BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

FACULTAD DE CIENCIAS BIÓLOGICAS

Instituto de Fisiología

TÍTULO DE LA TESIS

Efecto del (-)- quinpirole y la (-)- apomorfina en la marcha del mutante de mielina *taiep*

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO DE

Licenciada en biología

PRESENTA:

Virginia Leal Cristóbal

DIRECTORA DE TESIS

Dra. Ma. Del Carmen Córtes Sánchez

CO-DIRECTORES DE TESIS

Dra. Angélica Trujillo Hernández

Dr. José Ramón Eguibar Cuenca

Marzo, 2024

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a la Dra. Ma. Del Carmen Córtes Sánchez y al Dr. José Ramón Eguibar Cuenca por todo el aprendizaje adquirido en esta tesis.

A la M. en C. Monserrat Vázquez Balbuena por sus conocimientos de neurobiología y correcciones realizadas en esta tesis.

Al Dr. Jesús Tapia López por las correcciones realizadas en esta tesis.

A Juan Carlos Ahumada Juárez por su asesoramiento en los experimentos.

A la bióloga Alejandra Guevara Tlacuilo, por compartir cada paso conmigo en la carrera de biología.

Al club de atletismo “Gacelas” de Tlaxcala, por ser fuente de inspiración de trabajo duro, perseverancia, constancia y disciplina.

A mi deporte atletismo por ser mi mayor fuente de motivación y superación.

DEDICATORIA

A Dios por darme sabiduría y devolverme mi salud ante todo este proceso de investigación.

A mamá por ser un magnífico ser humano con valores que me dio su gran amor y sabiduría. Doy gracias a Dios por tenerte a mi lado como madre además de ser mi gran ejemplo de vida superación y humildad. Te doy gracias infinitas por brindarme educación y formarme como profesionista. Quiero que sepas que nunca voy a renunciar a mis sueños y sepas que tus esfuerzos están reflejados en este logro. Con amor te dedicó esta tesis.

A papá que trabajo duro para brindarme educación y lograr terminar la carrera de Biología.

A mi hermano Jorge por ser mi más grande motivación al impulsarme en el deporte de alto rendimiento, quien además es ejemplo de determinación, disciplina y perseverancia.

A mi hermana Pamela por inculcarme el amor por la ciencia y por haber contribuido con su conocimiento y sus consejos a la realización de esta tesis.

A mi hermana Marlene quien, siempre vivirá en mis recuerdos y pensamientos como un ejemplo de lucha por la vida.

A mi hermana Lupita quien me gustaría inspirar con este proyecto para que cumpla sus metas.

A mi sobrina Pamela, por ser un motor en la búsqueda de la superación con su presencia incondicional

A los perritos (a) Yuca, Dakota, † Negro, †Sita y †Dumas por todo el cariño que me daban en momentos difíciles.

Los quiero a todos.

"Cuando era niño soñaba…pero dejé de soñar empecé a hacer, porque es el poder de lo que se realiza lo que vuelve los sueños realidad".

Usain Bolt

"Todo problema tiene como inicio de solución correr, trotar, jugar, andar, pues es el movimiento la primera señal objetiva de que la vida está viva".

Usain Bolt

"Correr me ha dado el coraje para empezar, la determinación para seguir y el espíritu de niño para disfrutar el camino".

Vicky Leal Cristóbal

ÍNDICE

Resumen----------8
Introducción----------10
Esclerosis múltiple----------26
Médula espinal----------36
Vías motoras que desencadenan la marcha----------72
Sistema tipo pasarela “Catwalk” ----------76
Neurotransmisión dopaminérgica----------86
Quinpirole----------86
Caracterización de la farmacología de la apomorfina----------96
Antecedentes----------101
Justificación----------102
Hipótesis----------103
Objetivo General----------104
Objetivo específico----------104
Metodología ----------116
Resultados----------131
Discusión----------141
Conclusiones----------143
Perspectivas----------144
Anexo----------151
Referencias----------191

RESUMEN

Los diferentes tipos de enfermedades de la mielina, se han agrupado en las de tipo metabólico hereditarias, enfermedades infecciosas o alérgicas, tóxicas y de tipo nutricional. Dentro de las enfermedades alérgicas o infecciosas se encuentra la esclerosis múltiple que es una enfermedad inflamatoria crónica, desmielinizante y neurodegenerativa del sistema nervioso central. Se estima que más de dos millones de personas en todo el mundo sufren de esclerosis múltiple (Karussis, 2014). En México, la prevalencia se ha reportado en alrededor de 15 a 18 casos de esclerosis múltiple por cada 100 mil habitantes; es decir, se estima que hay más de 20 mil casos en todo el país. La debilidad de las extremidades se puede manifestar en la forma de pérdida de la potencia o de la destreza, fatiga o trastornos de la marcha. Los pacientes con esclerosis múltiple registran alteraciones del equilibrio y de la marcha debido al proceso de desmielinización. Pueden presentarse síntomas característicos del daño de la médula espinal como: disminución de la fuerza especialmente en las extremidades inferiores. Se presentan trastornos de la marcha, como dismetría, descoordinación, que puede conducir a la ataxia. Los generadores centrales de patrones (CPG) son circuitos neuronales que producen los patrones de actividad neuronal que subyacen a los comportamientos motores rítmicos, como lo es la marcha. Se ha demostrado que los agonistas de los receptores para el glutamato, la 5-hidroxitriptamina o serotonina, dopamina y noradrenalina pueden provocar de forma aguda actividad rítmica o actividad locomotora en ausencia de actividad en las aferentes de la médula espinal desencadenan la actividad de generadores de patrones centrales (CPG) después de una lesión de médula espinal (SCI).

Los fármacos agonistas para la dopamina aumentan la locomoción, el olfateo, y el aseo en la rata. El objetivo de este trabajo fue evaluar los efectos de dos agonistas dopaminérgicos de la familia D_2 (-)- quinpirole y (-)- apomorfina en la marcha del mutante de mielina *taiep.*

Se emplearon 6 ratas *taiep* macho adultas de 3 meses de edad, con un peso promedio de 300 ± 80 gramos. Las ratas se colocaron en un cuarto con un ciclo de luz-oscuridad invertido 12:12 horas con encendido de luz a las 18:00 horas. El cuarto se mantuvo a una temperatura de 21 ± 2°C y humedad de 41-55%. Se organizaron en grupos de dos sujetos, para el primer grupo se les administraron las dosis de 0.25, 0.125, 0.5 y 0.33 mg/Kg de (-)- quinpirole y 0.05 y 0.5 mg/Kg de (-)- apomorfina, mientras que el segundo grupo conformado por dos sujetos se les administró la dosis de 0.05, 0.5 y 1.0 mg/Kg de (-)- apomorfina y el grupo tres también conformado por 2 individuos recibieron la dosis de 0.125 y 0.25 mg/Kg de (-)- quinpirole por vía intraperitoneal (i.p).

Los parámetros que se evaluaron fueron la fase de apoyo, la fase de oscilación, longitud de zancada, la base de apoyo, la velocidad y la coordinación de la marcha; todos estos parámetros fueron evaluados con el equipo de análisis de la marcha Catwalk XT (Noldus Technologies, Países Bajos)

Concluimos que el agonista dopaminérgico (-)- quinpirole actúa a la dosis de 0.125 mg/Kg, aumentando el apoyo y la oscilación de los miembros posteriores. Se determina que el (-)- quinpirole mejora el equilibrio en la marcha de la rata *taiep* macho de tres meses de edad.

Por otra parte el agonista dopaminérgico de la clase D_2 (-)- apomorfina, mejoró la fase de apoyo de las extremidades anteriores y posteriores a la dosis de 0.05 mg/Kg, mejoró la fase de apoyo de las extremidades posteriores a una dosis de 0.05 mg/Kg y aún más a una dosis de 1.0 mg/Kg, aumentó la fase de oscilación de las extremidades posteriores a una dosis de 0.05 mg/Kg, aumentó la base de apoyo de las extremidades anteriores a una dosis de 0.05 mg/Kg, como también aumento la base de apoyo de las extremidades posteriores a una dosis de 1.0 mg/Kg y finalmente aumentó el índice de regularidad de la marcha a una dosis de 1.0 mg/Kg en las ratas *taiep* macho de tres meses de edad.

Con base en este resultado concluimos que la (-)- apomorfina mejoró el ritmo de la marcha de la rata *taiep* al mejorar la fuerza de sostén de los miembros posteriores y la coordinación de ambas extremidades. Con esto se puede concluir que la

apomorfina puede servir como tratamiento de segunda elección para reducir las recurrencias en la enfermedad de esclerosis múltiple, causada por la desmielinización de los axones o en las leucodistrofias.

INTRODUCCIÓN

ALTERACIONES DE LA MIELINA

“La mielina es la sustancia aislante que rodea a los axones y acelera la conducción del impulso nervioso al permitir que los potenciales de acción salten entre las regiones desnudas de los axones denominados nodos de Ranvier y a lo largo de los segmentos mielinizados” (Hauser y Goodin, 2018, *en esclerosis múltiple y otras enfermedades desmielinizantes de neurología clínica y neuroanatomía de Harrison, R.T.***2**:3395-3409).

Es una cubierta con múltiples capas de membrana celular compactada producida por los oligodendrocitos en el sistema nervioso central (SNC) o por células de Schwann en el sistema nervioso periférico (SNP), considerada como un aislante eléctrico que incrementa la resistencia y disminuye la capacitancia a través del axón (Aggarwal y cols., 2011), evitando las pérdidas de corriente eléctrica regidas por la teoría del cable (Durand, 1984).

El termino desmielinización se refiere a una pérdida o una disminución tanto aguda como crónica de la cantidad de mielina, con relativa preservación de los axones. (Gómez, 2017). Las enfermedades inflamatorias desmielinizantes son un grupo heterogéneo de trastornos que se producen en el contexto de un proceso inflamatorio agudo o crónico (Höftberger y Lassman, 2017).

La enfermedad desmielinizante se refiere a cualquier enfermedad del sistema nervioso donde la vaina de mielina en los axones de diferentes tipos neuronales se encuentra dañada, lo que altera la transmisión saltatoria de los potenciales de acción (Gómez, 2017).

En las enfermedades desmielinizantes se produce la degeneración axonal como un mecanismo primario y la degradación de la mielina es secundaria (Velázquez, 2002, tomado de Gómez, 2017, en *Efecto de la administración crónica de taurina sobre el aprendizaje-memoria, estrés nitrosativo y expresión de quimiocinas en la rata taiep, en enfermedades desmielinizantes, tesis de maestría*, Benemérita Universidad

Autónoma Del Estado De Puebla, Posgrado en Ciencias Quimicas:2).Causando un déficit sensoriomotor y de otras funciones dependiendo de cuáles tractos nerviosos se vean afectados (Gómez , 2017).

Existen diferentes trastornos en la marcha, debido a la afección de mielina humana que se han basado en estudios clínicos y epidemiológicos (Eguibar y Cortés., 2001).

Para poder establecer los diferentes tipos de enfermedades de la mielina, se han agrupado en las de tipo metabólico hereditarias, enfermedades infecciosas o alérgicas, tóxicas y de tipo nutricional (Eguibar y Cortés., 2001).

Dentro de las enfermedades alérgicas o infecciosas se encuentra la esclerosis múltiple como una enfermedad inflamatoria crónica, desmielinizante y neurodegenerativa del sistema nervioso central (Filippi y cols., 2018).

La esclerosis múltiple

La esclerosis múltiple se caracteriza por la pérdida de la función motora y sensorial, que resulta de la inflamación inmunomediada, la desmielinización y el daño axonal posterior al proceso inflamatorio (Karussis, 2014).
Esta enfermedad evoluciona a través de crisis sucesivas de desmielinización con una reacción inflamatoria, lo cual desencadena la lesión de los oligodendrocitos lo que provoca la pérdida de la mielina en forma de placas (Eguibar y Cortés., 2001).

Prevalencia

La prevalencia de la enfermedad varía en diferentes regiones del mundo, que van desde 15/100,000 hasta 250/100,000 habitantes, según la OMS, se estima que más de dos millones de personas en todo el mundo sufren esclerosis múltiple (EM), y la enfermedad es una de las causas más comunes de discapacidad neurológica en adultos jóvenes (Karussis, 2014). La prevalencia de la esclerosis múltiple en los Estados Unidos de Norteamérica es de 40 casos por cada 100,000 habitantes a unas 100,000 personas en el Reino Unido (Compston y Cooles., 2008; Eguibar y Córtes., 2001). La esclerosis múltiple es tres veces más frecuente en mujeres que

en varones (Hauser y Goodin, 2018, *en esclerosis múltiple y otras enfermedades desmielinizantes de neurología clínica y neuroanatomía de Harrison,R.T*.**2**:3395-3409).La edad de inicio por lo general se encuentra entre los 20 y los 40 años de edad, y se manifiesta tardíamente en varones, pero la enfermedad se puede presentar en cualquier momento de la vida (Hauser y Goodin, 2018, *en esclerosis múltiple y otras enfermedades desmielinizantes de neurología clínica y neuroanatomía de Harrison,R.T*.**2**:3395-3409).Casi el 10% inicia antes de los 18 años de edad y en un porcentaje menor comienza antes de los 10 años de edad (Hauser y Goodin, 2018, *en esclerosis múltiple y otras enfermedades desmielinizantes de neurología clínica y neuroanatomía de Harrison,R.T*.**2**:3395-3409).En la distribución de la esclerosis múltiple se han observado repetidas veces gradientes geográficos y su máxima prevalencia conocida que alcanza 250 casos por 100, 000 personas es en las islas Orkney, situadas al norte de Escocia (Hauser y Goodin, 2018, *en esclerosis múltiple y otras enfermedades desmielinizantes de neurología clínica y neuroanatomía de Harrison,R.T*.**2**:3395-3409).En otras zonas como lo es el norte de Estados Unidos de América, de Europa, y el sur de Australia y Nueva Zelanda, la prevalencia de la esclerosis múltiple es de 0.1 a 0.2%. A diferencia de ello, en los trópicos en regiones de Asia, África ecuatorial y el Cercano Oriente), la prevalencia suele ser de 10 a 20 veces menor (Hauser y Goodin, 2018, *en esclerosis múltiple y otras enfermedades desmielinizantes de neurología clínica y neuroanatomía de Harrison, R.T.***2**:3395-3409).

En la vía causal que culmina en la esclerosis múltiple (EM) según algunos autores, participan como mínimo tres fenómenos ambientales seriados (Hauser y Goodin, 2018, *en esclerosis múltiple y otras enfermedades desmielinizantes de neurología clínica y neuroanatomía de Harrison,R.T*.**2**:3395-3409).El primer factor al parecer tiene lugar en la vida fetal o en la alteración del periodo posnatal temprano, y en parte el dato es reforzado por el incremento casi del doble de riesgo de esclerosis múltiple en gemelos dicigóticos con 5.4% en comparación con los otros hermanos con tan solo 2.9%.El dato anterior también es reforzado por el efecto del mes de nacimiento, en el que los pacientes nacidos en mayo tienen una probabilidad mucho mayor de presentar esclerosis múltiple, y los nacidos en noviembre, tiene una menor

posibilidad de presentar esclerosis múltiple (Hauser y Goodin, 2018, *en esclerosis múltiple y otras enfermedades desmielinizantes de neurología clínica y neuroanatomía de Harrison,R.T*.**2**:3395-3409).Un estudio poblacional recién publicado en el hemisferio meridional en Australia detectó un efecto similar (aunque invertido) ,el efecto del mes de nacimiento constituye una prueba de un fenómeno ambiental temprano que interviene en la patogenia de la esclerosis múltiple, que al mismo tiempo esté acoplado al ciclo solar y muestra sintonía con la fecha de nacimiento (Hauser y Goodin, 2018, *en esclerosis múltiple y otras enfermedades desmielinizantes de neurología clínica y neuroanatomía de Harrison, R.T.***2**:3395-3409). Algunos estudios sugieren que cuando las personas se desplazan antes de su adolescencia de una zona de elevada prevalencia de la esclerosis múltiple, a otra en que es baja o viceversa, su riesgo de esclerosis múltiple se torna similar al de las personas de la región a la cual migraron. A diferencia de ello, cuando se hace el mismo desplazamiento después de la adolescencia, el riesgo de padecer esclerosis múltiple permanece semejante al de la región de la cual resulta en días (Hauser y Goodin, 2018, *en esclerosis múltiple y otras enfermedades desmielinizantes de neurología clínica y neuroanatomía de Harrison, R.T.***2**:3395-3409).

La identificación de una posible epidemia puntual o en un sitio dado sugiere la posible participación de agentes infecciosos, como es el caso de las Islas Faroe, al norte de Dinamarca después de la ocupación británica durante la segunda guerra mundial (Hauser y Goodin, 2018, *en esclerosis múltiple y otras enfermedades desmielinizantes de neurología clínica y neuroanatomía de Harrison, R.T.***2**:3395-3409).

La prevalencia de la esclerosis múltiple ha aumentado de manera constante en algunas regiones del mundo y en los últimos 50 años refleja la influencia de algún desplazamiento debido a la migración, siendo las mujeres, más reactivas a dicho cambio ambiental (Hauser y Goodin, 2018, *en esclerosis múltiple y otras enfermedades desmielinizantes de neurología clínica y neuroanatomía de Harrison, R.T.***2**:3395-3409).

Diagnóstico

Los criterios diagnósticos para la esclerosis múltiple clínicamente definida exigen documentar dos o más episodios de síntomas y dos o más signos que reflejen alteraciones en los fascículos de sustancia blanca anatómicamente no vecinos del SNC (Hauser y Goodin, 2018, *en esclerosis múltiple y otras enfermedades desmielinizantes de neurología clínica y neuroanatomía de Harrison, R.T.***2**:3395-3409). Los síntomas deben durar más de 24 horas y surgir como episodios separados por al menos 1 mes o más. En pacientes que tienen solo uno de los dos signos necesarios para hacer el diagnóstico en la exploración neurológica, el segundo puede documentarse, con la resonancia magnética (MRI) a través de los potenciales provocados (Hauser y Goodin, 2018, *en esclerosis múltiple y otras enfermedades desmielinizantes de neurología clínica y neuroanatomía de Harrison, R.T.***2**:3395-3409).El segundo episodio clínico puede apoyarse solamente en los datos de la resonancia magnética, que consisten en el desarrollo de nuevas lesiones focales en la sustancia blanca visibles en la MRI o en la presencia simultánea de lesiones con reforzamiento y lesiones sin reforzamiento en una ubicación asintomática (Hauser y Goodin, 2018, *en esclerosis múltiple y otras enfermedades desmielinizantes de neurología clínica y neuroanatomía de Harrison,R.T*.**2**:3395-3409). En las personas que experimentan evolución gradual de su discapacidad durante 6 meses o más sin recurrencias sobreañadidas, se puede recurrir a la cuantificación de los anticuerpos IgG intrarraquídea, y los potenciales provocados (EP) para corroborar el diagnóstico de esclerosis múltiple progresiva primaria (EMPP) (Hauser y Goodin, 2018, *en esclerosis múltiple y otras enfermedades desmielinizantes de neurología clínica y neuroanatomía de Harrison, R.T.***2**:3395-3409). (Ver Tabla 1).

Tabla I. Criterios diagnósticos para la esclerosis múltiple

Presentación clínica	**Datos adicionales para el diagnóstico**
Dos o más ataques; evidencia clínica objetiva de dos o más lesiones o evidencia clínica objetiva de una lesión con evidencia razonable en los antecedentes de un ataque previo.	Ninguno
Dos o más ataques; evidencia clínica objetiva de una lesión	Diseminación espacial, demostrada por: • ≥1 lesión T2 en la MRI al menos en 2 de 4 regiones típicas de EM en el SNC a nivel periventricular, yuxtacortical, infratentorial o medular • Esperar un ataque clínico adicional que afecte un sitio distinto del SNC.
Un ataque; evidencia clínica objetiva de dos o más lesiones.	Diseminación temporal, demostrada por: • Presencia simultánea de lesiones intensificadas con gadolinio y lesiones no intensificadas asintomáticas en cualquier momento. • Nueva lesión T2 y/o intensificada con gadolinio en la MRI de seguimiento, al margen del momento de la aparición respecto a la imagen basal esperar un segundo ataque clínico.
Un ataque; evidencia clínica objetiva de una lesión (síndrome clínico aislado)	Diseminación espacial y temporal, demostrada para diseminación espacial: • ≥1 lesión T2 al menos en dos de cuatro regiones típicas de EM en el SNC a nivel periventricular, yuxtacortical, infratentorial o medular. • Esperar un segundo ataque clínico que afecte un sitio distinto en el SNC y para diseminación temporal.

	• Presencia simultánea de lesiones intensificadas con gadolinio y lesiones no intensificadas asintomáticas en cualquier momento. • Nueva lesión T2 y/o intensificada con gadolinio en la MRI de seguimiento, al margen del momento de aparición respecto a la imagen basal. • Esperar un segundo ataque clínico.
Progresión neurológica insidiosa sugestiva de EM	Un año de progresión de la enfermedad (determinado en forma retrospectiva o prospectiva). Mas dos de los tres criterios siguientes Evidencia de diseminación espacial en el cerebro con base en ≥1 lesiones T2 en regiones características de EM: periventricular, yuxtacortical o infratentorial Evidencia de diseminación espacial en la médula espinal basada en ≥2 lesiones en la médula LCR positivo (evidencia de enfoque isoeléctrico de bandas oligoclonales y/o aumento del índice de IgG).

Abreviaturas: (SNC), sistema nervioso central; (LCR), líquido cefalorraquídeo; (MRI), imagen por resonancia magnética; (EMPP), esclerosis múltiple progresiva primaria (tomado de Polman y cols., 2011; McDonald, 2011).

Evolución

Su evolución incluye recurrencias remisiones o puede ser progresiva. Las lesiones suelen ocurrir en diferentes instantes y en diferentes localizaciones del SNC (Filippi y cols., 2018). Se han descrito tres tipos de esclerosis múltiple:

Esclerosis múltiple recurrente/remitente (EMRR) que comprende el 90% de los casos de esclerosis múltiple al inicio y se caracteriza por ataques discretos con evolución de días o semanas (Hauser y Goodin, 2018, *en esclerosis múltiple y otras enfermedades desmielinizantes de neurología clínica y neuroanatomía de Harrison, R.T.***2**:3395-3409).

Los pacientes tienen exacerbaciones múltiples de sus síntomas en diversos momentos, y se recuperan de estos episodios en grados variables (Berkowitz, 2020). A menudo hay recuperación sustancial o completa en las siguientes semanas o meses, pero los ataques continúan con el paso del tiempo y presentan recuperación menos evidente (ver figura 1A), (Hauser y Goodin, 2018, *en esclerosis múltiple y otras enfermedades desmielinizantes de neurología clínica y neuroanatomía de Harrison,R.T*.**2**:3395-3409).

Entre las exacerbaciones de la esclerosis múltiple, la acumulación de lesiones subclínicas puede causar síntomas cognitivos, neuropsiquiátricos o fatiga, pero la progresión de los déficits neurológicos focales entre los ataques es poco común en la esclerosis múltiple recurrente/remitente (Berkowitz, 2020).

Esclerosis múltiple progresiva primaria (EMPP), alrededor del 10% de las personas con EM no experimentan episodios severos, sino un deterioro funcional constante desde que inicia la enfermedad (Ver Figura. 1B) La EMPP al parecer constituye la misma enfermedad de fondo que la esclerosis múltiple remitente/recurrente (EMRR). Es el fenotipo clínico menos común de este padecimiento y generalmente es una enfermedad predominante de la médula espinal con declinación clínica constante desde el momento del inicio, más que con recurrencias y remisiones (Berkowitz, 2020). Las exacerbaciones de esclerosis múltiple se presentan como déficits neurológicos focales que surgen y evolucionan

de horas a días, y suelen resolverse por completo en los días a semanas subsiguientes (Berkowitz, 2020).

La esclerosis múltiple progresiva secundaria (EMSP), siempre comienza como una esclerosis múltiple remitente/recurrente (RMS) (Ver Figura. 1C) (Hauser y Goodin, 2018, *en esclerosis múltiple y otras enfermedades desmielinizantes de neurología clínica y neuroanatomía de Harrison, R.T.***2**:3395-3409). Sin embargo, en algún punto de la evolución clínica de la forma recurrente cambia, produciéndose un deterioro continuo de las funciones, sin relación con los ataques agudos, que pueden continuar o cesar en la fase progresiva. La esclerosis múltiple progresiva secundaria origina un grado mayor de discapacidad neurológica que la esclerosis múltiple remitente-recurrente (Hauser y Goodin, 2018, *en esclerosis múltiple y otras enfermedades desmielinizantes de neurología clínica y neuroanatomía de Harrison, R.T.***2**:3395-3409). Para los pacientes con esclerosis múltiple reminente-recurrente, el riesgo de desarrollar esclerosis múltiple progresiva secundaria es cercano a un 2% por año, lo que significa que la mayor parte de esclerosis recurrente-remitente finalmente evolucionará hacia esclerosis múltiple progresiva secundaria .Esta última parece representar una etapa tardía de la misma enfermedad subyacente (Hauser y Goodin, 2018, *en esclerosis múltiple y otras enfermedades desmielinizantes de neurología clínica y neuroanatomía de Harrison,R.T*.**2**:3395-3409).

