco

Se midió la presión arterial latido por latido y la variabilidad de la frecuencia cardiaca y los intervalos R-R durante la respiración espontánea y durante frecuencias respiratorias definidas y durante una maniobra Valsalva estandarizada, con el electrocardiógrafo PASEK. Se determinaron los parámetros dominantes de tiempo y frecuencia.

Determinación de la actividad de la glutatión-s-transferasa (GST)

Se extrajeron 10 ml de sangre venosa periférica en horas de la mañana, antes de ingerir alimentos. De cada muestra de sangre se extrajo el suero, en el que se determinó la actividad de la glutatión-s-transferasa según el método descrito por Habig.⁽¹³⁾ El estudio se realizó en el Laboratorio de Estrés Oxidativo del CIRAH.

Análisis estadístico

Todas las variables analizadas fueron incluidas en una base de datos en el Sistema Estadístico «Statistica for Windows» (Release 6.1, 2003). Se realizó análisis de varianza univariado (ANOVA) con Test de Separación de medias de Newman Keulls para las diferentes variables que evaluaron la restauración neurológica y se realizó una distribución de frecuencias simples de algunas de estas variables. También se realizó un análisis de correlación de Spearman entre las variables utilizadas para la evaluación de la restauración neurológica con las variables generales y moleculares. Se utilizó un nivel de significación $\alpha = 95\%$ ($p < = 0.05$).

RESULTADOS

Escala clínica de Tinetti

La comparación de medias de las variables de la escala de Tinetti, antes y después de la rehabilitación, demostró un incremento significativo del valor total de la misma ($p = 0.000$) posterior a la rehabilitación (Figura 1).

Evaluación de neurología cuantitativa (Diadococinesia)

Los resultados del estadígrafo t de Student del análisis de varianza, en muestras pareadas, realizado a pacientes con SCA2 antes y después de la rehabilitación físico-motora, mostraron diferencias estadísticamente significativas para la variable integral de la maniobra diadococinesia (Cuadro I).

Se observó un incremento significativo en el porcentaje de los sujetos con valores de la integral menores o igual a 10.05 y una disminución de éstos para valores superiores a 47.54 después de la terapia de rehabilitación.

Movimientos oculares sacádicos

El análisis de varianza de las latencias de los movimientos oculares sacádicos, antes y después de la rehabilitación, mostró cambios significativos en las latencias sacádicas. ($P = 0.001$) (Figura 2). No se observó mejoría en la velocidad ni en la desviación sacádica.

Variabilidad del ritmo cardiaco

Aunque se observó una ligera tendencia a la mejoría de este parámetro después del ciclo de rehabilitación, no se encontró significación estadística en la comparación de medias.

5. Variable bioquímica

La comparación de medias de la actividad de la GST en el suero evidenció un incremento significativo ($p = 0.010$) de la misma posterior a la rehabilitación (media de 0.000132 antes de rehabilitar y 0.000164 después) (Figura 3).

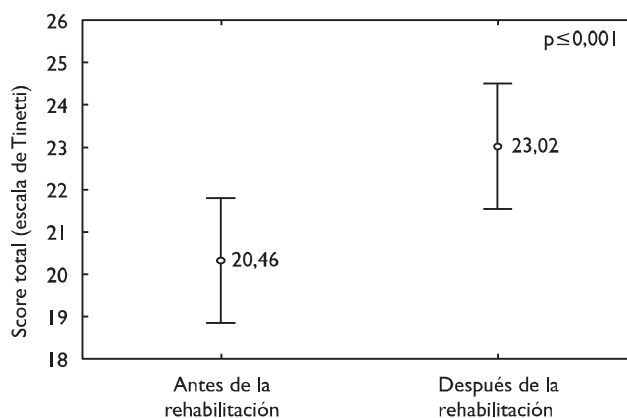


Figura 1. Comparación de medias del score total de la Escala de Tinetti en los enfermos antes y después de rehabilitarse.

Cuadro I. Resultados del análisis de varianza de la integral de neurología cuantitativa realizado en pacientes con SCA2 antes y después de la rehabilitación físico-motora

	Integral	
	Antes de la rehabilitación	Después de la rehabilitación
Media	131.58	76.09
Error estándar	23.29	13.33
t de Students		2.337
p		0.023

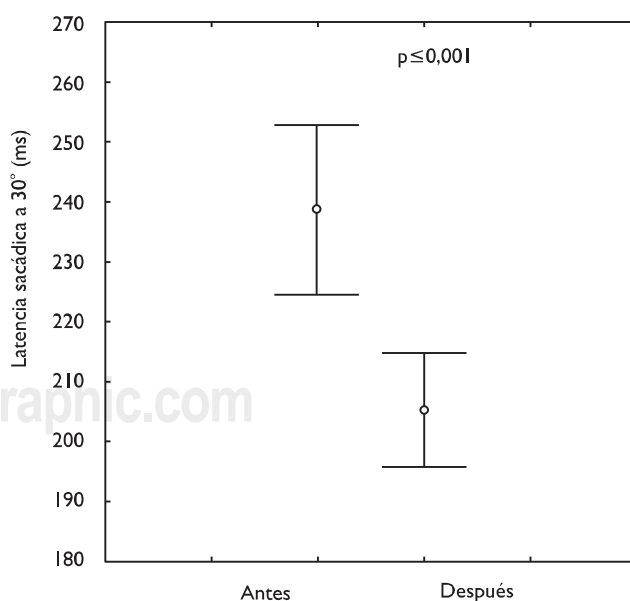


Figura 2. Disminución de la latencia sacádica en pacientes con SCA2 sometidos a un ciclo de re-rehabilitación.

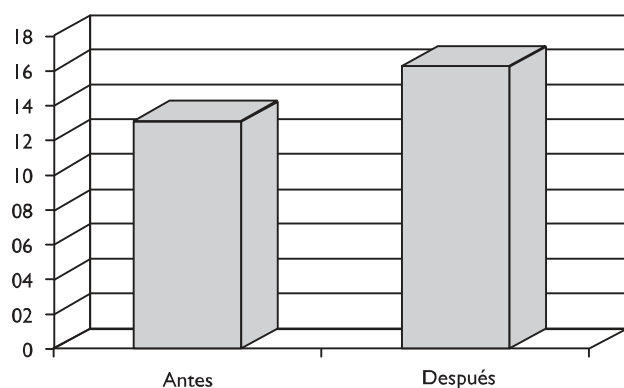


Figura 3. Incremento de la actividad enzimática de la GST en el suero de pacientes con SCA2 sometidos a un ciclo de rehabilitación.

DISCUSIÓN

En la medida que aumentan el tiempo de evolución, la descoordinación motora, los trastornos de la marcha y la estabilidad postural aumenta el grado de incapacidad de los enfermos. También en la medida que la enfermedad inicia más temprano o que el tiempo de evolución y el número de CAG son mayores se produce un incremento de los trastornos de la marcha y el equilibrio. La escala de Tinetti⁽¹²⁾ se usa para la evaluación de los trastornos motores de pacientes con trastornos del movimiento y el efecto de la rehabilitación en estas patologías; no obstante, en la bibliografía revisada no se encontraron reportes de haberse utilizado en la SCA2. De igual manera, esta escala permitió evaluar objetivamente el beneficio que la rehabilitación ejerció sobre los sistemas neuromusculares que regulan la marcha, la coordinación y el equilibrio en los enfermos de SCA2.

La mejoría experimentada desde el punto de vista clínico por los pacientes rehabilitados pudo relacionarse con la función del cerebelo en el aprendizaje motor, como ha sido demostrado en trabajos anteriores.⁽¹⁴⁻¹⁶⁾ Esto puede estar relacionado con fenómenos de neuroplasticidad a nivel del cerebelo.

La identificación de variables electrofisiológicas como marcadores endofenotípicos preclínicos de la expresión clínica de la SCA2 constituye una investigación de gran importancia, debido a su aplicación en el asesoramiento genético de los familiares que optan por el diagnóstico presintomático; es la búsqueda de una variable respuesta sensible que permita evaluar la efectividad de la terapia y la selección de los enfermos o presintomáticos con factores moleculares.

El incremento de la latencia traduce un retardo en la iniciación del movimiento. Esta anomalía se produce debido a la lesión de las estructuras que intervienen en la generación de las sacadas; por ejemplo, se han detectado alteraciones de la latencia en lesiones frontales unilaterales de la corteza parietal posterior con aumento de las latencias de los sacádicos visualmente guiados, que son más pronunciadas en las lesiones del hemisferio derecho. Sin em-

bargo, las lesiones parietales también disminuyen la precisión de los sacádicos memorizados.⁽¹⁷⁻²⁷⁾

La disminución de la latencia sacádica en pacientes con SCA2 rehabilitados puede relacionarse con la modulación de las funciones corticales, fundamentalmente las frontoejecutivas, relacionadas con la atención, la concentración y la memoria.⁽¹⁷⁻²⁷⁾

La pérdida de la variabilidad del ritmo cardíaco en los pacientes con SCA2 es muy marcada;⁽²⁸⁾ la magnitud de esta afectación puede ser la causa por la que no observamos mejoría significativa en el mismo después de la rehabilitación.

Las enfermedades neurodegenerativas se asocian con el estrés oxidativo y la neurotoxicidad.^(29,30) Dentro de las enfermedades genéticas, específicamente en las ataxias, resultados recientes indican que la expansión de determinados genes puede alterar los sistemas antioxidantes y detoxificantes.⁽²⁹⁾ En el año 2002, Delgado et al.⁽⁶⁾ reportaron una disminución significativa de los niveles de GSH y un incremento de los niveles de MDA, un producto de la peroxidación lipídica, en el suero de un grupo de sujetos enfermos de SCA2 cubana comparada con un grupo control. Por otra parte, encontraron disminución significativa de la actividad específica de la GST en el suero y LCR de los pacientes con SCA2. Estos resultados indicaron una disminución de la capacidad de defensa ante el desbalance tóxico y oxidativo en estos enfermos.

Se conoce que el ejercicio intenso y agudo desencadena la producción excesiva de radicales libres, lo cual conduce al establecimiento del estado de stress oxidativo.⁽³¹⁾ Esta situación no se presenta ante ejercicios moderados correctamente dosificados y sistemáticos, como los que se aplican en el programa integral de rehabilitación de la SCA2.

En los pacientes rehabilitados se incrementa la actividad enzimática de la GST, por lo que es probable que la dosificación adecuada de la carga física esté potenciando la respuesta antioxidante enzimática.

CONCLUSIONES

Nuestros resultados indican que la rehabilitación neurológica mejora significativamente los principales signos clínicos de la SCA2, así como los mecanismos endógenos de la neuroprotección. El sistema de evaluación de la rehabilitación evidencia que las funciones que responden favorablemente al tratamiento son la marcha, el equilibrio, la coordinación, la estabilidad postural y las funciones frontoejecutivas.

REFERENCIAS

1. Velázquez PL, Santos FN, García R, Paneque HM, Hechavarría PR. Epidemiología de la ataxia hereditaria cubana. *Rev Neurol* 2001;32:606-611.
2. Velázquez L, Santos FN, García R, Paneque HM, Medina HE, Hechavarría PR. Las ataxias hereditarias en Cuba. Aspectos

- históricos, epidemiológicos, clínicos, electrofisiológicos y de neurología cuantitativa. *Rev Neurol* 2001;32:71-76.
3. Stevanin G, Bouslam N, Thobois S, Azzedine H, Ravaux L, Boland A et al. Spinocerebellar ataxia with sensory neuropathy (SCA25) maps to chromosome 2p. *Ann Neurol* 2004;55(1):97-104.
 4. Orozco DG, Nodarse FA, Cordovés R, Aurburger G. Autosomal dominant cerebellar ataxia: Clinical analysis of 263 patients from a homogeneous population in Holguín, Cuba. *Neurology* 1990;40(90):1369-1375.
 5. Sánchez-Cruz G, Velásquez-Pérez L, Gómez-Peña L, Martínez-Góngora E, Castellano-Sánchez G, Santos-Falcón N. Manifestaciones disautonómicas en pacientes con ataxia espinocerebelosa tipo 2 cubana. *Rev Neurol* 2001;33(5):428-434.
 6. Delgado R, García JCC, Márquez L, Martínez I, Rodríguez Y, Garrido G et al. Estudio de algunos parámetros relacionados con el equilibrio redox en pacientes atáxicos tipo SCA2 de la provincia de Holguín. *Rev Cub Farmacia* 2002;36(1):50-52.
 7. Velázquez-Pérez L, Seifried C, Santos-Falcón N, Abele M, Ziemann U, Almaguer LE et al. Saccade velocity is controlled by polyglutamine size in spinocerebellar ataxia 2. *Ann Neurol* 2004;56(3):444-447.
 8. Paneque MH, Reynaldo AR, Velásquez-Pérez L, Santos FN, Miranda HE, Real PN et al. Ataxia espinocerebelosa tipo 2: una experiencia en la rehabilitación psicológica. *Rev Neurol* 2001;33 (11):1001-1005.
 9. Pérez-Ávila I, Fernández-Vieitez JA, Martínez-Góngora E, Ochoa-Mastrapa R, Velásquez-Manresa MG. Efectos de un programa de ejercicios físicos sobre variables neurológicas cuantitativas en pacientes con ataxia espinocerebelosa tipo 2 en estadio leve. *Rev Neurol* 2004;39(10):907-910.
 10. Citri A, Malenka R. Synaptic plasticity: multiple forms, functions, and mechanisms. *Neuropsychopharmacol Rev* 2008;33:18-41.
 11. Pittenger C, Duman R. Stress, Depression, and neuroplasticity: A convergence of mechanisms. *Neuropsychopharmacol Rev* 2008;33:88-109.
 12. Tinetti ME. Performance-oriented assessment of mobility problems in elderly patients. *J Am Geriatr Soc* 1986;34:119-126.
 13. Habig WH, Pabst JJ, Jakoby WB. Glutathione S transferases: The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J Biol Chem* 1974;29(22):7130-7139.
 14. Galen K. *Opera Omnia*. Leipzig Cnobloch 1821;3:637.
 15. Klippel M, Durante G. Contribution a l'étude des affections nerveuses familiale et héréditaires. *Rev Med (Paris)* 1892;12:745-85.
 16. Robinson F, Fuchs FR. The role of the cerebellum in voluntary eye movements. *Annu Rev Neurosci* 2001;24:981-1004.
 17. Leigh RJ, Newman SA, Folstein SE, Lasker AG, Jensen BA. Abnormal ocular motor control in Huntington's disease. *Neurology* 1983;33:1268-1275.
 18. Beenen N, Büttner U, Lange HW. The diagnostic value of eye movement recording in patients with Huntington's disease and their offspring. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1986;63:119-127.
 19. Leigh RJ, Newman SA, Folstein SE, Lasker AG, Jensen BA. Abnormal ocular motor control in Huntington's disease. *Neurology* 1983;33:1268-1275.
 20. Pierrot-Deseilligny C. Contrôle cortical des saccades. *Rev Neurol* 1989;145:596-604.
 21. Ikeda Y, Noda H, Sugita S. Olivocerebellar and cerebellolivary connections of the oculomotor region of the fastigial nucleus in the macaque monkey. *J Comp Neurol* 1989;284:463-488.
 22. Fujikado T, Noda H. Saccadic eye movements evoked by microstimulations of lobule VII of the cerebellar vermis of macaque monkeys. *J Physiol (Lond)* 1987;394:573-594.
 23. McElligot JG, Keller EL. Cerebellar vermis involvement in monkey saccadic eye movements: Microstimulation. *Exp Neurol* 1984;86:543-558.
 24. Brigell MG, Goodwin JA, Lorange R. Saccadic latency as a measure of afferent visual conduction. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1988;29:1331-1338.
 25. Ohya T, Nores WL, Murphy M, Mauk MD. What the cerebellum computes. *TRENDS in Neurosciences* 2003;26(4):222-227.
 26. Ramat S, John R, Zee DS, Optica L. What clinical disorders tell us about the neural control of saccadic eye movements. *Brain* 2007;130:10-35.
 27. Soong BV, Link KP. Correlation of peripheral nerve fiber loss and trinucleotide repeats in Machado-Joseph disease. *Can J Neurol Sci* 1998;25(1):59-63.
 28. Velásquez L. Variabilidad del ritmo cardíaco y respuesta simpática de la piel en enfermos de ataxia espinocerebelosa tipo 2. En: Velásquez L, editor. *Ataxia espinocerebelosa tipo 2. Principales aspectos neurofisiológicos para el diagnóstico y pronóstico de la enfermedad*. Ediciones Holguín, Holguín 2006:193-206.
 29. Jenner P, Olanow CW. Oxidative stress and the pathogenesis of Parkinson's disease. *Neurology* 1996;46:161-170.
 30. Rosen DR. Mutations in Cu/Zn superoxide dismutase gene are associated with familial myotrophic lateral sclerosis. *Nature* 1993;362:59-62.
 31. Fernanda M. Radicales libres, estrés oxidativo y ejercicio. *Revista Digital Buenos Aires* 2003:66.

Lisuride Reduces Involuntary Periodic Leg Movements in Spinocerebellar Ataxia Type 2 Patients

Luis Velázquez-Pérez · Roberto Rodríguez-Labrada ·
Lázaro Álvarez-González · Raúl Aguilera-Rodríguez ·
Mario Álvarez Sánchez · Nalia Canales-Ochoa ·
Lourdes Galicia Polo · Reyes Haro-Valencia ·
Jacqueline Medrano-Montero ·
Yaimeé Vázquez-Mojena · Arnoy Peña-Acosta ·
Annelié Estupiñán-Rodríguez · Noemí Rodríguez Pupo

© Springer Science+Business Media, LLC 2012

Abstract Periodic leg movements (PLMs) are a common sleep disorder in spinocerebellar ataxia type 2 (SCA2) being associated to higher disease severity and altered sleep patterns. To assess the efficacy and safety of lisuride for the treatment of PLMs in SCA2 patients, an open-label clinical trial was conducted in 12 SCA2 patients suffering from PLMs associated to other subjective sleep complaints. All subjects received 0.1 mg of oral lisuride daily for 4 weeks. Primary outcome measure was the change of PLMs index. Changes in the subjective sleep quality, other polysomnographical sleep parameters, Scale for the Assessment and Rating of Ataxia score, and saccadic velocity were assessed as secondary outcome parameters. Safety assessments included hemoglobin, hematocrit, cholesterol, creatinine, and TGP. A significant decrease in both the PLMs index and R

stage latency were observed during the treatment, associated to subjective improvement of frequent awakenings, early insomnia, restless leg syndrome, and nocturnal limb paresthesias in most cases. Ataxia score and saccadic pathology were unchanged. No significantly adverse events were observed. Our study suggests the efficacy of dopamine agonist therapy in the treatment of PLMs in SCA2, improving various subjective sleep complaints. These findings serve to promote the adequate management of sleep-related disorders in SCA2, which could improve the life quality of the patients.