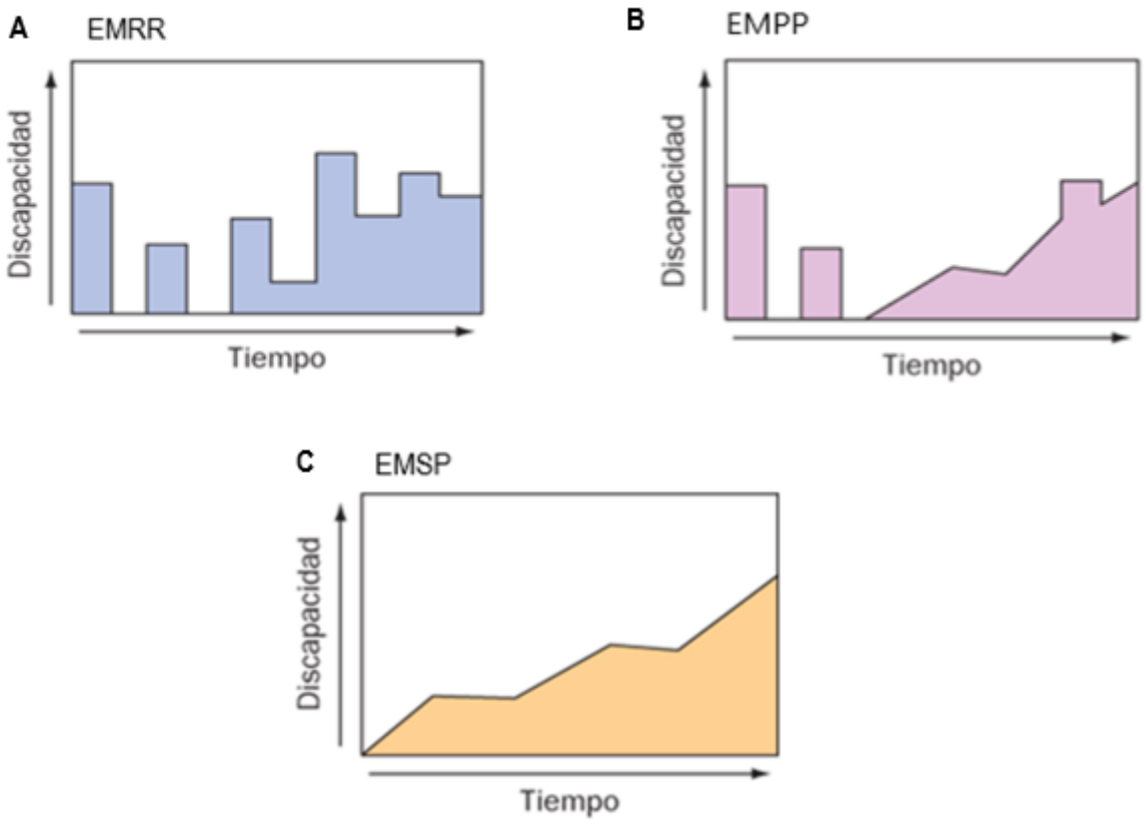


Figura 1. Evolución clínica de la esclerosis múltiple. A. Esclerosis múltiple recurrente-remitente (EMRR). **B.** Esclerosis progresiva secundaria (EMSP). **C.** Esclerosis progresiva primaria (EMPP) (Modificado de Hauser y Goodin, 2018).

Sintomatología

Las zonas de desmielinización abarcan cualquier parte del SNC, pero con frecuencia afectan a los nervios ópticos, la médula espinal y diversas zonas de la corteza cerebral, lo que ocasiona ceguera, alteraciones de la sensibilidad y trastornos motores (Eguibar y Cortés., 2001).

Entre los principales síntomas, el examen neurológico, revela signos de la neurona motora superior por ejemplo, hiperreflexia, clono o signo de Babinski positivo (Berkowitz, 2020).

Se presentan otros síntomas y signos clásicos de esclerosis múltiple

- Fenómeno de Uthoff: recurrencia o aparición de síntomas neurológicos con el calor debido a la temperatura ambiental en el verano, baño caliente, o ejercicio (Berkowitz, 2020).
- Signo de L'hermitte: sensación eléctrica que baja por la columna vertebral con la flexión del cuello hacia adelante. Esto puede ocurrir en cualquier tipo de mielopatía cervical, y no es específico para la esclerosis múltiple. (Berkowitz, 2020).
- Oftalmoplejía internuclear: Es un trastorno de los movimientos oculares causado por una lesión en un área del cerebro llamada fascículo longitudinal medial (MLF). Se caracteriza clínicamente por la insuficiencia total o parcial de aducir un ojo en la mirada lateral y un nistagmo monocular del ojo abductor. Puede ser unilateral y bilateral (Obuchowska y Mariak, 2009).
- Defecto pupilar aferente debido a neuritis óptica previa. Puede encontrarse un defecto pupilar aferente incluso en pacientes que no han tenido un episodio clínico claro de neuritis óptica (ver figura 2) (Berkowitz, 2020).

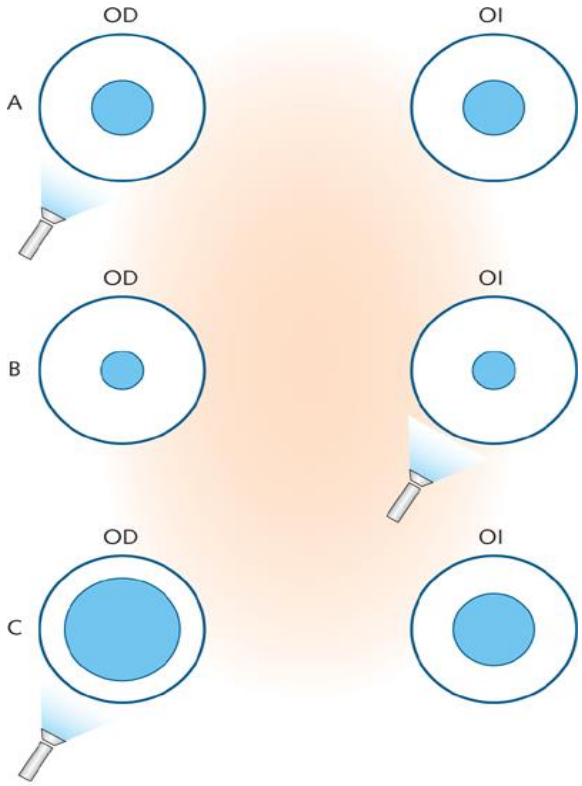


Figura 2: Consiste que A) Al iluminar la pupila del ojo derecho presenta cierta respuesta miótica, al igual que el ojo izquierdo. B) Al cambiar la iluminación al ojo izquierdo hay una evidente miosis (reflejo directo normal) y el ojo derecho, en el cual había cierta duda, desarrolla miosis (reflejo indirecto del ojo derecho normal), y C) Al cambiar rápidamente la iluminación al ojo derecho, la pupila no puede sostener la miosis porque el ojo derecho no ve y, paradójicamente, al ser iluminada se dilata, el ojo derecho tiene un defecto aferente (de la vía visual). OD = ojo derecho; OI = ojo izquierdo (Berkowitz, 2020).

Los pacientes con esclerosis múltiple registran alteraciones del equilibrio y la marcha debido al proceso de desmielinización (Neamţu y cols., 2014). Las manifestaciones de la enfermedad son muy variadas y dependen del sitio del SNC en que se encuentren las lesiones (Berkowitz, 2020). La debilidad de las extremidades se puede manifestar en la forma de pérdida de la potencia o de la destreza, fatiga o trastornos de la marcha (Berkowitz, 2020).

Pueden presentarse síntomas característicos del daño de la médula espinal como disminución de la fuerza de las extremidades hasta paresia (aunque conservando el movimiento) especialmente en las extremidades inferiores. Se presentan trastornos de la marcha, como dismetría; descoordinación, que puede conducir a

ataxia u ocurrir sólo como movimientos “torpes”, o incluso a una marcha espástica-atáxica (Polman y cols., 2011). La disfunción de la marcha en la esclerosis múltiple se distingue por la disminución de la velocidad de la marcha, la resistencia al caminar, la longitud del paso, la cadencia y el movimiento articular, así como el aumento del costo metabólico de caminar y el aumento de la variabilidad de la marcha (Cameron y Wagner, 2011).

Fisiopatología

El proceso inflamatorio en la esclerosis múltiple es causado por una cascada autoinmune, que involucra a las células T, predominantemente del fenotipo Th17, que se dirigen hacia la mielina, y posiblemente mediado por mecanismos moleculares de antígenos de reacción cruzada expresados por virus u otros microorganismos hacia los componentes de la mielina (Karussis, 2014). Las lesiones (placas) varían de 1 o 2 mm hasta varios centímetros (Hauser y Goodin., 2012). Las lesiones agudas se caracterizan por un manguito perivascular con la filtración de mononucleares inflamatorios, predominantemente linfocitos T y macrófagos, que también infiltran la sustancia blanca vecina (Hauser y Goodin, 2018, *en esclerosis múltiple y otras enfermedades desmielinizantes de neurología clínica y neuroanatomía de Harrison, R.T*.**2**:3395-3409).

En los sitios de inflamación queda interrumpida la barrera hematoencefálica (Hauser y Goodin, 2018, *en esclerosis múltiple y otras enfermedades desmielinizantes de neurología clínica y neuroanatomía de Harrison, R.T*.**2**:3395-3409).

En más de la mitad de los enfermos los anticuerpos específicos de mielina estimulan la desmielinización y activan a los macrófagos y a las células de la microglía, que fagocitan los restos de la mielina. Al avanzar las lesiones, proliferan los astrocitos, lo que ocasiona gliosis (Hauser y Goodin, 2018, *en esclerosis múltiple y otras enfermedades desmielinizantes de neurología clínica y neuroanatomía de Harrison, R.T*.**2**:3395-3409). Los oligodendrocitos supervivientes pueden remielinizar parcialmente los axones “desnudos” y así producir las llamadas placas de sombra (Hauser y Goodin, 2018, *en esclerosis múltiple y otras enfermedades desmielinizantes de neurología clínica y neuroanatomía de Harrison, R.T*.**2**:3395-

3409). Los estudios ultraestructurales de las lesiones de la esclerosis múltiple sugieren que de un paciente a otro pueden variar los mecanismos patológicos subyacentes (Hauser y Goodin, 2018, *en esclerosis múltiple y otras enfermedades desmielinizantes de neurología clínica y neuroanatomía de Harrison, R.T*.**2**:3395-3409). Se ha observado heterogeneidad en cuanto al infiltrado de células inflamatorias que se acompañan de depósitos de anticuerpos y activación del sistema del complemento, si el blanco de ataque del proceso inmunopatólogico es la propia vaina de mielina o el pericarpio del oligodendrocito Hauser y Goodin, 2018, *en esclerosis múltiple y otras enfermedades desmielinizantes de neurología clínica y neuroanatomía de Harrison, R.T*.**2**:3395-3409). Un signo típico de la esclerosis múltiple es la de atacar axones, pero también puede haber destrucción axónica parcial o total. Pruebas indirectas sugieren que la pérdida axónica es una causa. (Hauser y Goodin, 2018, *en esclerosis múltiple y otras enfermedades desmielinizantes de neurología clínica y neuroanatomía de Harrison, R.T*.**2**:3395-3409).

Hay cuatro características patológicas claves de la esclerosis múltiple:

- **a)** Inflamación, de patogénesis compleja, que generalmente se propone que es el principal desencadenante de los eventos que conducen al daño tisular del SNC en la mayoría de los casos, aunque la evidencia reciente sugiere que el daño inicial principalmente a la neuroglia y los elementos pueden desencadenar inflamación secundaria en algunos casos (Popescu y Lucchinetti, 2012).
- **b)** Desmielinización, en el sello distintivo de la EM, donde la vaina de mielina o el cuerpo celular de los oligodendrocitos es destruido por el proceso inflamatorio (Popescu y Lucchinetti, 2012).
- **c)** Pérdida o daño axonal debido a gliosis. Existe cierto grado de remielinización, que ofrece esperanzas para terapias dirigidas a mejorar los mecanismos de reparación endógenos en varios modelos experimentales, pero es parcial y su eficacia es limitada (Constantinescu, 2011). Algunas terapias modificadoras de la respuesta inmune han entrado en la práctica clínica (muchas de ellas traducidas a estudios de encefalomielitis alérgica

experimental) y por lo tanto, han revolucionado el tratamiento, la atención y la calidad de vida de la esclerosis múltiple en las últimas dos décadas. Aunque están dirigidos prácticamente en su totalidad a las etapas recurrentes de la enfermedad donde la inflamación es un mecanismo patogénico predominante, han tenido un gran impacto (Lim y Constantinescu, 2010b).

La lesión aguda de esclerosis múltiple se caracteriza por infiltrados inflamatorios con diversas células inmunitarias y desmielinización activa, caracterizada por macrófagos con restos de mielina en su citoplasma; cuando esta lesión se vuelve crónica, hay una pérdida significativa de la mielina con pocos o ningún infiltrado inflamatorio y gliosis, lo que da a las lesiones su apariencia de "placa" (Charcot,1868).

La conducción nerviosa en los axones mielínicos se realiza de manera “saltatoria”, en la cual el impulso “salta” de un nodo de Ranvier al siguiente sin despolarizar la membrana axónica sobre la cual está la vaina de mielina en la zona internodal. (Ver Figura 2) (Hauser y Goodin, 2018, *en esclerosis múltiple y otras enfermedades desmielinizantes de neurología clínica y neuroanatomía de Harrison, R.T*.**2**:3395-3409).

Esto hace posible las velocidades de conducción considerablemente mayores (casi 70 m/s) y las bajas velocidades (aproximadamente de 1 m/s) generales en la propagación continua en nervios amielínicos (Hauser y Goodin, 2018, *en esclerosis múltiple y otras enfermedades desmielinizantes de neurología clínica y neuroanatomía de Harrison, R.T*.**2**:3395-3409).El bloqueo de la conducción permanece cuando el impulso nervioso no puede atravesar el segmento desmielinizado; esto se observa cuando la membrana del axón en reposo se hiperpolariza por la exposición de los canales de potasio dependientes de voltaje que normalmente están ocultos debajo de la vaina de mielina (Hauser y Goodin, 2018, *en esclerosis múltiple y otras enfermedades desmielinizantes de neurología clínica y neuroanatomía de Harrison, R.T*.**2**:3395-3409).

El fenómeno desmielinizante a menudo origina un bloqueo de la conducción temporal, debido a que antes los canales de sodio concentrados originalmente en los nodos ahora tienen la posibilidad de redistribuirse hacia el axón desnudo en las regiones paranodales. A veces el bloqueo de la conducción es incompleto, y afecta por ejemplo las series de impulsos de alta frecuencia, pero no los de baja frecuencia (Hauser y Goodin, 2018, *en esclerosis múltiple y otras enfermedades desmielinizantes de neurología clínica y neuroanatomía de Harrison, R.T.***2**:3395-3409).

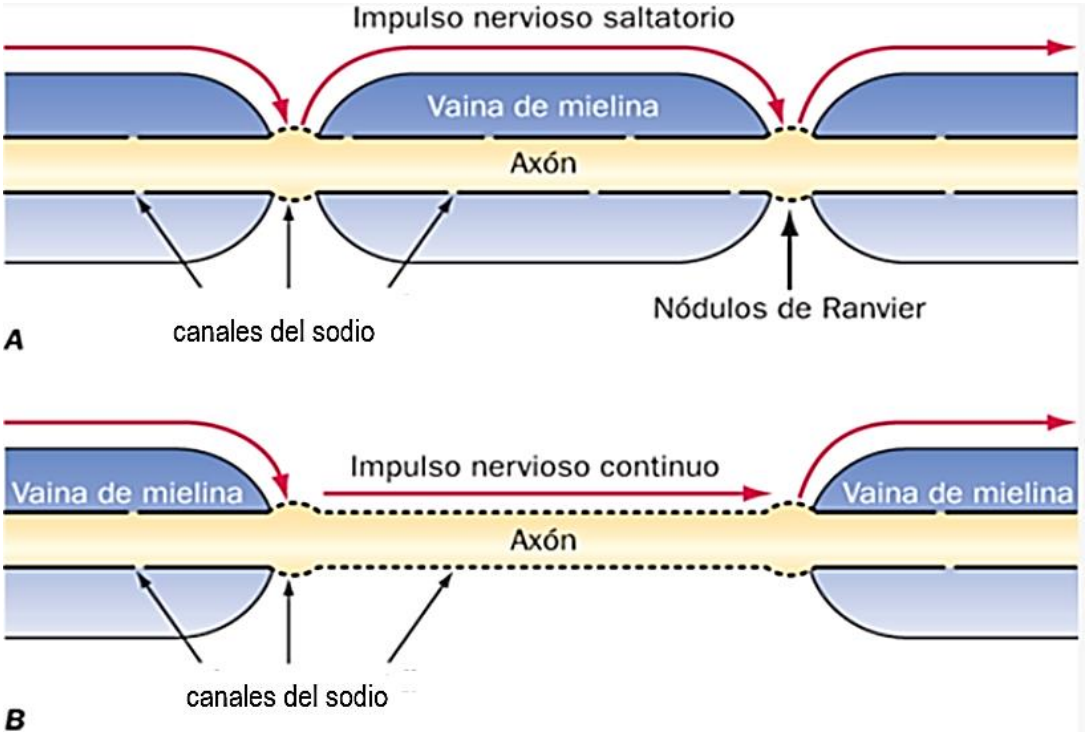


Figura 3. Conducción nerviosa en los axones mielínicos y desmielinizados.

A. Conducción nerviosa en axones mielínicos que ocurre cuando el impulso nervioso "salta" de un nodo de Ranvier al siguiente. Los canales de sodio están concentrados en los nodos en que se realiza la despolarización axónica (tomado de Hauser y Goodin,2018)

B. Con la desmielinización, los canales de sodio se redistribuyen en el axón y con ello permiten la propagación continúa del potencial de acción (tomado de Hauser y Goodin., 2012).

Ocurre la lentificación de la conducción cuando los segmentos desmielinizados permiten sólo la propagación continua de los impulsos nerviosos (conducta lenta) (Hauser y Goodin, 2018, *en esclerosis múltiple y otras enfermedades desmielinizantes de neurología clínica y neuroanatomía de Harrison, R.T*.**2**:3395-3409).

Tratamientos

El siguiente recuadro muestra los tratamientos más usuales para la esclerosis múltiple recurrente-remitente (Hauser y Goodin, 2018, *en esclerosis múltiple y otras enfermedades desmielinizantes de neurología clínica y neuroanatomía de Harrison, R.T*.**2**:3395-3409).

Tabla II: Tratamientos más usuales para la esclerosis múltiple.

Fármaco	Modo de administración	Efectos secundarios/toxicidades	Vigilancia	Mecanismo
Interferón beta	Inyección subcutánea o intramuscular	Síndrome tipo gripe Reacción en el sitio de inyección Depresión Leucopenia Hepatotoxicidad.	biometría hemática (CBC) pruebas de función hepática (LFT)	Efectos inmunomoduladores diversos
Acetato de glatiramer	Inyección subcutánea	Reacción en el sitio de inyección, puede ocurrir rubor o ansiedad con la inyección.	Ninguna	Múltiples efectos sobre las células T
Dietil fumarato	Oral (diario)	Rubor Síntomas GI	Biometría hemática	Efectos inmunomoduladores diversos
Fingolimod	Oral (diario)	Bradicardia Edema macular Riesgo aumentado de infección por VZV	Vigilancia cardiaca con la primera dosis oftalmológica	Modulador de receptor de esfingosina disminuye la migración de linfocitos desde los ganglios linfáticos.
Teriflunomida	Oral (diario)	Hepatoxicidad Categoría durante el embarazo	Pruebas de función hepática (LFT)	Bloquea la síntesis de pirimidina disminuye la división de las células inflamatorias
Natalizumab (fármaco de segunda línea)	Infusión IV (mensualmente)	Riesgo aumentado de PML	Anticuerpos contra el virus JC cada seis meses	Anticuerpo monoclonal contra la α_4-integrina disminuye la entrada de linfocitos al SNC.

Abreviaturas: CBC, biometría hemática completa; SNC, sistema nervioso central; LFT, pruebas de función hepática; PML, leucoencefalopatía multifocal progresiva; VZV, virus de la varicela-zóster.

Los medicamentos de uso prolongado para esta afección son los tratamientos inyectables como el interferón β y el acetato de glatiramer (Berkowitz, 2020). Sin embargo, otros ofrecen la opción de un fármaco oral (teriflunomida, fingolimod, dimetil fumarato) a pacientes con un nuevo diagnóstico de esclerosis múltiple (Berkowitz, 2020). Ninguna terapia reduce la tasa de recurrencia a cero, de modo que puede ser desafiante juzgar el éxito de la terapia, porque aún se esperaría que los pacientes que están recibiendo cualquier fármaco tengan recurrencias y nuevas lesiones detectadas en resonancias magnéticas seriadas (Berkowitz, 2020).

Médula espinal

La lesión de médula espinal puede definirse como un proceso patológico (conmoción, contusión, laceración, compresión o sección), de cualquier etiología (traumática y no traumática), que afecta la médula espinal, y puede originar alteraciones de la función neurológica por debajo de la lesión: motoras, sensitivas y autonómicas (Montoto y cols., 2006).

La complejidad del déficit neurológico, y por tanto del cuadro clínico resultante, depende del nivel y la completitud de la lesión, la extensión transversal o longitudinal del tejido lesionado, y la afectación de sustancia blanca o gris (Montoto y cols., 2006).

Las enfermedades de la médula espinal con frecuencia tienen consecuencias devastadoras esto se debe a que la médula espinal contiene, un área de superficie relativamente pequeña, casi la totalidad de los sistemas motores eferentes y de los sistemas sensitivos aferentes del tronco y las extremidades. Constituyen una de las urgencias neurológicas más críticas (Hauser y Ropper*,* 2018, *en enfermedades de la medula espinal, trastornos neurológicos en principios de Medicina Interna de Harrison, R.T,***2***:*3366)*.*

El uso racional de los procedimientos diagnósticos, guiado por un conocimiento correcto de la anatomía y de las manifestaciones clínicas de las enfermedades medulares más frecuentes, suele ser la mejor manera de obtener un buen resultado (Hauser y Ropper*,* 2018, *en enfermedades de la medula espinal, trastornos neurológicos en principios de Medicina Interna de Harrison, R.T,***2***:*3366)*.*

La médula espinal es fundamental en el control de conductas motoras estereotipadas, que han demostrado tener un centro de comando con varios generadores centrales de patrones (CPG's) implicados en la expresión de la locomoción (Truitt y Coolen, 2002; Shimizu y cols., 2006; Guertin y Steuer, 2009).

La médula espinal constituye la estructura del SNC, se encuentra dentro de la columna vertebral, extendiéndose desde el tronco encefálico hasta la primera vértebra lumbar en humanos (Guertin y Steuer, 2009).

La médula espinal se divide en cinco segmentos: cervical (ocho segmentos), torácico (12 segmentos), lumbar (cinco segmentos), sacro (cinco segmentos) y coccígea (un segmento); (Guertin y Steuer, 2009).

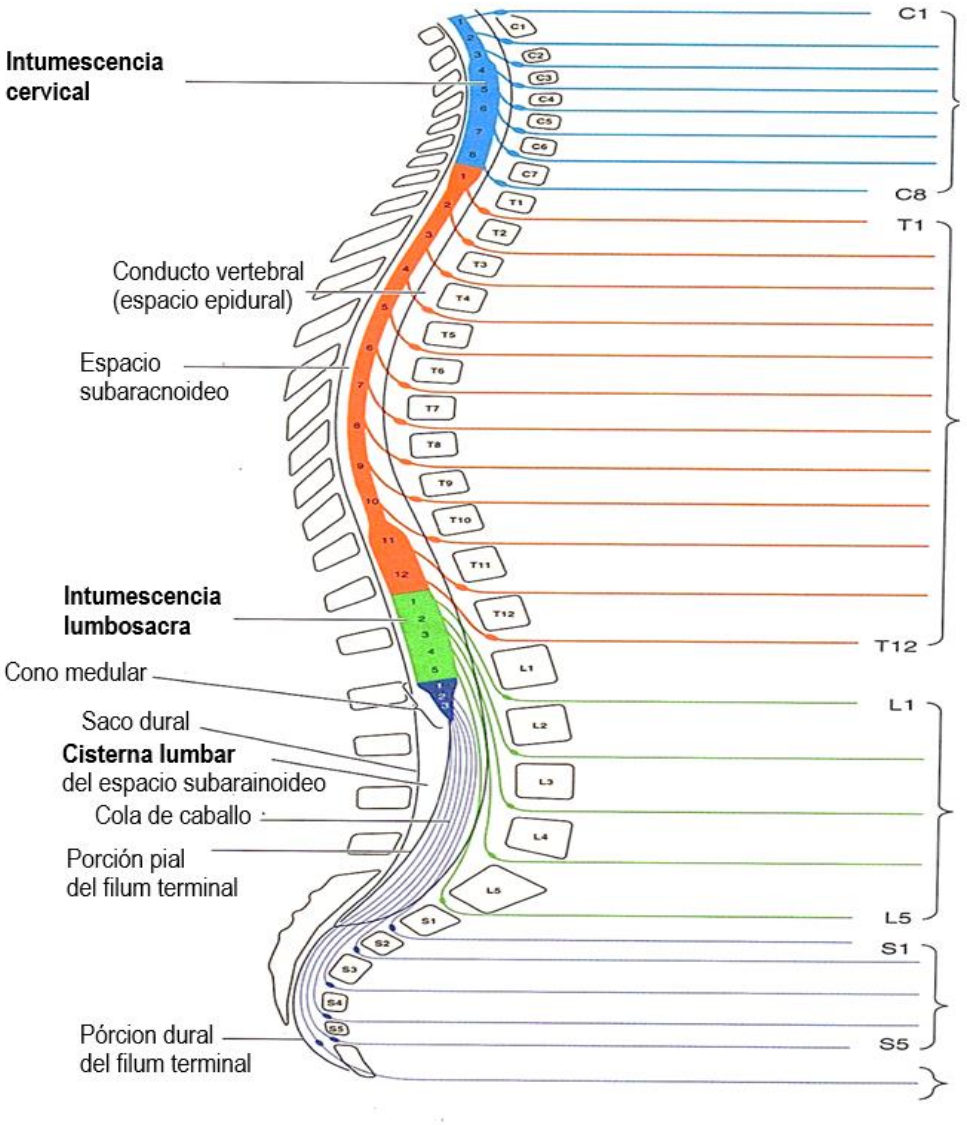


Figura 4. Columna vertebral y médula espinal. Vista lateral que muestra la relación de los segmentos de la médula espinal (numerados) en la columna vertebral de un adulto (imagen tomada de Moore y cols., 2010 p.497)

En roedores, hay 7 segmentos cervicales, 13 segmentos torácicos, 6 segmentos lumbares y 4 segmentos sacros, así como una larga serie de segmentos más caudales correspondientes a la cola (Watson y cols., 2012).