Keywords Spinocerebellar ataxia 2 · SCA2 · Periodic leg movements · Lisuride · Clinical trial · Dopamine agonist

L. Velázquez-Pérez (✉) · R. Rodríguez-Labrada ·
R. Aguilera-Rodríguez · N. Canales-Ochoa ·
J. Medrano-Montero · Y. Vázquez-Mojena · A. Peña-Acosta ·
A. Estupiñán-Rodríguez
Centre for the Research and Rehabilitation of Hereditary Ataxias,
Carretera Central Km 5 1/2 Reparto Edecio Pérez,
80100 Holguín, Cuba
e-mail: cirahsca2@cristal.hlg.sld.cu

L. Álvarez-González · M. Álvarez Sánchez
International Centre of Neurological Restoration,
Havana, Cuba

L. Galicia Polo · R. Haro-Valencia
Clinic for Sleep Disorders, School of Medicine, UNAM,
México, DF, Mexico

N. Rodríguez Pupo
Hospital for the Natural and Traditional Medicine,
Holguín, Cuba

Introduction

Spinocerebellar ataxia type 2 (SCA2) is an autosomal dominant neurodegenerative disorder caused by a polyglutamine repeat expansion within the ataxin 2 protein [1–3]. The disease is characterized by a progressive cerebellar syndrome associated to a marked saccadic slowing, peripheral neuropathy, cognitive dysfunctions, sleep disorders, and other features [4]. In Cuba, about 600 people have SCA2, with remarkable figure in Holguín Province which exhibits prevalence about 40 cases in every 100,000 persons as result of a foundational effect [5].

At present, there are no known effective treatments to modify SCA2 progression although a limited number of drugs can offer mild symptomatic relief [4]. Therefore, efforts to identify new therapeutical targets and disease

biomarkers must be prioritized. In that sense, video-polysomnography (VPSG) has become a sensitive tool for the identification of SCA2 biomarkers [6, 7].

VPSG studies revealed a high prevalence of periodic leg movements (PLMs) in SCA2 patients [7, 8], which is closely related to disease severity but not to CAG repeat numbers [7] and is in line with previous clinical studies that reported a high frequency of restless leg syndrome (RLS) in some SCA subtypes [9]. PLMs in SCA2 seem to be caused by dysfunctions in brain dopaminergic systems, which have been previously demonstrated by neuroimaging studies [10, 11].

Although the clinical significance of PLMs is not well documented, many clinical trials have been conducted with symptomatic efficacy in the majority of the cases [12, 13]. It is proposed that patients exhibiting higher PLMs indexes, together with other symptoms of sleep disturbance, such as insomnia, frequent awakenings, and excessive daytime sleepiness, may be treated [12]. L-dopa and dopamine agonists are considered as first-line treatment for this sleep disturbance [13, 14].

PLMs are a common sleep disorder in SCA2, being associated to higher disease severity and altered sleep patterns; in addition to the notable frequency of other sleep complaints that could be associated to PLMs, such as RLS, insomnia, frequent awakenings, and painful muscle cramps [7], we thought that it could be valuable the use dopamine therapy to treat the PLMs in SCA2 patients and to assess the plausible effects of this therapeutical option on disease severity, sleep architecture, and subjective sleep quality. Therefore, we carry out an open-label trial with lisuride, an investigational ergot-derived dopamine agonist [13, 15], to assess the potential therapeutic effect and safety of a dopamine agonist therapy in Cuban SCA2 patients with PLMs for 4 weeks.

Methods

Study Design

Standard Protocol, Approvals, and Patient Consents

This study was an open-label clinical trial with oral lisuride at a dose of 0.1 mg daily 1 h before bedtime, for 4 weeks. It was conducted at the Centre for Research and Rehabilitation of Hereditary Ataxias, Holguin, Cuba. The study was developed according to Good Clinical Practice guidelines and the Declaration of Helsinki. The protocol was approved by the local ethics committee and each patient provided written informed consent.

Subjects

Patients were chosen from a large cohort of SCA2 patients previously studied by VPSG and sleep interviews in the

sleep laboratory of the Centre for Research and Rehabilitation of Hereditary Ataxias. The inclusion criteria for this study were (a) PLMs indexes above five events per hour and (b) presence of any other accompanying sleep complaints reported by patients and/or its bed partners, such as early insomnia, frequent awakenings, nocturnal limb paresthesias, RLS, cramps, complex or aggressive behavior during sleep, snoring, bruxism, nightmares, or others. Subjects suffering from systemic diseases, severe psychiatric disorders, chronic alcohol abuse, recent anesthesia, pregnancy, or any other medical conditions that would affect the assessment of PLMs were excluded from the study.

Therefore, 12 molecularly confirmed SCA2 patients (nine males and three females) were recruited for the study. The mean age of enrolled patients was 38.17 years (SD, 8.70; range, 25–50); age at disease onset varied between 15 and 46 years with a mean of 28.92 years (SD, 9.63), whereas disease duration ranged from 4 to 17 years with a mean of 9.25 (SD, 4.49). The mean number of CAG repeats in the SCA2-mutated allele was 39.83 units (SD, 2.52; range, 36–43). All subjects underwent the efficacy and safety exams at baseline and immediately after the end of the treatment (4 weeks after baseline).

Outcome and Safety Measures

VPSG Measures Efficacy of treatment was assessed by the changes in the PLMs index as a primary outcome variable together with other VPSG parameters as secondary outcome variables. For that, all enrolled subjects underwent VPSG recordings for two consecutive nights. Polysomnography was performed with a digital polygraph (Brain Lab, Schwarzer, Germany) using a standard montage, which included electroencephalographical recording by F3, F4, C3, C4, O1, O2, electrodes, vertical and horizontal electro-oculography, and electrocardiography and electromyography of mental and both tibialis anterior muscles. Respiration monitoring included nasal airflow, tracheal microphone, thoracic and abdominal respiratory effort, and oxygen saturation. To avoid first night effects, only results of the second night were analyzed. All sleep recordings were visually analyzed according to current criteria [16]. PLMs index was calculated as the number of leg movements (LM) included in PLMs sequences per hour of sleep. A PLMs sequence is considered as a series of PLMs with at least four individual LM separated from the following and the previous LM by an interval ranging from 5 to 90 s.

Sleep Quality Measures All subjects were interviewed at baseline and after treatment by an extensive sleep questionnaire, with regard to their sleep customs, subjective sleep quality, dream recall and content (nightmares), complex or aggressive behavior during sleep, sensory and motor complaints during sleep, sleep-related self-injuries or injuries to

their bed partners, vocalizations, somniloquy, bruxism, snoring, and RLS.

Neurological Examination All subjects were assessed clinically with a standard neurological exam following the Mayo Clinic procedures [17], whereas the severity of ataxia was measured by the Scale for the Assessment and Rating of Ataxia (SARA) [18]

Saccadic Movements Assessment Saccadic eye movements for 60° predictable jumps were measured by electronystagmography in a two-channel Otoscreen AC electronystagmograph (Jaeger-Toennies, 97204, Höchberg, Germany), following the protocol standardized in the Centre for Research and Rehabilitation of Hereditary Ataxias. Saccadic velocity, latency, and deviation were analyzed [19].

Safety Assessment Safety assessments were performed at baseline and at the end of the treatment in a specialized laboratory including hemoglobin, hematocrit, cholesterol, creatinine, and TGP.

Molecular Analysis

Genomic DNA was isolated from peripheral blood leucocytes using a standard protocol. The SCA2 CAG repeat was assessed by PCR amplification with the previously published UH10 and UH13 oligonucleotide primers [2]. Aliquots of the PCR products were then precisely sized by fragment analysis on an ALF Express II apparatus (Amersham Biosciences, Sweden) in comparison to internal and

externals size markers using Allele Links 1.0 software (Amersham Biosciences, Sweden).

Statistical Analyses

Data were expressed as mean (SD) for continuous variables and as proportions for categorical variables. Mean comparison between baseline and the end of the treatment was performed by *t* test for dependent samples. *P* values < 0.05 were considered significant. All the analyses were performed using the commercially available Statistica software package (StatSoft, Inc., 2006; STATISTICA data analysis software system, version 6; www.statsoft.com).

Results

Table 1 shows the findings of sleep quality assessments obtained throughout a large sleep questionnaire. At baseline, 5 out 12 enrolled subjects (41.67 %) complained of early insomnia, whereas 11 (91.67 %) suffered from frequent awakenings and muscle cramps during the night, respectively. RLS was diagnosed in three patients (25 %), associated to early insomnia in all of them. Nocturnal limb paresthesias were noticed by five patients (41.67 %). Events characteristic of rapid eye movement behavior disorder (RBD) were reported by one patient (8.33 %). The bed partners reported snoring in eight cases (66.67 %).

At the end of treatment, subjective sleep quality improved in ten subjects (83.33 %). Nine of 11 patients (81.81 %) suffering from frequent awakenings noticed the improvement of this sleep complaint, whereas four out of

Table 1 Sleep symptoms in enrolled patients

Code patients	Sex/age	AAO	DD	CAG	SARA	Early insomnia	Awakenings	Cramps	RLS	Paresthesias	RBD	Snoring
LISU-01	M/50	46	4	40	6	–	✓ (I)	✓ (NI)	–	✓ (I)	–	✓ (NI)
LISU-02	M/30	23	7	43	18	–	✓ (I)	✓ (NI)	–	–	–	–
LISU-03	M/28	20	8	42	28	✓ (NI)	✓ (NI)	✓ (NI)	✓ (NI)	–	–	✓ (NI)
LISU-04	F/32	24	8	43	23	–	✓ (I)	✓ (NI)	–	✓ (I)	–	✓ (NI)
LISU-05	M/44	32	12	39	14	–	✓ (I)	–	–	–	–	–
LISU-06	M/50	45	5	36	15	✓ (I)	✓ (I)	✓ (NI)	–	–	–	✓ (NI)
LISU-07	M/48	31	17	37	10	✓ (I)	✓ (I)	✓ (NI)	✓ (I)	✓ (I)	–	✓ (NI)
LISU-08	M/40	23	17	39	13	–	–	✓ (NI)	–	✓ (NI)	–	✓ (NI)
LISU-09	F/41	37	4	36	6	–	✓ (I)	✓ (NI)	–	✓ (NI)	–	✓ (NI)
LISU-10	M/25	15	10	42	15	–	✓ (I)	✓ (NI)	–	–	–	–
LISU-11	F/37	25	12	40	16	✓ (I)	✓ (I)	✓ (NI)	✓ (I)	–	–	–
LISU-12	M/33	26	7	41	19	✓ (I)	✓ (NI)	✓ (NI)	–	–	✓ (NI)	✓ (NI)

✓ presence of sleep complaints, NI not improved after treatment, I improved after treatment, AAO age at onset, DD disease duration, CAG number of CAG triplet repetitions in the ATXN2 gene, SARA score for the Scale for the Assessment and Rating of Ataxia, RLS restless legs syndrome, RBD events of REM behavior disorders

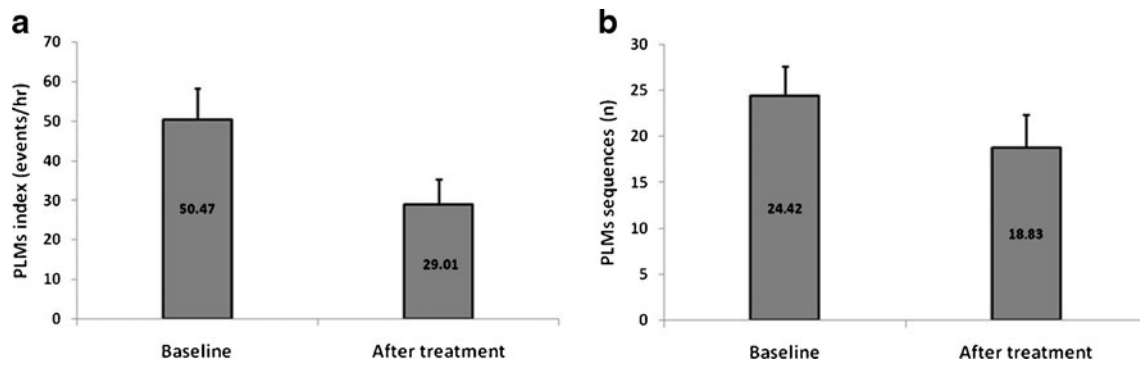


Fig. 1 Effects of 0.1 mg lisuride treatment for 4 weeks on PLMs in SCA2 patients. *T* test for dependent samples for PLMs index (a) and number of PLMs sequences (b). Note the significant decrease of PLMs

index ($p=0.018$) and the marginal decrease of the number of PLMs sequences ($p=0.156$) after 4 weeks of treatment

five patients (80 %) perceived an improvement of the early insomnia. Two out of three patients (66.67 %) suffering from RLS noticed a partial relief of this picture, while nocturnal paresthesias were subjectively reduced in three out of five individuals (60.0 %). Cramps, snoring, and RBD events were not modified.

Analysis of PLM parameters reveals a significant decrease in PLMs index after treatment ($p=0.018$; Fig. 1a) and a tendency to decrease of the number of PLMs sequences ($p=0.156$; Fig. 1b). Eleven out of 12 patients (91.67 %) showed drops of the PLMs index. The mean drop of PLMs index was 26.34 (SD, 21.58), ranging from 1.57 to 62.98. Only a subject increased the PLMs index after the treatment, which had the shortest CAG expansion and disease duration among all patients as well as the lowest SARA score.

Table 2 shows the analysis of VPSG secondary outcome parameters. R stage latency was significantly reduced after

treatment in comparison with baseline, but remaining sleep scoring variables showed no significant changes. Ten patients (83.33 %) exhibited a shortening of R stage latency at the end of the study.

T test analysis for the SARA score revealed no significant changes ($p>0.05$) between the baseline (mean, 15.25; SD, 6.40) and the final evaluation (mean, 15.38; SD, 6.32). No enrolled patients exhibited drops in this ataxia scale. Additionally, no saccadic parameter was significantly modified at the end of the study (Table 3).

Lisuride was well tolerated for 4 weeks. No patients suffered from side effects. All safety measures performed at baseline and after 4 weeks were normal (data not shown).

Discussion

This is the first clinical trial with a dopamine agonist to indicate the efficacy and safety in the therapy of PLMs in one autosomal dominant cerebellar ataxia. The present study showed that 0.1 mg lisuride, orally administered for 4 weeks, was effective in reducing PLMs in SCA2 patients and improving the subjective sleep quality. The decrease of PLMs index, as result of dopaminergic treatment, agrees with previous reports [13, 20] and it may have important clinical consequence, from movement assessment in VPSG studies,

Table 2 Polysomnographical measures of efficacy of lisuride treatment for PLMs in SCA2

Variables	Baseline Mean ± SD	After 4 weeks Mean ± SD	<i>p</i>
Sleep efficiency (%)	86.26±15.04	86.74±15.73	0.811
Sleep latency (min)	17.07±8.02	19.32±17.54	0.668
W stage (%)	12.19±11.25	12.06±11.35	0.933
N1 stage (%)	9.10±4.53	10.72±6.18	0.291
N2 stage (%)	48.66±12.67	48.01±12.50	0.784
N3 stage (%)	17.14±6.53	17.15±9.07	0.995
R stage (%)	14.19±7.33	14.56±6.71	0.849
R stage latency (min)	161.83±87.66	120.03±66.96	0.020
Arousal index (events/h)	34.53±19.60	33.66±15.66	0.741
OSAHs index (events/h)	4.46±3.54	4.66±3.54	0.894
PLMs index (events/h)	50.47±27.05	29.01±22.05	0.018
PLMs sequences (n)	24.42±11.00	18.33±12.29	0.156

OSAHs obstructive sleep apnea–hypopnea index, PLMs periodic leg movements

Table 3 Saccadic outcome parameters of lisuride treatment for PLMs in SCA2

Variables	Baseline Mean ± SD	After 4 weeks Mean ± SD	<i>p</i>
Saccade velocity (°/segs)	239.33±110.78	230.79±121.61	0.413
Saccade deviation (degrees)	88.90±16.24	94.29±7.81	0.339
Saccade latency (ms)	281.62±45.58	278.62±68.97	0.847

PLMs periodic leg movements

because they not only indicate less PLMs signs but also indicate sleep less disturbed by PLMs [21].

The main effect of lisuride treatment on subjective sleep quality in SCA2 patients was the improvement of frequent awakenings in most cases. These awakenings are common sleep complaints in SCA2 patients, causing loss of sleep continuity with multiple intrusions of light sleep and waking and delay of the R sleep stage [7, 22], which was somewhat evidenced in our cohort with the reduction of the awakenings and the R stage latency after the treatment. Other important finding was the improvement of RLS signs in 67 % of cases suffering from this sleep disorder, which is in line with previous reports regarding lisuride efficacy on RLS [13, 20].

As expected, the ataxia score was not changed during the study in line with the short treatment period, the reduced drug's dose, and the lack of specificity of the dopamine agonists to treat the ataxia. In fact, since SCA2 patients have a severe and progressive cerebellar syndrome [4], large periods of therapeutical protocols are necessary to detect some relief of cerebellar features; such is the case of 50 mg zinc sulfate [23] and riluzole [24] treatments. Additionally, our finding agrees with early studies revealing that L-dopa, a precursor of the dopamine, alleviates the parkinsonian signs in SCA2 patients but not the cerebellar abnormalities [25, 26].

In the present study, we observe no changes of saccadic parameters after the treatment, but the reduced treatment time and the modest dose do not allow us to reach concluding remarks about that. Nevertheless, a consensus about the pharmacological role of dopamine on the saccadic system does not exist either. Some studies report no effect of dopaminergic drugs [27, 28], others show beneficial effects on saccadic latency or saccadic deviation [29, 30], and others report detrimental effects on saccadic latency [31].

These results are preliminary evidence of dopamine influences on PLMs and suggest the efficacy and safety of lisuride treatment for this motor sleep disturbance in SCA2 patients. Taking account that lisuride has been proposed as an investigational drug, due the lack of data from large-scale trials or randomized controlled trials [13], we suggest that further clinical trials with this drug or other dopamine agonists such as ropirinole, pramipexole, or pergolide are required to profound on the therapeutical effects of dopaminergic therapy, as well as to assess the influence of CAG repeats on the responsiveness to drugs. In conclusion, our findings represent an important step into the identification of new effective symptomatic treatments in SCA2 and give us additional tools to offer a better management of sleep-related disorders in this neurodegenerative incurable disease which could improve the life quality of the patients.

Acknowledgments We are grateful to the Cuban Ministry of Public Health for the financial support as well as to the SCA2 patients and the Iberoamerican multidisciplinary network for the movement disorders for their cooperation.

Conflict of interest None

References

1. Pulst MS, Nechiporuk A, Nechiporuk T, Gispert S, Chen XN, Lopes-Cendes I, et al. Moderate expansion of a normally biallelic trinucleotide repeat in spinocerebellar ataxia type 2. *Nat Genet.* 1996;14:269–76.
2. Imbert G, Saudou F, Yvert G, Devys D, Trottier Y, Garnier JM, et al. 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.
3. Sanpei K, Takano H, Igarashi S, Sato T, Oyake M, Sasaki H, et al. 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.
4. 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.* 2011;10:184–98.
5. Velázquez Pérez L, Cruz GS, Santos Falcón N, Almaguer Mederos L, Escalona Batallan K, Rodríguez Labrada R, et al. Molecular epidemiology of spinocerebellar ataxias in Cuba: insights into SCA2 founder effect in Holguin. *Neurosci Lett.* 2009;454(2):157–60.
6. Rodríguez-Labrada R, Velázquez-Pérez L, Canales-Ochoa N, Galicia-Polo L, Haro-Valencia R, Sánchez-Cruz G, et al. Subtle rapid eye movement sleep abnormalities in presymptomatic spinocerebellar ataxia type 2 gene carriers. *Mov Disord.* 2011;26:347–50.
7. Velázquez-Pérez L, Voss U, Rodríguez-Labrada R, Auburger G, Canales Ochoa N, Sánchez Cruz G, et al. Sleep disorders in spinocerebellar ataxia type 2 patients. *Neurodegener Dis.* 2011;8:447–54.
8. Boesch SM, Frauscher B, Brandauer E, Wenning GK, Högl B, Poewe W. Disturbance of rapid eye movement sleep in spinocerebellar ataxia type 2. *Mov Disord.* 2006;21(10):1751–4.
9. Konieczny M, Bauer P, Tomiuk J, Weisser G, Haan J, Berger K, et al. CAG repeats in restless legs syndrome. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.* 2006;141B(2):173–6.
10. Boesch SM, Donnemiller E, Muller J, Seppi K, Weirich-Schwaiger H, Poewe W, et al. Abnormalities of dopaminergic neurotransmission in SCA2: a combined 123I-betaCIT and 123I-IBZM SPECT study. *Mov Disord.* 2004;19(11):1320–5.
11. Varrone A, Salvatore E, De Michele G, Barone P, Sansone V, Pellicchia MT, et al. Reduced striatal [123I]FP-CIT binding in SCA2 patients without parkinsonism. *Ann Neurol.* 2004;55(3):426–30.
12. Vetrugno R, D'Angelo R, Montagna P. Periodic limb movements in sleep and periodic limb movement disorder. *Neurol Sci.* 2007;28:S9–14.
13. Trenkwalder C, Hening WA, Montagna P, Oertel WH, Allen RP, Walters AS, et al. Treatment of restless legs syndrome: an evidence-based review and implications for clinical practice. *Mov Disord.* 2008;23(16):2267–302.
14. Hening WA, Allen RP, Earley CJ, et al. Restless legs syndrome task force of the standards of practice committee of the American academy of sleep medicine. An update on the dopaminergic

- treatment of restless legs syndrome and periodic limb movement disorder. *Sleep*. 2004;27:560–83.
15. Horowski R, Obeso JA. Lisuride—a direct dopamine agonist in the treatment of Parkinson's disease. In: Koller WC, Paulson G, editors. *Therapy of Parkinson's disease*. New York: Marcel Dekker; 1995. p. 219–48.
 16. 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: American Academy of Sleep Medicine; 2007.
 17. Denny-Brown D, Dawson DM, Tyler HR. *Handbook of neurological examination and case recording*. 3rd ed. Cambridge: Harvard University Press; 1982.
 18. Schmitz-Hubsch T, du Montcel ST, Baliko L, Berciano J, Boesch S, Depondt C, et al. Scale for the assessment and rating of ataxia: development of a new clinical scale. *Neurology*. 2006;66(11):1717–20.
 19. Velazquez-Perez L, Seifried C, Abele M, Wirjatijasa F, Rodriguez-Labrada R, Santos-Falcon N, et al. Saccade velocity is reduced in presymptomatic spinocerebellar ataxia type 2. *Clin Neurophysiol*. 2009;120(3):632–5.
 20. Benes H, Deissler A, Rodenbeck A, Engfer A, Kohnen R. Lisuride treatment of restless legs syndrome: first studies with monotherapy in de novo patients and in combination with levodopa in advanced disease. *J Neural Transm*. 2006;113:87–92.
 21. Allen R, Becker PM, Bogan R, Schmidt M, Kushida CA, Fry JM, Poceta JS, Winslow D. Ropinirole decreases periodic leg movements and improves sleep parameters in patients with restless legs syndrome. *Sleep*. 2004;27:907–14.
 22. Mckenna JT, Tartar JL, Ward CP, et al. Sleep fragmentation elevates behavioral electrographic and neurochemical measures of sleepiness. *Neuroscience*. 2007;146:1462–73.
 23. Velázquez-Pérez L, Rodríguez-Chanfau J, García-Rodríguez JC, Sanchez-Cruz G, Aguilera-Rodríguez R, Rodríguez-Labrada R, et al. Oral zinc sulphate supplementation for six months in SCA2 patients: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Neurochem Res*. 2011;36:1793–180.
 24. Ristori G, Romano S, Visconti A, Cannoni S, Spadaro M, Frontali M, et al. Riluzole in cerebellar ataxia: a randomized, double-blind, placebo-controlled pilot trial (CME) (LOE classification). *Neurology*. 2010;74(10):839–45.
 25. Infante J, Berciano J, Volpini V, Corral J, Polo JM, Pascual J, et al. Spinocerebellar ataxia type 2 with levodopa-responsive parkinsonism culminating in motor neuron disease. *Mov Disord*. 2004;19(7):848–52.
 26. Shan DE, Soong BW, Sun CM, Lee SJ, Liao KK, Liu RS. Spinocerebellar ataxia type 2 presenting as familial levodopa-responsive parkinsonism. *Ann Neurol*. 2001;50(6):812–5.
 27. Gibson JM, Kennard C. Quantitative study of “on-off” fluctuations in the ocular motor system in Parkinson's disease. *Adv Neurol*. 1987;45:329–33.
 28. Crevits L, Versijpt J, Hanse M, De Ridder K. Antisaccadic effects of a dopamine agonist as add-on therapy in advanced Parkinson's patients. *Neuropsychobiology*. 2000;42:202–6.
 29. Gibson JM, Pimlott R, Kennard C. Ocular motor and manual tracking in Parkinson's disease and the effect of treatment. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1987;50:853–60.
 30. Rascol O, Clanet M, Montastruc JL, Simonetta M, Soulier-Esteve MJ, Doyon B, Rascol A. Abnormal ocular movements in Parkinson's disease. Evidence for involvement of dopaminergic systems. *Brain*. 1989;112(Pt 5):1193–214.
 31. Michell AW, Xu Z, Fritz D, Lewis SJG, Foltynie T, Williams-Gray CH, et al. Saccadic latency distributions in Parkinson's disease and the effects of L-dopa. *Exp Brain Res*. 2006;174:7–18.

CONSIDERACIONES FINALES

Principales características electrofisiológicas en los enfermos de SCA2

El examen clínico demostró que en el 100 % de los enfermos predominaron las alteraciones cerebelosas, que se caracterizaron por la combinación de manifestaciones de daño en el vermis y en los hemisferios. Entre las alteraciones verminas, predominaron los trastornos de la marcha y la estabilidad postural (ataxia y temblor postural de cabeza o tronco). Las alteraciones hemisféricas fueron bilaterales y se caracterizaron por la disimetría, adiadococinesia, temblor cinético, disartria e hipotonía. El trastorno no cerebeloso más frecuente fue el enlentecimiento de los movimientos oculares sacádicos (98 %). Otras manifestaciones fueron, las contracturas musculares dolorosas (cramps), neuropatía periférica, disfagia y las alteraciones autonómicas. Para determinar la severidad de la ataxia cerebelosa y su progresión desde etapas tempranas, usamos la escala SARA. La puntuación total varió desde 4 a 39 puntos (media de $15,18 \pm 7,25$), lo que evidencia, que fueron incluidos pacientes con diversos grados de severidad. Estos se pudieron clasificar en diferentes fases evolutivas: etapa 1 (ataxia ligera): $14,09 \pm 0,71$; etapa 2 (pérdida de la marcha independiente): $19,66 \pm 2,34$; etapa 3: (confinamiento a la silla de ruedas o la cama): $30,33 \pm 2,34$.

Sin embargo, las características clínicas no fueron suficientes para describir el comportamiento fenotípico integral de la enfermedad, de ahí la importancia de los estudios electrofisiológicos. Estos permitieron ampliar e identificar nuevos rasgos fenotipos, así como caracterizar mejor algunos de los signos clínicos conocidos.

Los estudios electrofisiológicos evidenciaron un grupo de alteraciones, en diferentes estructuras del sistema nervioso:

➤ *Nervios periféricos y ganglios de la raíz dorsal*

La principal alteración periférica en los pacientes con SCA2 fue una neuropatía sensitiva de tipo axonal, que en algunos casos se asoció con signos de desmielinización. Esta neuropatía fue más marcada en pacientes con mayor tiempo de evolución, indicando un aumento progresivo de la pérdida de fibras afectadas a lo largo del tiempo. Sin embargo, no se relacionaron con el tamaño de la expansión poliglutamínica. Las alteraciones en la porción motora aparecieron en pacientes con tiempo de evolución superior a los 10 años.

El reflejo H permite evaluar las estructuras proximales del sistema nervioso periférico. Este es el resultado de la transmisión segmentaria espinal que implica las conexiones monosinápticas entre las fibras aferentes y eferentes en un nervio mixto. En los pacientes con SCA2 se detectaron dos tipos de respuestas anormales. La primera, sugirió una lesión axonomielínica en fibras nerviosas sensitivas propioceptivas (Ia), debido a la pérdida de las neuronas del ganglio de la raíz dorsal, y la segunda, un bloqueo en la conducción que representó la consecuencia evolutiva de la primera respuesta.

➤ *Médula espinal*

Motoneuronas del asta anterior. Las alteraciones clínicas que indicaron lesión de las motoneuronas espinales aparecieron en el 20 % de los enfermos, dadas por atrofia muscular distal y fasciculaciones. Los estudios electromiográficos se caracterizaron por signos de denervación, como fibrilaciones, potenciales

positivos y fasciculaciones en los músculos deltoides, primer interóseo dorsal, tibial anterior y gemelo medial. Estos revelaron la implicación severa de la vía motora en estadios más avanzados, pero no guardaron relación con el tamaño de la mutación.

En todos los músculos estudiados se observó una elevada frecuencia de PUM polifásicos con amplitudes aumentadas (15-20 mv). La actividad de reclutamiento estuvo disminuida en el 66 % de los pacientes, y el patrón de contracción fue aislado llegando, en algunos casos, hasta oscilaciones simples. El electromiograma cuantitativo mostró un incremento de la variable UCA (del inglés, *Upper Centil Amplitude*) y disminución de la actividad, lo que apoyó los resultados del EMG convencional. La UCA refleja los potenciales de mayor amplitud contenidos en la señal electromiográfica, mientras que la actividad expresa el porcentaje de tiempo durante el cual, dicha señal contiene información proveniente de los potenciales de unidad motora. Por tanto, su disminución es compatible con la pérdida de unidades motoras grandes.

Sistema dorsal lemniscal. Esta vía aferente se exploró a través de los potenciales evocados somatosensoriales de nervios mediano y tibial posterior. Desde el punto de vista clínico se reportaron alteraciones de la sensibilidad profunda en un número reducido de pacientes (~30 %). Sin embargo, los PESS resultaron anormales en más del 68 %. Las principales alteraciones fueron una marcada prolongación de la latencia del componente P40 y del tiempo de conducción central.

➤ *Vía auditiva en tallo cerebral*

En el 95 % de los pacientes se detectaron alteraciones de esta vía sensorial. Las principales anormalidades se concentraron tanto en la vía auditiva periférica como en porciones intraxiales del tallo cerebral a nivel de la protuberancia y mesencéfalo.

➤ *Vía visual*

Nuestros resultados sobre los PEVs reflejaron la integridad de la vía visual en estos pacientes, lo que permitió establecerlo como criterio de diagnóstico diferencial con otras SCAs tales como SCA1, SCA3 y SCA7.

➤ *Sistema oculomotor y su relación con disfunción fronto ejecutiva*

Las principales alteraciones oculomotoras fueron la reducción de la velocidad sacádica máxima, prolongación de la latencia, así como disimetría sacádica. La velocidad sacádica estuvo influenciada fuertemente por el tamaño de la expansión poliglutamínica. Este efecto fue similar a la relación existente entre la edad de inicio y la expansión poliglutamínica. Se estima que la velocidad sacádica tenga una mayor confiabilidad entre los diferentes observadores, que la propia edad de inicio, y que podría ser menos dependiente de los factores medioambientales. Estas observaciones identifican la velocidad sacádica como un parámetro fisiológico cuantitativo y objetivo que está bajo un fuerte control genético. Por consiguiente, esta variable parece ser un marcador sustituto prometedor para las investigaciones relacionadas con la patogénesis de la enfermedad.

La prolongación anormal de la latencia se detectó en el 46 % de los enfermos y expresa, fisiopatológicamente, un retardo en la iniciación de las sácadas. Se produce por una lesión de cualquiera de las estructuras que intervienen en la generación de estos movimientos, debido al efecto de la ataxina-2 sobre las mismas. Las evidencias neuroanatómicas, que explican la prolongación de la latencia sacádica en pacientes con SCA2, provienen de estudios morfológicos e imagenológicos. Estos muestran la atrofia de los lóbulos frontal y parietal, con hipometabolismo de la glucosa, así como cambios neurodegenerativos en el núcleo caudado y la SNPr. Otra de las posibles causas que incrementan la latencia sacádica es el déficit en la atención visual, ya que existe solapamiento anatomofuncional entre las estructuras de la corteza frontal que intervienen en la génesis sacádica y la atención visual.

Por otra parte, se demostró una correlación estadísticamente significativa entre la latencia sacádica y las funciones frontoejecutivas. Mientras mayor retardo en el inicio de las sácadas, más tiempo necesitan los pacientes para ejecutar tareas que evalúan estas funciones. Dicha relación puede explicarse por el solapamiento entre estructuras cortico-subcorticales que intervienen en la generación de las sácadas y las funciones cognitivas, tales como la corteza prefrontal dorsolateral, corteza cingulada anterior y el núcleo caudado.

La disimetría sacádica, especialmente la hipermetría, constituye el signo electrofisiológico clásico de las afecciones cerebelosas. En los enfermos con SCA2 existieron dos tipos de respuestas, relacionadas con el ángulo de estimulación: para estímulos que oscilaron entre 10° y 30° predominó la hipermetría sacádica, mientras que para 60° existió una hipometría en 51,06 % de

los enfermos e hipermetría en 39,37 %. Estas alteraciones se sustentan en la degeneración del vermis oculomotor y el núcleo fastigio.

➤ *Trastornos del sueño*

Otro aporte significativo de este trabajo fue la caracterización fenotípica del sueño, la cual tuvo en cuenta un estudio epidemiológico en sujetos enfermos y sus respectivos controles, así como la evaluación video-polisomnográfica. Dentro de las principales alteraciones se encontraron los siguientes:

- Insomnio de inicio, intermedio y final.
- Trastornos del movimiento durante el sueño (movimientos periódicos de las extremidades, cramps y síndrome de piernas inquietas).
- Incremento de la fragmentación del sueño, con múltiples intrusiones hacia sueño ligero y vigilia, aumento en el número de alertamientos y despertares, lo que conllevó a una disminución de la eficiencia del sueño.
- Disminución del porcentaje de sueño ligero e incremento del sueño de ondas lentas.
- Presencia de apneas del sueño de tipo central.
- Patología del sueño REM, dada por disminución del porcentaje de esta fase, reducción de la densidad de movimientos sacádicos, así como pérdida de la atonía muscular.

Como otro resultado importante estuvo la existencia de una correlación significativa entre la reducción de la atonía del sueño REM y el tamaño de la expansión poliglutamínica, así como entre la puntuación de la escala SARA, duración de la enfermedad y el índice de movimientos periódicos de las

extremidades. Estas variables pueden considerarse como marcadores de daño genético y progresión de la SCA2, respectivamente.

Las alteraciones del sueño REM se relacionan con la pérdida progresiva de neuronas pontinas y talámicas implicadas en la generación de esta fase; mientras que los movimientos periódicos de las extremidades subyacen a la disfunción dopaminérgica causada por la degeneración de la sustancia nigra.

➤ *Aprendizaje visuomotor*

La prueba de adaptación a prismas permitió evaluar la capacidad de aprendizaje visuomotor. Esta se basa en la adaptación del sistema motor a las nuevas coordenadas visuo-espaciales impuestas por la colocación de prismas, que desplazan el campo visual. Esta prueba ofrece una ventaja para el estudio del aprendizaje motor ya que puede diferenciar el desempeño o la ejecución del aprendizaje y la memoria.

Los pacientes con repeticiones de CAG grandes ($43,2 \pm 0,69$ DE) presentaron una disminución significativa en la magnitud de adaptación del aprendizaje visuomotor, con conservación del post efecto. Sin embargo, los que tenían expansiones pequeñas ($37,9 \pm 0,4$ DE) mostraron un comportamiento normal. También existió una correlación positiva significativa entre la adaptación y la VSM. Nuestros resultados demostraron que la neurodegeneración afecta los mecanismos de control estratégico, relacionados con la velocidad de adaptación, existiendo una fuerte dependencia de esta variable con el tamaño de la mutación. Sin embargo, el realineamiento espacial estuvo conservado.