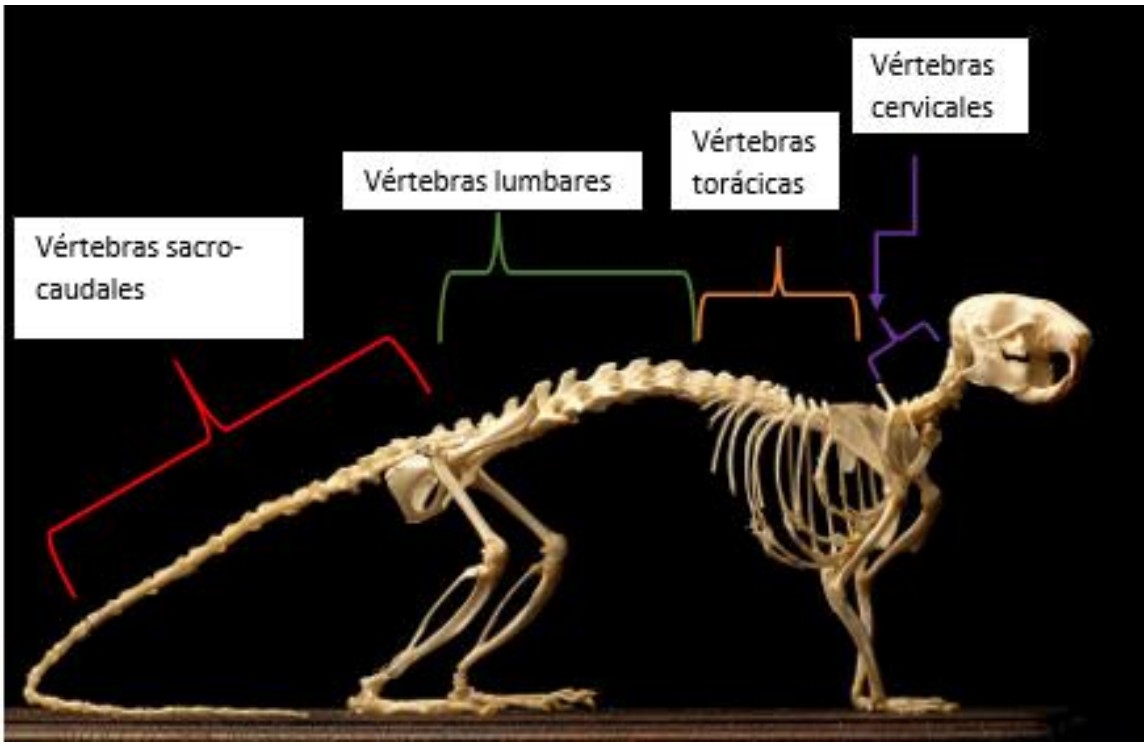


Figura 5. Ilustración donde se muestra el esqueleto de una rata, con los distintos segmentos que conforman la columna vertebral como las vértebras: sacro-caudales, lumbares, cervicales y torácicas.

En el humano adulto, la médula espinal tiene una longitud de 42-45 cm y se extiende desde el agujero magno del hueso occipital hasta las vértebras L1 O L2 (Moore y cols., 2010).

Sin embargo, su extremo inferior, que se adelgaza progresivamente, el cono medular, puede finalizar a un nivel alto, incluso en T12, o bajo, en L3. Así pues, la médula ocupa solo dos tercios superiores del conducto vertebral (Moore y cols., 2010).

La médula espinal presenta dos engrosamientos relacionados con la inervación de los miembros. La intumescencia cervical se extiende desde el segmento medular C4 hasta T1 y la mayor parte de los ramos anteriores de los nervios espinales que emergen a estos niveles constituyen el plexo nervioso braquial que inerva al miembro superior (Moore y cols., 2010). La intumescencia lumbosacra (lumbar) se extiende desde el segmento medular T11 y hasta S1; por debajo de este nivel, la médula va adelgazando y constituye el cono medular (Moore y cols., 2010).

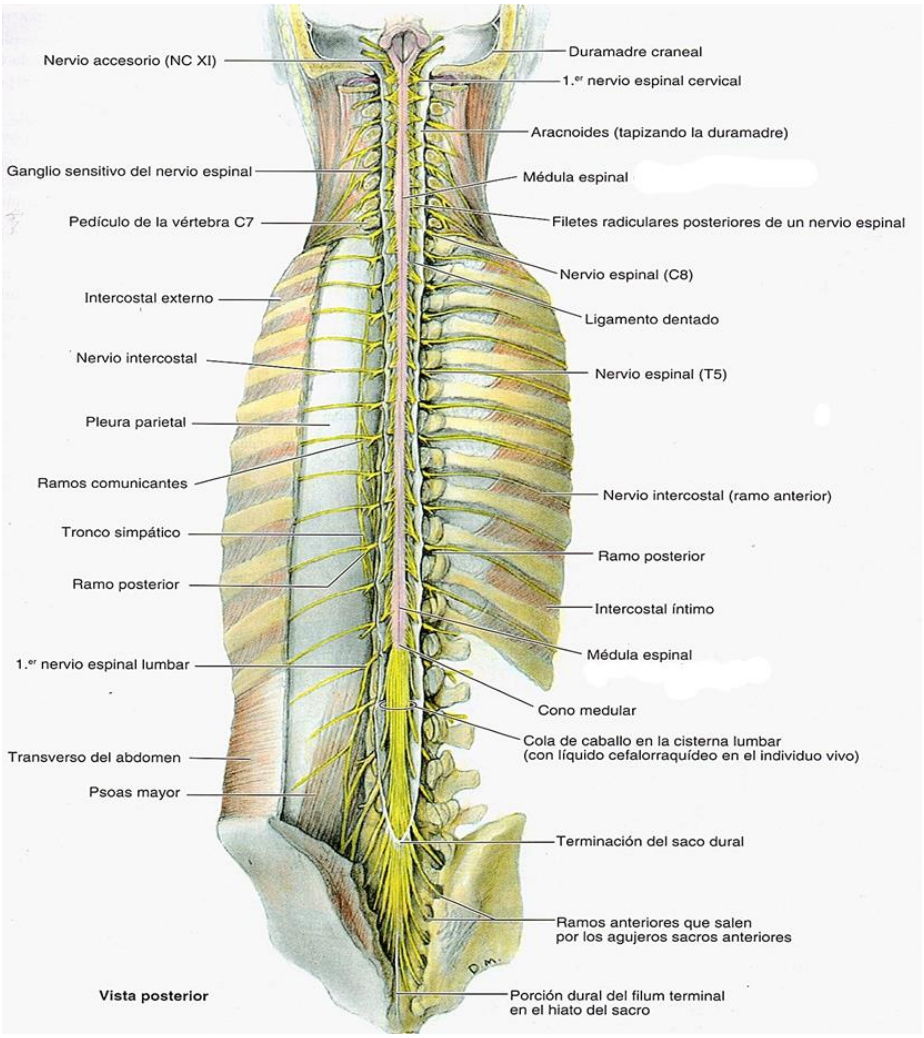


Figura 6. Médula espinal *in situ*. Ilustración donde se han retirado los arcos vertebrales y la cara posterior del sacro para exponer la médula espinal en el conducto vertebral. También se ha abierto el saco dural espinal para poner de manifiesto la médula espinal y las raíces nerviosas posteriores, así como la terminación de la médula espinal entre las vértebras L1 y L2 y la terminación saco dural espinal en el segmento S2 (Imagen tomada del Moore y cols., 2010 p.499).

Las ramas anteriores de los nervios espinales que surgen a partir de este engrosamiento componen los plexos nerviosos lumbar y sacro, que inervan al miembro inferior (Moore y cols., 2010).

La médula espinal es el principal centro reflejo y vía de conducción entre el cuerpo y el encéfalo. Esta estructura cilíndrica esta protegida por las vértebras, sus

ligamentos y músculos asociados, las meninges espinales y líquido cefalorraquídeo (LCR);(Moore y cols., 2010).

En todas las especies, cada segmento espinal está asociado con un par de nervios y raíces ubicados bilateralmente (Guertin y Steuer., 2009). Cada par de nervios se divide funcionalmente en dos: una dorsal parte hecha de fibras sensoriales que ingresan a la médula espinal a través de una raíz dorsal bilateralmente y una parte ventral constituida por fibras motoras que emergen de la médula espinal bilateralmente. La médula espinal está organizada en materia blanca y gris (Guertin y Steuer., 2009).

La sustancia gris aparece en una sección transversal como un pilar en forma de H, con columnas o astas anteriores y posteriores, unidas por una comisura gris fina que contiene el pequeño canal central o conducto ependimario. En los segmentos dorsal y lumbar superior de la médula existe una pequeña columna o cordón gris lateral. La cantidad de sustancia gris presente a cualquier nivel de la médula espinal guarda relación con la cantidad de músculo inervado por este nivel. así, el tamaño es mayor dentro de los agrandamientos cervical y lumbosacro de la médula que inervan los músculos de los miembros superiores e inferiores (Snell, 2014).
La sustancia gris de la médula espinal consiste en una mezcla de células nerviosas y sus prolongaciones, neuroglia y vasos sanguíneos (Snell, 2014).

La sustancia gris parece tener un aspecto laminado (en capas), Rexed (1954) describió 10 capas de neuronas en la médula espinal del gato (Snell, 2014).

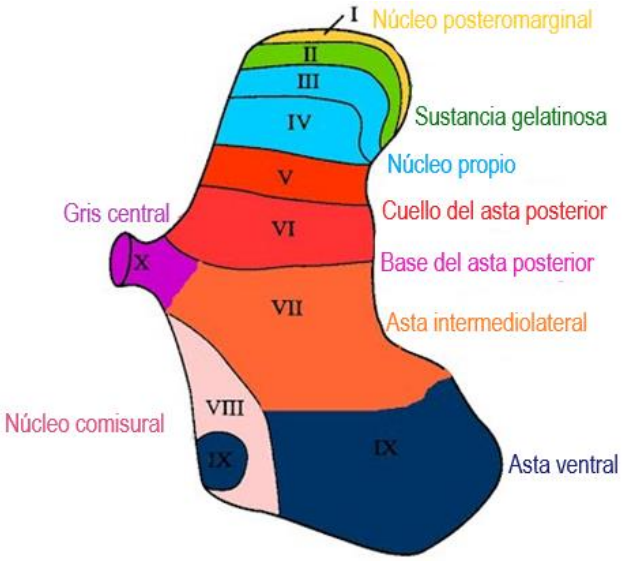


Figura 7. Ilustración de las láminas de Rexed en 1954, de la médula espinal del gato.

La sustancia blanca está compuesta por células gliales, así como por haces de fibras nerviosas (axones mielinizados) que forman varios tractos (Guertin y Steuer., 2009). Su función principal es esencialmente transportar información entre neuronas de la médula espinal o el cerebro (Watson y cols., 2009; Kandel y cols., 2012).

La sustancia blanca puede dividirse en columnas o cordones: anteriores, laterales y posteriores.

Tabla III. Características de las vías descendentes de la médula espinal

Vía	Función	Origen	Lugar de cruce	Destino	Ramas a
Fascículos corticoespinales	Movimientos voluntarios, rápidos hábiles, en especial de los extremos distales de los miembros.	Corteza motora primaria (área 4) Corteza motora secundaria (área 6) Lóbulo parietal (áreas 3,1 y 2)	La mayoría cruzan en decusación de pirámides y descienden como fascículos corticoespinales laterales continúan como fascículos corticoespinales anteriores y cruzan a la altura del destino.	Neuronas internuciales o motoneuronas alfa	Corteza cerebral, núcleos basales, núcleo rojo, núcleos olivares, formación reticular.
Fascículos reticuloespinales	Inhiben o facilitan el movimiento voluntario, el hipotálamo, controla los flujos simpático y parasimpático	Formación reticular	Algunas cruzan a varios niveles	Motoneuronas alfa y gamma	Múltiples ramas conforme descienden.
Fascículo tectoespinal	Movimientos posturales reflejos, relacionados con la visión	Colículo superior	Poco después del origen	Motoneuronas alfa y gamma	
Fascículo rubroespinal	Facilita la actividad de los músculos flexores e inhibe la actividad de los músculos extensores	Núcleo rojo	Inmediatamente	Motoneuronas alfa y gamma	
Fascículo vestibuloespinal	Facilita la actividad de los extensores e inhibe los músculos flexores	Núcleos vestibulares	No cruzan	Motoneuronas alfa y gamma	
Fascículo olivoespinal		Núcleos olivares inferiores	Cruzan el tallo cerebral, fibras autónomas descendentes control de los sistemas simpático y parasimpático, corteza cerebral, hipotálamo, complejo amigdaloide, formación reticular, flujo de salida simpático y parasimpático	¿Motoneuronas alga y gamma**?**	

La sustancia gris medular es la zona de integración para los reflejos medulares.

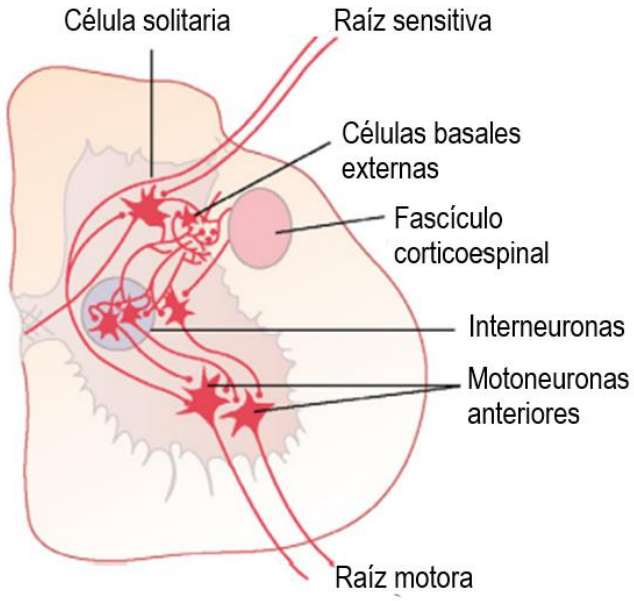


Figura 8. Conexiones de las fibras sensitivas periféricas y las fibras corticoespinales con las interneuronas y las motoneuronas anteriores de la médula espinal (Guyton y Hall, 2011).

Existen dos tipos de neuronas en la sustancia gris: motoneuronas anteriores e interneuronas (Guyton y Hall, 2011). En ellas nacen las fibras nerviosas que salen de la médula a través de las raíces anteriores e inervan directamente las fibras de los músculos esqueléticos. Estas neuronas son de dos tipos: motoneuronas α y motoneuronas γ (Guyton y Hall, 2011).

Motoneuronas α. Las motoneuronas alpha dan origen a unas fibras nerviosas motoras grandes de tipo Aα, a lo largo de su trayecto se ramifican muchas veces después de entrar en el músculo e inervan las grandes fibras musculares esqueléticas. La estimulación de una sola fibra nerviosa alpha excita de tres a varios cientos de fibras musculares esqueléticas a cualquier nivel, que en conjunto reciben el nombre de unidad motora (Guyton y Hall, 2011).

Motoneuronas γ: Las motoneuronas γ son mucho más pequeñas y están situadas en las astas anteriores de la médula espinal, cuyo número es más o menos la mitad que las anteriores. Estas células transmiten impulsos a través de unas fibras

nerviosas motoras γ de tipo A mucho más pequeñas, que van dirigidas hacia unas fibras del músculo esquelético llamadas fibras intrafusales, estas fibras ocupan el centro del huso muscular, que sirve para controlar el «tono» básico del músculo (Guyton y Hall, 2011).

Interneuronas: Las interneuronas están presentes en todas las regiones de la sustancia gris medular, en las astas posteriores, las astas anteriores y las zonas intermedias que quedan entre ella. Su tamaño es pequeño y poseen una naturaleza muy excitable, pues con frecuencia exhiben una actividad espontánea capaz de emitir hasta 1.500 disparos por segundo. Entre sí, presentan múltiples interconexiones y muchas de ellas también establecen sinapsis directas con las motoneuronas anteriores (Guyton y Hall, 2011).

Vías motoras descendentes que participan en la producción de los movimientos rítmicos, como la marcha.

Todo movimiento es el resultado de la contracción de una cantidad variable de fibras musculares extrafusales en cierto número de unidades motoras.
Para controlar el movimiento corporal correctamente, el SNC debe evaluar el efecto de la gravedad sobre un gran número de músculos del cuerpo (Cunningham, G. J, 2014, en Fisiología Veterinaria: control central del movimiento de Klein, G.B., Cunningham, G. J. 91-96).

El movimiento puede dividirse en dos formas generales. La primera es la forma voluntaria, consciente y dirigida, generalmente mediada por la activación de músculos flexores. La segunda se caracteriza por un tono muscular postural, anti gravitatorio, que suele ser inconsciente e involuntario y que es el resultado de la contracción de músculos extensores (Cunningham, G. J, 2014, en Fisiología Veterinaria: control central del movimiento de Klein, G.B., Cunningham, G. J. 91-96).
El inicio del movimiento consciente, dirigido y voluntario de la musculatura distal es responsabilidad de un grupo de neuronas motoras superiores que se proyectan a través de las regiones más laterales de la materia blanca de la médula espinal y terminan en las regiones laterales de la materia gris de la médula espinal (Cunningham, G. J, 2014, en Fisiología Veterinaria: control central del movimiento de Klein, G.B., Cunningham, G. J. 91-96).

Existen cuatro subsistemas motores distintos de los cuales son los circuitos locales en la médula espinal, el tronco del encéfalo, las vías descendentes de las neuronas motoras superiores que controlan estos circuitos, los ganglios basales y el cerebelo. Todos estos hacen contribuciones esenciales al control motor (Purves, 2008).

Por otra parte, la coordinación espacial y sincronización de la activación muscular requerida para ejecutar movimientos rítmicos complejos como la locomoción son proporcionados por circuitos locales especializados llamados “generadores de patrones centrales” (Purves, 2008).

Las neuronas del circuito local reciben entradas sensoriales, así como proyecciones descendentes desde los centros superiores (Purves, 2008).

Los tractos descendentes envían comandos relacionados con el sistema motor a la médula espinal y, en última instancia, a la llamada vía final común (Watson y cols., 2009; Kandel y cols., 2012). Los tractos descendentes transportan información relacionada con el sistema motor desde el cerebro hasta la médula espinal (Guertin y Steuer., 2009).

Los circuitos que forman proporcionan gran parte de la coordinación entre diferentes grupos de músculos que es esencial para el movimiento organizado. Incluso después de que la médula espinal se desconecta del cerebro en un animal de experimentación, como un gato, la estimulación adecuada de los circuitos espinales locales provoca movimientos involuntarios, pero altamente coordinados de las extremidades que se asemejan a caminar (Purves, 2008).

La longitud muscular apropiada se especifica por la actividad de las vías descendentes de las neuronas motoras superiores que influyen en el conjunto de neuronas motoras. La coactivación de las neuronas motoras α y γ permite que los husos funcionen (es decir, envíen información centralmente) en todas las longitudes musculares durante los movimientos y los ajustes posturales (Purves, 2008).

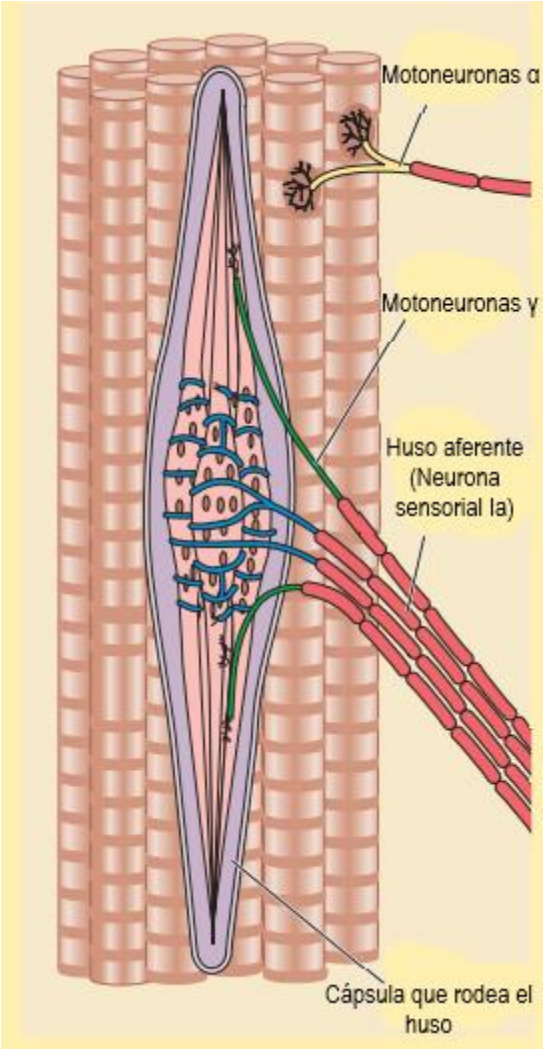


Figura 9. Diagrama del huso muscular, el receptor sensorial que inicia el reflejo de estiramiento.

El nivel de actividad inicial de las neuronas motoras γ es alto si un movimiento es relativamente difícil y exige una ejecución rápida y precisa. Por ejemplo, los registros de los músculos de las patas traseras de los gatos muestran que la actividad γ es alta cuando el animal tiene que realizar un movimiento difícil, como caminar sobre un haz estrecho (Purves, 2008).

Por lo tanto, la influencia de las proyecciones de las neuronas motoras superiores descendentes, otros circuitos locales en la médula espinal pueden cambiar la ganancia del reflejo de estiramiento por excitación o inhibición de las neuronas motoras α o γ (Purves, 2008).

Cuando un músculo se estira pasivamente, la mayor parte del cambio de longitud se produce en las fibras musculares, Cuando un músculo se contrae activamente, la fuerza actúa directamente sobre el tendón, lo que provoca un aumento de la tensión de las fibrillas de colágeno en el órgano tendinoso (Purves, 2008).

Las interneuronas inhibitorias Ib también reciben entradas sinápticas de una variedad de otras fuentes, incluidos los receptores cutáneos, los receptores articulares, los husos musculares y las vías de las neuronas motoras superiores descendentes (Purves, 2008).

Las interneuronas están presentes en todas las regiones de la sustancia gris medular, poseen una naturaleza muy excitable, presentan múltiples interconexiones y varias de ellas establecen sinapsis directas con las motoneuronas anteriores (Guyton y Hall, 2001)

Al igual que las otras vías reflejas, las neuronas del circuito local en la vía del reflejo de flexión reciben entradas convergentes de varias fuentes diferentes, incluidas otras interneuronas de la médula espinal y vías de neuronas motoras superiores. Esta observación sugiere que las proyecciones descendentes de la médula espinal modulan la capacidad de respuesta del circuito local a una variedad de entradas sensoriales (Purves, 2008).

En los informes actuales sobre el control neural de la locomoción terrestre, se hace mucho hincapié en la capacidad de las interneuronas (IN) en los segmentos espinales que inervan las extremidades para generar las características principales del ritmo locomotor, incluidas sus fases flexora y extensora y la sincronización de la actividad de cada músculo durante cada paso (Auffret y cols., 2018).

Dicho circuito de interneuronas (IN) para cada extremidad, ahora comúnmente denominado CPG, está confinado a ganglios relativamente de “bajo nivel” en invertebrados y a la médula espinal en vertebrados (Stuart y Hultborn, 2008).

Puede expresar un ritmo locomotor que no depende de la entrada descendente continua de los centros superiores y la retroalimentación sensorial de las partes del

cuerpo pasivas y activas (Clarac, 2008; Clarac y Pearlstein, 2007; Grillner y cols., 2008a, 2008b; Orlovsky y cols., 1999; Stuart, 2007a).

Antes de la década de los 60´s del siglo pasado, el punto de vista era que la ritmicidad locomotora era provocada por la acción del reflejo espinal, aunque se disponía de evidencia de un componente de control del SNC (Delcomyn, 1980) en los invertebrados, pero bastante sustancial para los mamíferos antes de 1920, como lo mostró Thomas Graham Brown en el gato (Delcomyn, 1980; Stuart y Hultborn, 2008).

De hecho, ya se había demostrado que había varias similitudes entre los movimientos de rascado de las extremidades traseras y los pasos en los gatos espinales (Sherrington, 1910b, 1910c), y que los movimientos de rascado en los perros espinales no se vieron afectados relativamente por la desaferenciación de las extremidades traseras. De hecho, se había mostrado la ruptura de las raíces aferentes del miembro que se rasca en sí, lejos de impedir o deteriorar el reflejo del rascado, lo hace más enérgico y lo deja inalterado en cuanto a su ritmo (Sherrington, 1906).

A pesar de los hallazgos anteriores, la posición doctrinaria a principios del siglo XX era que el ritmo y el patrón de los movimientos de pasos de las extremidades traseras se atribuían a los reflejos secuenciales de las extremidades traseras. Según Graham Brown (1911c), este punto de vista se debió en gran parte a los argumentos de Sherrington y un fisiólogo belga, Maurice Philippson (1877-1938) (Stuart y Hultborn, 2008). Philippson presentó argumentos que explicaban su percepción de cómo los reflejos espinales secuenciales contribuían a las cuatro fases del ciclo escalonado de la marcha (Clarac, 2008).

El artículo de Sherrington de 1910, fue citado por Graham Brown al afirmar "... Sherrington encuentra en los órganos terminales sensoriales de los músculos mismos el asiento de los estímulos intrínsecos para el “paso reflejo” (Philippson,1905). En retrospectiva, es probable que Graham Brown tuviera razón al atribuir a Philippson y Sherrington el punto de vista prevaleciente en ese momento de que los reflejos controlaban la marcha (Philippson, 1905).

Sherrington se centró exclusivamente en los mecanismos reflejos que, en su opinión, eran los fundamentos de la marcha (Stuart y Hultborn, 2008). El informe de Sherrington sobre los aspectos reflejos de la marcha, documentaba que “El paso reflejo tal como se provoca es enteramente un reflejo" (Sherrington,1910). Estos hallazgos sugirieron a Graham Brown (1911) “que el acto de la progresión también puede ser esencialmente un fenómeno central y no periférico " (Stuart y Hultborn, 2008). Graham Brown proporcionó evidencia indirecta de que la entrada aferente podía proporcionar una excitación generalizada de los centros lumbares que controlan la marcha (Stuart y Hultborn, 2008). Los movimientos de la marcha persistieron en una extremidad después de la extracción de la mitad opuesta de la médula lumbar, lo que sugiere que cada extremidad usaba un par de centros espinales opuestos (Stuart y Hultborn, 2008). La "hipótesis del hemi-centro" de Graham Brown era que la médula espinal poseía centros espinales capaces de producir intrínsecamente movimientos flexores y extensores (Stuart y Hultborn, 2008). Cuando están activos, estos centros se inhiben mutuamente entre sí para producir el ritmo locomotor flexor-extensor. Este ritmo estaba sujeto a una fuerte modulación por la entrada sensorial propioceptiva (Stuart y Hultborn, 2008). El término "hemi-centro" tenía precedentes importantes con respecto a la inhibición mutua dentro de la médula espinal (Stuart y Hultborn, 2008). Una entrada aferente podría dividirse en la médula espinal para activar un hemi-centro e inhibir su hemi-centro opuesto (Sherrington, 1905). Lundberg y sus colegas obtuvieron la primera evidencia directa sobre una red interneuronal segmentaria que podía ser un sustrato para el escalonamiento espinal (Stuart y Hultborn, 2008).