➤ *Déficit olfatorio*

Uno de los trastornos de mayor prevalencia entre las diferentes enfermedades neurodegenerativas es el deterioro olfatorio. Sin embargo, la integridad olfatoria en las ataxias hereditarias no había sido evaluada hasta que se reportó una participación distintiva del cerebelo en la olfacción.

Los resultados de esta investigación mostraron un daño significativo en el umbral, calidad, identificación y discriminación olfatoria en los pacientes con SCA2, comparado con los respectivos controles.

Los hallazgos previos sugirieron que el daño en el circuito cerebeloso puede influir en el deterioro olfatorio de estos pacientes. Recientemente se demostró que las lesiones cerebelosas unilaterales conducen a un deterioro olfatorio selectivo de la región nasal contralateral.

El patrón de disfunción olfatoria que se observa en las principales enfermedades neurodegenerativas ha alcanzado un nivel que merece especial atención, ya que estos estudios pueden esclarecer mecanismos, aun desconocidos, de estas enfermedades, para las cuales el sistema olfatorio tiene una susceptibilidad especial.

Alteraciones electrofisiológicas precerebelosas en sujetos portadores de la mutación SCA2

Los síntomas iniciales de la SCA2 son los trastornos de la marcha y/o del lenguaje. Sin embargo, un porcentaje elevado de portadores presentan alteraciones del sueño, trastornos autonómicos, síntomas sensoriales, contracturas musculares dolorosas y otras manifestaciones previas al cuadro cerebeloso. Por otra parte, los estudios electrofisiológicos y psicofisiológicos

evidencian un grupo de alteraciones, en ausencia de manifestaciones clínicas cerebelosas, que reflejan el deterioro del sistema nervioso desde estadios muy tempranos. Estas anormalidades se pueden agrupar en cuatro categorías: sensoriales, motoras, cognitivas y alteraciones del sueño.

➤ *Alteraciones sensoriales:*

1. Disminución de las amplitudes de los potenciales sensitivos de los nervios mediano y sural como expresión de una neuropatía periférica subclínica de tipo axonal.
2. Prolongación de la latencia de los componentes N20 y P40 de los PESS de nervios mediano y tibial posterior, así como alteraciones de la morfología y replicabilidad de estos potenciales. Estos signos son sugestivos una lesión axonomielínica en cordones posteriores de la médula espinal.
3. Anormalidades de la conducción intraxial en tallo cerebral, específicamente a nivel de la protuberancia y mesencéfalo, las que se detectaron por los potenciales evocados auditivos de tallo cerebral.
4. Déficit olfatorio, fundamentalmente del umbral y la identificación olfatoria.

➤ *Alteraciones motoras*

1. Disminución de la velocidad sacádica, compatible con una lesión en estructuras generadoras de estos movimientos, en el tallo cerebral.
2. Alteraciones del desempeño motor, según estudios de adaptación a prismas.
3. Contracturas musculares dolorosas con ligeros signos de polifasismo en el electromiograma.

➤ *Disfunción cognitiva*

1. Trastornos de la atención selectiva, capacidad de inhibición de respuestas automáticas y en la velocidad de procesamiento de la información, funciones atribuidas a la corteza orbitofrontal y prefrontal medial.
2. Cambios anormales de la velocidad, precisión y productividad en la búsqueda de información, lo que implica la participación activa de la corteza prefrontal dorsolateral.
3. Incremento significativo de las latencias de los componentes P300, así como reducción de la amplitud de los mismos, lo que evidenció la afectación de las capacidades de identificación, discriminación y categorización de estímulos.

➤ *Alteraciones del sueño*

Las alteraciones más importantes fueron la reducción del porcentaje de sueño REM, de la densidad de movimientos oculares sacádicos y la pérdida de la atonía en sueño REM. Este hallazgo constituye un aporte de nuestra investigación, ya que no existen reportes previos en otras formas de ataxias espinocerebelosas. Consideramos que es la expresión de una disfunción o neurodegeneración temprana de las neuronas REM-ON en el puente.

La reducción de la velocidad sacádica y las anomalías del sueño anteceden a la aparición de los signos cerebelosos en más de una década. Las alteraciones en la identificación olfatoria, del desempeño motor y la neuropatía periférica se inician más tardíamente.

Estas alteraciones son útiles para monitorear a los portadores de la mutación e identificar el momento en que la degeneración se extiende hacia las estructuras ponto-cerebelosas. Facilitan que el manejo terapéutico se inicie precozmente, para lograr una mejor respuesta terapéutica. Por tanto, el reconocimiento de signos electrofisiológicos y clínicos tempranos puede ser un enfoque prometedor para delimitar el inicio real de la enfermedad y definir mejor los estadios presintomático y enfermo.

Biomarcadores electrofisiológicos

Los biomarcadores se definen como aquellas variables que se pueden medir objetivamente y que evalúen el comportamiento de procesos biológicos normales, patológicos o de respuestas a intervenciones terapéuticas específicas. Cuando estas guardan una estrecha relación con parámetros clínicos específicos se consideran biomarcadores indirectos o sustitutos (del inglés, *surrogate markers*) de los mismos.

Entre los aportes más significativos al conocimiento de la SCA2 y su aplicación en estrategias terapéuticas resalta la identificación de variables electrofisiológicas como biomarcadores. Estos se clasifican en:

- a) Biomarcadores de daño genético.
- b) Biomarcadores preclínicos.
- c) Biomarcadores de progresión.
- d) Biomarcadores de alteraciones cognitivas.

Dentro de los biomarcadores de daño genético, identificamos a la velocidad sacádica y tasa de atonía durante el sueño REM. La velocidad sacádica

constituye un parámetro fisiológico endofenotípico y objetivo, pues guarda una estrecha relación con el tamaño de la expansión poliglutamínica, siendo un biomarcador de daño genético más objetivo que la edad de inicio. Por consiguiente, este es un parámetro prometedor para la identificación de genes modificadores. La tasa de atonía en sueño REM identifica un trastorno objetivo de esta fase de sueño, la cual muestra también una elevada dependencia del tamaño de la expansión poliglutamínica.

Los estudios en portadores asintomáticos permitieron identificar diversos marcadores preclínicos de la SCA2. Entre ellos, la velocidad sacádica, porcentaje de sueño REM y las amplitudes sensitivas son los más importantes. Otros menos significativos son las alteraciones del umbral e identificación olfatoria, trastornos del desempeño motor y de la morfología de los potenciales evocados. Estos parámetros tienen una importancia adicional en el diagnóstico y pronóstico de la enfermedad.

La existencia de una relación entre diversas variables electrofisiológicas con el grado de severidad de la enfermedad, nos permitió identificar nuevos biomarcadores de progresión de la misma. Dentro de ellos, las amplitudes sensitivas y el porcentaje de sueño REM son los más importantes. Estas variables son muy útiles para estimar el curso progresivo de la enfermedad, seleccionar el momento óptimo para aplicar tratamientos específicos y evaluar su efecto.

Un resultado más reciente, fue la identificación de una asociación de variables que exploran las funciones frontoejecutivas con la latencia sacádica, lo que se sustenta en el fuerte control que ejerce el lóbulo frontal sobre estos movimientos oculares. Esto permitió clasificar la latencia sacádica como un biomarcador de

daño cognitivo, útil para el diagnóstico de estas alteraciones y su evaluación ante estrategias de intervención.

Etapas evolutivas en la SCA2

La interpretación de los síntomas y signos neurológicos descansa fundamentalmente en la habilidad y experiencia personal del médico que la realiza. Tal análisis individual, si bien constituye una herramienta insustituible, puede variar de un observador a otro, y con ello, los resultados pueden ser diferentes. De la misma manera, la descripción de etapas evolutivas, a partir de los exámenes clínicos resulta difícil en la SCA2, ya que existe una gran heterogeneidad clínica, genética y neuropatológica. Esto conlleva a la superposición de los signos clínicos, que aparecen indistintamente en diferentes momentos evolutivos de la enfermedad.

En el año 1998, se obtuvo la primera descripción de etapas evolutivas en la SCA2, a partir de los estudios de conducción nerviosa periférica y los potenciales evocados (Anexo 1). Sin embargo, fue necesario ampliar las técnicas neurofisiológicas para explorar un mayor número de estructuras del sistema nervioso, en enfermos y portadores asintomáticos de la mutación SCA2.

En el anexo 2, se describen las principales características de las fases evolutivas, según criterios clínicos y electrofisiológicos. La fase pre-fisiológica se caracteriza por la ausencia de manifestaciones clínicas subjetivas y de signos neurológicos, con estudios neurofisiológicos normales. Durante la fase pre-diagnóstica aparecen las primeras alteraciones electrofisiológicas, aun antes del inicio de la ataxia de la marcha. Estas consisten en la disminución de la amplitud de los

potenciales sensitivos, enlentecimiento de los movimientos oculares sacádicos, reducción del porcentaje de sueño REM y la densidad de movimientos oculares rápidos, disfunción olfatoria y cognitiva, así como alteraciones del desempeño motor en el test de adaptación a prismas. Por otra parte, existe un grupo de manifestaciones referidas por los pacientes, tales como contracturas musculares dolorosas o cramps (75 %), insomnio (50 %), trastornos cognitivos (43 %), disfunción autonómica (31 %). El examen clínico muestra hiperreflexia en el 69 % y alteraciones oculomotoras en el 25 % de los casos. Esta fase precede en más de una década al síndrome cerebeloso.

La fase clínica (estadio I), se corresponde con la aparición de las primeras manifestaciones clínicas del síndrome cerebeloso y por tanto un grado de severidad ligero de la enfermedad. Se caracteriza por el incremento de las alteraciones electrofisiológicas, detectadas en la etapa anterior y la aparición de otras tales como, disminución de la velocidad de conducción de los potenciales sensitivos, disimetría y prolongación de la latencia sacádica, pérdida de la atonía en sueño REM, síndrome de piernas inquietas y movimientos periódicos de las extremidades, alteraciones del aprendizaje visuomotor e incremento de la amplitud de los PUM.

La fase clínica (estadios II-III) se caracteriza por una neuropatía periférica mixta (sensorial y motora), con disminución de la amplitud de los potenciales motores e incremento de las alteraciones de los potenciales sensitivos, hasta bloqueo de la conducción aferente en varios pacientes. El electromiograma muestra signos típicos de lesión de motoneuronas del asta anterior de la médula espinal. Algunos casos presentan un insomnio severo con pérdida del sueño REM. Existe una reducción de los movimientos oculares, llegando hasta oftalmoplejia. Esta tercera

etapa, se presenta generalmente en aquellos pacientes con tiempo de evolución mayor de 10 a 15 años y/o estadios clínicos 2 y 3 de la enfermedad.

Aplicaciones de los estudios electrofisiológicos en los ensayos clínicos

Hasta este momento, no existe tratamiento efectivo que modifique el curso progresivo de la SCA2, aunque se están realizando esfuerzos encaminados a la identificación de blancos terapéuticos y las consiguientes estrategias de intervención. Los ensayos clínicos reportados en pacientes con SCA2, por otros grupos, se han realizado en pequeñas muestras de enfermos, con una elevada variabilidad en su estado clínico y el número de repeticiones del CAG. La heterogeneidad en la muestra, así como su reducido tamaño, ha dificultado la interpretación de los resultados. Otro problema que enfrenta la comunidad científica es la ausencia de variables cuantitativas para evaluar la efectividad de las terapias aplicadas. Por estas razones, hemos realizado importantes investigaciones electrofisiológicas para la identificación de posibles blancos terapéuticos y de variables respuestas. La neuropatía periférica, déficit cognitivo y movimientos periódicos de las extremidades constituyen ejemplos de lo anterior. La prolongación de la latencia sacádica expresa un retardo en el inicio de los movimientos sacádicos y correlaciona significativamente con variables clínicas cognitivas. Esta se utilizó en la evaluación del efecto de la rehabilitación y el sulfato de cinc sobre las funciones cognitivas. Se demostró, que la latencia disminuyó significativamente al final de dichas estrategias de intervención, lo que se interpretó como una respuesta favorable al tratamiento sobre las funciones cognitivas en estos pacientes. Sin embargo, la velocidad y desviación sacádicas no mostraron cambios significativos al final del tratamiento.

Los movimientos periódicos de las extremidades son trastornos del movimiento que se producen durante el sueño. Se caracterizan por episodios de movimientos estereotipados y repetidos de las extremidades inferiores, aunque también pueden ocurrir en las superiores. Las evidencias clínicas y de laboratorio, le confieren un papel importante a las alteraciones de los sistemas dopaminérgicos centrales, particularmente el sistema nigro-estriatal. Por estas razones, investigamos el efecto del Lisuride, un agonista dopaminérgico, sobre los movimientos periódicos de las extremidades y la calidad del sueño de estos pacientes. Se logró reducir el índice de estos movimientos en el 91,7 % de los pacientes estudiados, con repercusión positiva sobre la calidad del sueño.

Estos ensayos clínicos han tenido un impacto positivo en los sujetos tratados, representando las primeras intervenciones clínicas en pacientes cubanos con este tipo de ataxia. Dichos estudios han dado paso a nuevas investigaciones, en función de encontrar otras alternativas terapéuticas desde estadios preclínicos de la enfermedad, para prolongar la edad de inicio y enlentecer la progresión de la misma.

CONCLUSIONES

1. Las principales características fenotípicas en los enfermos, según los estudios electrofisiológicos, fueron una neuropatía periférica axonal sensitiva, déficit olfatorio, alteraciones del aprendizaje visuomotor, enlentecimiento sacádico, disfunción fronto ejecutiva, reducción del sueño REM y movimientos periódicos de las extremidades.
2. El electromiograma reveló un patrón neurógeno, con denervación, como expresión de una degeneración de las motoneuronas del asta anterior de la médula espinal, mientras que los potenciales evocados somatosensoriales y auditivos mostraron un defecto de la conducción intraxial en cordones posteriores y tallo cerebral, respectivamente.
3. Los sujetos portadores asintomáticos de la mutación SCA2 manifestaron alteraciones que sugieren daño precoz de nervios periféricos sensitivos, cerebelo, puente, estructuras corticales y vías aferentes centrales. Estos hallazgos indican que el efecto patogénico de la ataxina 2 comienza tempranamente.
4. La reducción de la velocidad sacádica y del porcentaje del sueño REM anteceden a la aparición de los signos cerebelosos en más de una década. Las alteraciones olfatorias, del desempeño motor y la neuropatía periférica se inician más tardíamente. Estos resultados pueden utilizarse para monitorear la degeneración pontocerebelosa desde estadios subclínicos.
5. La integración de las variables clínico-neurofisiológicas definieron fases evolutivas que describen la progresión de la enfermedad y evalúan el patrón temporo-espacial del proceso neurodegenerativo, desde estadios presintomáticos hasta etapas avanzadas de la enfermedad.

6. La velocidad sacádica y la tasa de atonía del sueño REM se identificaron como biomarcadores de daño genético, dada su fuerte dependencia del número de repeticiones del trinucleótido CAG, mientras que la amplitud de los potenciales sensitivos y el porcentaje de sueño REM evaluaron el comportamiento de la progresión de la enfermedad.
7. La neuropatía periférica sensitiva, movimientos periódicos de las extremidades y prolongación de la latencia sacádica, representan manifestaciones sintomáticas de la SCA2, susceptibles de ser modificadas a través de estrategias farmacológicas.

RECOMENDACIONES

1. Iniciar los ensayos clínicos desde los estadios presintomáticos de la enfermedad, para prolongar la edad de inicio y enlentecer el curso evolutivo de la enfermedad, teniendo en cuenta los biomarcadores electrofisiológicos caracterizados.
2. Realizar estudios imagenológicos en los portadores de la mutación SCA2, con diferentes expansiones poliglutamínicas y edades, para establecer correlaciones con las variables neurofisiológicas y determinar la presencia o no de alteraciones en tallo cerebral y cerebelo.
3. Continuar avanzando en la identificación de posibles blancos terapéuticos, susceptibles de ser modificados por alternativas terapéuticas sintomáticas, para mejorar la calidad de vida de los pacientes afectados a partir de nuevas investigaciones neurofisiológicas y neuroquímicas.
4. Establecer un protocolo de tratamiento sintomático donde se combinen los fármacos utilizados en los ensayos clínicos, de conjunto con la rehabilitación, integrando todos los biomarcadores neurofisiológicos identificados.

ANEXOS

Anexo 1. Primeras clasificación de las fases evolutivas de progresión descritas en la SCA2 a partir de los estudios de conducción nerviosa periférica y los potenciales evocados.

Estos hallazgos se presentan de forma homogénea en los individuos que enfermaron en 1991, 1994 y 1996, lo que nos permitió definir en familiares estudiados las cuatro etapas evolutivas:

- *Primera etapa:* caracterizada por estudios electrofisiológicos 'normales' y ausencia de síntomas y signos de AEC₂.
- *Segunda etapa:* comienzan a aparecer cambios en las variables electrofisiológicas, fundamentalmente disminución en la amplitud de los potenciales sensitivos, prolongación en las latencias absolutas e interpicos de los componentes de los PESS, así como morfología anormal en los PEATC en ausencia de manifestaciones clínicas.
- *Tercera etapa:* incremento en las alteraciones electrofisiológicas que coinciden con la aparición de las primeras manifestaciones clínicas.
- *Cuarta etapa:* aparecen bloqueos en la conducción, tanto periférica como central, expresada por ausencia en la respuesta de los estudios de conducción nerviosa sensitiva y en los PESS.

Tomado de: Velázquez-Pérez Luis, Esther Medina. Características electrofisiológicas en familiares asintomáticos de enfermos con ataxia espinocerebelosa tipo 2. *Rev Neurol.* 1998;27(160):955-963.

Anexo 2. Fases evolutivas de la progresión en la SCA2, según estudios de conducción nerviosa periférica, electromiografía, potenciales evocados, electronistagmografía, polisomnografía y la evaluación clínica.

ESTUDIOS	PRE-FISIOLÓGICA	PRE-DIAGNÓSTICA	CLÍNICA (Estadio I)	CLÍNICA (Estadio II-III)
Estudios de Conducción Nerviosa Periférica	Normales	Disminución Amplitud de los potenciales sensitivos	Mayor Disminución Amplitud de los, latencias prolongadas VCS enlentecidas	Se agrega disminución de la amplitud de los potenciales motores. Ausencia de repuestas en potenciales sensitivos
Electromiograma	Normales	PUM polifásicos	PUM con aumento de las amplitudes y patrón de contracción aislado	Fasciculaciones y fibrilaciones, amplitudes de 10 mv patrón de contracción a oscilaciones simples
Potenciales Evocados Somatosensoriales	Normales	Morfología y replicabilidad anormales	Prolongación de las latencias de N13, N20, P40 y del TCC	Pérdida de componentes y/o ausencia de respuestas
Potenciales Evocados Auditivos de Tallo Cerebral	Normales	Morfología y replicabilidad anormales	Prolongación de las latencias III y V y del TCC	Pérdida de componentes y ausencia de respuesta
Potenciales Evocados Visuales	Normales	Normales	Normales	Prolongación de latencia de P100
Movimientos oculares sacádicos	Normales	Velocidad sacádica enlentecida a 60°/segs	Incremento en la severidad del enlentecimiento de la VSM a 60°/segs y enlentecimiento a 10, 20 y 30 °/segs	Mayor severidad con sácadas hipométricas muy severas y amplitudes muy disminuidas, oftalmoplejia en algunos casos
Video-Polisomnografía	Normales	Disminución del porcentaje de SREM y de la densidad de MOS	Incremento de la patología del SREM, REM sin atonía, MPE, Insomnio y disminución de la eficiencia del sueño	Se incrementa la severidad, algunos casos hacen RBD, pérdida total del sueño
Clínicos	No manifestaciones	Cramps, insomnio, disfunción cognitiva y autonómica, déficit olfatorio, hiperreflexia	Síndrome cerebeloso ligero, alteraciones del aprendizaje motor	Síndrome cerebeloso severo, signos de lesión de motoneurona inferior

Adaptado de: Velázquez-Pérez Luis, Rodríguez-Labrada Roberto, García-Rodríguez Julio Cesar, et al. A Comprehensive Review of Spinocerebellar Ataxia Type 2 in Cuba. Cerebellum. 2011;10:184–198.

DIVULGACIÓN DE LOS RESULTADOS RECOGIDOS EN LA TESIS

PUBLICACIONES

LIBROS

1. Velázquez L. Ataxia Espinocerebelosa tipo 2. Principales aspectos neurofisiológicos para el diagnóstico y pronóstico de la enfermedad. Ed. Holguín. 2006. ISBN 959-221-202-3. III Edición. Aceptado para publicar por Editorial Ciencias Médicas.
2. Velázquez L. Ataxia Espinocerebelosa tipo 2. Principales aspectos neurofisiológicos para el diagnóstico y pronóstico de la enfermedad. Ed. Holguín. 2008. ISBN 978-959-221-282-4. II Edición. Impreso por la Sábana LTDA, Colombia.
3. Velázquez L. Ataxia Espinocerebelosa tipo 2. Fisiopatología, Diagnóstico y Evolución. ECIMED, (Cuba)., 2011 (En Fase de Edición).
4. Velázquez L y Rodríguez R. Marcadores electrofisiológicos en sujetos presintomáticos con la mutación SCA2. Ed. Holguín. 2011. ISBN 959-221-202-3, (En Fase de Edición).
5. Velázquez L, Rodríguez R and Georg Auburger. An integrative characterization of SCA2: From the Epidemiological, molecular biology, Clinical picture and electrophysiological biomarkers. Capitulo para el libro Spinocerebellar Ataxias, Intech, 2011. (Revisión).

Artículos

1. **Luis Velázquez-Pérez**, Roberto Rodríguez-Labrada, Julio Cesar García-Rodríguez, Luis Enrique Almaguer-Mederos, Tania Cruz-Mariño, José Miguel Laffita-Mesa. A Comprehensive Review of Spinocerebellar Ataxia Type 2 in Cuba. *Cerebellum* 10:184–198, 2011.
2. **Luis Velázquez-Pérez**, Jorge Rodríguez-Chanfrau, Julio Cesar García-Rodríguez, Gilberto Sanchez-Cruz, Raúl Aguilera-Rodríguez, Roberto Rodríguez-Labrada. Oral Zinc Sulphate Supplementation for Six Months in SCA2 Patients: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial. *Neurochem Res* 36:1793–1800, 2011.
3. **Luis Velázquez-Pérez**, Ursula Voss, Roberto Rodríguez-Labrada, Georg Auburger, Nalia Canales Ochoa, Gilberto Sánchez Cruz, et al. Sleep

- Disorders in Spinocerebellar Ataxia Type 2 Patients. *Neurodegenerative Dis* 2011;8:447–454.
4. Roberto Rodríguez-Labrada, **Luis Velázquez-Pérez**, Nalia Canales Ochoa, Lourdes Galicia Polo, Reyes Haro Valencia, Gilberto Sánchez Cruz, et al. Subtle Rapid Eye Movement Sleep Abnormalities in Presymptomatic Spinocerebellar Ataxia Type 2 Gene Carriers. *Movement Disorders*, Vol. 26, No. 2, 2011.
 5. Roberto Rodríguez-Labrada, **Luis Velázquez-Pérez**, Carola Seigfried, Nalia Canales-Ochoa, Georg Auburger, Jacqueline Medrano-Montero, et al. Saccadic latency is prolonged in Spinocerebellar Ataxia type 2 and correlates with the frontal-executive dysfunctions. *Jou Neurol Sci*, 306:106-107, 2011.
 6. **Luis Velázquez Pérez**, Roberto Rodríguez Labrada, Gilberto Sánchez Cruz, José M. Laffita Mesa, Luis Almaguer Mederos, Raúl Aguilera Rodríguez, Jacqueline Medrano Montero, Dennis Almaguer Gotay, Tania Cruz Mariño, Yanetza González Zaldívar, Dany Coello Almarales, Nalia Canales Ochoa, Yaimeé Vázquez Mojena, Julio Cesar Rodríguez Díaz. Caracterización integral de la ataxia espinocerebelosa 2 en Cuba y su aplicación en proyectos de intervención. *Revista Cubana de Salud Pública*, 37(3):230-244, 2011.
 7. Jose Miguel Laffita-Mesa, **Luis Velázquez-Pérez**, Nieves Santos Falcón, Tania Cruz-Mariño, Yanetza González Zaldivar, Yaimee Vázquez Mojena, Dennis Almaguer-Gotay, Luis Enrique Almaguer Mederos and Roberto Rodríguez Labrada. Unexpanded and intermediate CAG polymorphisms at the SCA2 locus (ATXN2) in the Cuban population: evidence about the origin of expanded SCA2 alleles. *European Journal of Human Genetics* (2011), 1–9. On Line.
 8. **Velázquez Pérez L**, Rodríguez Labrada R, Canales Ochoa N, Sanchez Cruz G, Fernandez Ruiz J, Medrano Montero J, Aguilera Rodriguez R, Diaz R, Almaguer Mederos LE, Palomino Truitz A. Progression markers of Spinocerebellar Ataxia type 2. A twenty years neurophysiological follow up study. *J. Neurol Sci* 2010, 290:22–26.

9. Montes J, Sanchez G, Esteves G, Machado A, **Velázquez L**. Heart rate variability in patients with Spinocerebellar Ataxia type 2. *Act Neurolpathol Scand.* 122: 329–335, 2010.
10. Almaguer Mederos, L., Falcon NS, Almira YR, ZAldivar YG, Gongora EM, Herrera MP, Batallan KE, Arminan RR, Manresa MV, Cruz GS, Laffita Mesa JM, Chang TM, Auburger G, Gispert S, **Velázquez LP**. Estimation of age at onset in Spinocerebellar ataxia type 2 cuban patients by survival analysis. *Clin Genet.* doi: 10.1111/j.1399-0004.2009.01358, 2010.
11. Roberto Rodríguez-Labrada, **Luis Velázquez-Pérez**, Nalia Canales Ochoa, Lourdes Galicia Polo, Reyes Haro Valencia, Gilberto Sánchez Cruz, Jacqueline Medrano Montero, Jose M. Laffita-Mesa, Luis E. Almaguer Mederos, Yanetza González Zaldívar. Subtle Rapid Eye Movement Sleep Abnormalities in Presymptomatic Spinocerebellar Ataxia Type 2 Gene Carriers. *Movement Disorders, Movement Disorders, Vol. 26:(2), 347-50, 2011.*
12. **Velázquez Pérez L**, Sánchez Cruz G, Santos Falcón N, Almaguer Mederos LE, Escalona Batallan K, Rodríguez Labrada R, Laffita Mesa JM, Rodríguez Díaz JC, Aguilera Rodríguez R , González Zaldívar Y, Almaguer Gotay D, Coello Almarales D, Jorge Cedeño H. Molecular epidemiology of spinocerebellar ataxias in Cuba: Insights into SCA2 founder effect in Holguin. *Neuroscience Letters* 2009: 454 157-160.
13. **Velázquez-Perez 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. 2009. *PLOS ONE*.
14. **Velázquez-Pérez L.**, Seifried C, Abele M, Wirjatijasa F. , Rodríguez-Labrada R., N Santos-Falcón., Sánchez-Cruz G., Almaguer-Mederos L., Tejeda R. , Canales-Ochoa N., Fetter M., Ziemann U., Klockgether T., Medrano-Montero J., Rodríguez-Díaz J., Laffita-Mesa J.M., Auburger G. Saccade velocity is reduced in presymptomatic spinocerebellar ataxia type 2. *Clinical Neurophysiology* 2009 120: 632 .635.

15. Velázquez-Perez 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* 2009, 4(4):5398-5402.
16. **Velázquez-Pérez L**, Rodríguez-Labrada R, Medrano-Montero J, Sánchez-Cruz G. Canales-Ochoa N, Torres-Parra C. González-Zaldívar Y. Patrón electromiográfico en enfermos y portadores asintomáticos de la mutación SCA2. *Rev Neurol.* 2009 (49)1: 55-56.
17. Medrano J, **Velázquez L**, Canales N, Gonzalez Y. Estudio electrofisiológico de pares craneales en enfermos y portadores asintomáticos de la SCA2. *Rev. Neurol.* 2009. 49:278-279.
18. **Velázquez-Pérez L.**, Seifried C, Abele M, Wirjatijasa F. , Rodríguez-Labrada R., N Santos-Falcón., Sánchez-Cruz G., Almaguer-Mederos L., Tejada R. , Canales-Ochoa N., Fetter M., Ziemann U., Klockgether T., Medrano-Montero J., Rodríguez-Díaz J., Laffita-Mesa J.M., Auburger G. Saccade velocity is reduced in presymptomatic spinocerebellar ataxia type 2. *Clinical Neurophysiology* 2009 120: 632-635.
19. **Luis Velázquez Pérez** , Gilberto Sánchez Cruz , Nalia Canales Ochoa , Roberto Rodríguez Labrada , Julio Rodríguez Díaz , Luis Almaguer Mederos , José Laffita Mesa. Electrophysiological Features in Patients and Presymptomatic Relatives with Spinocerebellar Ataxia type 2. *Journal of the Neurological Sciences* 2007, 263:158-164
20. David K. Simon, Kangni Zheng, **Luis Velázquez**, Nieves Santos, Luis Almaguer, K. Pattie Figueroa, Stefan-M. Pulst, Mitochondrial Complex I Gene Variant Associated With Early Age at Onset in Spinocerebellar Ataxia Type 2. *Arch Neurol.* 2007;64(7):1042-1044.
21. Juan Fernández-Ruiz, **Luis Velázquez-Pérez**, Rosalinda Díaz, Rene Drucker-Colyn, Ruth Perez-Gonzalez, Nalia Canalesb , Gilberto Sanchez-Cruz, Edilberto Martínez-Gongora, Yaquelín Medrano, Luis Almaguer-Mederos, Carola Seifried, Georg Auburger. Prism adaptation in spinocerebellar ataxia type 2 *Neuropsychologia* 2007, 45:2692–2698.

22. **Velázquez-Pérez L**, Juan Fernández-Ruiz, Rosalinda Díaz, Ruth Perez-Gonzalez, Nalia Canales Ochoa, Gilberto Sanchez Cruz, Luis Enrique Almaguer Mederos, Edilberto Martínez Góngora, Robyn Hudson, Rene Drucker-Colin. Spinocerebellar ataxia type 2 olfactory impairment shows a pattern similar to other major neurodegenerative diseases. *J Neurol.* 2006;253(9):1165-9.
23. Stefan-M. Pulst, Nieves Santos, Dai Wang, Huiying Yang, Duong Huynh, **Luis Velazquez** and K. Pattie Figueroa. Spinocerebellar ataxia type 2: polyQ repeat variation in the CACNA1A calcium channel modifies age of onset. *Brain.* 2005, 128: 2297–2303.
24. **Velázquez-Pérez L**, Seifried C, Santos-Falcón N, Abele M, Ziemann U, Martínez-Góngora E, Sánchez-Cruz G, Canales N, Pérez-González R, Velázquez-Manresa M, Viebahn B, Stuckrad-Barre S, Fetter M, Klockgether T, , Auburger G. Saccade velocity is controlled by polyglutamine size in Spinocerebellar Ataxia type 2 (SCA2) *Ann Neurol.* 2004 Sept;56(3):444-7.
25. Seifried C, **Velázquez-Pérez L**, Santos-Falcón N, Abele M, Ziemann U, Almaguer LE, Martínez-Góngora E, Sánchez-Cruz G, Canales N, Pérez-González R, Velázquez-Manresa M, Viebahn B, Stuckrad-Barre S, Klockgether T, Fetter M, Auburger G. Saccade velocity as a surrogate disease marker in spinocerebellar ataxia type 2. *Ann N. Y. Acad. Sci* 2005, 1039: 524-27
26. Gilberto Sánchez, **L. Velázquez**, Edilberto Martínez, Mercedes Velázquez. Phenotypical characterization of the Cuban SCA2. *Restorative Neurology and Neurosciences*; 278 21:(5,6); 2003.
27. **Luis Velázquez**, Gilberto Sánchez, Luis Enrique Almaguer, Edilberto Martínez. Neurophysiological markers for the identification of modifiers genes and other factors of the clinical expression of the SCA2. *Restorative Neurology and Neurosciences*; 278 21:(5,6); 2003.
28. **Luis Velázquez**, Gilberto Sánchez, Luis Enrique Almaguer, Edilberto Martínez, Mercedes Velásquez, Karel Escalona, et al . Prevalence and incidente rate of the Spinocerebellar Ataxia in Cuba. *Restorative Neurology and Neurosciences*; 273 21:(5,6); 2003.

29. **Luis Velázquez**, Gilberto Sánchez, Edilberto Martínez, Nieves Santos Falcón, Mercedes Velázquez, Luis Enrique Almaguer. Cuban Spinocerebellar Ataxia Type 2 (SCA-2). The Highest Prevalence in the World. *Restorative Neurology and Neurosciences*; 277-278 20:(6); 2003
30. **Luis Velázquez**, Gilberto Sánchez, Julio César García, René Delgado, Lucía Márquez, Edilberto Martínez, Nieves Santos, Luis Enrique Almaguer. Spinocerebellar ataxia type 2 (SCA-2) in Cuba. A study of the clinical electrophysiological and redox system variations and its correlation with CAG repeats. *Restorative Neurology and Neurosciences*; 277; 20:(6) 2003.
31. **Luis Velázquez Pérez** , M. Luis Almaguer Mederos , Nieves Santos Falcón , P. Ricardo Hechavarría Pupo , Gilberto Sánchez Cruz , H. Milena Paneque Herrera. Ataxia espinocerebelosa tipo 2 en cuba. Estudio del fenotipo electrofisiológico y su correlación con variables clínicas y moleculares. *Rev Neurol* 2001; 33(12): 1129-36. Ataxia espinocerebelosa tipo 2 en cuba. Estudio del fenotipo electrofisiológico y su correlación con variables clínicas y moleculares. *Rev Neurol* 2001; 33(12): 1129-36.
32. **L. Velázquez**, J. Hoz-Oliveros, R. Hechavarría, H. Herrera, R. Pérez, JC Rodríguez, G. Sánchez, E. Martínez, N. Santos, M. Paneque. Análisis automático de los movimientos alternativos de miembros superiores en pacientes con ataxia espinocerebelosa tipo 2. *Rev. Neurología Española*, 2001; 33(1):10-6.
33. **L. Velázquez-Pérez**, F.N. Santos, R. García, H.M. Paneque, P.R. Hechavarría. Epidemiología de la Ataxia Hereditaria Cubana. *Rev Neurol* 2001; 32(7):606-11.
34. **L. Velázquez-Pérez**, F.N. Santos, R. García, H.M. Paneque, P.R. Hechavarría. Las Ataxias hereditarias en Cuba. Aspectos históricos, epidemiológicos, clínicos, electrofisiológicos y de neurología cuantitativa *Rev Neurol* 2001; 32: 71-6.
35. **L. Velázquez**, E. Medina, A. Alvarez, N. Santos, R. García, N. Oliveros, M. Paneque. Estudio clínico-electrofisiológico en 70 enfermos con Ataxia Espinocerebelosa Tipo 2. *Rev Neurol* 2000; 30(2):109-115.