La hipótesis del reflejo en cadena de Anders Lunberg es suficiente para explicar la dependencia de los movimientos de las extremidades de la velocidad y las condiciones externas de locomoción (Stuart y Hultborn, 2008). Por otro lado, la hipótesis de dos hemi-centros recíprocos explica el paso del miembro desaferente (Stuart y Hultborn, 2008). Grillner extendió el concepto de hemi-centro, con su énfasis en la inhibición recíproca entre las interneuronas y las motoneuronas que excitan los músculos agonistas y antagonistas flexores y extensores, desde una red espinal que opera en una sola extremidad hasta un grupo de redes interactivas que

controlan los múltiples grados de libertad de una extremidad controlando los movimientos de las articulaciones individuales de la extremidad (Stuart y Hultborn, 2008).

Los estudios de movimientos rítmicos como la locomoción y la natación en modelos animales (ver figura 10-A) han demostrado que los circuitos locales en la médula espinal llamados generadores de patrones centrales son completamente capaces de controlar el tiempo y la coordinación de patrones de movimiento tan complejos, y de ajustarlos en respuesta a circunstancias alteradas (ver figura 10-B), como caminar y correr (Purves, 2008).

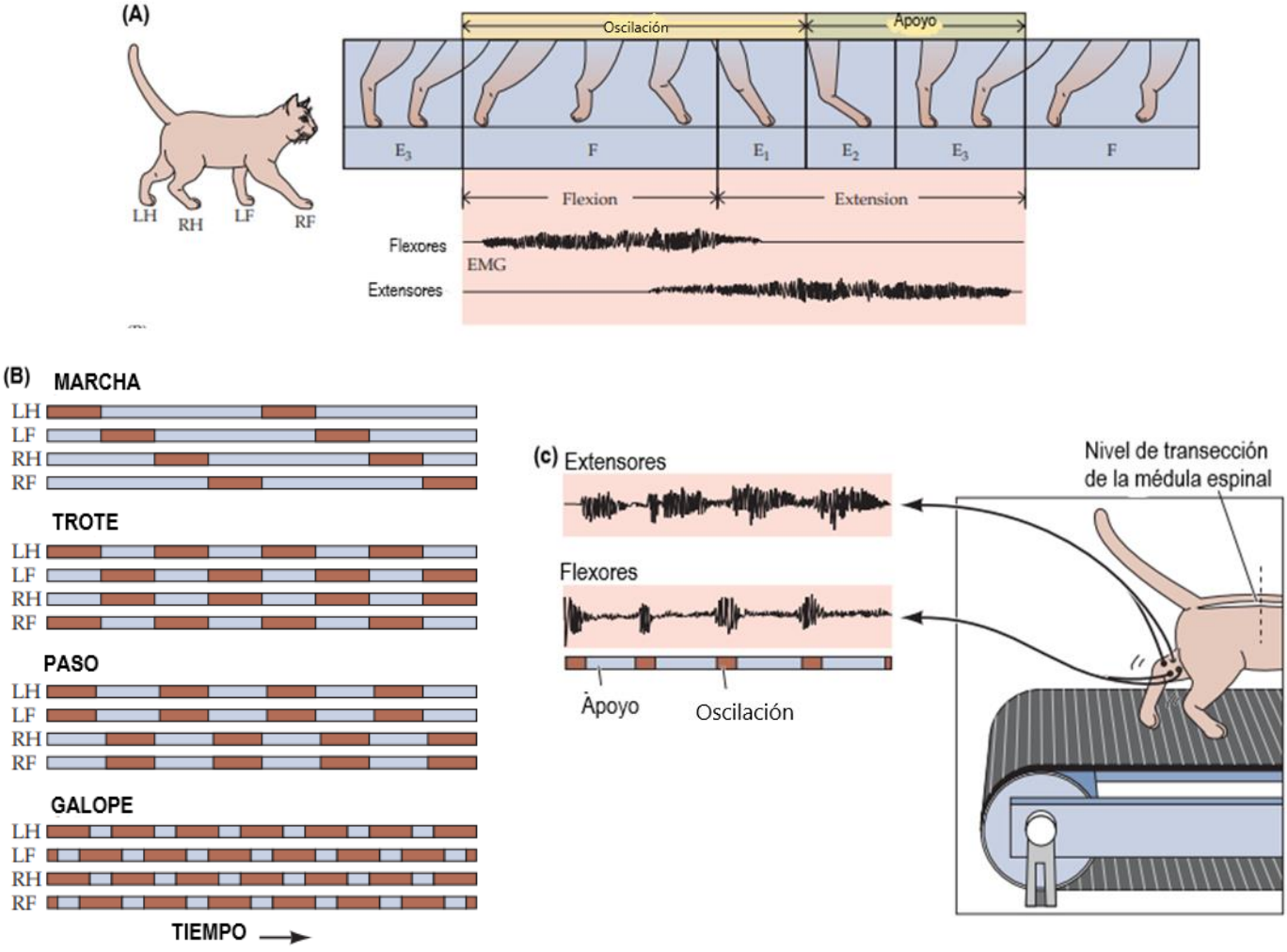


Figura 10. El ciclo de locomoción de los mamíferos terrestres (un gato en este caso) está organizado por generadores de patrones centrales. (**A)** El ciclo de paso, que muestra la flexión (F) y la extensión

(E) de la pierna y su relación con las fases de locomoción la oscilanción y el apoyo. EMG indica registros electromiográficos. **(B)** Comparación de los movimientos de paso para diferentes modos de andar. Barras marrones, pie levantado (fase de oscilación); barras grises, pie plantado (fase de apoyo). **(C)** La transección de la médula espinal a nivel torácico aísla los segmentos de las patas traseras de la médula. Las patas traseras aún pueden caminar en una cinta rodante después de la recuperación de la cirugía, y se pueden registrar ráfagas recíprocas de actividad eléctrica de los flexores durante la fase de oscilación y de los extensores durante la fase de apoyo de la marcha (Pearson, 1976 p.390).

El movimiento de una sola extremidad durante la locomoción se puede considerar como un ciclo que consta de dos fases: una fase de postura, durante la cual la extremidad se extiende y se pone en contacto con el suelo para impulsar a los humanos u otros bípedos hacia adelante; y una fase de oscilación, durante la cual la extremidad se flexiona para dejar el suelo y luego se adelanta para comenzar la siguiente fase de apoyo (ver figura 10-A) (Purves, 2008).

Los aumentos en la velocidad de locomoción reducen la cantidad de tiempo que lleva completar un ciclo, y la mayor parte del cambio en el tiempo del ciclo se debe al acortamiento de la fase de apoyo; la fase de oscilación permanece constante en una amplia gama de velocidades locomotoras. En los cuadrúpedos, los cambios en la velocidad locomotora también van acompañados de cambios en la secuencia de movimientos de las extremidades, a las velocidades más altas (galope), los movimientos de las dos patas delanteras están sincronizados, al igual que los movimientos de las dos patas traseras (ver figura 10-B) (Purves, 2008).

Después de la sección de la médula espinal a nivel torácico, las patas traseras de un gato seguirán realizando movimientos locomotores coordinados si el animal recibe apoyo y se coloca en una cinta rodante en movimiento (ver figura 10-A) (Purves, 2008).

Observaciones en animales de experimentación muestran que los patrones rítmicos básicos del movimiento de las extremidades durante la locomoción no dependen de la información sensorial; ni dependen de la entrada de las proyecciones descendentes de los centros superiores. Más bien, cada extremidad parece tener

su propio generador de patrón central responsable de la flexión y extensión alternas de la extremidad durante la locomoción (ver figura 10-B) (Purves, 2008).

Los axones de las neuronas motoras superiores descienden de los centros superiores para influir en los circuitos locales del tronco del encéfalo y la médula espinal que organizan los movimientos al coordinar la actividad de las neuronas motoras inferiores. Los centros de control motor en el tronco del encéfalo son especialmente importantes en el control postural continuo. De esa manera el complejo nuclear vestibular y la formación reticular, tienen amplios efectos sobre la posición del cuerpo (Purves, 2008).

El cerebelo actúa a través de sus vías eferentes hacia las neuronas motoras superiores como un servomecanismo, detectando la diferencia, o "error motor", entre un movimiento previsto y el movimiento realmente realizado (así de esa manera el cerebelo determina la posición inicial de las partes del cuerpo que se van a mover y va a detectar las discrepancias que puedan existir en el movimiento que se intenta realizar con el movimiento que se estar realizando (Cunningham, 2014)

Las áreas motoras y “premotora” del lóbulo frontal, por el contrario, son responsables de la planificación y el control preciso de secuencias complejas de movimientos voluntarios (Purves, 2008).

La planificación y el inicio de la locomoción tienen lugar en áreas supraespinales, incluida la corteza cerebral, los ganglios basales, el mesencéfalo y el tallo cerebral, pero los tiempos y patrones precisos de los movimientos locomotores en los vertebrados son generados por actividad en conjunto de neuronas que se encuentran en la propia medula espinal (Drew y cols., 2015; Takakusaki, 2013; García, 1986; Ryczko y Dubuc, 2013; Dubue y cols., 2008; Jordan y cols., 2008; Grillner y cols., 2008;Kiehn, 2006; Grillner, 2003).

Las fibras propioespinales ascendentes y descendentes de la médula suministran una vía para los reflejos multisegmentarios, son las encargadas de coordinar los movimientos simultáneos de las extremidades anteriores y posteriores (Guyton y Hall., 2011).

Las neuronas motoras superiores en la corteza también controlan el movimiento indirectamente, a través de vías que se proyectan a los centros de control motor del tronco encefálico, que, a su vez, se proyectan a los circuitos organizadores locales en el tronco encefálico y la médula, que tienen como función mantener la postura del cuerpo durante los movimientos voluntarios iniciados corticalmente (Purves, 2008).

Las vías de las neuronas motoras superiores que surgen en la corteza son esenciales para el inicio de los movimientos voluntarios y para secuencias espaciotemporales complejas de movimientos especializado (Purves, 2008).

Las neuronas dentro de la formación reticular tienen varios propósitos entre las más importante es la coordinación temporal y espacial de los movimientos (Purves, 2008).

La formación reticular es una red complicada de circuitos ubicados el núcleo del tronco encefálico que se extiende desde el mesencéfalo rostral hasta el bulbo raquídeo caudal (Purves, 2008).

Las vías del control motor descendente desde la formación reticular hasta la médula espinal son similares a las de los núcleos vestibulares; terminan principalmente en las partes mediales de la materia gris donde influyen en las neuronas del circuito local que coordinan los músculos axiales y proximales de las extremidades (Purves, 2008).

La vía corticoespinal procedente del encéfalo finaliza en su integridad sobre interneuronas medulares donde sus señales se combinan con las recibidas desde otros fascículos de la médula o desde los nervios raquídeos antes de acabar convergiendo sobre las motoneuronas anteriores para controlar el funcionamiento muscular (Guyton y Hall, 2011).

2

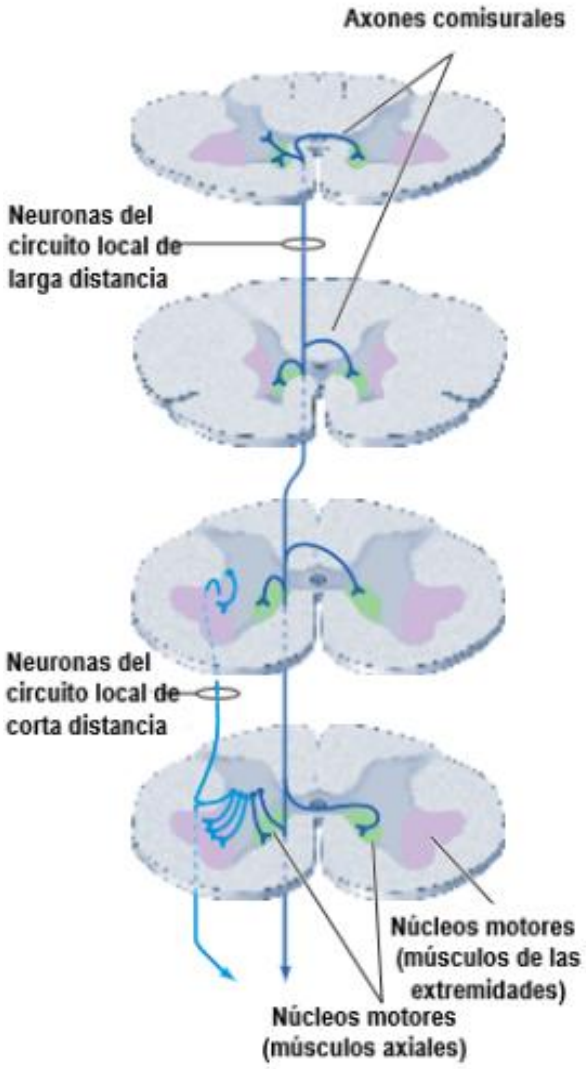


Figura 11. Las neuronas del circuito local que inervan la región medial de la asta ventral están situadas medialmente en la zona intermedia de la sustancia gris de la médula espinal y tienen axones que se extienden sobre varios segmentos de la médula espinal y terminan bilateralmente. Por el contrario, las neuronas del circuito local que inervan las partes laterales de la asta ventral están ubicadas más lateralmente, tienen axones que se extienden sobre unos pocos segmentos de la médula espinal y terminan solo en el mismo lado de la médula. Las vías descendentes que entran en contacto con las partes mediales de la materia gris de la médula espinal participan principalmente en el control de la postura; aquellos que contactan con las partes laterales están involucrados en el control fino de las extremidades distales (Purves, 2008 p.394).

Tanto los núcleos vestibulares como la formación reticular proporcionan información a la medula espinal que mantiene la postura y las respuestas a las alteraciones ambientales de la posición y la estabilidad del cuerpo (Purves, 2008).

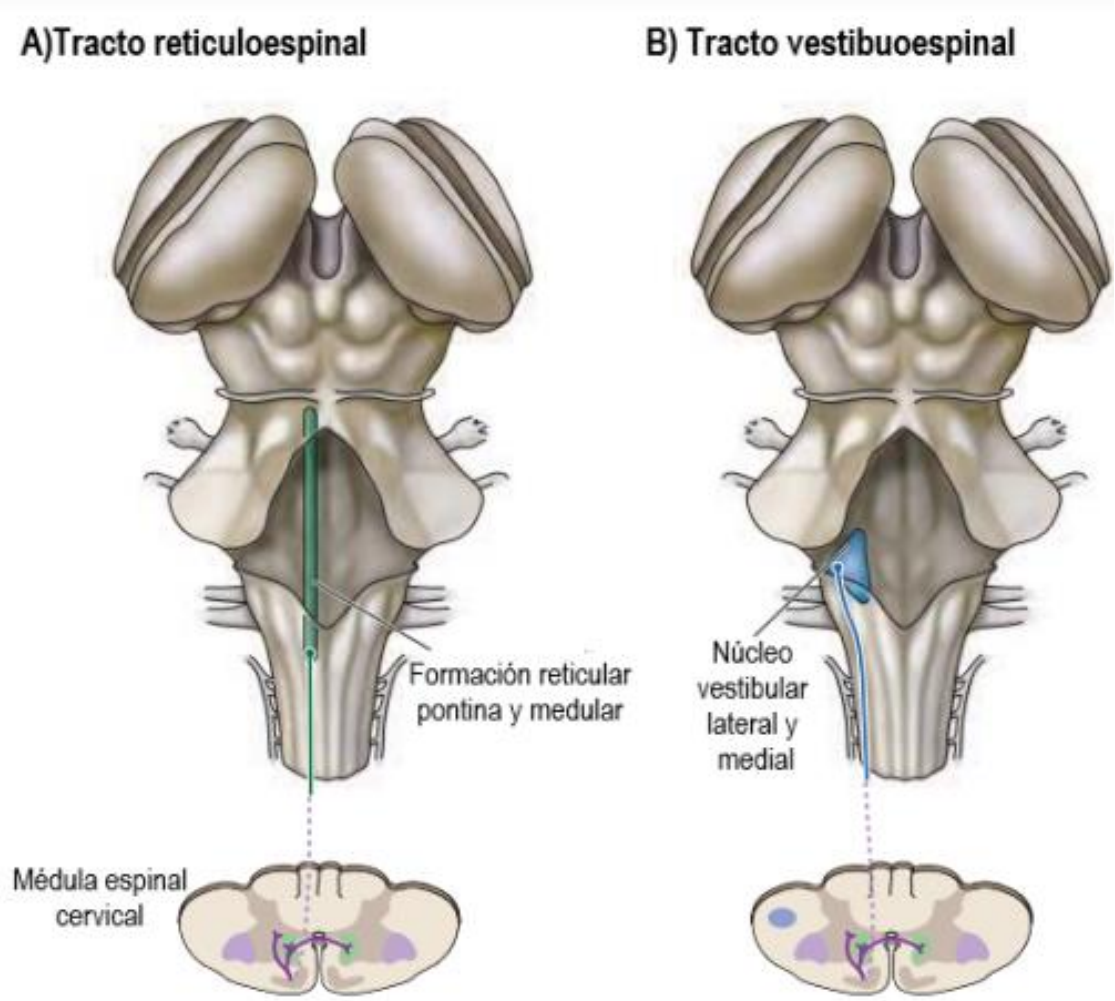


Figura 12. Proyecciones descendentes desde el tronco encefálico hasta la medula espinal. Las vías que influyen en las neuronas motoras de la parte medial de la asta ventral se originan en la formación reticular y el núcleo vestibular (Purves,2008 p.395)

El tracto corticoespinal lateral forma la vía directa desde la corteza hasta la médula espinal y termina en las porciones laterales de la asta ventral y la sustancia gris intermedia (Ver Figura 12-A y 12-B). La vía indirecta a las neuronas motoras inferiores en la medula espinal va, desde la corteza motora hasta dos de las fuentes de las neuronas motoras superiores en el tronco del encéfalo: el núcleo rojo y la formación reticular. Los axones de la formación reticular se originan en algunas partes de la corteza motora (Purves, 2008).

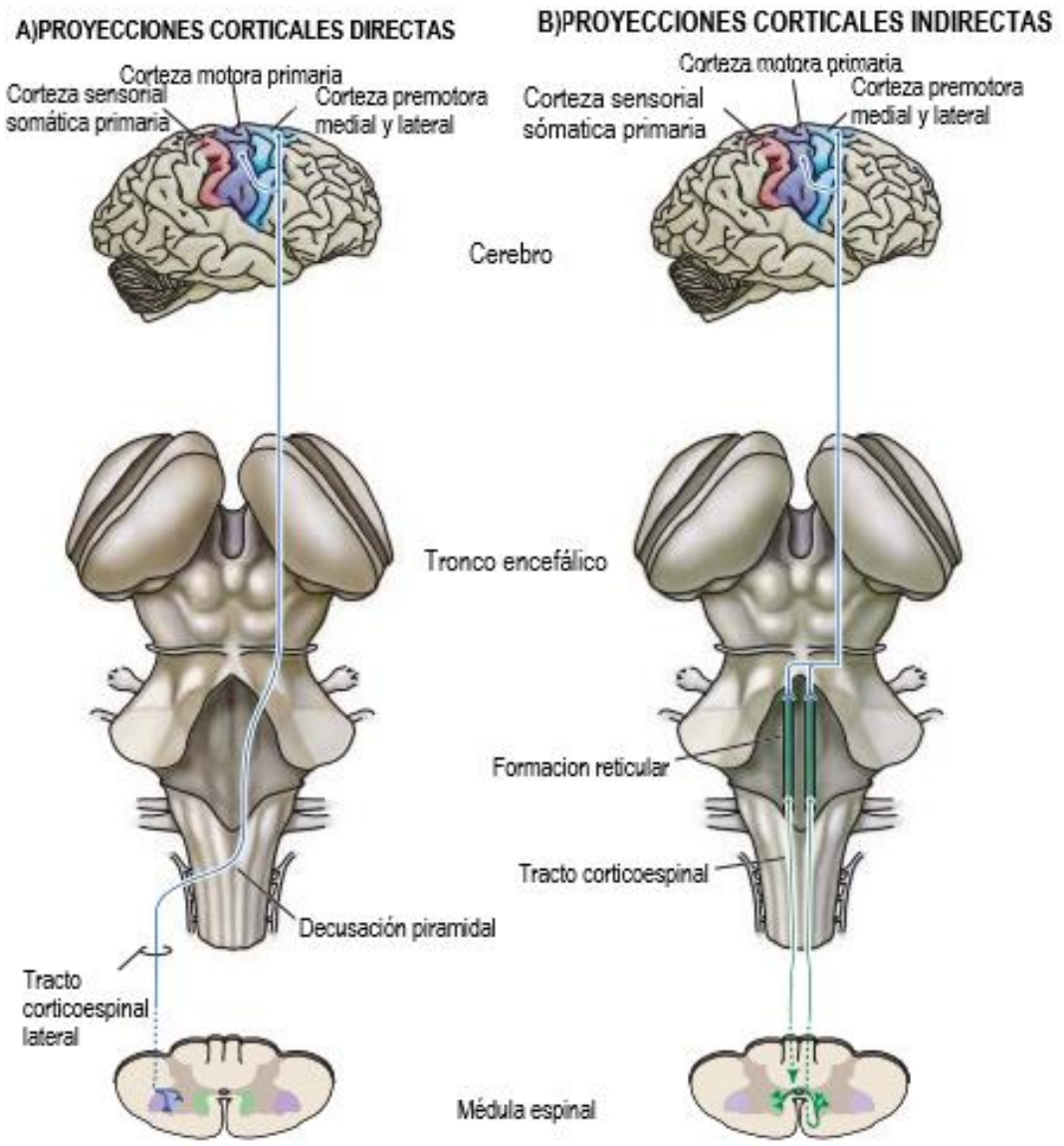


Figura 13. Vías directas e indirectas desde la corteza motora hasta la medula espinal. Las neuronas de la corteza motora que inervan la parte lateral de la asta ventral **A)** para iniciar los movimientos de las extremidades distales también terminan en las neuronas de la formación reticular **B)** para mediar en los ajustes posturales que apoyan el movimiento. La corteza motora tiene rutas tanto directas como indirectas mediante las cuales puede influir en la actividad de las neuronas de la medula espinal (Purves, 2008 p.396).

Datos obtenidos en experimentos en las lampreas revelaron que los tractos mediales juegan un papel determinante en el inicio de la locomoción (Shaw y cols., 2010). Por otra parte, en los gatos, los axones reticuloespinales del funículo ventrolateral (VLF) son de importancia crítica para el inicio de la locomoción (Steeves y Jordan,1980; Noga y cols.,1991). Durante la locomoción, la modulación del tiempo, por ejemplo, la velocidad de la locomoción también puede estar mediada por señales mediadas por el funículo ventrolateral (Shick y cols., 1969). El tracto reticuloespinal contribuye a la regulación del nivel de tono muscular (Takakusaki, 2017).

La forma en que las motoneuronas superiores de la formación reticular mantienen la postura se puede analizar su actividad durante los movimientos voluntarios (Purves, 2008).

La vía corticoespinal ventral surge principalmente de regiones de la corteza motora que sirven a los músculos axiales y proximales.

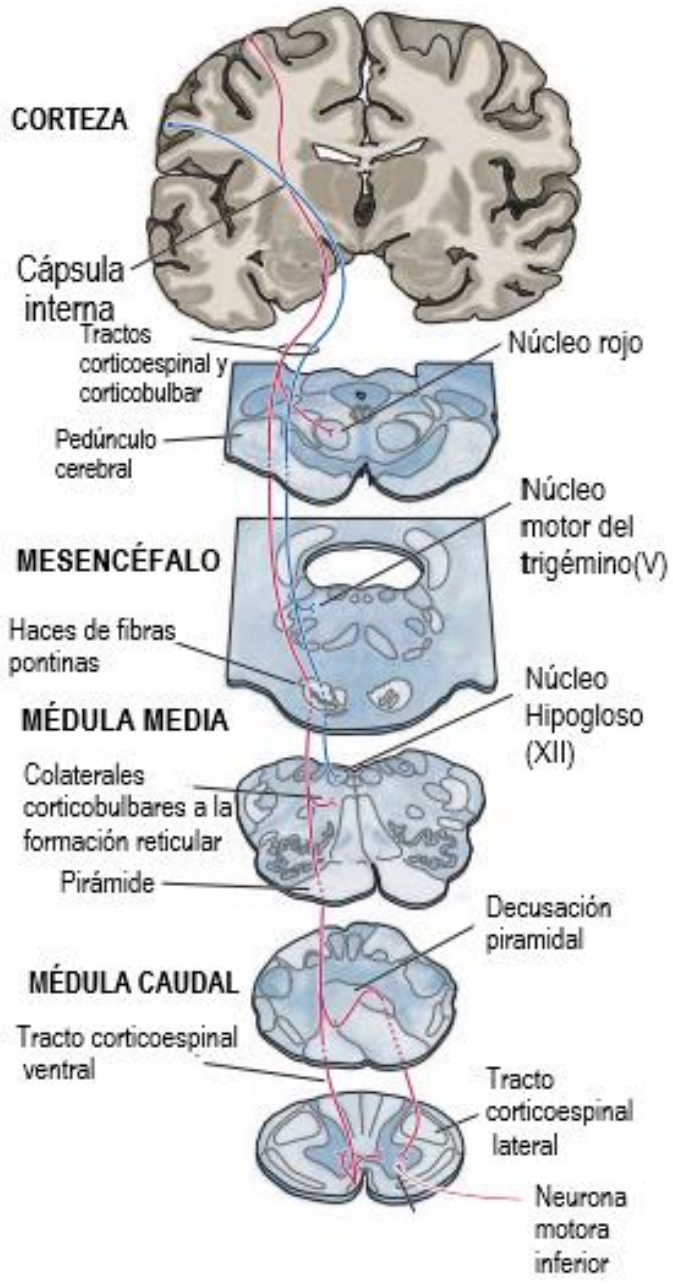


Figura 14. Los tractos corticoespinal y corticobulbar. Las neuronas de la corteza motora dan lugar a axones que viajan a través de la cápsula interna y se fusionan en la superficie ventral del cerebro medio, dentro del pedúnculo cerebral. Estos axones continúan a través de la protuberancia y llegan a descansar sobre la superficie ventral del bulbo raquídeo, dando origen a las pirámides. La mayoría de estas fibras piramidales se cruzan en la parte caudal del bulbo raquídeo para formar el tracto corticoespinal lateral en la médula espinal. Los axones que no se cruzan forman el tracto corticoespinal ventral (Purves, 2008 p.403).