36. **L. Velázquez**, G. Orozco. Ataxia cerebelosa Dominante Cubana. Estudios de conducción de nervios periféricos en pacientes y familiares asintomáticos. Rev Medicina (Buenos Aires) 1999; 59:63-66.
37. **L. Velázquez**, E. Medina. Características electrofisiológicas en familiares asintomáticos de enfermos con Ataxia Espinocerebelosa tipo 2. Rev Neurología Española 1998; 27(160):955-963.
38. **L. Velázquez**, E. Medina. Evaluación neurofisiológica en pacientes afectados por Ataxia Espinocerebelosa Tipo 2. Rev Neurología Española 1998; 27(160):921-926.
39. **L. Velázquez**. Potenciales Evocados Somatosensoriales por estimulación del nervio mediano en familiares asintomáticos y en enfermos de Ataxia Cubana. Rev Ciencias Holguín 1996;2(3) ISSN 1027-2127.
40. **L. Velázquez**, G. Orozco. Estudios de conducción nerviosa periférica en familiares asintomáticos y en enfermos de SCA2. Rev Ciencias Holguín 1996;2(3). ISSN 1027-2127.
41. **Luis Velázquez-Pérez**, Roberto Rodríguez-Labrada, Nalia Canales Ochoa, Lourdes Galicia Polo, Reyes Haro Valencia, Lázaro Alvarez, Gilberto Sánchez Cruz, Jacqueline Medrano Montero, José M. Laffita-Mesa, Yanetza González Zaldívar, Inca Tuin, Arnoy Peña Acosta, Georg Auburger. Movement Disorders during the Sleep in SCA2 mutation: Lisuride improve the Periodic Legs Movements. Mov Dis, Volume 25, Issue S2 Pages S181–S565, 2010 (Abstract).
42. **Velázquez-Pérez Luis**, Sánchez-Cruz G, Canales-Ochoa Nalia, Rodríguez-Labrada Roberto, Laffita-Mesa José. Electrophysiological Parameters as preclinical and progression biomarkers of Spinocerebellar Ataxia type 2. A Twenty Years Prospective Follow up Study. Mov Dis, Volume 25, Issue S2 Pages S181–S565, 2010 (Abstract).
43. **Velázquez-Pérez Luis**, Sánchez-Cruz Gilberto, Galicia-Polo Lourdes, Herrera-Paneque Milena, Garcia-Rodriguez Julio, Rodríguez-Labrada Roberto Laffita-Mesa Jose M, Almaguer-Mederos Luis, Aguilera Raúl, Gonzalez-Consuelo, Canales-Ochoa Nalia An integrative characterization of SCA2 in Cuba: Epidemiological, genetic neurochemical and

- Electrophysiological findings in 7 926 Cuban carriers. *Mov Dis*, Volume 25, Issue S2 Pages S181–S565, 2010 (Abstract).
44. RM Pérez, **L.C. Velázquez**, N. Canales, L.E. Almaguer, Y. Medrano, G. Sánchez. Electroencephalographic abnormalities in Spinocerebellar ataxia type 2 Cuban patients. *Society Proceedings / Clinical Neurophysiology* 119 (2008) e99–e164 e135. doi:10.1016/j.clinph.2008.04.162 (Abstract).
45. J. Medrano Montero, **L.C. Velázquez Pérez**, N. Canales Ochoa, L.E. Almaguer Mederos. Electrophysiological nerves pattern in patients and asymptomatic carriers with Spinocerebellar Ataxia type 2 (SCA2). *Society Proceedings / Clinical Neurophysiology* 119 (2008) e99–e164 e135. doi:10.1016/j.clinph.2008.04.158 (Abstract).
46. **L.C. Velázquez Pérez**, R. Rodríguez Labrada, L. Tuin, G. Sánchez Cruz, M.L. Galicia Polo, R. Haro Valencia, N. Canales Ochoa, R. Aguilera, F. Wirjatijasa, G. Auburger. Polysomnographic characterization in the SCA2 mutation. *Society Proceedings / Clinical Neurophysiology* 119 (2008) e99–e164 e135. doi:10.1016/j.clinph.2008.04.087 (Abstract).
47. R. Rodríguez Labrada, **L.C. Velázquez Pérez**, C. Seifried, U. Ziemann, G. Sánchez Cruz, N. Canales Ochoa, Y. Medrano, G. Auburger. Saccadic movements in SCA2: From disorders to electrophysiological biomarkers for clinicogenetic researches. *Society Proceedings / Clinical Neurophysiology* 119 (2008) e99–e164 e135. doi:10.1016/j.clinph.2008.04.164 (Abstract).
48. **L. Velázquez Pérez**, R. Rodríguez Labrada, N. Canales Ochoa, G. Sánchez Cruz, L. Galicia Polo, R. García Aguilera, L.E. Almaguer Mederos, H. ReyesValencia, J. Rodríguez. Sleep pathology characterization in the asymptomatic carriers of the SCA2 mutation. *Abstracts of the 5th Latin American Congress of Clinical Neurophysiology / Clinical Neurophysiology* 2008; 119(2): S143–S177 (Abstract).
49. **L. Velázquez Pérez**. Preclinical and progression markers in non-symptomatic first-degree relatives of SCA2 patients. A twenty-years prospective follow-up study. *Abstracts of the 5th Latin American Congress of Clinical Neurophysiology / Clinical Neurophysiology* 2008; 119(2): S143–S177 (Abstract).

50. R. Rodríguez Labrada, **L. Velázquez Pérez**, C. Siegfried, U. Ziemann, G. Sánchez Cruz, N. Canales Ochoa, G. Auburger. Saccadic movements in SCA2, From disorders to electrophysiological biomarkers for genetic and clinical research. Abstracts of the 5th Latin American Congress of Clinical Neurophysiology / Clinical Neurophysiology 2008; 119(2): S143–S177 (Abstract).
51. J. Montes-Brown, G. Sánchez Cruz, **L. Velázquez Pérez**, M. Estévez-Báez, A. Machado-García. Heart rate variability in type 2 spinocerebellar ataxia. Abstracts of the 5th Latin American Congress of Clinical Neurophysiology / Clinical Neurophysiology 2008; 119(2): S143–S177 (Abstract).
52. **Velázquez L**, Sánchez G, et al Estudio Neurofisiológico Longitudinal de 17 años en Presintomáticos en Clin Auton Res 2006;16(2) (Abstract).
53. **Velázquez L**, Sánchez G, et al Respuesta Simpática de la piel y Variabilidad de Ritmo Cardíaco. Rev. Cub. Genét. Comunitaria 2006 (Abstract).
54. **Velázquez L**, Sánchez G, et al Estudio Neurofisiológico Longitudinal de 17 años en Presintomáticos en Rev. Cub. Genét. Comunitaria 2006 (Abstract).
55. **Velázquez Pérez L**, Almaguer Mederos L, Sánchez Cruz G, Santos Falcón N. El tamaño de la expansión políglutámica influye sobre la variabilidad de la edad de inicio y de los parámetros neurofisiológicos de la SCA2. Plast & Rest Neurol 2005; 4(12): 110 (Abstract).
56. **Velázquez-Pérez L**, Seifried C, Santos-Falcón N, Abele M, Ziemann U, Martínez-Góngora E, Sánchez-Cruz G, Canales N, Pérez-González R., Almaguer Mederos L, Viebahn B, Stuckrad-Barre S, Fetter M, Klockgether T, Auburger G. La velocidad sacádica como un marcador endofenotípico en pacientes y familiares asintomáticos de la Ataxia Espinocerebelosa Tipo 2. Plast & Rest Neurol 2005; 4(12): 110 (Abstract).
57. **Velázquez Pérez L**, Canales Ochoa N, Sánchez CG, Santos Falcón N. Valor predictivo de los estudios electrofisiológicos en familiares asintomáticos de pacientes con SCA2. Un estudio longitudinal prospectivo de 17 años. Plast & Rest Neurol 2005; 4(12): 109 (Abstract).
58. **Velázquez Pérez L**, Sánchez Cruz G, Martínez E, Santos Falcón N, Velázquez M, Almaguer L, Escalona K, Almira Y, Reynaldo R, Prieto L.

- Ataxia Espinocerebelosa Tipo 2 (SCA-2). La mayor prevalencia mundial. *Plast & Rest Neurol* 2005; 4(12): 109 (Abstract).
59. **Velázquez Pérez L**, Rodríguez Díaz J, Sánchez Cruz G, García Rodríguez J, Delgado R, Almaguer Mederos L, Almaguer Gotay D, Hechavarría Pupo R. Evaluación de parámetros clínicos, neurofisiológicos y neuroquímicos en pacientes con SCA2 antes y después de la neurorrehabilitación. *Plast & Rest Neurol* 2005; 4(12): 110 (Abstract).
 60. Gilberto Sánchez, **Luis Velázquez**, J Montes, L Almaguer, JC Rodríguez, N Canales, L Santiago, Ricardo Hechavarría. Autonomic Nervous System function is controlled by the polyglutamine expansion size and time of evolution in Spinocerebellar Ataxia type 2. *Clin Autonomic Research* 2005; 15(5): 320 (Abstract).
 61. **Velázquez-Pérez L**, Seifried C, Santos-Falcón N, Abele M, Ziemann U, Martínez-Góngora E, Sánchez-Cruz G, Canales N, Pérez-González R, Almaguer Mederos L, Viebahn B, Stuckrad-Barre S, Fetter M, Klockgether T, Auburger G; Saccade velocity is controlled by polyglutamine size in Spinocerebellar Ataxia type 2 (SCA2) *Clin Autonomic Research* 2005; 15(5): 336 (Abstract).
 62. **Velázquez Pérez L**, Sánchez Cruz G, Almaguer Mederos L, Santos Falcón N. Expanded CAG repeat sizes influence age at onset and electrophysiological parameters os Spinocerebellar Ataxia Type 2. *Clin Autonomic Research* 2005; 15(5): 336 (Abstract).
 63. **Luis Velázquez**, Gilberto Sánchez. Predictive Value of Electrophysiological Parameters in Non-symptomatic First-degree Relatives of SCA2 Patients. A Seventen Years Prospective Follow up Study. *Clin Autonomic Research* 2005; 15(5): 337 (Abstract).
 64. **Luis Velázquez**, Gilberto Sánchez, Edilberto Martínez, Nieves Santos Falcón, Mercedes Velázquez, Luis Enrique Almaguer. Cuban Spinocerebellar Ataxia Type 2 (SCA-2). The Highest Prevalence in the World. *Clin Autonomic Research* 2005; 15(5): 336 (Abstract).
 65. **L. Velázquez**, E. Medina. Correlación clínico neurofisiológica en pacientes con Ataxia Espinocerebelosa Tipo 2. *Rev CNIC* 1999; 30:(No. Especial) 16-17 (Abstract).

66. **L. Velázquez**, G. Orozco. Caracterización neurofisiológica en familiares asintomáticos y en enfermos de la SCA2. Rev CNIC 1997; 28(3):137-139 (Abstract).

CONFERENCIAS DICTADAS EN EVENTOS

1. Los estudio electrofisiológicos: Su utilidad en la identificación de marcadores preclínicos, de la progresión de la enfermedad y del daño genético en las ataxias espinocerebelosas. II reunión de la Red Iberoamericana Multidisciplinar para el estudio de los Trastornos del Movimiento (RIBERMOV), 26 al 30 de Septiembre 2011, Viña del Mar, Chile.
2. Balance y Seguimiento de las investigaiones desarrolladas en el marco de RIBERMOV, CIRAH. II reunión de la Red Iberoamericana Multidisciplinar para el estudio de los Trastornos del Movimiento (RIBERMOV), 26 al 30 de Septiembre 2011, Viña del Mar, Chile.
3. Ataxia Espinocerebelosa Tipo 2. Epidemiología, fenotipo y biomarcadores. Centro de Neurociencias de Antioquia, 18 de Agosto de 2011., Medellin, Colombia.
4. Neurofisiología e integración de la coordinación y el movimiento: Papel del Cerebelo y otras estructuras motoras. Simposium Afecciones Neurologicas Discapacitantes, Efermedades Degenerativas y lesiones estaticas. 16 al 20 de Mayo de 2011. Xalapa, Veracruz, Mexico.
5. Ataxias Hereditarias y otros trastornos del movimiento como causa de discapacidad. Simposium Afecciones Neurologicas Discapacitantes, Efermedades Degenerativas y lesiones estaticas. 16 al 20 de Mayo de 2011. Xalapa, Veracruz, Mexico.
6. Caracterización clínico- genética de la Ataxia Espinocerebelosa Tipo 2 en Cuba. Simposium Afecciones Neurologicas Discapacitantes, Efermedades Degenerativas y lesiones estaticas. 16 al 20 de Mayo de 2011. Xalapa, Veracruz, Mexico.
7. Evaluación electrofisiológica y disfunción cognitiva en pacientes con Corea de Huntington, Enfermedad de Parkinson y Ataxias Hereditarias. Simposium Afecciones Neurologicas Discapacitantes, Efermedades

- Degenerativas y lesiones estaticas. 16 al 20 de Mayo de 2011. Xalapa, Veracruz, Mexico.
8. Estrategias para el tratamiento de la ataxia hereditaria SCA2 y otras poliglutaminopatías: Desde el modelo animal hasta el paciente. Simposium Afecciones Neurologicas Discapacitantes, Efermedades Degenerativas y lesiones estaticas. 16 al 20 de Mayo de 2011. Xalapa, Veracruz, Mexico.
 9. Sueño: Fisiología normal y patológica. Principales alteraciones y su manejo en pacientes con Ataxias y otras degeneraciones. Simposium Afecciones Neurologicas Discapacitantes, Efermedades Degenerativas y lesiones estaticas. 16 al 20 de Mayo de 2011. Xalapa, Veracruz, Mexico.
 10. Disfunción de los movimientos oculares sacádicos en las ataxias hereditarias y en la enfermedad de Huntington. Simposium Afecciones Neurologicas Discapacitantes, Efermedades Degenerativas y lesiones estaticas. 16 al 20 de Mayo de 2011. Xalapa, Veracruz, Mexico.
 11. Desarrollo histórico y perspectivas de las investigaciones sobre las Ataxias hereditarias en Cuba. I Simposium sobre Ataxias Espinocerebelosas y Enfermedad de Parkinson. Etiopatogenia y Posibilidades Terapéuticas. Universidad Medica de Holguin, 1 al 3 de Marzo de 2011.
 12. A comprehensive study of spinocerebellar ataxia 2 in cuba: disease biomarkers, terapeutical targets and treatment options. IV Simposium Ataxias Hereditarias en el marco del congreso de Inmunofarmacologia 2011, Varadero, Matanzas, 26 al 30 de Junio.
 13. Ensayos Clínicos en pacientes cubanos con SCA2. I Simposium sobre Ataxias Espinocerebelosas y Enfermedad de Parkinson. Etiopatogenia y Posibilidades Terapéuticas. Universidad Medica de Holguin, 1 al 3 de Marzo de 2011.
 14. Colaboración Cuba-Canada. Experiencias del Centro para la Investigacion y Rehabilitacion de las Ataxias Hereditarias, CIRAH. Seminario Internacional de Estudios Canadienses. Universidad de Holguin, 27 Abril de 2011.
 15. A comprehensive study of spinocerebellar ataxia 2 in cuba: disease biomarkers, terapeutical targets and treatment options. IV Simposium

- Ataxias Hereditarias en el marco del congreso de Inmunofarmacología 2011, Varadero, Matanzas, 26 al 30 de Junio.
16. Desarrollo histórico y perspectivas de las investigaciones sobre las Ataxias hereditarias en Cuba. I Simposium sobre Ataxias Espinocerebelosas y Enfermedad de Parkinson. Etiopatogenia y Posibilidades Terapéuticas. Universidad Medica de Holguin, 1 al 3 de Marzo de 2011.
 17. Ensayos Clínicos en pacientes cubanos con SCA2. I Simposium sobre Ataxias Espinocerebelosas y Enfermedad de Parkinson. Etiopatogenia y Posibilidades Terapéuticas. Universidad Medica de Holguin, 1 al 3 de Marzo de 2011.
 18. Ataxias. Actualización terapéutica y Rehabilitación. Auditorio del Colegio de Médicos. Santiago del Estero. Argentina, 18 de Junio, 2010.
 19. Polysomnographic characterization in the SCA2 mutation. A two years prospective follow up study. Colegio de Medicina Física y rehabilitación, Puebla, México, abril 30 de 2010.
 20. An integrative characterization of SCA2 in Cuba. Epidemiological, genetic, neurochemical and electrophysiological findings in 7926 Cuban carriers. Colegio de Medicina Física y rehabilitación, Puebla, México, mayo 1 de 2010.
 21. Ataxias Espinocerebelosas: características fenotípicas, genotípicas y manejo. México, 4 de mayo de 2010, con una duración de 1h. La Coordinación de Psicofisiología. Facultad de Psicología de la UNAM.
 22. Ataxia Espinocerebelosa Tipo 2. Congreso Internacional de Investigación en Rehabilitación. México, 27 de septiembre al 1 de octubre del 2010
 23. Las ataxias y otras enfermedades neurológicas como causa de discapacidad: Situación actual y perspectivas Jornada Científica. Aniversario del Centro Nacional de Genética. Caracas, Venezuela, 13 de octubre del 2010.
 24. Cuban Spinocerebellar Ataxia Type SCA2: From phenotype to predictive testing and clinical trials. REUNIÓN DE LA RED IBEROAMERICANA MULTIDISCIPLINAR PARA EL ESTUDIO DE LOS TRASTORNOS DEL

- MOVIMIENTO (RIBERMOV), 18 al 22 de Octubre 2010, Buenos Aires, Argentina.
25. Neurophysiological parameters as biomarkers for the identification of preclinical changes, therapeutic targets and genetic damage in Cuban SCA2 Mutation. REUNIÓN DE LA RED IBEROAMERICANA MULTIDISCIPLINAR PARA EL ESTUDIO DE LOS TRASTORNOS DEL MOVIMIENTO (RIBERMOV), 18 al 22 de Octubre 2010, Buenos Aires, Argentina.
 26. Ataxia Espinocerebelosa Tipo 2: Situación actual y perspectivas. Aniversario del Hospital Provincial de Holguín, Noviembre 2010.
 27. Electrophysiological parameters as preclinical and progression biomarkers of SCA2. A twenty years prospective follow up study. The Movement Disorders Society's 14 th International Congress of Parkinson's Disease and Movement Disorders. Buenos Aires, Argentina, 13-17 de junio del 2010.
 28. An integrative characterization of SCA2 in Cuba. Epidemiological, genetic, neurochemical and electrophysiological findings in 7926 Cuban carriers. The Movement Disorders Society's 14 th International Congress of Parkinson's Disease and Movement Disorders. Buenos Aires, Argentina, 13-17 de junio del 2010.
 29. Polysomnographic characterization in the SCA2 mutation. A two years prospective follow up study. The Movement Disorders Society's 14 th International Congress of Parkinson's Disease and Movement Disorders. Buenos Aires, Argentina, 13-17 de junio del 2010
 30. Estudio exploratorio de algunos indicadores neurofisiológicos en taekwondistas escolares (categoría 15-16), de la EIDE de Holguín. IX Encuentro Territorial. XII Jornada científica provincial de la Medicina del deporte. Bayamo 4 de junio del 2010.
 31. Ataxias Espinocerebelosas: características fenotípicas, genotípicas y manejo. México, 4 de mayo de 2010, con una duración de 1h. La Coordinación de Psicofisiología. Facultad de Psicología de la UNAM.
 32. An integrative characterization of SCA2 in Cuba. Epidemiological, genetic, neurochemical and electrophysiological findings in 7926 Cuban carriers.

- Colegio de Medicina Física y rehabilitación, Puebla, México, mayo 1 de 2010.
33. Polysomnographic characterization in the SCA2 mutation. A two years prospective follow up study. Colegio de Medicina Física y rehabilitación, Puebla, México, abril 30 de 2010.
 34. Ataxia cubana: historia y desafíos de un proyecto. IV Curso Internacional de Enfermedades Neurodegenerativas causadas por mutaciones dinámicas. Holguín Abril 2010.
 35. Caracterización integrativa de la SCA2 cubana en 7926 portadores. Congreso Nacional de Neurología. Cienfuegos 16-18 de marzo 2010.
 36. Suplementación con Cinc en los pacientes con SCA2. Primer ensayo Clínico para la Ataxia Cubana. 17 de Abril del 2009. Congreso Internacional de Neurología y Neurocirugía, Habana, 2009.
 37. Suplementación de zinc en los pacientes con SCA2. Primer ensayo clínico para La ataxia cubana. Congreso Internacional de Neurología y Neurocirugía Habana 2009. La Habana, 17 de abril del 2009.
 38. Ataxia. Espinocerebelosa tipo 2: La mutación más frecuente em Cuba. Congreso Internacional de Neurología y Neurocirugía Habana 2009. La Habana, 17 de abril del 2009.
 39. Ataxia. Espinocerebelosa tipo 2 em Cuba: Desde La epidemiologia hasta La búsqueda de alternativas terapêuticas. La Habana, 9-13 de marzo del 2009.
 40. Sleep Pathology Characterization in Presymptomatic Relatives of SCA2. V International workshop on Machado Joseph disease. Miguel Azores, 1-3 de abril del 2009.
 41. Predictive value of electrophysiological parameters in nom-symptomatic firs-degree relatives of SCA2 pacientes. A twenty years prospective follow up study. V International workshop on Machado Joseph disease. Miguel Azores, 1-3 de abril del 2009.
 42. Spinocerebellar ataxia type 2: A clinical, molecular, neurochemical and electrophysiological study of the mutation em 106 cuban families. V International workshop on Machado Joseph disease. Miguel Azores, 1-3 de abril del 2009.

43. Aspectos relevantes y perspectivas de las Ataxias en Cuba. 17 de Abril del 2009. Congreso Internacional de Neurología y Neurocirugía, Habana, 2009.
44. Neuromodulación y neuroprotección en la SCA2. Hallazgos clínicos en el modelo de ratón transgénico cubano. 17 de Abril del 2009. Congreso Internacional de Neurología y Neurocirugía, Habana, 2009.
45. 3ra Conferencia Científica Restauración Neurológica 2009. Ataxia Espinocereblosa Tipo 2: Desde la epidemiología hasta la búsqueda de alternativas terapéuticas, 9 al 13 de Marzo, 2009.
46. 3ra Conferencia Científica Restauración Neurológica 2009. Spinocerebellar Ataxia Type 2: A clinical, molecular, neurochemical and electrophysiological study of the mutation in 106 Cuban families, 9 al 13 de Marzo, 2009.
47. 3ra Conferencia Científica Restauración Neurológica 2009. Neurophysiological and cognitive disorders in SCA2. Significance for rehabilitative therapy. La Habana 9 al 13 de Marzo, 2009.
48. Marcadores electrofisiológicos preclínicos y de progresión de la SCA2. Un estudio Longitudinal de 20 años, II Jornada Provincial de Ciencias Fisiológicas. Consejo Provincial de Ciencias Fisiológicas, 16 de Enero del 2009, Ciudad de Holguín.
49. Ataxia Espinocereblosa Tipo 2: La terapia: Mito o Realidad?. 13 de Febrero, 2009. Jornada provincial XI aniversario. Hospital MNT, Holguín.
50. Ataxia Espinocereblosa Tipo 2: Nuevas investigaciones y perspectivas de tratamiento. 4 de Febrero, 2009, Holguín. Expociencia.
51. Ataxia Espinocereblosa Tipo 2: Prevalencia, marcadores electrofisiológicos y alternativas terapéuticas. 16 de Enero, 2009. II Jornada Científica provincial de Ciencias Fisiológicas. Colegio Médico, Holguín.
52. La pérdida de la interrupción CAA en los alelos normales largos de ATX2 es un factor de riesgo para la inestabilidad del gen de la SCA2: un estudio basado en secuencias y haplotipos en grupos cubanos altamente enparentados. I Congreso Iberoamericano de Química, Bioquímica e Ingeniería Química. VII Congreso Internacional de Química e Ingeniería Química. La Habana, Cuba, 14 octubre 2009.
53. Loss of CAA interruption in large SCA2 alleles in risk factor to SCA2 gene instability and sequences based study in large Cuban kindreds.

- Biotecnología Habana 2009. Aplicaciones Médicas de la Biotecnología. La Habana, 5 de noviembre 2009.
54. Are similar the somatic mosaicisms of the CAG repeat expansions in Machado Joseph disease/SCA3 and SCA2 patients? Biotecnología Habana 2009. Aplicaciones Médicas de la Biotecnología. La Habana, 5 de noviembre 2009.
55. Genetics predisposition to SCA2 and epigenetics as modifier of clinical severity. Biotecnología Habana 2009. Aplicaciones Médicas de la Biotecnología. La Habana, 5 de noviembre 2009.
56. Suplementación de Zinc en pacientes con SCA2. XVII FORUM de Ciencia y Técnica, Segunda Etapa. CIRAH, Holguín, 30 de junio 2009
57. Luz a la ciencia en Holguín. III Taller de Científicos Holguineros y XV años de la revista Ciencias Holguín. 23 de octubre 2009.
58. Spinocerebellar Ataxia Type 2: The Most Frequent Mutation in Cuba. From the Prevalence to the Endophenotypical Markers for Therapeutic Evaluation. 12 de Enero 2008. Universidad de Frankfurt Main.
59. Spinocerebellar Ataxia type 2: The most frequent mutation in Cuba. From the Prevalence to the Endophenotypical Markers for therapeutic evaluation. III Simposio Internacional de Ataxias Hereditarias. Hotel Delta las Brisas, Guardalavaca, Holguín, 1 al 3 de octubre del año 2008.
60. Progression patterns and preclinical biomarkers of SCA2: A twenty years follow up study. III Simposio Internacional de Ataxias Hereditarias. Hotel Delta las Brisas, Guardalavaca, Holguín, 1 al 3 de octubre del año 2008.
61. Ataxia Espinocereblosa Tipo 2: Desde la epidemiología, el fenotipo y la biología molecular hasta las terapias restaurativas. Evento Salud y Calidad de Vida de Vida. Holguín, 28 de Noviembre de 2007.
62. Hereditary Ataxia in Cuba. Epidemiology, diagnosis and research. Therapeutic possibilities. Pharmacology Havana 2007. Diciembre 11 al 14 del 2007.
63. Ataxia Espinocereblosa Tipo 2: Desde la epidemiología, el fenotipo y la biología molecular hasta las terapias restaurativas. Aula Magna de la Facultad de Medicina de Xalapa, México. 3 de Octubre de 2007.

64. Ataxia Espinocereblosa Tipo 2: Diagnóstico, Pronóstico y Evolución. Clínica San Pedro de Puebla. Nuevo Hospital Latinoamericano, 4 de octubre del 2007.
65. Diagnóstico y Tratamiento integral de las Ataxias Hereditarias (Taller). 7ma Reunión Internacional de Avances en la restauración del Sistema Nervioso, Puebla 26 de Septiembre del 2007, México.
66. Ataxia Espinocereblosa Tipo 2: Desde la epidemiología, el fenotipo y la biología molecular hasta las terapias restaurativas. 7ma Reunión Internacional de Avances en la restauración del Sistema Nervioso, Puebla 26 de Septiembre del 2007, México.
67. Impacto Social de las Ataxias Hereditarias. Centro de Convenciones de Puebla. Dado por el Club de Rotarios de Puebla Centro histórico. 1ro de Octubre del 2007.
68. Apnea del Sueño. Tratamiento Multifactorial. Evento Internacional Odontos 2007. Dado en la Facultad de Ciencias Médicas de Holguín a los 23 días del mes de Junio del año 2007.
69. Proyecto Ataxia. Impactos sobre las familias afectadas. Facultad de Ciencias Médicas de Holguín. I Forum tecnológico Especial. Dado a los 20 días del mes de Abril del 2007.
70. Rehabilitación de los Pacientes con Ataxias Hereditarias. Rehabilitación 2007. IV Congreso Internacional de la Sociedad Cubana de Medicina Física y Rehabilitación. Palacio de las Convenciones. Ciudad de La Habana, 26 al 30 de Marzo del año 2007.
71. Ataxia Espinocerebelosa Tipo 2. Epidemiología. Fisiopatología y principales alteraciones de los patrones del sueño en enfermos y presintomáticos. Universidad Nacional Autónoma de México. Clínica de Trastornos del Sueño. Facultad de Medicina.. 17 de Marzo del 2007.
72. Ataxia Cerebelosa. Experiencia Cubana. IX Congreso Nacional de Medicina Interna. Palacio de las Convenciones, 23 al 27 de Octubre del 2006.
73. An updated Vision of the Center of Heredoataxias of Holguin. 5ta Conferencia de Neurología. 23 al 25 de Marzo del 2006. Santiago de Cuba.

74. Antecedentes clínico-genético, el origen y epidemiología de la ataxia espinocerebelosa tipo 2 de Holguín. 1er Congreso Internacional de Genética Comunitaria. Ciudad de La Habana, 12 de Mayo del 2006. Palacio de las Convenciones. Ciudad de La Habana.
75. Aspectos anatómicos y fisiológicos del cerebelo. Nuevas Consideraciones funcionales y su rol en la fisiopatología de las enfermedades producidas por mutaciones dinámicas. 2nd. International Caribbean Course on Molecular and Neurophysiological Base of the Neurodegenerative Diseases by Dynamic Mutations. Hotel Pernik, Ciudad de Holguín, 23 al 25 de Mayo, 2006.
76. La Ataxia Cubana: Un modelo experimental para el desarrollo de investigaciones científicas en Enfermedades Neurodegenerativas producidas por mutaciones dinámicas. 2nd. International Caribbean Course on Molecular and Neurophysiological Base of the Neurodegenerative Diseases by Dynamic Mutations. Hotel Pernik, Ciudad de Holguín, 23 al 25 de Mayo, 2006.
77. Experiencia Cubana en la investigación científica y la asistencia médico-social de las Ataxias Hereditarias. VII Encuentro de Afectados y Familiares de Ataxias. 2 al 4 de Junio del 2006. Federación Andaluza de Asociaciones de Ataxias. Sevilla España.
78. Ataxia Espinocerebelosa Tipo 2 Cubana. Forno Nacional de Investigación e Innovación en Salud "FINSA 2006" del 27 al 29 de Noviembre, Ciudad de La Habana.
79. Spinocerebellar Ataxia 2: The most frequent mutation in Holguín, Cuba. From the prevalence to the endophenotypical markers for the therapeutic evaluation, Noviembre 2005. II Simposium Internacional de Ataxias Hereditarias, Hotel Pernik, Holguín, Noviembre 2005.
80. Neurophysiological Markers in Presymptomatic Relatives of SCA2 Patients are Controlled by Polyglutamine Size and the Duration of the Disease. A Seventen Years Prospective Follow up Study. II Simposium Internacional de Ataxias Hereditarias, Hotel Pernik, Holguín, Noviembre 2005.

81. Saccadic Eye Movements as a Endophenotype Markers in Patines and Presymptomatic Relatives of SCA2. . II Simposium Internacional de Ataxias Hereditarias, Hotel Pernik, Holguín, Noviembre 2005.
82. Las ataxias hereditarias en cuba. epidemiología, terapéutica e investigaciones en desarrollo. Santiago de Cuba. VI congreso cubano de Farmacología y terapéutica, III taller nacional de Farmacoepidemiología, I Jornada Nacional de Ensayos Clínicos, Noviembre 2005.
83. Cuban Spinocerebellar Ataxia Type 2 (SCA-2). The Highest Prevalence in the World. VI Reunión Internacional sobre Avances en la Restauración del Sistema Nervioso. Veracruz, México, 18 al 21 de Octubre 2005.
84. Aplicación de las investigaciones moleculares en la Ataxia SCA2 Cubana. Evento Nacional de Genética Médica. Ciudad Habana, Diciembre 2004.
85. Ataxia Espinocerebelosa Tipo 2 (SCA-2). La mayor prevalencia mundial. IV Congreso Latinoamericano de Neurofisiología Clínica. V Jornada Sociedad Chilena de Neurofisiología. Santiago de Chile, Octubre 2004.
86. Valor predictivo de los estudios electrofisiológicos en familiares asintomáticos de pacientes con SCA2. Un estudio longitudinal prospectivo de 17 años. IV Congreso Latinoamericano de Neurofisiología Clínica. V Jornada Sociedad Chilena de Neurofisiología. Santiago de Chile, Octubre 2004.
87. La velocidad sacádica como un marcador endofenotípico en pacientes y familiares asintomáticos de la Ataxia Espinocerebelosa Tipo 2. IV Congreso Latinoamericano de Neurofisiología Clínica. V Jornada Sociedad Chilena de Neurofisiología. Santiago de Chile, Octubre 2004.
88. Bases fisiológicas y fisiopatológicas de la Restauración Neurológica en la Ataxia Tipo SCA2. Facultad de Ciencias Médicas de Holguín, 9 de julio del 2004.
89. Ataxia Espinocerebelosa Tipo 2 Cubana. Un problema de salud en Cuba. II Jornadas Científicas sobre Ataxia, Madrid, 4 al 5 de Junio del año 2004.
90. Neurophysiological Markers for the identification of Modifiers genes and other factors of the clinical expression of the SCA2. Second Scientific Conference Restauración neurological 2004. Ciudad de La Habana. February 24 to 27, 2004.

91. Spinocerebellar Ataxia Type 2. Saccadic eye movements in patients and presymptomatic relatives. Hotel Nacional, Congreso Internacional de Neurofisiología Clínica. Ciudad de La Habana, Marzo 2004.
92. Prevalence and incidence rate of the Spinocerebellar Ataxia in Cuba. Second Scientific Conference Restauración Neurológica. Hotel Meliá Habana, Ciudad de La Habana, Febrero, 2004.
93. Estudio neurofisiológico de la Ataxia Cubana Tipo SCA2. XV Forum de Ciencia y Técnica. Hospital VI Lenin (2003).
94. Neurofisiología de los movimientos oculares Sacádicos. XV Forum de Ciencia y Técnica CIRAH. (2003).
95. Cuban Spinocerebellar Ataxia Type 2. The Highest Prevalence in the World. (II Interamerican Conference of Pharmacy and Nutrition. Havana City, March 2003)
96. Neurophysiological and Genotypical correlation in Cuban SCA2. (II Interamerican Conference of Pharmacy and Nutrition. Havana City, March 2003).
97. Valor Predictivo de los parámetros electrofisiológicos en los familiares presintomáticos y en enfermos de SCA2 cubana. Un estudio prospectivo de 15 años (Neurorehabilitación, 1 al 5 Septiembre 2003, CIREN).
98. Ataxia Espinocerebelosa Tipo 2. Un problema de salud en Cuba. (Neurorehabilitación, 1 al 5 Septiembre 2003, CIREN).
99. Epidemiología y aspectos generales de la Ataxia Espinocerebelosa Tipo 2. (V Simposium de Estrés Oxidativo, CIBIOMED, 14 al 16 Octubre 2003. Ciudad Habana).
100. Epidemiología y fisiopatología de la SCA2. (Primer Taller Territorial de Neurorehabilitación, Mayo 2003, Báguanos).
101. Neuroepidemiological Studies on Cuban Hereditary Ataxias. The Highest prevalence of the World. (First International Symposium on Hereditary Ataxias and Second Caribbean Meeting on Demencias, Holguin City November, 2002).
102. Molecular and Neurophysiological Correlation in Cuban SCA2. (First International Symposium on Hereditary Ataxias and Second Caribbean Meeting on Demencias, Holguin City November, 2002).

103. Postural Stability in Cuban SCA2 patients. (First International Symposium on Hereditary Ataxias and Second Caribbean Meeting on Demencias, Holguin City November, 2002).
104. Epidemiological Studies in Cuban SCA2. (National Congress of Pharmacology. Havana City, October 2002).
105. Phenotypical and Genotypical Characterization of the SCA2. (First National Workshop of Health and Quality of Life, Holguin City October 2002).
106. Hereditary Ataxias from Cuba. Neuroepidemiology, Phenotype, Genotype and Neurorehabilitation. (Second International Congress of Rehabilitation. Havana City, March, 2002).
107. Neuroepidemiology, founder effect and physiopathology of the Cuban SCA2. (Third International Conference of Neurology. Santiago de Cuba City, March 2002).
108. Principios del tratamiento de Rehabilitación en pacientes con Ataxia Cerebelosa. IV Congreso Internacional de Medicina Tradicional, Natural y Bioenergética. Facultad de Ciencias Médicas de Holguín, 28 de Junio del 2002.
109. Organización del megaproyecto de Ataxias Hereditarias. Epidemiología. Congreso XL Aniversario de la Fundación del Instituto de Neurología y Neurocirugía. Ciudad de La Habana 2 de Febrero 2002.
110. Functional Evaluation of Nervous System in patients suffering from SCA2 According to levels of CAG repeat. (National Congress of Clinical Neurociences. II International Congress of Neuro intensive Care, Havana City, July 2001 and Meeting on Visual and the Peripheral Nervous System Diseases, Havana City August 2001).
111. Quantitative evaluation of the Coordination in patients with SCA2. (National Congress of Clinical Neurociences. II International Congress of Neuro intensive Care, Havana City, July 2001 and the Peripheral Nervous System Diseases, Havana City August 2001).
112. Epidemiology of Hereditary Ataxias from Cuba. (National Congress of Clinical Neurociences. II International Congress of Neuro intensive Care,

- Havana City, July 2001 and the Peripheral Nervous System Diseases, Havana City August 2001).
113. Hereditary Ataxia. Social Impact of the Multidisciplinary Program of the Multidisciplinary intervention. (International Congress on Bioethic, Holguin City October 2001).
 114. Hereditary Ataxias and Spinocerebellar Ataxias type 2 in Holguin City. (III National Workshop on Hereditary Ataxias in Cuba, Pernik Hotel Holguin City, February 2001).
 115. Hereditary Ataxias in Cuba. (Meeting Cuba-USA, Havana City December, 1999).
 116. Cuban Hereditary Ataxia. (International Congress of the Biotechnology, Havana City December, 1999).
 117. Electrophysiological Study in the Spinocerebellar Neurodegeneration Type 2. (II International Symposium on technical of advanced in Clinical Neurophysiology, Havana City July 1999).
 118. Spinocerebellar Ataxia Type 2. Development of a system of quantitative neurology for the evaluation diagnostic and prognostic of the rehabilitation (XVIII Congress of Latin American Medical Association of Rehabilitation, Havana City 1999).
 119. Evaluation of the coordination for technical of quantitative neurology in patient with SCA2 before and after the rehabilitation. (XVIII Congress of Latin American Medical Association of Rehabilitation, Havana City 1999).
 120. Estudio electrofisiológico en la Dgeneración Espinocerebelosa Tipo 2. Centro de Investigaciones Médico-Quirúrgicas. Centro Latinoamericano de Eventos Médicos. Ciudad de La Habana, 23 de Julio de 1999.
 121. Clinical and neurophysiological correlation in SCA2. (International Congress of Neurology, Havana City (CIMEQ) July, 1999).
 122. Neurophysiological Study in patients with SCA2. (International Congress of Neurology, Havana City (CIMEQ) July, 1998).
 123. Electrophysiological Characterization in presymptomatic relatives of patients with SCA2. (International Congress of Neurology, Havana City (CIMEQ) July, 1998).