En el extremo caudal del bulbo raquídeo, la mayoría de los axones del tracto piramidal, aunque no todos, se cruzan para entrar en las columnas laterales de la médula espinal, donde forman el tracto corticoespinal lateral. Un número menor de axones ingresa a la médula espinal sin cruzar; estos axones, que comprenden el tracto corticoespinal ventral, terminan ipsilateral o contralateralmente, después de cruzarse en la línea media a través de la comisura de la médula espinal (Purves, 2008).

La vía indirecta a las neuronas motoras inferiores en la médula espinal va, desde la corteza motora hasta dos de las fuentes de las neuronas motoras superiores en el tronco del encéfalo: el núcleo rojo y la formación reticular. En general, los axones de la formación reticular se originan en las partes de la corteza motora que se proyectan hacia la región medial de la sustancia gris de la médula espinal (Purves, 2008).

Algunas de las vías de las neuronas motoras superiores descendentes terminan en la región medial de la medula espinal que esta relacionada con los músculos posturales. Algunas de estas conexiones descendentes, por ejemplo, las neuronas reticuloespinales pontinas o las neuronas vestibuloespinales establecen conexiones funcionales directa o indirectamente con las motoneuronas espinales ipsilateral o contralateralmente (Sivertsen y cols., 2016; Kasumacic y cols., 2015).

La neurona motora inferior inerva las fibras musculares extrafusales, que son las fibras musculares estriadas, que generan las fuerzas necesarias para la postura y el movimiento (Purves, 2008).

Las células reticuloespinales de la formación reticular pontomedular también median las entradas de la región mesencefálica locomotora (MLR) para el inicio de la locomoción (Guertin y Steuer, 2009). Las órdenes motoras están organizadas jerárquicamente. El tronco encefálico integra reflejos medulares en diversos movimientos automatizados que controlan la postura y locomoción (Ghez y Krakauer, 2001).

Las neuronas motoras superiores que se originan en el tronco encefálico son fundamentales para el control de la postura (Purves, 2008). Además de que integra reflejos medulares en diversos movimientos como la locomoción (Ghez y Kraukauer., 2001).

Las vías corticoespinales y corticonucleares son las vías más directas a través de las cuales la corteza cerebral puede controlar las neuronas motoras que inervan los músculos (Ghez y Krakauer, 2001). La corteza también regula las neuronas motoras medulares de forma indirecta a través de su influencia en diversos sistemas cerebrales descendentes (Ghez y Krakauer., 2001)

Mientras que las estructuras supraespinales controlan su inicio, la médula espinal coordina la actividad de los músculos distribuidos por todo el cuerpo en patrones regulares de pasos (Pocratsky y cols., 2017). Este comportamiento complejo se basa en dos principios ritmo y patrón (Kiehn,2016).

El patrón básico y el ritmo subyacente a la locomoción se genera en la médula espinal por la generación de patrones centrales (GPC) para la locomoción (Purves, 2008).

Varios centros de control, que se asemejan en muchos aspectos a los que se encuentran en la médula espinal (GPC para locomoción), están ubicados en el tronco del encéfalo, en cierta medida distalmente de las neuronas motoras correspondientes sobre las que proporcionan comandos para el control de conductas motoras estereotipadas (Guertin y Steuer, 2009). Se descubrió que las neuronas dopaminérgicas que se originan en los ganglios basales se proyectan a las áreas locomotoras del tallo cerebral, incluidas las células reticuloespinales en diferentes especies (Ryczko y cols., 2016).

En 1960 la micro estimulación intracortical, permitió una compresión más detallada de los mapas motores (Purves, 2008). La estimulación intracortical confirmó el mapa espacial de Penfield en la corteza motora, donde mostró que la organización más fina del mapa es diferente, cuando la micro estimulación se combina con registros de actividad eléctrica muscular donde las corrientes más pequeñas son capaces de

provocar una respuesta como la excitación de varios músculos, lo que indica que las neuronas en las regiones cercanas están unidas por circuitos locales para organizar movimientos específicos (Purves, 2008).

Evarts y su grupo descubrieron que la fuerza generada por la contracción de los músculos cambiaba en función de la tasa de activación de las neuronas motoras superiores (Purves, 2008). Evarts propuso que la corteza motora primaria contribuye a la fase inicial de reclutamiento de neuronas motoras inferiores involucradas en la generación de movimientos finamente controlados, por lo tanto, algunas neuronas muestran progresivamente menos activadas a medida que la dirección del movimiento se desvía de la neurona (Purves, 2008).

Estas observaciones confirmaron que las neuronas motoras superiores individuales contactan con varios conjuntos de neuronas motoras inferiores (Purves, 2008).

Como era de esperar, los núcleos vestibulares hacen ajustes en la postura y el equilibrio en respuesta a la información que inerva las reservas de neuronas motoras inferiores en la asta ventral medial de la medula espinal (Purves, 2008) Las entradas reticuloespinales sirven para modular la ganancia de los reflejos segmentarios que involucran los músculos del tronco y las extremidades proximales y para iniciar ciertos patrones estereotípicos de movimientos de las extremidades (Purves, 2008).

Las neuronas del circuito local se encuentran en la zona intermedia de la médula espinal y suministran parte de la entrada directa a las neuronas motoras inferiores (Purves, 2008).

Así la región medial de la zona intermedia de la materia gris de la medula espinal contiene las neuronas del circuito local que hacen sinapsis con las neuronas motoras inferiores en la parte medial de la asta ventral, mientras que las regiones laterales de la zona intermedia contienen neuronas locales que hacen sinapsis con las neuronas motoras inferiores en la asta ventral lateral (Purves, 2008).

Las neuronas del circuito local medial, que inervan las neuronas motoras inferiores en la asta ventral medial, tienen axones que se proyectan a muchos segmentos de

la medula espinal. Muchas de estas neuronas del circuito local tienen ramas axonales que cruzan la línea media en la comisura de la medula espinal para inervar las neuronas motoras inferiores en la parte medial del hemicordón contraleral (Purves, 2008). Esta disposición asegura que los grupos de músculos axiales en ambos lados del cuerpo actúa en conjunto para mantener y ajustar la postura (Purves, 2008).

Se identifican al menos tres regiones locomotoras en animales. Son la región locomotora mesencefálica (MLR), la región locomotora subtalámica (SLR) y la región locomotora cerebelosa (CLR). La principal región locomotora subtalámica (MLR) se localiza mayoritariamente en el núcleo cuneiforme que se encuentra junto del núcleo tegmental pedunculopontino (PPN) (Grillner y cols., 2002; Grillner, 1981; Mori,1987; Mori y cols., 1999).

La parte lateral del tegmento mesopontino, incluidos estos núcleos, recibe entradas de las cortezas premotoras (Matsuyama y Drew, 1997).

Estos estudios muestran que las regiones más importantes son las regiones locomotoras mesencefálica, subtalámica y cerebelosa (John y cols., 2008).

Las neuronas en estas regiones, que permiten iniciar o modular los CPG en el gato, también pueden existir en los humanos (Purves, 2008).

Las señales de la región locomotora mesencefálica (MLR) activan el sistema generador de ritmo y las vías descendentes monoaminérgicas, como el tracto coeruloespinal que surge del locus coeruleus y el tracto rafe espinal de los núcleos del rafe (Takakusaki y Forebrain, 2008; Takakusaki y cols., 2006; Takakusaki y cols., 2004).

El sistema generador de ritmo está compuesto por un grupo de vías reticuloespinales neuronas en la formación reticular medular ventromedial (MRF). Este sistema activa secuencialmente las interneuronas de primer y segundo orden en las redes locomotoras espinales (Rossignol y cols., 2006; Takakusaki y cols., 2004).

Las señales de la región locomotora subtalámica (SLR) activan el sistema de generación de ritmo ya sea directa o indirectamente a través de la región locomotora mesencefálica (MLR) (Sinnamon,1993; Grillner,1981; Rossignol y cols., 2006). La región locomotora cerebelosa (CLR) que está ubicado en la parte media de la sustancia blanca del cerebelo. (Takakusaki, 2013). La salida de la región locomotora mesencefálica CLR posiblemente activa el sistema generador de ritmo por proyecciones a la formación reticular medular ventromedial (MRF) (Takakusaki, 2013).

La región inhibitoria en el núcleo tegmental pedunculopontino (PPN) inhibe las motoneuronas alfa y gamma que inervan los músculos extensores y flexores en paralelo a las interneuronas que median en varias vías reflejas (Takakusaki y cols., 2001; Takakusaki y cols., 2003). Por lo tanto, el sistema inhibidor regula no solo el nivel del tono muscular postural, sino también el ritmo y patrón de locomoción (Mileykovskiy y cols., 2000).

El papel de las neuronas del tracto reticuloespinal y vestibuloespinal ha sido examinado durante la locomoción del gato en una superficie inclinada. Específicamente, el tracto vestibuloespinal controla principalmente el nivel general del tono muscular postural, mientras que el tracto reticuloespinal tiene un papel adicional en la determinación del nivel relativo de diferentes músculos, particularmente cuando el patrón es asimétrico (Matsuyama y cols., 2000). Por otro lado, el tracto rubroespinal, las neuronas se descargan principalmente al final de la postura y durante la fase de oscilación de la pata trasera ipsilateral (Arsharsky y cols., 1988).

La tasa de descarga aumenta durante las modificaciones voluntarias de la marcha de manera similar a las neuronas en la corteza motora (Rho y cols.,1999).

El tracto corticoreticular y reticuloespinal puede lograr una preparación postural o un ajuste postural anticipatorio que precede al inicio de la marcha (Takakusaki, 2013).

La corteza motora contribuye principalmente a ejecutar modificaciones de la marcha en diferentes momentos durante el ciclo de la marcha (Drew y Marigold, 2015). Se ha demostrado claramente que la región locomotora mesencefálica controla la locomoción en varias especies incluida la rata (Guertin y Steuer, 2009).

Shik y colaboradores descubrieron que la estimulación tónica de la región locomotora mesencefálica (MLR) en la unión mesopontina de la formación reticular dorsal (es decir, parte del núcleo cuneiforme) podría desencadenar la marcha en animales descerebrados (Guertin y Steuer, 2009). El aumento de la fuerza de estimulación condujo a un aumento de la velocidad locomotora y, por lo tanto, a cambios en la marcha, galopando en lugar de caminar (Shik y cols., 1969). En las ratas, esa región corresponde a las neuronas colinérgicas del núcleo tegmental pedunculopontino (PPT o PPN); (Skinner y cols., 1990). Las lesiones afectan los parámetros de la marcha, como la longitud de la zancada que es la distancia medida en milímetros, entre las ubicaciones sucesivas de la misma, la base de apoyo que es la distancia en milímetros perpendicular a la trayectoria del movimiento entre pares de miembros y la velocidad de la marcha que es el tiempo total para realizar el recorrido completo en la pasarela (Kappos, 2017; Guertin y Steuer, 2009).

En función de la velocidad, cada paso se caracteriza por un conjunto distinto de ritmos y patrones de pasos (Hildebrand, 1965). Las redes espinales que producen colectivamente este comportamiento se denominan “Generadores centrales de patrones” y las ampliaciones de la columna cervical y lumbar sirven como ejes para las extremidades anteriores y posteriores, respectivamente (Kiehn, 2016).

El nivel jerárquico inferior coordina los detalles espacio-temporales de las contracciones musculares necesarias para ejecutar el movimiento planeado. Esta coordinación es ejecutada por los circuitos motores de la médula espinal denominados generadores de patrones centrales (CPG) (Barrett y cols., 2018).

Lo fundamental para el movimiento es el ritmo, que establece el periodo de ciclo de pasos y sus dos componentes definitorios la duración de la oscilación y de la base de apoyo (Gossard y cols., 2011). Dentro de este ritmo, los movimientos modelados deben controlarse con precisión para asegurar un paso eficaz (Kiehn, 2016).

Un grupo particular de redes interneuronales espinales que genera actividad rítmica en ausencia de entradas rítmicas de los aferentes sensoriales se denomina generadores centrales de patrones (GPC´s) (Takakusaki, 2013).

Los GPC´s, son circuitos neuronales que producen los patrones de actividad neuronal que subyacen a los comportamientos motores rítmicos, como caminar, nadar, volar, alimentarse, el rascado y el respirar (Katz, 2016). Como su nombre lo indica, estos patrones se generan centralmente, sin la necesidad de retroalimentación sensorial u otra entrada con patrón. Por lo tanto, muchas preparaciones experimentales de CPG pueden continuar produciendo actividad neural rítmica incluso cuando están aisladas del animal, facilitando el acceso a las neuronas (Katz, 2016).

Existen distintos generadores centrales de patrones entre los cuales la marcha es lo más relevante (Magee, 2014; Martell, 2005).

Los GPC´s podrían contribuir a los patrones de activación durante fases específicas del ciclo de pasos y simplificar el control supraespinal de la frecuencia del ciclo de pasos como un componente de avance para lograr una velocidad objetivo (Minassian y cols., 2017).

La generación de actividad motora rítmica de los generadores centrales de patrones depende de tres factores:

I. Las propiedades celulares de las neuronas individuales que constituyen la red.
II. Las propiedades de las conexiones sinápticas entre las neuronas.
III. El patrón de interconexiones entre las neuronas. Las sustancias reguladoras, habitualmente aminas biogénicas o péptidos, pueden alterar las propiedades celulares y sinápticas, permitiendo de esta manera que el CPG genere diversos patrones motores (Kandel, 2001).

El GPC contiene neuronas que son capaces de excitarse espontáneamente; mediante excitadores endógenos que estimulan las neuronas motoras. Esta excitación es frecuente en los GPC que producen ritmos continuos, sin embargo, la locomoción es una conducta episódica, de manera que en los sistemas excitadores deben estar regulados (Kandel, 2001). En un gran número de GPC, se ha demostrado la capacidad para generar potenciales mesetas esenciales para la generación del ritmo (Kandel, 2001). La ritmicidad no depende siempre de la excitación o de las propiedades del potencial meseta en las neuronas de la red. Una red simple puede generar actividad rítmica si incluye algún proceso dependiente del tiempo que incremente o reduzca la actividad de algunas neuronas (Kandel, 2001).

La mayor parte de los CPG´s, producen un patrón temporal complejo de activación de grupos diferentes de neuronas motoras (Kandel, 2001). El patrón se puede dividir en un número concreto de fases, incluso dentro de una fase, la evolución temporal de la actividad puede variar en diferentes neuronas motoras (Kandel, 2001).

La secuencia de patrones motores está regulada por tres mecanismos:

I. La inhibición mutua: las interneuronas que se excitan estando desfasadas entre sí suelen estar recíprocamente acopladas mediante conexiones inhibidoras.
II. La velocidad de recuperación de la inhibición la cual puede influir en el tiempo relativo de inicio de la actividad en dos neuronas que son liberadas simultáneamente de la inhibición.
III. Excitación mutua que suele estar constituida por un mecanismo importante para establecer la excitación más o menos sincrónica de un grupo de neuronas.

La naturaleza cíclica de los patrones motores proporciona un medio robusto para delinear qué neuronas producen la ritmicidad y el patrón porque los miembros celulares de los CPG´s son rítmicamente activos y están conectados sinápticamente a otros miembros (Katz, 2016). Las redes espinales que producen colectivamente este comportamiento se denominan generadores centrales de patrones, con agrandamientos de la columna cervical y lumbar que sirven como

centros para las extremidades anteriores y posteriores, respectivamente (Pocratsky y cols., 2017). Comprender cómo se gobierna la locomoción a través de esta red jerárquica implica varios niveles de profundidad y complejidad (Pocratsky y cols., 2017). A nivel de sistemas, se hace hincapié en describir el comportamiento general del animal durante la locomoción (Pocratsky y cols., 2017).

Una forma particular de locomoción parece ser seleccionada por órdenes supraespinales, pero el patrón preciso, es decir, el desfase de extremidades y músculos, se genera dentro de la médula espinal mediante los llamados CPG´s (Ellaway y cols., 2015).

El ritmo y el patrón se transmiten de vuelta a las estructuras supraespinales mediante los tractos espinotalámico, reticular y cerebeloso, de modo que las estructuras supraespinales monitorean todos los eventos en la médula espinal (Rossignol,1996).

Por ejemplo, para realizar un entrenamiento como el levantamiento de pesas que es el resultado de un proceso de aprendizaje en el que la secuencia correcta de contracciones musculares se establece como un patrón motor estereotipado en el sistema nervioso central (SNC) (Folland y Williams, 2007).

El ritmo básico es producido por los semicentros flexor y extensor. La actividad interneuronal del ritmo se envía a las interneuronas de segundo orden en la región intermedia (lámina IV-VII de Rexed), que dan forma a los “patrones locomotores” de los movimientos de cada extremidad (Rossignol, 1996; Mc Crea, 2008). Luego, las señales se transmiten a las motoneuronas objetivo que inervan los músculos de las extremidades ipsilaterales a través de sus acciones excitatorias e inhibidoras (Rossignol y cols., 2006) por otro lado, las interneuronas de la lámina VIII que se proyectan hacia el lado contralateral contribuye a las alternancias izquierda-derecha de los movimientos de las extremidades (Matsuyama y Takakusaki, 2009).

Los propioceptores en los músculos de la articulación de la cadera son los principales responsables de regular la fase de apoyo. La prevención de la extensión de la cadera suprime el paso, mientras que el movimiento rítmico de la cadera puede

controlar el ritmo locomotor (Pearson, 2003). Los aferentes de los propioceptores en los músculos extensores regulan la transición de la fase de apoyo a la de balanceo (Takakusaki, 2013).

Las señales en los aferentes Ib del órgano tendinoso en los músculos extensores del tobillo inhiben las motoneuronas homónimas en reposo, mientras que excitan las motoneuronas extensoras durante la fase de apoyo (Rossignol y cols., 2006; Pearson, 2003). La fase de oscilación no se inicia hasta que los músculos extensores están descargados y las fuerzas ejercidas por estos músculos son bajas (Takakusaki, 2013).

Los aferentes de la piel tienen una poderosa influencia en el GPC (Rossignol y cols., 2006; Rossignol, 1996; Pearson, 2003). Los receptores de la piel son importantes para detectar obstáculos y ajustar los pasos para evitarlos, como la "reacción correctiva de tropiezos" (Takakusaki, 2013).

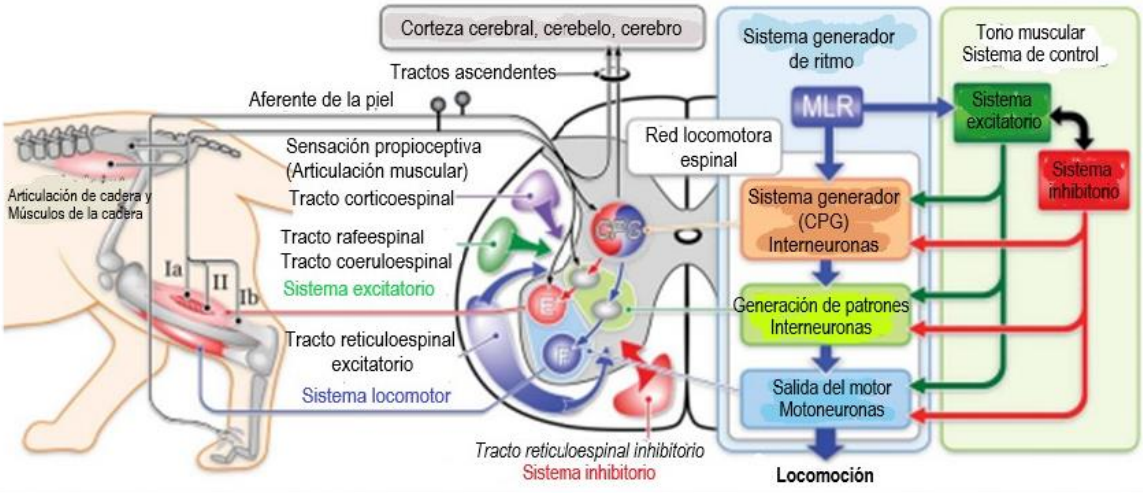


Figura 15. Mecanismos espinales de control locomotor en animales. El ritmo y el patrón locomotor son generados por circuitos interneuronales espinales. La actividad de las neuronas espinales es modificada por el tracto corticoespinal y los tractos descendentes del tronco encefálico. E; motoneuronas extensoras; F; motoneuronas flexoras; Ia, aferentes del grupo Ia; Ib, aferentes del grupo Ib; II, aferentes musculares del grupo II (Takakusaki, 2013 p.1485).

Los animales inician movimientos dependiendo de una “referencia voluntaria o cognitiva” o una “referencia emocional” (Takakusaki, 2008).

La locomoción ya sea voluntaria o emocional, se acompaña de procesos automáticos, como la generación de movimientos rítmicos de las extremidades y la regulación del tono muscular postural. Por lo tanto, los comportamientos dirigidos a objetivos pueden requerir procesos "voluntarios", "emocionales" y "automáticos" (Takakusaki, 2013).

El proceso voluntario se deriva de los comandos motores provocados intencionalmente que surgen de la corteza cerebral. Este proceso requiere la activación de varias áreas corticales y es ejecutado por las proyecciones cortico encefálicas y espinales (Takakusaki, 2013).

El proceso emocional es provocado por proyecciones del hipotálamo límbico al tronco del encéfalo (Takakusaki, 2013).

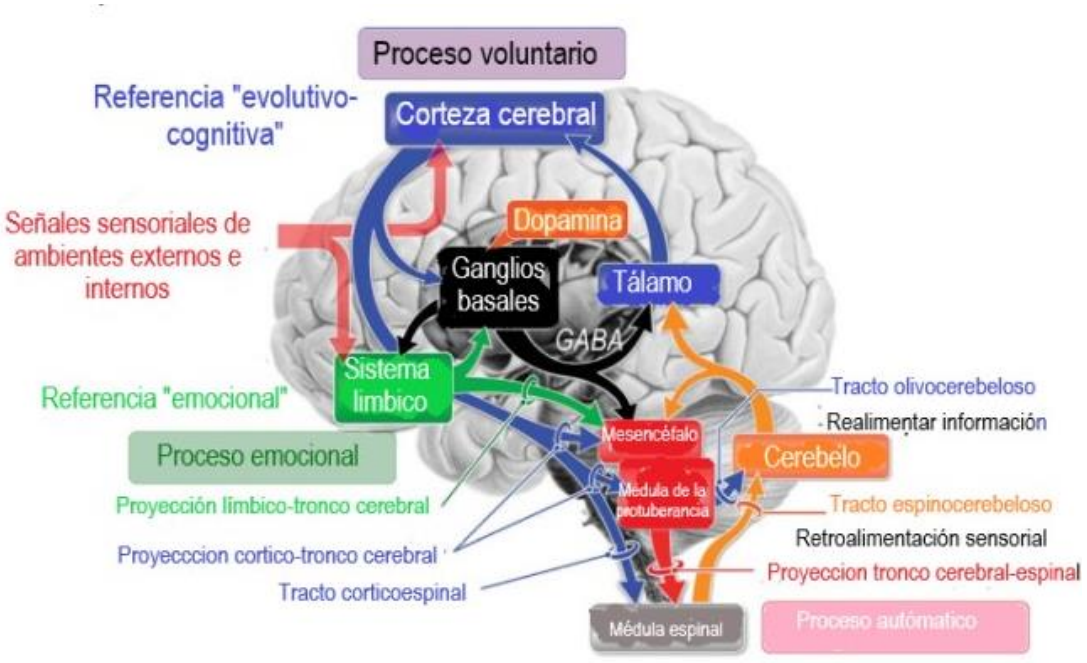


Figura 16. Flujos de señales implicados en el control de la marcha. (A) Ilustraciones esquemáticas de los flujos de señales involucrados en el control de la marcha. Las señales sensoriales que actúan sobre la corteza cerebral y el sistema límbico generan "referencias voluntarias, cognitiva y emocionales", respectivamente. El proceso voluntario requiere

> procesamiento de información cortical. El tronco encefálico (encéfalo medio, protuberancia y bulbo raquídeo) y la médula espinal están implicados en procesos automáticos. Los ganglios basales y el cerebelo controlan los procesos voluntarios y automáticos mediante proyecciones talamocorticales y proyecciones directas al tronco del encéfalo, respectivamente (Takakusaki, 2013).

El sujeto desconoce en gran medida el proceso automático, que es evocado por activaciones secuenciales de neuronas en el tronco encefálico y la médula espinal. El cerebelo regula los procesos voluntarios y automáticos actuando sobre la corteza cerebral y el tronco encefálico, respectivamente (Takakusaki, 2013). La retroalimentación sensorial en tiempo real del tracto espinocerebeloso y la información de retroalimentación de la corteza cerebral por el tracto olivo cerebeloso pueden jugar un papel importante en estas operaciones. Los ganglios basales reciben información de la corteza cerebral y controlan los procesos voluntarios y automáticos (Takakusaki y cols., 2008; Takakusaki, 2008; Grillner,1981).

El control de la marcha requiere la activación de todo el sistema nervioso y del sistema musculoesquelético (Takakusaki, 2013).

El proceso voluntario se deriva de los comandos motores provocados intencionalmente que surgen de la corteza cerebral (Takakusaki, 2013). Este proceso requiere la activación de varias áreas corticales y es ejecutado por las proyecciones corticoencefálicas y espinales (Takakusaki, 2013).

El movimiento voluntario aun el más simple, implica una enorme cantidad de procesamiento de información y numerosas neuronas relacionadas (Dvorkin y Cardinalli., 2020). Así el movimiento de locomoción suele ser modificado de manera continua, habitualmente de forma sútil, para adaptarse al patrón de movimiento estereotipado al ambiente inmediato (Kiehn, 2016). Esta característica repetitiva permite que la locomoción sea controlada de manera automática desde niveles relativamente bajos del SNC con intervención de centros superiores (como ya se explicó más adelante (Kiehn, 2016).

Durante la locomoción, la modulación del tiempo, por ejemplo, la velocidad de locomoción también puede estar mediada por señales del funículo ventrolateral (Shik y cols., 1969). Mientras que una de las vías del VLF, el tracto reticuloespinal, puede participar en las señales correctivas enviadas al GPC, para la locomoción en los gatos (Prentice y Drew, 2001). Se acepta en general que el tracto reticuloespinal contribuye a la regulación del nivel de tono muscular, lo cual es importante para que la locomoción sea exitosa en condiciones de la vida real (Takakusaki, 2017).

En preparaciones in vitro aisladas de la médula espinal de ratas recién nacidas, la estimulación del funículo ventrolateral a nivel del segmento torácico proporciona impulsos excitadores a las motoneuronas cervicales, lo que sugiere un papel en la coordinación de la extremidad anterior-posterior (Reed y Magnuson, 2013; Miller y cols., 1973; Juvin y cols., 2005).