124. Caracterización neurofisiológica en enfermos y familiares asintomáticos de la SCA2. Generalización del estudio a la red nacional de Neurofisiología clínica. XX Concurso Premio Anual de Salud, Ciudad de la Habana, 6 de abril de 1998.
125. Cuban Autosomal Dominant Cerebellar Ataxia. Presymptomatic diagnosis through neurophysiological study. (VI International Seminar of Primary Health Care, November, 1997).
126. Electrophysiological Characterization in presymptomatic relatives and patients with SCA2 in Cuba. (International Workshop of Clinical Neurophysiology. September, 1997, II Latin American Workshop of Clinical Neurophysiology Buenos Aires, 1997).
127. Preclinical diagnosis through neurophysiological markers in the Spinocerebellar Ataxia. (V International Seminar of Health Primary Care. November, 1994).
128. Neurophysiological Preclinical Evaluation in Cuban Ataxia. (The Caribbean Brain Research organization. First Regional Meeting, 1994).
129. Description of neurophysiological markers in asymptomatic offspring with Cuban Cerebellar Dominant Ataxia. First regional meeting of CARIBRO. November, 1994).
130. Preclinical diagnosis and physiopathological analysis in the Cuban Dominant Cerebellar Ataxia. (First Regional International Meeting, of CARIBRO. November, 1994).

PREMIOS, DISTINCIONES Y CONDECORACIONES

Internacionales

1. Premio de la Federación Mundial de Neurofisiología Clínica en Septiembre de 1997, Buenos Aires Argentina.
2. Premio de la Federación Mundial de Neurofisiología Clínica (Año 2004).
3. Beca otorgada por IV Congreso Latinoamericano de Neurofisiología Clínica (Año 2004).
4. Premio: Cuban Spinocerebellar Ataxia Type 2 (SCA-2). The Highest Prevalence in the World. Primer Lugar del Concurso de Pósters durante la

- VI Reunión Internacional sobre Avances en la Restauración del Sistema Nervioso. Veracruz, México, (18 al 21 de Octubre 2005).
5. Premio de la Organización Internacional sobre las Investigaciones del Cerebro (IBRO-LAR). Año 2006.
 6. World Federation of Neurology Junior Travelling Fellowships-2007.
 7. Beca para participar en el 4to Congreso Cubano de Neurofisiología Clínica. Varadero, Matanzas, 11 al 14 de marzo del año 2008.
 8. Beca para participar en el 5to Congreso de Neurofisiología Clínica del CLA de la IFNC, Puebla, México, 7 al 11 de octubre del año 2008.
 9. Premio Internacional MDS Travel Grant to participate in the 14th International Congress of Parkinson's Disease and Movement Disorders, June 13-17, 2010 in Buenos Aires, Argentina.

Nacionales

10. Premio Nacional Academia de Ciencias de Cuba al resultado de la investigación científica: Biomarcadores electrofisiológicos en sujetos presintomáticos con la mutación SCA2, 13 de febrero del 2010, Ciudad de la Habana.
11. Sello Forjadores del Futuro por la labor desempeñada en la formación de las nuevas generaciones de hombres de ciencia. 6 de diciembre del año 2008.
12. Premio de la Crítica 2006 Científico-Técnica. El Instituto Cubano del Libro otorga el premio de la Crítica Científico-Técnica 2006 al Libro: Ataxia espinocerebelosa tipo 2. Principales Aspectos en el diagnóstico, pronóstico y evolución de la enfermedad, 16 de Enero del 2008.
13. Premio como Mención a nivel Nacional al trabajo Alteraciones de los movimientos oculares sacádicos: una vía para la evaluación del efecto neurotóxico de la mutación SCA2. Forum Nacional de Ciencia y Técnica. 25 de Enero del 2007.
14. Premio como Destacado a nivel Nacional al trabajo Evaluación de la Restauración Neurológica en Pacientes con Ataxia Cubana (Coautor). Forum Nacional de Ciencia y Técnica. 25 de Enero del 2007.
15. Premio Nacional de la Academia de Ciencias de Cuba correspondiente al año 2006: Ataxia Espinocerebelosa Tipo 2. Evaluación funcional del efecto

- neurotóxico de la mutación SCA2. Dado a los 17 días del mes de Enero del 2007 en Ciudad de La Habana.
16. Premio Anual de la Salud Modalidad: investigación aplicada: Alteraciones funcionales de los movimientos oculares sacádicos: una vía para la evaluación del efecto neurotóxico de la Ataxina-2 expandida. (7 de septiembre del 2006).
 17. Premio Relevante en el Forum Provincial de Ciencia y Técnica con la ponencia Alteraciones de los movimientos oculares sacadicos: una vía para la evaluación del efecto neorotxico. (24 de noviembre del 2006).
 18. Premio Anual Nacional de la Salud, con el artículo científico: La Velocidad Sacádica es controlada por el tamaño de la expansión poliglutamínica en la SCA2. (2 de Diciembre 2005).
 19. Premio Anual Nacional de la Salud con la investigación Aplicada: Marcadores endofenotípicos de la Edad de inicio y curso evolutivo de la SCA2. (25 de Octubre del 2005).
 20. Premio Nacional al Innovador con resultados de mayor impacto Económico y/o social. Dado en Ciudad de La Habana el 20 de Septiembre del 2005.
 21. Premio Nacional de la Academia de Ciencias de Cuba. Marcadores endofenotípicos para la identificación de genes y otros factores modificadores de la expresión clínica de la SCA2. Autor principal. (Año 2003).
 22. Premio Relevante Nacional en el I Forum Ramal de la salud (Año 1998)
 23. Premio de la ANIR por la actividad creadora y científica (año 1998).
 24. Concurso XXI Premio Anual de la Salud en su instancia Nacional. (Año1997).
 25. Premio Relevante a nivel Nacional con el estudio Caracterización electrofisiológica de la SCA2 en enfermos y familiares asintomáticos (1996).
 26. Estudio neurofisiológico en familiares asintomáticos de pacientes con Ataxia Cerebelosa Cubana (Premio en Jornada XX aniversario de la escuela de Medicina FCM Holguín 1994) y (Premio nacional en XI Forum nacional en FCM- Sancti Spiritus 1994).

27. Premio Especial al mejor joven con que con su actividad creadora y de forma desinteresada contribuye al desarrollo del país (Año 1996).

28. Mención Nacional en el Concurso Anual de Salud (Año 1996).

Provinciales

29. Premio Relevante a nivel Provincial en la investigación: Diagnóstico presintomático de la Ataxia Cerebelosa Dominante Cubana a través de métodos electrofisiológicos en el IX Forum de Ciencia y Técnica (1994).

30. Mejor joven con actividad creadora provincial en el X Forum de Ciencia y técnica (1995).

31. Mejor joven con actividad creadora provincial en el X Forum de Ciencia y técnica (1996).

32. Premio Relevante a nivel Provincial con el estudio Caracterización electrofisiológica de la SCA2 en enfermos y familiares asintomáticos (1996).

33. Premio Provincial del Concurso Nacional de las BTJ (1996).

34. Premio Relevante a Nivel Provincial en la VIII exposición Forjadores del Futuro.

35. Premio a la Personalidad destacada en la Provincia de Holguín 1997

36. Premio Provincial en el Concurso Anual de Salud 1996.

37. Brigadista (BTJ) destacado a nivel provincial en 1997.

38. Personalidad Destacada en el Premio Anual de la Salud. 1997.

39. Premio Relevante en el XIII Forum provincial con la investigación: Estudio epidemiológico de las Ataxias Hereditarias en Cuba. Proyecto de intervención médico social y generalización del mismo. Año 2000.

40. Premio Destacado en el XIII Forum provincial con la Investigación: Correlación neurofisiológico-molecular en la SCA2. Año 2000.

41. Reconocimiento Social de la Comisión Municipal y Provincial del XIII Forum de Ciencia y Técnica. Año 2000.

42. Premio Relevante, Forum Municipal y Provincial XIV Forum Provincial Segunda etapa. (Coautor) 2002.

43. Premio Anual de la Salud. Provincia Holguín. Junio 2002.

44. Premio Destacado Provincial por contribuir en las actividades de Innovación y racionalización, en nuestro país. (Julio 2002).
45. Premio Provincial de la Academia de Ciencias de Cuba. Marcadores endofenotípicos para la identificación de genes y otros factores modificadores de la expresión clínica de la SCA2. Autor principal. (2003).
46. Premio Relevante Provincial XV Forum de Ciencia y Técnica (2004).
47. Certificado de la Decana de la FCM de Holguín por haber obtenido el Premio Anual Provincial de la Salud, 26 de Mayo 2004 con la investigación Marcadores Endofenotípicos de la edad de inicio y el curso evolutivo de la Ataxia Tipo SCA2.
48. Premio Anual Provincial de la Salud, 15 de Abril 2005 con el artículo científico: La Velocidad Sacádica es controlada por el tamaño de la expansión poliglutamínica en la SCA2.
49. Premio Provincial al Innovador de Mayor Impacto Social. Comité Provincial de la ANIR, 5 de Octubre del 2005.
50. Certificado de la Decana de la FCM de Holguín por haber obtenido el Premio Anual Provincial de la Salud, 12 de Diciembre 2005 con el artículo científico: La Velocidad Sacádica es controlada por el tamaño de la expansión poliglutamínica en la SCA2.
51. Reconocimiento Provincial del XVI Forum de Ciencia y Técnica por haber su activa participación en el evento técnico como autor. Holguín, 30 de Noviembre del 2005.
52. Cuadro Destacado de la Provincia. Dirección Provincial de Salud. Ciudad de Holguín. Diciembre del 2005.
53. Mención en el Concurso Provincial Premio Anual de Salud correspondiente al año 2005: Alteraciones funcionales de los movimientos oculares sacádicos: una vía para la evaluación del efecto neurotóxico de la ataxina 2 expandida. Dado a los 7 días del mes de Septiembre del 2006.
54. Reconocimiento como Científica de la Provincia de Holguín. Ministerio de Ciencia, Tecnología y Medio Ambiente. Delegación Territorial Holguín, 24 de Enero del 2006.

55. Reconocimiento de la Dirección Provincial de Salud Pública por la participación en los eventos del Premio Anual de ecSalud y por la obtención de dos Premios Nacionales y una Mención. Ciudad de Holguín, 4 de Marzo del 2006.
56. Premio Especial en Aporte a la Batalla de Ideas. Brigadas Técnicas Juveniles. XII Exposición Forjadores del Futuro, 30 de Junio del 2006. Holguín.
57. Premio Relevante a nivel de Base al trabajo Alteraciones de los movimientos oculares sacádicos: una vía para la evaluación del efecto neurotóxico de la mutación SCA2. Forum de Base de Ciencia y Técnica. CIRAH. 24 de junio del 2006.
58. Premio Relevante a nivel Provincial al trabajo Alteraciones de los movimientos oculares sacádicos: una vía para la evaluación del efecto neurotóxico de la mutación SCA2. Forum Provincial. 24 de Noviembre del 2006.
59. Premio Relevante a nivel de Base al trabajo Evaluación de la Restauración Neurológica en Pacientes con Ataxia Cubana (Coautor). Forum de Base de Ciencia y Técnica. CIRAH. 24 de junio del 2006.
60. Premio Relevante a nivel Provincial al trabajo Evaluación de la Restauración Neurológica en Pacientes con Ataxia Cubana (Coautor). Forum Provincial. 24 de Noviembre del 2006.
61. Premio Provincial de la Academia de Ciencias de Cuba correspondiente al año 2006: Ataxia Espinocerebelosa Tipo 2. Evaluación funcional del efecto neurotóxico de la mutación SCA2. Dado a los 12 días del mes de Enero del 2007.
62. Premio en el Concurso Provincial Premio Anual de Salud correspondiente al año 2006: Ataxia Espinocerebelosa Tipo 2. Principales aspectos neurofisiológicos en el diagnóstico, pronóstico y evaluación de la enfermedad. Modalidad Libro. Dado a los 12 días del mes de Julio del 2007 en la Ciudad de Holguín.
63. Premio en el Concurso Provincial Premio Anual de Salud correspondiente al año 2006: El daño olfatorio en la Ataxia Espinocerebelosa Tipo 2 muestra un patrón similar al de otras enfermedades neurodegenerativas

- importantes. Modalidad Artículo científico. Dado a los 12 días del mes de Julio del 2007 en la Ciudad de Holguín.
64. Reconocimiento del I Forum Tecnológico Especial Programas de la Revolución en el Sector de la Salud. Proyecto Ataxia. Impacto sobre las familias afectadas, 20 de Abril del 2007.
 65. Reconocimiento del Secretariado provincial por ser delegado directo al IV congreso del sindicato de los trabajadores de las ciencias, Holguín, 26 de Octubre del 2007.
 66. Premio en el Concurso Provincial Anual de Salud correspondiente al año 2007 en la modalidad de Artículo científico: El daño Olfatorio en la SCA2 muestra un patrón similar al de otras enfermedades neurodegenerativas, 12 de Julio de 2007.
 67. Premio en el Concurso Provincial Anual de Salud correspondiente al año 2007 en la modalidad de Libro: Ataxia Espinocerebelosa Tipo 2. Principales aspectos neurofisiológicos, en el diagnóstico, pronóstico y evolución de la enfermedad, 12 de Julio de 2007.
 68. Reconocimiento de la Asamblea Municipal del Poder Popular de Báguanos por su labor como Diputado a la Asamblea Nacional por este Municipio, 6 de enero del 2007.
 69. Reconocimiento del Ministerio de Ciencia, Tecnología y Medio Ambiente. Delegación Provincia Holguín. Por los Resultados Científicos obtenidos en el año 2007, 11 de Enero del 2008.
 70. Certificado por ser seleccionado Mejor trabajador Del año 2008. Holguín 18 de diciembre Del 2008.
 71. Suplementación con Cinc em pacientes com SCA2. Concurso Premio Anual Provincial de La Salud. Investigación Aplicada, 14 de Mayo, 2009.
 72. Suplementación com Cinc em pacientes com SCA2. Premio XVII Forum de Base, CIRAH, 30 Junio, 2009
 73. Ataxia SCA2: Impacto sobre las familias cubanas afectadas. Premio II Forum Provincial e Impacto de los Programas em Salud, 30 de Abril Del 2009. Universidad Médica de Holguín.

74. Reconocimiento por ser figura investigativa en el proyecto de Vida y Obra de Científicos Holguineros III Taller de Científicos Holguineros. Holguín 23 de octubre Del 2009.
75. Premio Provincial Academia de Ciencias de Cuba: Biomarcadores electrofisiológicos en sujetos presintomáticos con la mutación SCA2. Delegación CITMA Holguín, 15 de enero 2010.
76. Reconocimiento por participación activa em varias publicaciones científicas en el año 2009. Holguín, 20 de enero 2010.
77. Reconocimiento por certera y ejemplar actividad rectora, educativa y científica durante el año 2009. Holguín, 20 de enero 2010.
78. Premio Provincial de La Academia de Ciencias de Cuba: Biomarcadores electrofisiológicos em sujetos presintomáticos con la mutación SCA2, Holguín, 15 de Enero, 2010.
79. Premio Anual Provincial de Salud. Modalidad Artículo Científico: Epidemiología Molecular de las Ataxias Espinocerebelosas en Cuba: Evidencias de un Efecto Fundador en Cuba, Holguín, Mayo, 2010.
80. Premio Anual Provincial de Salud. Modalidad Artículo Científico: La velocidad sacádica está reducida en los portadores asintomáticos de la Ataxia Espinocerebelosa tipo 2. Holguín, Mayo, 2010.
81. Nominado en la provincia para Académico Titular, Octubre 2011.

CONDECORACIONES Y MEDALLAS

1. Orden Lázaro Peña de Tercer Grado, del Consejo de Estado, 22 de Diciembre del 2009.
2. Condecoración Especial de la Dirección Nacional de las BTJ con el Sello Forjadores del Futuro, Diciembre de 2008.
3. Reconocimiento de la Asamblea Municipal de Báguanos. Dado a los 6 días del mes de Enero del año 2007.
4. Hacha de Holguín. (Diciembre 2006).
5. Medalla Jesús Menéndez, (Octubre 2005).
6. Orden Carlos J Finlay del Consejo de Estado (Año 2003).
7. Hijo ilustre de la Ciudad de Holguín. (Enero 2001).
8. Medalla Hazaña Laboral. (Año 2000).

9. Reconocimiento con el Aldabón de la Ciudad de Holguín. (Octubre del 2000).
10. Medalla 25 Aniversario de la ANIR, (Año 2000).
11. Reconocimiento con el Escudo de la Provincia de Holguín. (Año 1999).
12. Sello Forjadores del Futuro (Año 1996).
13. Vanguardia Nacional del Sindicato de la Ciencia.

PATENTES Y/O CERTIFICADOS DE DERECHO DE AUTOR

1. CERTIFICACIÓN DE DEPÓSITO LEGAL FACULTATIVO DE OBRAS PROTEGIDAS. Centro Nacional de Derecho de Autor, CENDA. OBRA PROTEGIDA: Ataxia Espinocerebelosa Tipo 2. Caracterización Neurofisiológica en enfermos y familiares asintomáticos. Dado en Ciudad de La Habana a los 23 días del mes de Mayo del 2007. Registro: 1092-2007.
2. CERTIFICACIÓN DE DEPÓSITO LEGAL FACULTATIVO DE OBRAS PROTEGIDAS. Centro Nacional de Derecho de Autor, CENDA. OBRA PROTEGIDA: Ataxia Espinocerebelosa Tipo 2. Principales aspectos neurofisiológicos en el diagnóstico, pronóstico y evolución de la enfermedad. Dado en Ciudad de La Habana a los 9 días del mes de Febrero. Registro: 75-2007.