Los reflejos clásicos son, por definición, respuestas motoras rápidas, predecibles, repetibles, estereotipadas e involuntarias desencadenadas por estímulos específicos (Matthews, 1991; Kandel y cols., 2012).

Los movimientos locomotores expresados involuntariamente como los que se producen después de una sección completa de la médula espinal a nivel torácico o cervical se producen de forma espontánea (Nadeau y cols., 2010) o con la administración de diversos fármacos (Guertin y cols., 2010).

La planificación y el inicio de la locomoción tienen lugar en áreas supraespinales, incluida la corteza cerebral, los ganglios basales, el mesencéfalo y el tallo cerebral, pero los tiempos y patrones precisos de los movimientos locomotores en los vertebrados son generados por actividad en conjuntos de neuronas que se encuentran en la propia médula espinal (Drew y cols., 2015; Takakusaki, 2013; García, 1986; Ryczko y Dubuc,2013; Dubue y cols., 2008; Jordan y cols., 2008; Grillner y cols., 2008;Kiehn, 2006; Grillner, 2003).

En animales con extremidades, la locomoción implica la coordinación de la actividad muscular dentro de una extremidad y entre ambos pares de extremidades (Kiehn, 2016). Junto con los circuitos de generación de ritmo que pueden impulsar la

actividad en la red y establecer la velocidad de locomoción, se necesitan circuitos de generación de patrones de izquierda a derecha para asegurar la coordinación entre los movimientos ondulantes en ambos lados del cuerpo en la locomoción sin extremidades y entre extremidades en la locomoción de las extremidades (Kiehn, 2016). En la locomoción de las extremidades, los circuitos generadores de patrones flexores-extensores son necesarios para la coordinación entre las extremidades (Kiehn, 2016). La locomoción adecuada requiere la coordinación de las actividades musculares en los lados izquierdo y derecho del cuerpo (Kiehn, 2016). Los grupos de neuronas comisurales (NC) cuyos axones cruzan la línea media proporcionan las líneas de comunicación necesarias para vincular la actividad bilateral (Kiehn, 2016).

La inhibición cruzada en mamíferos puede lograrse de dos formas: directamente mediante las neuronas comisurales (CN) inhibidores que actúan sobre las neuronas motoras a nivel de las interneuronas o indirectamente mediante las neuronas comisurales (CN) excitadores, que actúan sobre las neuronas inhibidoras premotoras (Jankowska y cols., 2008; Quinlan y Kiehn, 2007). En consecuencia, se ha propuesto que este complejo sistema de neuronas comisurales (CN) inhibitorias interviene en la alternancia segmentaria izquierda-derecha y en la promoción de la activación en fase de las neuronas motoras a ambos lados de la médula espinal durante la locomoción en tetrápodos (Butt y Kiehn, 2003; Quinlan y Kiehn, 2007).

La actividad motora somática depende en última instancia del patrón y la frecuencia de descarga de las neuronas motoras raquídeas y de las neuronas homólogas en los núcleos motores de los pares craneales (Barrett y cols., 2018).

Es así como la marcha se puede considerar como un patrón de locomoción, que se puede definir como un patrón cíclico de movimientos musculoesqueléticos que lleva el cuerpo a otro punto de su posición inicial (Magee, 2014; Martell, 2005). La marcha es un reflejo del funcionamiento del sistema neurológico y musculoesquelético de un individuo. Las anomalías en la integración y coordinación a nivel del cerebro, la médula espinal, los nervios periféricos y el sistema musculoesquelético pueden

provocar una marcha anormal (Gopinathan y Behera, 2019). La marcha es una de las actividades motoras de mayor complejidad (Olney, 2017).

La marcha es coordinada ya que depende de una gran variedad de factores que incluyen la coordinación motriz, la estabilidad, el patrón postural y la velocidad (Cucarián y cols., 2017). La marcha cuadrúpeda está divida en dos fases, la primera de ellas denominada de oscilación que involucra inicialmente la flexión de complejos articulares como cadera, rodilla y tobillo seguida de una extensión de estas dos últimas con conservación del patrón flexor de cadera (Cucarián y cols., 2017). La segunda fase llamada de apoyo: consiste en el contacto de la pata con la superficie a partir de la extensión activa de la rodilla y el tobillo seguido de una leve flexión generada por la fuerza de reacción de la superficie y el soporte de peso, finalizando con la extensión de las articulaciones que conforman el miembro inferior (Parker y Clarke, 1990; Westerga y Gramsbergen, 1990; Hamers y cols., 2001).

Cuando se generan lesiones a nivel central (mesencéfalo, cerebelo y corteza motora) se harán evidentes deficiencias motoras relacionadas con cambios en la velocidad, equilibrio y coordinación, así como modificaciones en los patrones de movimiento y desplazamiento (Cucarián y cols., 2017). La dificultad en los patrones de marcha en roedores con lesión isquémica encefálica se caracteriza por cambios en la trayectoria y alteraciones en los periodos de las fases de apoyo y oscilación (Cucarian y cols., 2017).

La marcha humana es un proceso complejo y cíclico que requiere la sinergia de músculos, huesos y sistema nervioso, cuyo objetivo principal es apoyar la posición erguida y mantener el equilibrio en condiciones estáticas y dinámicas (Saunders y cols.,1953; Ayyappa,1997). El ciclo de la marcha se define como el período tiempo desde el contacto inicial de un pie hasta la siguiente ocurrencia del mismo evento

con el mismo pie (Taborri y cols., 2016). Cada paso, o ciclo de pasos, consta principalmente de dos fases: la fase de apoyo y la fase de oscilación.

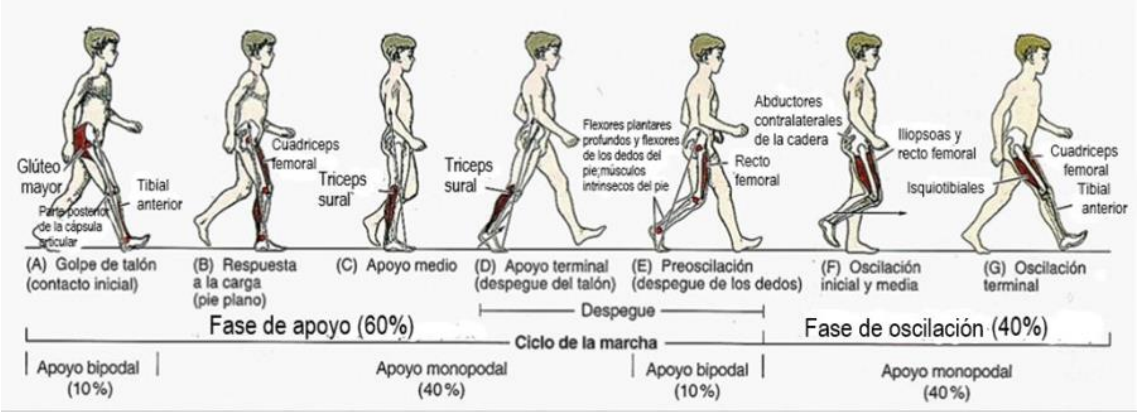


Figura 17. Ilustración de las dos fases de la marcha: la fase de apoyo y la fase de oscilación, respectivamente (imagen tomada de Moore y cols., 2010 p.543).

I. Fase de apoyo: Se inicia con el golpe del talón cuando éste contacta con el suelo y empieza a asumir todo el peso del cuerpo denominado respuesta de carga y termina con el despegue del antepié, resultando de la flexión plantar. La fase de apoyo abarca el 60% del ciclo de la marcha. Esta fase es más prolongada porque se inició y termina con periodos relativamente cortos (Moore y cols., 2010 p.542).

II. Fase de oscilación: Empieza tras el despegue, cuando los dedos se separan del suelo, y termina cuando el talón apoya sobre el suelo. La fase de oscilación comprende de aproximadamente el 40% del ciclo de la marcha (Moore y cols., 2010 p.542).

Estos patrones de movimiento están controlados a partir de un grupo de neuronas denominadas CPG, las cuales son responsables de la activación e inhibición de los grupos musculares específicos (Cucarian y cols., 2017).

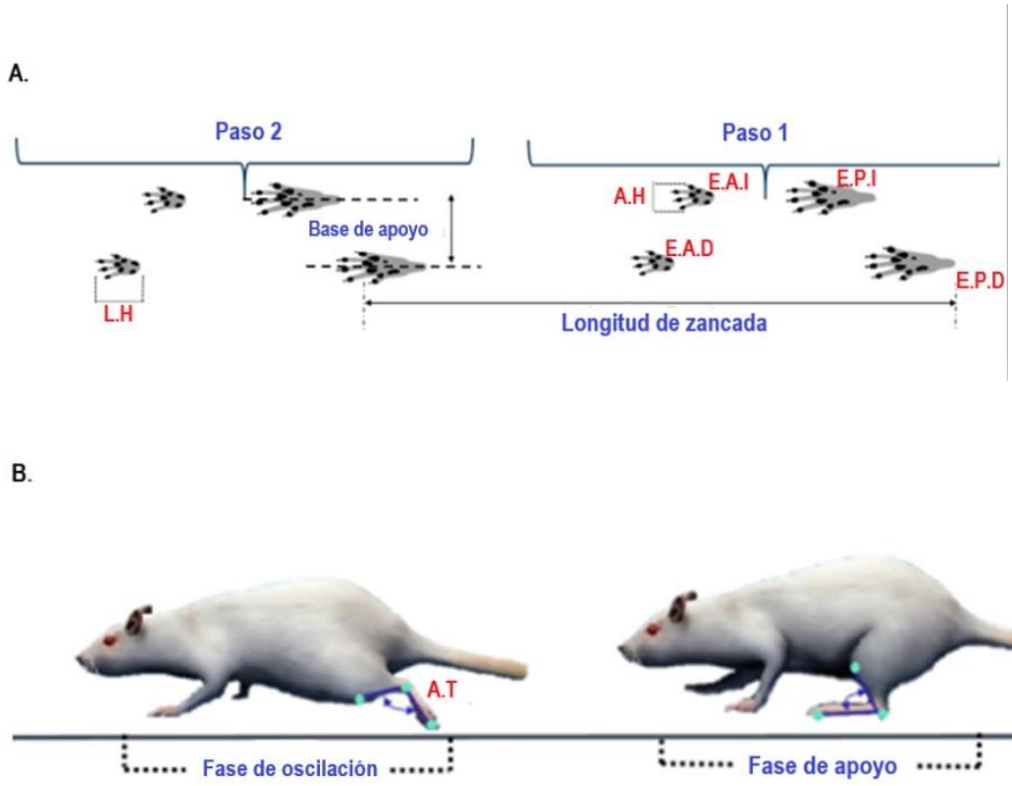


Figura 18. A)Ilustración de principales parámetros temporo-espaciales de la marcha. (E.A.I) Extremidad anterior izquierda; (E.A.D) Extremidad anterior derecha; (E.P.I) Extremidad posterior izquierda; (E.P.D) Extremidad posterior derecha; (A.H) Ancho de huella; (L.H) Longitud de huella; B). Vista lateral de las fases de la marcha. (A.T) Ángulo del tobillo.

El análisis de la marcha se ha utilizado ampliamente para explorar las consecuencias conductuales de las enfermedades (Coulthard y cols., 2002; Hamers y cols., 2001; Lakes y Allen, 2016; Malfait y cols., 2013; Vandeputte y cols., 2010).

El análisis de la marcha juega un papel importante en la evaluación de la función neurológica en muchos modelos de enfermedades (Hamers y cols., 2016).

El análisis de la marcha puede describir el fenotipo conductual de un modelo de enfermedad, proporcionando así una comprensión más completa de las consecuencias funcionales y sintomáticas de diferentes estados de las enfermedades (Negus y cols., 2006; Stevenson y cols., 2011; Toia y cols., 2015).

El sistema tipo pasarela Catwalk es el método automatizado de análisis motor y funcional más empleado en investigación. Permite la cuantificación de los

parámetros de coordinación, estáticos y dinámicos de la marcha (Cucarián y cols., 2017).

Estudios experimentales han identificado que los déficits en la velocidad de la marcha se encuentran relacionados a la falta de reducción en la cadencia de los pasos y al incremento en el tiempo de la fase de apoyo en roedores con lesión cerebral; siendo el ángulo del tobillo (ángulo formado entre el miembro posterior y su pata) (Ver Figura 16B) uno de los parámetros esenciales en la evaluación del patrón de la marcha (Cucarián y cols., 2017).

EL SISTEMA TIPO PASARELA CATWALK

El método de análisis de la marcha CatWalk y el programa informático fueron desarrollados por Frank Hamers en 1996 con el fin de adquirir experiencia con la puntuación de Basso, Beattie y Bresnahan recientemente desarrollada (Basso, Beattie y Bresnahan, 1995). Un factor que complicaba la puntuación de los ítems en esta prueba fue la coordinación extremidad anterior-posterior (coordinación FL-HL), complicada por el movimiento rápido de la mayoría de los animales, por lo que casi nunca se pueden ver las cuatro patas al mismo tiempo en la observación que se desarrolla en un campo abierto (Kappos y cols., 2017). La idea original era utilizar una pasarela para evaluar la coordinación FL-HL. Pero se hizo evidente que los recorridos adquiridos en la pasarela permiten un análisis extenso y objetivo de más parámetros de la marcha que solo la coordinación FL-HL (Kappos y cols., 2017). La gran cantidad de parámetros relacionados con la marcha que podrían extraerse de las carreras a través de una observación meticulosa y el hecho de que los animales cruzan una pasarela elevada como maniquíes en un desfile de moda, llevó al nombre “CatWalk” (Kappos y cols., 2017).

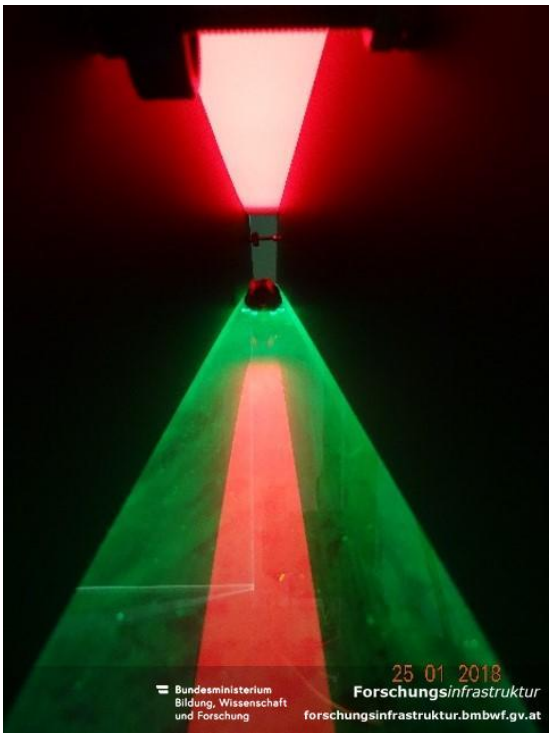


Figura 19. Ilustración de la pasarela del sistema Catwalk donde recorren las ratas para evaluar los parámetros de la marcha.

Tabla IV: Parámetros estáticos y dinámicos que evalúa el sistema Catwalk.

Parámetros dinámicos de la pata	
Duración de la postura	Duración (ms) de la fase de postura
Duración de la oscilación	Duración (ms) de la fase de oscilación
Duración del ciclo de pasos	Duración (ms) del ciclo de paso (=postura + duración de oscilación)

Parámetros estáticos de la pata	
Base de apoyo	La distancia (mm) perpendicular a la trayectoria de movimiento entre pares de extremidades, es decir, entre las dos extremidades anteriores o entre las dos patas traseras
Longitud de zancada	Longitud (mm) de una zancada
Área máxima de contacto	El área total del piso contactada por la pata durante la fase de apoyo; expresado en píxeles cuadrados
Posición relativa de la pata	Posiciones relativas de las patas delanteras y traseras: La posición de las patas traseras está relacionada con la posición anterior de las patas delanteras. Si la pata trasera se coloca (parcialmente) después de la pata delantera, la distancia es positiva, de lo contrario, será negativa.
Parámetros de coordinación	
Patrones de pasos regulares (RSP)	La definición de patrones de pasos regulares se basa en caminar; durante el trote (más rápido), los pares diagonales se colocan casi simultáneamente. Si dos patas se vuelven visibles al mismo tiempo, el programa asigna prioridad a la pata que

	ocluye el área más grande en ese momento. La definición de patrones de pasos regulares se basa en caminar; durante el trote (más rápido), los pares diagonales se colocan casi simultáneamente. Si dos patas se vuelven visibles al mismo tiempo, el programa asigna prioridad a la pata que ocluye el área más grande en ese momento.
Índice de regularidad	El índice de regularidad define la coordinación como el uso exclusivo de patrones de pasos regulares durante la locomoción ininterrumpida.
Retrasos de fase	Otra medida para la coordinación entre miembros basada en las relaciones de tiempo entre pisadas; el momento del contacto inicial de una pata está relacionado con el ciclo de zancada de otra pata (Hendriks y cols., 2006; Kloos y cols., 2005; de Medinaceli et al., 1982).
Velocidad locomotora	La velocidad media de cruce de la pasarela (cm/s) se calculó automáticamente dividiendo la distancia recorrida (cm) de la pasarela por el tiempo (s) necesario para cruzarla.

NEUROTRANSMISIÓN DOPAMINÉRGICA

Los generadores centrales de patrones (CPG) se encuentran en diferentes áreas de la médula espinal, su control farmacológico parece involucrar a menudo familias comunes de neurotransmisores (Guertin y Steuer, 2009). La evidencia creciente sugiere también que existen subconjuntos de receptores específicos para los CPG los cuales activan selectivamente a sus elementos que lo conforman de forma independiente (Guertin y Steuer, 2009).

La investigación en este campo puede contribuir al desarrollo de estrategias farmacológicas novedosas para la recuperación funcional en pacientes con lesión de la médula espinal (LME) o en enfermedades como la leucodistrofia, esclerosis múltiple o esclerosis lateral amiotrófica (Guertin, 2016).

Con los modelos animales se ha podido estudiar con más detalle la inflamación cerebral, las variaciones clínicas atípicas que se describen en modelos murinos que utilizan ciertas combinaciones de cepa / antígeno o un fondo de deficiencia genética de interferón (Eguibar y Cortés., 2001).

La dopamina es un neurotransmisor de la familia de las catecolaminas que constituye la diana terapéutica para varios trastornos importantes en el sistema nervioso central (SNC) (Standaert y Walsh, 2017). La dopamina está establecida como un modulador de los ritmos locomotores en una variedad de vertebrados adultos y a lo largo del desarrollo (Sharples y cols., 2014). En ratones, los cinco subtipos de receptores de dopamina están presentes en la médula espinal y no está claro qué subtipos de receptores modulan el ritmo locomotor (Sharples y cols., 2014). Los estudios demuestran que el - (-) quinpirole es un agonista dopaminérgico de los subtipos de receptores de la familia D2 (Basso y cols., 2005). Actúa principalmente como modulador dependiente de la dosis a través de las dos familias de receptores el grupo de receptores D1 / D5 y el grupo D2 / D3/ D4, que tienen efectos excitatorios e inhibidores, respectivamente (Basso y cols., 2005). Estudios demuestran que un amplio rango de dosis de los agonistas D2, produce un período

de inhibición locomotora (Basso y cols., 2005). La maquinaria de la neurotransmisión con catecolaminas presenta varios componentes comunes como lo son las bombas de recaptura y receptores presinápticos y postsinápticos (Standaert y Walsh, 2017).

La dopamina pertenece a la familia de neurotransmisores de tipo catecolamina, la estructura básica de las catecolaminas consta de una porción catecol 3,4-dihidroxibenceno acoplada a un grupo amino mediante un puente etilo (Standaert y Walsh, 2017). El primer paso en la síntesis de la dopamina es la conversión del aminoácido de tirosina a L-DOPA (L-3-4 dihidroxifelalanina o levodopa), por medio de oxidación de la posición 3 del anillo de benceno (Standaert y Walsh, 2017). Esta reacción se cataliza mediante la enzima tirosina hidroxilasa (TH), una ferroenzima (Standaert y Walsh, 2017). El siguiente paso de la síntesis de la dopamina es la conversión de L-DOPA a dopamina mediante la enzima descarboxilasa de aminoácidos aromáticos (AADC) (Standaert y Walsh, 2017). La enzima AADC escinde del grupo carboxilo del carbono α de la cadena lateral de etilamina, con lo que se libera dióxido de carbono. La enzima descarboxilasa necesita el cofactor pirodoxal fosfato, (Standaert y Walsh, 2017). En las neuronas dopaminérgicas, el producto final de la vía de síntesis de catecolaminas es la dopamina y luego es transportada a vesículas secretoras en las que se almacena y de las que se libera (Standaert y Walsh, 2017).

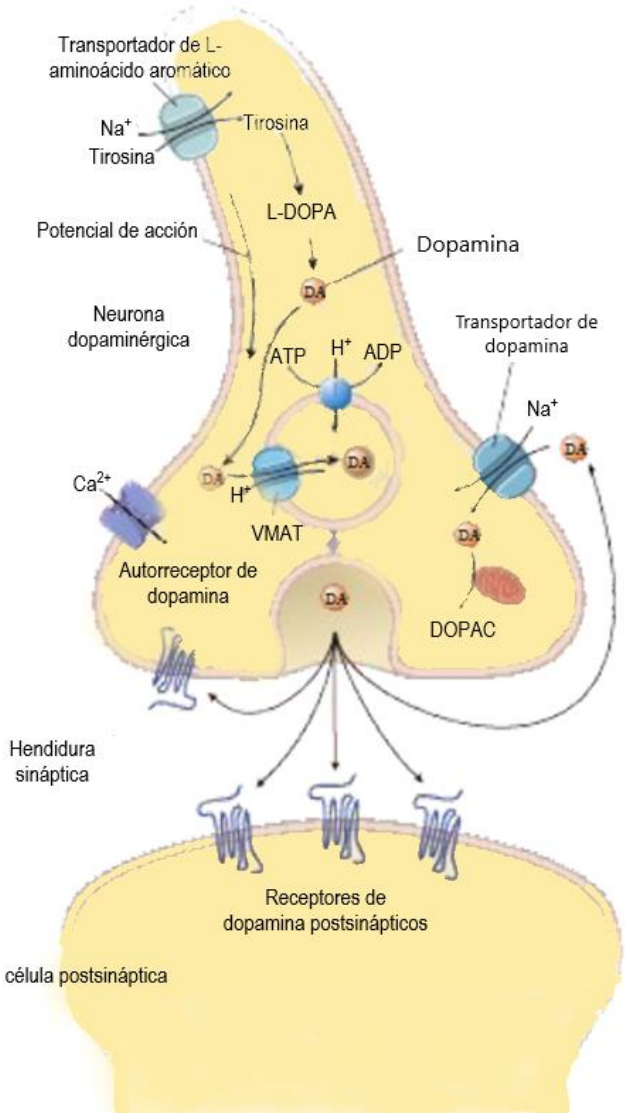


Figura 20. Neurotransmisión dopaminérgica. La dopamina (DA) se sintetiza en el citoplasma y se transporta hasta vesículas secretoras por medio de un antiportador de protones y monoaminas (VMAT), al que impulsa el gradiente electroquímico generado por una adenosintrifosfatasa de protones. Al estimularse la neurona, se libera dopamina en la hendidura sináptica, donde el neurotransmisor puede estimular los receptores de dopamina postsinápticos y los autorreceptores de dopamina (DA) presinápticos. La dopamina (DA) se retira de la hendidura sináptica, receptándose por medio del transportador selectivo para la dopamina acoplado a sodio (DAT). La dopamina citoplasmática se transporta a vesículas secretoras mediante el VMAT o se degrada mediante la enzima monoaminooxidasa (MAO). DOPAC, ácido dihidroxifenilácetico (Standaert y Walsh,2017).

Para transportar la dopamina a las vesículas sinápticas hacen falta dos bombas moleculares independientes (Standaert y Walsh, 2017). Un adenosín trifosfato adenosintrifosfatasa de protones que concentra los protones en la vesícula sináptica, con lo que crea un gradiente electroquímico caracterizado por un pH intravesicular bajo (Standaert y Walsh,2017). Este gradiente lo aprovecha un antiportador de protones, el transportador vesicular de monoaminas (VMAT) que permite a los protones desplazarse a favor de su gradiente, esto en la vesícula, a la vez que transporta simultáneamente la dopamina a la vesícula en contra del gradiente de concentración (Standaert y Walsh, 2017).

Cuando se estimula la neurona, las vesículas de almacenamiento de dopamina se fusionan con la membrana plasmática de una forma dependiente del Ca^{+} con lo que se libera la dopamina hacia la hendidura sináptica (Standaert y Walsh, 2017). En la hendidura la dopamina puede unirse tanto a los receptores de dopamina postsinápticos, como a los autorreceptores de dopamina presinápticos (Standaert y Walsh, 2017).

La dopamina captada en la célula presináptica puede reciclar las vesículas, de forma que se puede aprovechar en la neurotransmisión (mediante VMAT), o bien degradarse en reacciones que catalizan las enzimas monoaminooxidasa (MAO), o el catecol orto metiltransferasa COMT, (Standaert y Walsh, 2017).

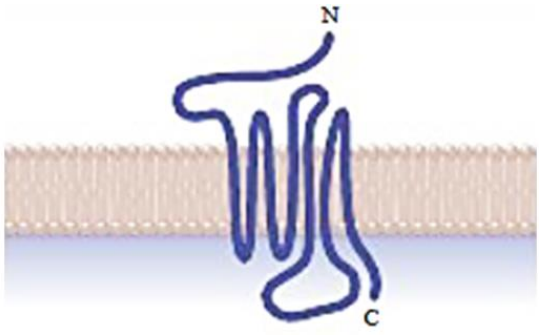
La MAO es una enzima fundamental que pone fin al efecto de las catecolaminas, existen dos isoformas de la MAO: la MAO-A y la MAO-B que se concentra en el SNC. Ambas isoformas pueden degradar la dopamina, así como una amplia gama de compuestos de monoaminas (Standaert y Walsh, 2017). En condiciones normales, la MAO-B se ocupa de catabolizar la mayor parte de la dopamina (DA) del SNC (Standaert y Walsh, 2017).

Receptores para la dopamina

Los receptores de dopamina pertenecen a la familia de las proteínas receptoras acopladas a las proteínas G (Standaert y Walsh, 2017). Las propiedades de los receptores de dopamina se clasifican por su efecto en la formación de adenosín monofosfato cíclico AMP_C; en este caso nos enfocamos a los receptores de familia D_2 cuando se inhibe la generación del AMP_C (Standaert y Walsh, 2017).

Familia de receptores D_2

A.



B.

↓ c AMP (vía Gi) ↑ K^+ Corrientes ↓ Ca+ activado por voltaje
D2 Estriado Sustancia nigra Glándula pituitaria

Figura 21. La familia de receptores de dopamina. A) La estimulación de la familia D_2 es inhibidora **B)** Lo cual l reduce las concentraciones de AMP_C y de calcio intracelulares e hiperpolariza la célula (Standaert y Walsh, 2017).

Varios estudios reportan la clonación de las proteínas receptoras, gracias a lo cual se encontraron cinco receptores acoplados a las proteínas G, con siete dominios transmembrana. La clase (r.D_1 y D_5) que contiene a tres receptores denominados D_2, D_3 y D_4 (Standaert y Walsh, 2017).

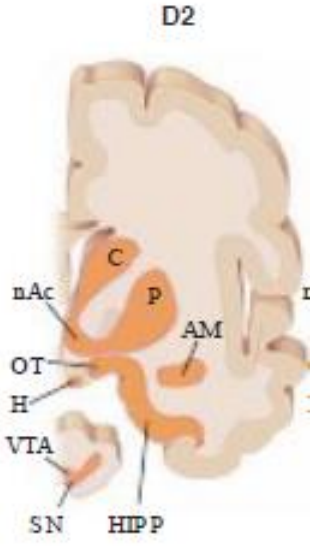


Figura 22. Ubicación de los receptores de dopamina en el cerebro específicamente de la clase D_2. La ubicación del subtipo de dopamina D_2 están en el núcleo caudado: C y el putamen:P neoestriado, el núcleo accumbens: nAc, la amígdala: AM, el tubérculo olfatorio: OT y el hipocampo: HIP P.

Las cinco proteínas receptoras de dopamina tienen distribuciones diferentes en el cerebro; en específico los receptores D_2 se expresan muy densamente en el neoestriado, esto en el núcleo caudado y el putamen en donde intervienen en el control del motor dependiente de los núcleos basales, así como también en el núcleo accumbens y el tubérculo olfatorio (Standaert y Walsh, 2017).

Las vías centrales de la dopamina

La vía de dopamina más grande del cerebro es el sistema nigroestriado, que contiene cerca de 80% de la dopamina del cerebro. Esta vía se proyecta rostralmente desde los somas de la parte compacta de la sustancia negra a las terminales que inervan profusamente en el núcleo caudado y el putamen (Standaert y Walsh, 2017). Las neuronas dopaminérgicas del sistema nigroestriado intervienen en la estimulación del movimiento intencionado (Standaert y Walsh, 2017).

La dopamina y el control del movimiento

Los núcleos basales tienen un papel fundamental en la regulación del movimiento intencionado (Standaert y Walsh, 2017). Los núcleos basales no conectan directamente con las neuronas motoras espinales y por lo tanto no controlan de forma directa los movimientos de cada uno de los músculos (Standaert y Walsh,

2017). Parece que actúan ayudando al aprendizaje de los patrones coordinados de movimiento y facilitando la ejecución de patrones motores aprendidos (Standaert y Walsh, 2017). Desde una perspectiva anatómica los núcleos basales forman un bucle de reentrada, ya que reciben información de la corteza cerebral, la procesan en el contexto de la entrada de información dopaminérgica desde la sustancia negra, y envían información devuelta a la corteza por medio del tálamo (Standaert y Walsh, 2017). Los circuitos internos de los núcleos basales constan de varios componentes (Standaert y Walsh, 2017).

El neoestriado es el núcleo de entrada principal del sistema, mientras que en la parte interna del globo pálido y la parte reticulada de la sustancia negra constituyen los núcleos de salida (Standaert y Walsh, 2017). Estos actúan interconectados por medio de dos internúcleos, el núcleo subtalámico y la parte externa del globo pálido (Standaert y Walsh, 2017). El neoestriado sirve como diana de la vía nigroestriatal dopaminérgica. Las neuronas del neoestriado son de varios tipos, la mayor parte de las neuronas son las denominadas “espinosas mediales” las cuales reciben información de los axones corticoestriatales, liberan el transmisor GABA y envían sus proyecciones a dos dianas en sentido descendente de los ganglios basales, lo cual da origen a la vía directa y la vía indirecta (Standaert y Walsh, 2017).

El neoestriado contiene varias poblaciones pequeñas de interneuronas que liberan acetilcolina (Standaert y Walsh, 2017). El equilibrio de la actividad entre las vías indirecta y directa son las que regulan el movimiento (Standaert y Walsh, 2017).

La vía de mayor interés en esta investigación es la vía indirecta, compuesta de neuronas estriatales en las que se expresa sobre todo los receptores del tipo D_2, se proyecta al segmento externo del globo pálido que a su vez inhibe las neuronas del núcleo subtalámico (Standaert y Walsh, 2017). Las neuronas del núcleo subtalámico son neuronas glutamatérgicas excitadoras que se proyectan al segmento interno del globo pálido (Standaert y Walsh, 2017). Por lo tanto, la activación de la vía indirecta desinhibe las neuronas del núcleo subtalámico a su vez estimulan a las neuronas del segmento interno del globo pálido para inhibir al tálamo; es decir, la activación de la vía indirecta inhibe el movimiento (Standaert y

Walsh, 2017). Los incrementos de la cantidad de dopamina presente en el neoestriado tienden a inhibir a las neuronas en las que se expresa los receptores del tipo D_2 de la vía indirecta (Standaert y Walsh, 2017).

Específicamente, la dopamina proporciona estimaciones de cuánto vale la pena gastar un recurso interno limitado, con un recurso particular que difiere entre las subregiones estriatales. Para el cuerpo estriado “motor” el recurso es el movimiento, que es limitado porque el movimiento cuesta energía y porque muchas acciones son incompatibles entre sí (Redgrave y cols.,1999). El aumento de la dopamina hace que sea más probable que un animal decida que vale la pena gastar energía para moverse o moverse más rápido (Mazzoni y cols., 2007; Howe y Dombeck, 2016; Beeler y cols., 2012).

La dopamina y las catecolaminas están involucradas con la esclerosis múltiple. Sin embargo, recientemente, las crecientes evidencias mostraron que los receptores de dopamina están estrechamente relacionados con el sistema inmunológico y las anomalías de los receptores de dopamina y su función pueden participar en la esclerosis múltiple. Los niveles de dopamina aumentan en el cuerpo estriado de estos pacientes (Balkowiec-Iskra y cols., 2007). Estudios en modelos murinos con enfermedad de esclerosis múltiple, muestran que los niveles de dopamina estriatal se encuentran significativamente alterados (Balkowiec-Iskra y cols., 2017).

La evidencia actual ha indicado que la estimulación de los receptores (DR) de baja afinidad, por ejemplo, DRD1 y DRD2, se acoplan a mecanismos antiinflamatorios, amortiguando así la inflamación (Shao y cols., 2013; Yan y cols., 2015).

Las redes generadoras centrales de patrones en la médula espinal lumbar de los mamíferos controlan una variedad de movimientos rítmicos de las extremidades traseras. Aunque estas redes pueden funcionar de forma aislada, las entradas moduladoras configuran la red para crear diversidad y estabilidad en el funcionamiento de la red (Sharples, 2017). Los moduladores como la dopamina ejercen su influencia en las redes al alterar las propiedades intrínsecas celulares y el peso sináptico al cambiar la permeabilidad de los canales iónicos (Warrick y Marder, 1991 ; Marder y Calabrese, 1996 ; Warrick, 2011). Un trabajo más reciente

está comenzando a revelar que los moduladores también alteran la actividad neuronal al actuar sobre bombas de iones que regulan la excitabilidad neuronal homeostáticamente (Bos y cols., 2013 ; Ding y cols., 2014; Picton y cols., 2017). Estos autores mostraron que la bomba electrogénica de ATPasa de sodio y potasio no solo juega un papel en la regulación de la función de la red locomotora en la médula espinal de mamíferos en desarrollo, sino que también está bajo el control modulador de la dopamina (Sharples, 2017). La función de la bomba se mejora en respuesta a aumentos dependientes de la actividad del sodio intracelular. Por lo tanto, la bomba de sodio no solo mantiene los gradientes iónicos homeostáticamente, sino que también regula la excitabilidad neuronal en respuesta a la actividad (Sharples, 2017). La contribución a la función de la red locomotora de los mamíferos sigue siendo poco conocida a pesar de los informes de que la bomba Na+/K + ATP asa se expresa de forma ubicua dentro de la médula espinal (Watts y cols.,1991; Edwards y cols., 2013).

Picton y cols., (2017) exploraron la contribución de la bomba de sodio a la función de la red locomotora en ratones recién nacidos. Los autores provocaron la locomoción ficticia en médulas espinales aisladas, neuroquímicamente aplicando 5-HT, NMDA y dopamina o eléctricamente al estimular los nervios de la raíz dorsal (Sharples, 2017). El bloqueo de la bomba de sodio con oubaína aumentó de forma dependiente de la dosis la frecuencia del ritmo locomotor provocado neuroquímicamente o eléctricamente. Por el contrario, el aumento de la función de bombeo con monensina ralentizó el ritmo locomotor (Sharples, 2017). Es importante destacar que el efecto de la oubaína sobre el ritmo locomotor el cual no se produjo en ausencia de dopamina, lo que sugiere que la bomba de sodio solo influye en el ritmo cuando hay dopamina presente en el superfusado (Sharples, 2017).

La bomba de sodio contribuye a la generación del ritmo lento desinhibido provocado por picrotoxina y estricnina en la médula espinal aislada (Ballerini y cols., 1997; Darbon y cols., 2003). Este ritmo no depende de la dopamina, pero está modulado por este neurotransmisor (Humphreys y Whelan, 2012).

En trabajos anteriores muestran que la dopamina reduce la frecuencia y aumenta la estabilidad del ritmo locomotor (Sharples y cols., 2015; Picton y cols., 2017). La dopamina podría regular los ritmos locomotores al promover oscilaciones en las interneuronas Hb9 , que se encuentran en la lámina de Rexed VII-X y se ha sugerido que son importantes para la generación del ritmo (Han y cols., 2007; Wilson y cols., 2005 ; Caldeira y cols., 2017).

Estos resultados sugieren que la dopamina ralentiza y estabiliza el ritmo locomotor al influir en múltiples objetivos moleculares tanto en las neuronas motoras como en las interneuronas (Sharples, 2017). Si la dopamina impulsa la ritmicidad en las células generadoras de ritmo premotor a través de un mecanismo dependiente de la bomba de sodio-potasio, los efectos se amplificarían postsinápticamente por la dopamina que aumenta la resistencia de entrada de las neuronas motoras y de las corrientes AMPA (Sharples, 2017). Un aumento en la actividad de la bomba de sodio por la dopamina contribuiría entonces a una hiperpolarización más rápida y prolongada entre las ráfagas, lo que ralentizaría el ritmo locomotor (Sharples, 2017).

Los receptores que median el efecto de la dopamina sobre la bomba de sodio quedan por dilucidar; sin embargo, en las neuronas estriadas bovinas cultivadas, se ha documentado que los receptores D_1 y D_2 existen como un complejo con la bomba de sodio que proporciona modulación bidireccional (Hazelwood y cols., 2008).

El aumento de la señalización inhibitoria del receptor D_2 con - (-) quinpirole no solo reduce la frecuencia, sino que también estabiliza el ritmo (Sharples, 2017). Se sugirió previamente que el D_2 y el aumento de la estabilidad del ritmo mediado es una propiedad de la red de un ritmo más lento y no un efecto específico de D_2 (Sharples y cols., 2015). La desfosforilación de D_2 es mediada por los receptores que se ha informado a aumentar la actividad de la bomba en las neuronas estriatales (Bertorello y Aperia, 1990; Wu, 2007). Por tanto, es posible que los receptores D_2 que interactúan con la bomba de sodio contribuyan a la estabilización del ritmo locomotor (Sharples, 2017).

Esto plantea una posible explicación de la disfunción en las interacciones entre el receptor de tipo D_2 y la bomba de sodio como un factor que contribuye a la disfunción sensorial-motora en el síndrome de piernas inquietas (Sharples, 2017).

Quinpirole

El quinpirole es un agonista de la dopamina con alta afinidad por los subtipos de receptores de dopamina D2 y D3 (Sigma-Aldrich, 2023). La unión específica de quinpirole tritiado en el cerebro de rata es saturable y depende de la temperatura, la concentración de membrana, la concentración de sodio y los nucleótidos de guanina (Sigma-Aldrich, 2023). El agonista de receptor de dopamina D_2 es el quinpirole el más utilizado en estudios in vivo e in vitro (Sigma-Aldrich, 2023). El clorhidrato de quinpirole es un enantiómero activo de (±) -quinpirole. El análisis de saturación reveló características de unión de alta afinidad (KD = 2.3 +/- 0.3 nM) que fueron confirmadas por cinética de asociación-disociación (Sigma-Aldrich, 2023).

La distribución regional de los sitios de unión de [^{3}H] quinpirole fue aproximadamente paralela a la distribución de los sitios de unión de [^{3}H] espiperona, con las mayores densidades presentes en el cuerpo estriado, el núcleo accumbens y los tubérculos olfatorios. Diversos fármacos, sobre todo los inhibidores de la monoaminooxidasa (IMAO), inhiben la unión de [^{3}H] quinpirole, pero no de [^{3}H] espiperona o [^{3}H] (-) Nn-propilnorapomorfina, en las membranas estriatales de ratas mediante un mecanismo que no implica la actividad enzimática de la MAO (Sigma-Aldrich, 2023). Los IMAO interactúan con un nuevo sitio de unión marcado por [^{3}H] quinpirole o que modula la unión de [^{3}H] quinpirole. Este sitio puede estar asociado con receptores de dopamina similares a D_2 (Sigma-Aldrich, 2023).

Caracterización farmacológica de la apomorfina

La apomorfina se sintetizó por primera vez a mediados del siglo XIX, su historia se remonta mucho más atrás (Emboden,1981).

El mérito del descubrimiento de la apomorfina es del químico finlandés Adolf Edvard Arppe, quién la sintetizó en 1845, en forma de sulfato, calentando morfina con un

ligero exceso de ácido sulfúrico (Arppe,1845; Laurent y Gerhardt,1848). La apomorfina soluble en alcalinidades cáusticas, pasando de blanco a verde al mantener, el producto resultante fue clasificado como una amida por Auguste Laurent y Charles Frédéric Gerhardt y denominado *sulfomórfido* (Arppe,1845; Matthiessen, 1869; Laurent y Gerhart, 1848).

En 1850, Thomas Anderson también obtuvo apomorfina calentando codeína con ácido sulfúrico, pero ninguno de estos trabajos pareció despertar mucho interés en ese momento. No fue hasta 1869, y la investigación química de Matthiessen y Wright de los alcaloides del opio, que la apomorfina se hizo conocida por la comunidad médica (Anderson,1853; David,1875; Matthiessen y Wright, 1869). Al calentar morfina con ácido clorhídrico concentrado, los dos químicos sintetizaron hidroclorato de apomorfina, la sal que se utiliza actualmente en la terapéutica, y lo llamó *apomorfia*, para enfatizar tanto su origen como su diferencia con la morfina (Matthiessen y Wright,1869; Trekwalder y cols,2015; Matthiessen y Wrigh,1869; Gee,1869). También se volvió verde cuando se expuso al aire (Trekwalder y cols., 2015; Matthiessen y Wrigh,1869; Gee, 1869).

La farmacología de la apomorfina

En 1869, se descubrió que la fórmula de la apomorfina ($C_{17}H_{17}NO_2$) era la fórmula de la morfina ($C_{17}H_{19}NO_3$) menos una molécula de agua (H_2O) (Matthiesen y Wright, 1869), pero su estructura exacta solo se dilucidó en 1902 (Pschorr,1902). En 1965, Anton Marie Ernst fue el primero en llamar la atención sobre la relación estructura-efecto entre los receptores de apomorfina y dopamina, destacando la importancia de la estructura química grupo OH– o grupo OCH_3 - en la posición para en relación con el efecto farmacológico (Ernst, 1965).

Más tarde se descubrió que la parte clave de la molécula en términos de su interacción con los receptores de dopamina era el resto de la molécula denominada dihidroxi tetrahidro amino naftaleno (Pinder,1971) o el resto catecol (Lal,1988).

Efectos fisiológicos de la apomorfina

Los métodos de rayos X determinaron que la configuración absoluta de la molécula activa era 6aR (Giesecke y cols., 1977).

Pronto se convirtió en el tema de una extensa investigación clínica, como lo demuestra la abundante literatura del siglo XIX, particularmente en el Reino Unido, Francia y Alemania (Bourgeois, 1874; David, 1875; Gee,1869). Un mes después de su síntesis, se envió apomorfia al Dr. Samuel Jones Gee para su investigación (Matthiessen y Wright,1869; Gee,1869). Se revelaría una amplia gama de efectos fisiológicos, tanto en animales como en seres humanos, con variaciones entre especies e intraespecies en la susceptibilidad y efectos diferenciales relacionados con la dosis (David, 1875; Gee, 1869; Harnack, 1874; Sieber, 1871).

La característica más destacada fueron sus propiedades eméticas no irritantes, ciertas, sostenidas pero transitorias, cuando se administraron por vía oral o subcutánea en perros y seres humanos (Gee,1869). Incluso durante la preparación del fármaco se notaron “lasitud, debilidad, frecuentes dolores de cabeza, náuseas constantes y ataques ocasionales de vómitos repentinos”, debido a la absorción a través de la piel (Gee,1869; Pierce,1810). También se reportaron conductas motoras estereotipadas en perros, excitación, dilatación de la pupila y convulsiones epileptiformes en los gatos y sedación en humanos (Gee,1869).

Los primeros estudios farmacológicos, atribuidos a Vincent Siebert y Erich Harnack (Harnack, 1874; Sieber,1871), confirmaron los hallazgos de Gee y destacaron los cambios cardiovasculares, hemodinámicos y de la temperatura (Harnack, 1874; Sieber, 1871), así como el comportamiento estereotipado en una variedad de especies susceptibles (Gee, 1869; Harnack, 1874; Sieber, 1871).

Tabla V: conductas en roedores con la administración de apomorfina

Especie	Rata	Ratón
Movimiento	Comportamientos estereotipados: olfateo y movimientos de la cabeza y las extremidades (componente de baja intensidad), roer, lamer, morder (componente de alta intensidad)	Comportamientos estereotipados: olfateo, lamer, morder
Temperatura corporal	Disminuye	Disminuye
Presión arterial	Disminuye	No se ha documentado
Tracto gastrointestinal	Resistente a emesis	No se ha documentado
Liberación de hormonas	Disminuye la concentración de prolactina plasmática en ratas macho intactas	No se ha documentado
Cambios en la actividad del EEG.	Desincronización de la actividad del electroencefalograma.	No se ha documentado
Sistema nervioso central	Bostezo estereotipado agresión intraespecífica	No se ha documentado

Los primeros experimentos llevaron a Gee a creer que los síntomas inducidos por la apomorfina eran "atribuibles al sistema nervioso" (Gee,1869). Experimentos posteriores que exploraron el movimiento, la emesis, el comportamiento motivado, el control respiratorio y la sensación fortalecieron la hipótesis de una acción poderosa sobre el SNC, en múltiples centros cerebrales y no sobre el nervio vago (Taba y cols., 2013; Bourgeois, 1874; Harnack, 1874; Chouppe, 1815; Pouchet, 1901). La poderosa acción emética de la apomorfina se atribuyó a un efecto selectivo sobre la zona de activación de los quimiorreceptores (Dent,1934).

Los experimentos con perros descerebrados mostraron que se inducía el vómito cuando se administraba apomorfina por vía parenteral o local en la zona de activación de los quimiorreceptores del tallo cerebral, mientras que la depresión de la rigidez muscular solo aparecía cuando se administraba apomorfina por vía parenteral (Borison y Wang, 1953; Dordoni,1948). Caesar Hans Amsler,1923 fue el primero en asociar la acción de la apomorfina con el cuerpo estriado, aboliendo el síndrome de picoteo inducido por apomorfina en palomas con la extirpación quirúrgica de los cuerpos estriados (Amsler, 1923).

Estos hallazgos se vieron reforzados más tarde por la inducción de un comportamiento de roer compulsivo en ratas después de la aplicación de

apomorfina cristalina en la parte dorsal del núcleo caudado y/o globo pálido (Ernst y Smelik, 1966). Ernst, concluyó que la apomorfina tiene un efecto directo similar a la dopamina en los receptores y puede actuar como un sustituto en el caso de deficiencia de dopamina en las estructuras extrapiramidales (Ernst, 1965). El comportamiento estereotipado inducido por apomorfina en roedores se atribuyó luego a la estimulación directa de los receptores de dopamina postsinápticos (Andén y cols., 1967).

Las estereotipias típicas fueron provocadas por la microinyección intraestriatal de apomorfina en ratas pretratadas con nialamida, pero bloqueadas por una inyección previa de clorpromazina un antagonista dopaminérgico, apoyando así la idea de que la apomorfina actúa sobre los receptores dopaminérgicos ubicados en el cuerpo estriado (Ungerstedt y cols., 1969).

La supresión paradójica de la corea y los movimientos discinéticos en humanos llevó a la hipótesis de que la apomorfina actúa principalmente sobre los receptores presinápticos (Tolosa, 1974). La historia de la apomorfina está intrínsecamente ligada al desarrollo de la farmacología, la neurobiología y la neuroquímica (Tolosa,1974). En la década de los 60´s del siglo pasado, la apomorfina se había convertido en uno de los fármacos más estudiados en neuropsicofarmacología y terapia conductual, basándose en gran parte en el trabajo de Ernst (Ernst, 1965; Cools, 2001; Halvorsen,1978).

Se ha utilizado con frecuencia como sonda farmacológica para investigar la neurotransmisión dopaminérgica central y el cribado de nuevos fármacos (Tolosa,1974). Al ser un agonista dopaminérgico inespecífico, la apomorfina se puede utilizar como herramienta farmacológica y es adecuada para estimular los receptores de dopamina y explorar las vías dopaminérgicas (Ribarič, 2012; Auffret, 2018; Costall, 1975).

Los comportamientos estereotipados inducidos por apomorfina en animales de experimentación se han utilizado como índice de la actividad dopaminérgica central y han contribuido a la comprensión de los sistemas dopaminérgicos (Sourkes,1975).

Uno de los efectos mejor documentados de la apomorfina es la emesis. Es sorprendente observar que lo que ahora se considera un efecto secundario problemático pero tratable en el tratamiento de la enfermedad de Parkinson siguió siendo la principal indicación de apomorfina durante todo un siglo, refiriéndose a que la apomorfina es una opción terapéutica adecuada para los pacientes con enfermedad de Parkinson que experimentan periodos problemáticos de inactividad a pesar del tratamiento optimizado con medicamentos orales para la enfermedad de Parkinson, debido a su rapidez de aparición, la inyección de apomorfina es particularmente adecuada para aquellos pacientes que requieren un alivio rápido y confiable de los períodos "off" eclipsando todos los demás usos (Trenkwalder y cols., 2015).

La apomorfina es el fármaco emético de acción central más eficaz conocido (Halvorsen,1978) y fue el fármaco de elección para cualquier afección que requiera el vaciado o limpieza rápidos del estómago y la expulsión de cuerpos extraños esofágicos hasta la década de los 70´s (Bourgeois,1874; Verger,1878; Visanska,1898; Rausten, 1973). La apomorfina se utilizó ampliamente en la primera mitad del siglo XX para inducir el acondicionamiento aversivo, a través de sus propiedades eméticas y sedantes (Dent,1934; Rosebrugh,1908). El método de acondicionamiento de la aversión a la apomorfina consistió en provocar náuseas y vómitos sincronizados con la administración de la sustancia adictiva, induciendo así una repulsión condicionada (Dent,1974; Rosebrugh,1908).

John Yerbury Dent fue un ferviente defensor de la apomorfina para el tratamiento del alcoholismo, tanto por su capacidad aversiva como por su capacidad para prevenir el deseo a través de una acción en el *cerebro* (Dent,1934; Halvorsen,1978; Parr,1956; Raymond,1963). Las propiedades sedantes e hipnóticas de la apomorfina fueron descritas por primera vez por Gee y descritas por Charles J. Douglas (Gee,1869; Rosebrugh, 1908; Parr,1956; Douglas,1899;). Apareciendo en dosis subeméticas con un efecto rápido, confiable y seguro, llevaron a aplicaciones clínicas para una variedad de condiciones caracterizadas por excitación, ansiedad y/o agitación (Rovenstine,1945; Parr, 1956; Douglas,1899).

Tras la observación de que era "de especial valor en todas las formas de manía" se consideró que la apomorfina tenía un "valor notable en la atención de pacientes psiquiátricos perturbados" (Douglas,1899; Feldman,1945). La apomorfina se asoció durante mucho tiempo con el tratamiento de trastornos relacionados con la adicción al alcohol (Dent, 1934; Rosebrugh, 1908; Feldmann,1959, Douglas,1899).

También se utilizó como premedicación para cirugías de emergencia, o durante la recuperación de la anestesia complicada por una agitación producida por escopolamina, alcoholismo, delirium tremens *o* adicción a la morfina. (Rovenstine, 1945; Feldmann, 1959, Hershenson ,1947; White, 1952).

A pesar de ser el primer agonista dopaminérgico utilizado en la enfermedad de Parkinson, la apomorfina sufrió décadas de abandono en el campo de los trastornos del movimiento (Aufftret y cols.,2018).

En 1870, se observó un efecto beneficioso sobre los movimientos coreicos en un niño que presentaba corea asociada con fiebre reumática (Pierce,1870). Sin embargo, sorprendentemente, Pierce descartó la apomorfina como tratamiento para los trastornos del movimiento (Pierce,1870). Estos efectos se reprodujeron más tarde y la apomorfina se mencionó como tratamiento para la corea aguda en la edición de 1915 de *The Practitioner's Encyclopaedia of Medical Treatment* (De Weill,1884; Vallender y cols.,1877). La corea de Sydenham también podría aliviarse con apomorfina (Feldman ,1945), al igual que la coreoatetosis congénita, la discinesia orofacial espontánea (Tolosa,1974), y la enfermedad de Huntington (Tolosa,1974; Albanese,1995). En la enfermedad de Huntington, la apomorfina disminuye la intensidad de la corea y mejora la impersistencia motora y la capacidad de suprimir los movimientos asociados (Albanese,1995).

Estos efectos se contrarrestan con haloperidol y sulpiride (Corsini, 1972). Más recientemente, un ensayo cruzado, aleatorizado, doble ciego (N = 5) mostró que la infusión continua de apomorfina produce una mejora sostenida de los síntomas coreicos, sin afectar los síntomas depresivos (Vitale, 2007). La apomorfina mejora los tics en el síndrome de la Tourette (Feinberg, 1979; Lal,1981).

En la discinesia tardía, los resultados son variables, con mejorías ya que los movimientos discinéticos se alivian en algunos pacientes, presumiblemente a través de sus efectos presinápticos (Tolosa ,1974; Smith,1977; Tolosa,1978). Las inyecciones subcutáneas de apomorfina se utilizaron en el pasado para prevenir o reducir las convulsiones epilépticas o convulsiones inducidas por alcohol, eclampsia y convulsiones puerperales (Visanska,1898; Pomerantz ,1990; Bourneville y cols.,1885; Visanska,1898; De Weill, 1884; Vallender,1877). También bloqueó transitoriamente la descarga epiléptica fotosensible (Quesney y cols., 1980).

Después de casos exitosos, se consideró que la apomorfina era efectiva para controlar los espasmos musculares (Auffret y cols., 2018).

Se le ha atribuido casos de recuperación tras la ingestión de cantidades presuntamente letales de estricnina o incluso contrarrestar el estado tetánico (Gee,1869; Visanska,1898; Haggard, 1932). La creciente evidencia sugiere que la apomorfina mejora eficazmente los movimientos periódicos de las piernas en el síndrome de piernas inquietas (Tribl y cols., 2005; Reuter y cols;1999; Tings y cols., 2005).

El Dr. Edmond Weill fue el primero en sugerir que la apomorfina podría ser útil en el temblor y en la enfermedad de Parkinson, reforzada por su éxito en el tratamiento de la corea (De Weill, 1884). Una nota clínica olvidada en The Canadian Medical Association Journal informa sobre el uso de apomorfina para aliviar la espasticidad en pacientes con parálisis agitante en 1935, mucho antes de los experimentos de Schwab (Schwab, 1951; Anderson, 1935). Su autor se sintió “justificado en su elección de un sedante que, con total seguridad, pueda administrarse durante largos períodos de tiempo” (Anderson, 1935). El trabajo de Dordoni sobre la descerebración en perros allanó el camino para el primer uso de apomorfina de Schwab en la enfermedad de Parkinson en 1951 (Schwab, 1951; Dordoni,1948).

Décadas después, estudios controlados doble ciego iniciados por Cotzias y cols., (1967) demostraron que la apomorfina era un fármaco valioso en el arsenal antiparkinsoniano (Halvorsen,1978; Cotzias, 1967; Düby, 1972). Stibe y cols., (1987) actualizó el uso de apomorfina en la enfermedad de Parkinson al demostrar

su efecto beneficioso sobre las fluctuaciones intermitentes parkinsonianas, abriendo el camino a otros usos (Stibe y cols.,1987). Desde entonces, la apomorfina se ha utilizado en el diagnóstico (evaluación de la capacidad de respuesta a la levodopa) y el tratamiento de la enfermedad de Parkinson en Europa, ya sea como una inyección o mediante infusión continúa (Sharma y cols., 2004; Antonini, 2009; Trenkwalder, 2015; Stern, 2013; Ribarič, 2012; Auffret, 2018; Henriksen, 2014). A pesar de la abundante evidencia de su eficacia en el tratamiento de la enfermedad de Parkinson avanzada y su impacto positivo en la calidad de vida de los pacientes, la apomorfina sigue siendo infrautilizada y no está disponible para muchos pacientes en todo el mundo (Henriksen, 2014; Martínez y cols., 2015; Drapier, 2016).

La apomorfina es un ejemplo notable de redescubrimiento de una antigua droga. Su peculiar perfil farmacológico (agonista dopaminérgico y no dopaminérgico inespecífico lo ha convertido en uno de los fármacos más estudiados y se puede suponer con seguridad que la apomorfina seguirá intrigando a científicos y médicos en los años venideros (Ribarič, 2012; Auffret, 2018).

Distribución de la apomorfina

La apomorfina tiene un gran volumen de distribución y atraviesa fácilmente la barrera hematoencefálica, lo que resulta en un rápido equilibrio entre la sangre y los tejidos, incluido el cerebro (Nicolle y cols., 1993; LeWitt, 2004; Sam y cols.,1995).

Tanto en humanos como en animales, la aparición de bostezos indica que la apomorfina ha llegado al cerebro (Haq y cols., 2007; Factor, 2004; Lal,1988).

Su efecto farmacodinámico parece persistir hasta 30 min después de que las concentraciones plasmáticas hayan vuelto por debajo del umbral de eficacia (Ribaric, 2012). Su degradación metabólica es extensa, compleja implica vías de degradación enzimática y no enzimática, y se complica por interacciones con proteínas y otros componentes tisulares (Garrido y cols.,2002). En roedores, la apomorfina favorece su propio metabolismo, pero se desconoce el alcance de esto en humanos (Soukers y Lal,1975). Si bien el metabolismo de la apomorfina ha sido bien estudiado en roedores, su metabolismo en humanos y la importancia relativa

de las diversas vías catabólicas siguen estando mal documentados, aunque el metabolismo hepático parece ser predominante, siendo las dos vías principales la glucuronidación y la O -metilación (Libert y cols.,2005; Sourkes y Lal,1975; Haq y cols., 2007; Argiolas y Hedlund,2001; Vietri y cols.,2002)

El fuerte catabolismo hepático de la apomorfina puede implicar la desmetilación del N, la oxidación, la O-metilación, la interconversión de R (-) en S (-) apomorfina y la conjugación en compuestos glucuronizados y sulfatados (Sourkes y Lal,1975; Libert y cols., 2005; Haq y cols., 2007; Argiolas y cols., 2001, Vietri y cols., 2002).

Neuroprotección inducida por apomorfina

Un número creciente de estudios *in vitro*, cultivos celulares e *in vivo* sugiere que, debido a su estructura catecol, la apomorfina ejerce un efecto neuroprotector y citoprotector a través de la quelación de hierro, zinc y cobre protegiendo lípidos y proteínas del daño de los radicales, propiedades antioxidantes, inhibición de la peroxidación de lípidos y captación de radicales libres así como inhibición de MAO-B y probablemente otros mecanismos (Youdim y cols., 2000; Ubeda y cols., 1993; Hara y cols., 2013; Chen y cols.,2001; Ubeda y cols.,1993; Gassen y cols.,1996; Fornau y cols., 2001).

La apomorfina también promueve el crecimiento neuronal y estimula la síntesis de factores neurotróficos como el factor de crecimiento nervioso o el factor de crecimiento derivado de la glía (Yuan y cols., 2004; Guo y cols., 2002; Ohta y cols., 2000).

Efectos dopaminérgicos

Tanto los estudios in vitro como los preclínicos muestran que, debido a sus fracciones de catecol y 2-aminotetraleína, la apomorfina es un agonista de la dopamina de amplio espectro, que actúa sobre los receptores tipo D1 (D1 y D5) y tipo D2 (D2, D3, D4). (Colpaert y cols,1976; Andén y cols.,1976; Schechter y cols,1987; Sokoloff y cols.,1993).

La estimulación conjunta de los receptores tipo D1 y tipo D2 puede mejorar la eficacia terapéutica (Millan y cols,1987). La apomorfina, agonista dopaminérgico no

selectivo y no ergolínico, muestra interacciones complejas dentro de los receptores dopaminérgicos cerebrales presinápticos y postsinápticos (Colpaert y cols.,1976; Andén y cols.,1967; Sokoloff y cols.,1993; Schecheter y cols.,1987; LeWitt, 2004; Millan y cols., 2002; Rodríguez y Castro.,1991).

Se presume que tiene un efecto bifásico, con dosis bajas (0.5 mg) actuando preferentemente sobre los receptores presinápticos (alta afinidad por los autorreceptores), produciendo reducciones en la transmisión de dopamina (Auffred y cols., 2018).

En dosis más altas (1 mg), la apomorfina es un agonista parcial de los receptores postsinápticos, lo que aumenta la transmisión de dopamina. (Corsini,1981; Austin y cols., 2000)

Cabe señalar que la apomorfina también disminuye la biosíntesis de DA, interfiere con la renovación de dopamina e inhibe el metabolismo de la dopamina (Colpaert y cols.,1976; Andén y cols.,1967; Rodríguez y Castro,1991; Przedborski y cols.,1995).

ANTECEDENTES

En 1988 en el bioterio de investigación del Laboratorio de Neurofisiología de la Conducta y Control Motor del Instituto de Fisiología de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, se obtuvo de manera espontánea durante el proceso de selección de una sublínea con una alta frecuencia de bostezo espontáneo, de la cepa Sprague-Dawley, portadora de una mutación autosómica que dio origen a la rata denominada *taeip* (Holmgren y cols., 1989). El nombre de *taiep* es el acrónimo de los signos que la caracterizan: temblor, ataxia, inmovilidad, epilepsia y parálisis, que se presentan de manera progresiva en el primer año de vida (Holmgren y cols., 1989). La enfermedad se hereda como un carácter autosómico recesivo y es una mutación que afecta al gen de las tubulinas (Holmgren y cols., 1989; Garduño-Robles y cols., 2020). El mutante de mielina *taiep* muestra temblor de intención en la cola y en las extremidades posteriores que se manifiesta al destete y disminuye de frecuencia con la edad, aumentando la amplitud de sus oscilaciones; la ataxia se presenta a partir del tercer mes de edad (Eguibar y cols., 2014).

Estos síntomas producen un decremento significativo de la velocidad de la marcha en los primeros seis meses de vida al compararlos con ratas normales Sprague-Dawley (Cortés y cols.,2005). A partir de los seis meses se presentan episodios de inmovilidad (EI) tónica que se manifiestan a partir del sexto mes, con un pico de expresión entre los ocho y nueve meses de edad, tanto espontáneos como inducidos, al sujetar a las ratas de la base de la cola o del tórax (Cortés y cols., 2005). La susceptibilidad a presentar episodios de inmovilidad tónica muestra dos picos a lo largo del ciclo circadiano, el primero en las primeras horas del periodo de luz y un segundo a mitad de la fase oscura (Cortés y cols., 2005).

La rata *taiep* se caracteriza por tener crisis epilépticas tónico-clónicas de tipo audiogénico inducidas por un timbre tipo chicharra, que modula una mezcla frecuencia a 60 db de intensidad y se incrementan desde 6.25% entre los tres a seis meses de edad hasta 62.5% entre los doce y los trece meses de edad (Holmgren y cols., 1989). Las ratas *taiep* muestran una parálisis progresiva de las extremidades posteriores en animales de un año y mayores (Garduño-Robles y cols., 2020;

Eguibar y cols., 2014). Los primeros estudios genéticos del mutante permitieron mostrar que existe una alteración en el brazo largo del cromosoma 9 en una región cercana a las proteínas asociadas a los microtúbulos (Li y cols., 2003). Recientemente se ha determinado que la mutación afecta al gen Tubb4a, que corresponde a la tubulina β 4A y que se ha propuesto como el sustrato de las alteraciones de la mielina en las ratas *taiep* adentro del grupo de las leucodistrofias (Garduño-Robles y cols., 2020; López-Juárez y cols., 2020).Estos animales muestran al primer mes de vida una hipomielinización, la cual es seguida por una desmielinización progresiva de los axones del sistema nervioso central (SNC) (Duncan y cols.,1992; Lunn y cols.,1997)

La acumulación de microtúbulos es progresiva con la edad y se correlaciona con la desmielinización de las vías centrales de maduración tardía, como son el nervio óptico y las columnas dorsolaterales de la médula espinal (Lunn y cols., 1997). A nivel ultraestructural, los oligodendrocitos muestran una acumulación anormal de microtúbulos en el citoplasma de estas células gliales y en sus procesos (Duncan y cols., 1991; Lunn y cols., 1997). La acumulación de microtúbulos en los oligodendrocitos altera los mecanismos de transporte de las proteínas recién sintetizadas del retículo endoplásmico rugoso hacia la porción Cis del aparato de Golgi (Couve y cols., 1997). Lo que disminuye los niveles de las principales proteínas que componen la mielina, como son la proteína básica de la mielina (PBM), la proteína proteolipídica (PLP), la enzima 2,3´nucleótido cíclico fosfodiesterasa (CNP) y la glicoproteína asociada a los oligodendrocitos GAO (Möller y cols., 1997).

Los defectos en la mielinización en la rata *taiep* se ha estudiado en el velo anterior del cerebelo, ya que esta estructura permite evaluar la morfología completa de los oligodendrocitos individuales (Song y cols., 2011). Se ha podido mostrar que son los oligodendrocitos de tipo I/II de somas pequeños, pero de largos y finos procesos que producen numerosos nodos de Ranvier en axones de pequeño diámetro, los más afectados; respecto de los oligodendrocitos tipo III/IV, los cuales tienen somas

más grandes y procesos más cortos y los cuales forman unos pocos nodos de Ranvier en axones de mayor diámetro (Song y cols., 2011).

En la misma área del velo del cerebelo, empleando técnicas inmunohistoquímicas se ha mostrado que los niveles de la β-tubulina son notablemente altos, así como de la proteína tau asociada a los microtúbulos, en los oligodendrocitos provenientes de las ratas *taiep* adultas (Song y cols., 2001). Estas evidencias muestran que en la rata *taiep* el defecto en los microtúbulos altera los mecanismos de transporte para mantener las vainas de mielina (Song y cols., 2001). Al cultivar oligodendrocitos provenientes de ratas *taiep* adultas se ha podido mostrar que se forman fajos de microtúbulos firmemente asociados al citoplasma de los oligodendrocitos y que existe una mayor proporción de crecimiento de los microtúbulos en dirección contraria a las manecillas del reloj, respecto de los que crecen en dirección de las manecillas del reloj como sucede en condiciones normales en los procesos en crecimiento de estas células gliales (Song y cols., 1999). Se ha mostrado además que en las ratas *taiep* de siete meses la mayoría de los axones de diámetro pequeño carece de vainas de mielina, a los diez meses la mayoría de los axones de diámetro pequeño y muchos de los de diámetro grandes carecen también de vainas de mielina (Lunn y cols.,1997; Eguibar y cols., 2014).

Finalmente, a la edad de 17 meses sólo algunos de los axones de diámetro grande permanecen escasamente mielinizados (Foote y Blakemore, 2005a). Se ha mostrado en estudios que, en los potenciales provocados somatosensoriales al estimular el nervio ciático producen cambios en la morfología y en las latencias de los componentes centrales, y también en los potenciales motores provocados, al estimular la corteza motora primaria, área 4 de Brodman y evaluando las contracciones musculares en el músculo cuádriceps o en el tríceps sural (Benítez y cols., 1997; Eguibar y cols., 2008). Estos hallazgos se correlacionan con lo reportado en estudios de neurofisiología clínica en pacientes afectados de esclerosis múltiple (Cracco y Cracco, 1982).

El proceso de desmielinización se asocia con una astrocitosis y una activación de los astrocitos determinados por la expresión de la proteína ácida fibrilar de la glía

(GFAP, de sus siglas en inglés), la cual se incrementa con la edad de los animales *taiep* (León-Chávez y cols., 2001). La hipertrofia de los astrocitos es de siete veces en la sustancia blanca y de tan sólo con lo anterior cuatro veces en la sustancia gris de la médula espinal, afectando por igual a ambos sexos, la cual inicia a los tres meses y se incrementa con la edad del mutante (Eguibar y cols., 2014).

Las ratas *taiep* tienen un estado de neuroinflamación crónica con deficiencia de factores remielinizantes como CXCL1, CXCR2 y CXCR4 (Eguibar cols., 2014). La rata *taiep* es un modelo adecuado de la esclerosis múltiple con cambios en la expresión de algunas citocinas que promueven un ambiente de neuroinflamación, el cual contribuye al daño de la mielina (Eguibar y cols., 2014).

Varios informes en diferentes modelos animales y en pacientes humanos con esclerosis múltiple mantienen la participación de las quimiocinas y sus receptores en la inflamación del SNC (Stoolman y cols., 2014; Wojkowska y cols., 2014; Ambrosini y cols., 2005). Las quimiocinas participan en el desarrollo de la mielina, se ha demostrado que CXCL1 desempeña un papel importante en la proliferación, diferenciación, migración y maduración de las células oligodendrogliales y en la síntesis de mielina (Robinson y cols., 1998; Omari y cols., 2005). El déficit de CXCL1 y CXCR2 provoca un fallo en el proceso de mielinización debido a una migración aberrante de OPC´S en la sustancia blanca de la médula espinal (Tsai y cols., 2002). El CXCL12 activa el receptor CXCR4 esta involucrado con la maduración de los oligodendrocitos y en el fracaso de la remielinización (Patel y cols., 2010). Mientras que el CXCL12 también actúa como un factor de crecimiento para estimular la proliferación de astrocitos y de las células neuronales a través de quinasas reguladas por señales extracelulares ERK 1/2 (Bonavia y cols., 2003; Bajetto y cols., 2001). En otros estudios mostraron que la deficiencia de los niveles de CXCL1 y CXCR4 en las ratas *taiep*, parece estar involucrada en la falla de la remielinización en estos animales mutantes de mielina (Eguibar cols., 2014).

Dadas las características de la rata *taiep* que presenta grandes áreas de desmielinización que se acompañan de astrocitos, con limitada inflamación y una larga expectativa de vida de hasta dos años, es entonces un modelo ideal para

analizar la desmielinización crónica como sucede en la esclerosis múltiple recurrente y remitente (Cortés y cols., 2005; Duncan y cols., 2017; Foote y Blakemore., 2005).

En el sistema nervioso central de la rata *taiep* se ha mostrado una alta expresión de neurofilamentos desfosforilados en sus axones que se incrementan con la edad de los animales, y también de abundantes esferoides, los cuales representan axones lesionados por activación de factores que los dañan, como puede ser la activación de la caspasa 3 debido a una deficiencia de factores tróficos (Eguibar y Cortes, 2014).

JUSTIFICACIÓN

Actualmente existe evidencia muy limitada en México con respecto a los estudios demográficos y clínicos de la esclerosis múltiple, la mayoría de los estudios y estadísticas epidemiológicas se basan en datos europeos y estadounidenses (Cortés y cols., 2020). Se ha reportado que en México existen alrededor de 15 a 18 casos de esclerosis múltiple por cada 100 mil habitantes; es decir, hay más de 20 mil casos en todo el país (Treviño, 2017).

En la actualidad no existe una “cura” específica que detenga el deterioro en las enfermedades desmielinizantes como lo es la esclerosis múltiple, existen fármacos que reducen los niveles de padecimientos de la enfermedad como el interferón β y el fingolimod que tienen efectos inmunomoduladores diversos, por otra parte el acetato de glatiramer que tiene efectos sobre las células T, o el fingolimod que tiene un efecto modulador del receptor de esfingosina que disminuye la migración de los linfocitos desde los ganglios linfáticos, la teriflunomida que bloquea la síntesis de pirimidina y disminuye la división de células inflamatorias, y finalmente el natalizumab fármaco de segunda línea, que es un anticuerpo monoclonal contra la α_4-integrina que disminuye la entrada de los linfocitos al SNC. Cabe mencionar que, dentro del tratamiento farmacológico de la EM, no se ha probado el uso de agonistas dopaminérgicos para mejorar las alteraciones motoras, como en la marcha, por lo que queda un arduo trabajo por recorrer. Es así como en la presente tesis se probaron dos fármacos dopaminérgicos de la familia D_2 en la marcha de la rata *taiep*, un mutante de mielina que se caracteriza por presentar temblor, ataxia, inmovilidad, epilepsia y parálisis, que se presentan de manera progresiva en el primer año de vida (Holmgren y cols., 1989)

HIPÓTESIS

Los agonistas dopaminérgicos de la clase tipo D_2 (-)- apomorfina y (-)- quinpirole mejorarán la marcha del mutante de mielina *taiep.*

OBJETIVO GENERAL

Evaluar los efectos de los agonistas dopaminérgicos de la clase D_2 (-)- quinpirole y (-)- apomorfina en la marcha del mutante de mielina *taiep.*

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Evaluar los efectos de los agonistas dopaminérgicos de la clase D_2 (-)- quinpirole y de la (-)- apomorfina en la fase de apoyo de las extremidades anteriores y posteriores en la marcha del mutante de mielina *taiep.*
2. Evaluar los efectos de los agonistas dopaminérgicos de la clase D_2 (-)- quinpirole y de la (-)- apomorfina en la fase de oscilación de las extremidades anteriores y posteriores en la marcha del mutante de mielina *taiep.*
3. Evaluar los efectos de los agonistas dopaminérgicos de la clase D_2 (-)- quinpirole y de la (-)- apomorfina en la longitud de zancada de las extremidades anteriores y posteriores en la marcha del mutante de mielina *taiep.*
4. Evaluar los efectos de los agonistas dopaminérgicos de la clase D_2 (-)- quinpirole y de la (-)- apomorfina en la base de apoyo de las extremidades anteriores y posteriores en la marcha del mutante de mielina *taiep.*
5. Evaluar los efectos de los agonistas dopaminérgicos de la clase D_2 (-)- quinpirole y de la (-)- apomorfina en la velocidad de la marcha del mutante de mielina *taiep.*
6. Evaluar los efectos de los agonistas dopaminérgicos de la clase D_2 (-)- quinpirole y de la (-)- apomorfina en la coordinación de la marcha del mutante de mielina *taiep.*

METODOLOGÍA

Sujetos experimentales

Se emplearon 6 ratas *taiep* macho adultas de 3 meses de edad con un peso promedio de 300 ± 80 gramos. Las ratas se colocaron en un cuarto con un ciclo de luz-oscuridad invertido 12:12 con encendido de luz a las 18:00 hrs. El cuarto se mantuvo a una temperatura de 21 ± 3°C y humedad relativa entre 41-55%. Las ratas se colocaron en cajas de acrílico transparente con aserrín estéril (Beta chip, USA). Colocadas en grupos de 2 sujetos por caja, con libre acceso al agua purificada de la marca Ciel y al alimento de la marca Lab Diet 5001. EUA.

Para el presente estudio se siguió la Norma Oficial Mexicana 062 (NOM-062-200-ZOO-1999) y la guía para el cuidado y uso de animales de laboratorio de los Institutos Nacionales de la Salud de los Estados Unidos de América. El protocolo fue aprobado por el comité institucional para el cuidado y uso de animales de Animales de Laboratorio.

Fármacos

Se utilizó (-)- clorhidrato de quinpirole (Sigma-Aldrich Co.), con una pureza de ≥98% (HPLC.) Se mantuvo a una temperatura de almacenamiento de -20°C. Se disolvió en agua destilada a 0.1 M, se administró por vía intraperitoneal a las dosis de 0.125 mg / Kg, 0.25 mg / Kg, 0.33 mg / Kg y 0.5 mg / Kg.

Se utilizó (-)- clorhidrato de apomorfina (Tocris Bioscience Inc.), con una pureza de ≥99% (HPLC). Se mantuvo a temperatura ambiente, en oscuridad total. Se disolvió en solución estéril a 0.1 M, se administró por vía intraperitoneal a las dosis de 0.05 mg / Kg, 0.5 mg / Kg y 1 mg / Kg.

Se usó agua estéril (Laboratorios Pisa México) como vehículo. Todas las dosis se administraron en un volumen constante de 1.0 mL / Kg de peso corporal.

Las soluciones farmacológicas se prepararon en fresco antes de cada experimento.

Diseño experimental

RATAS GRUPO CONTROL

1. Se utilizaron dos ratas taiep de aproximadamente dos meses y medio de edad con los siguientes pesos 300 ± 80 gramos, para el grupo control, de los cuales se inició registrando la marcha de los dos sujetos del grupo control, se les administró agua destilada, utilizando el peso molecular del quinpirole y la dosis que posteriormente se iba aplicar de 0.25 mg/Kg, durante 3 días con un horario de entre 12:00-12:30 p.m. (ver figura 21).

RATAS DE LA DOSIS DE (-)- QUINPIROLE DE 0.25 mg/Kg

2. Se utilizaron las mismas ratas taiep del grupo control, para la dosis de quinpirole de 0.25 mg/Kg de los cuales se registró la marcha de los dos sujetos, durante 3 días con un horario de entre 12:00-12:30 p.m. (ver figura 21).

RATAS DE LA DOSIS DE (-)- QUINPIROLE DE 0.125 mg/Kg

3. Nuevamente se utilizaron las mismas ratas de la anterior dosis, pero dejando pasar 3 días para la nueva dosis (ver figura 21).
   Se les administró a las ratas taiep macho la dosis de quinpirole de 0.125 mg/Kg, de los cuales se registró la marcha de los dos sujetos, durante 3 días con un horario de entre 12:00-12:30 p.m. (ver figura 21).

RATAS DE LA DOSIS DE (-)- QUINPIROLE DE 0.5 mg/Kg

4. Para esta dosis se utilizaron las mismas ratas de las dosis anteriores, dejando pasar 3 días para la nueva dosis.
   Se les administró a las ratas taiep macho la dosis de quinpirole de 0.5 mg/Kg, de los cuales se registró su marcha, durante 2 días con un horario de 12:00-12:30 p.m.
   - Se menciona que se suspendió el experimento a esta dosis de 0.5 mg/Kg, debido a que las ratas taiep macho presentaban emesis, inducida por la cantidad de dosis, por lo que se observó que el sujeto

taiep # 1 deambulaba en el piso de la pasarela del Catwalk, pero frenaba la conducta en varias ocasiones al momento de cruzar el túnel del aparato de ese modo, eso hacía que el sistema detectará esa anomalía y rechazara el recorrido, debido al exceso de tiempo que se hacia la rata al pasar por el túnel.

- En la rata taiep # 2 se observó que no deambulo en ningún momento, a pesar de que se esperó 15 min, para que la rata recordará que tenía que pasar a través del túnel, por lo que no reaccionó y se dio por suspendida la prueba a esta dosis de 0.05 mg/Kg de quinpirole (ver figura 21).

RATAS DE LA DOSIS DE (-)- QUINPIROLE DE 0.33 mg/Kg

5. Para esta dosis, se volvieron a utilizar los mismos sujetos de estudio, ahora con una dosis menor a la anterior, por lo que se observó que el sujeto # 1 tardó en pasar 8 minutos el túnel del aparato Catwalk, por lo que excedió el tiempo límite para pasar y el sistema lo detectará y rechazará la prueba. En el sujeto # 2, se observó desorientación debido a que el sujeto tardaba 4 min en comenzar a deambular, recorría cierta distancia y frenaba la conducta, regresando al mismo sitio de inicio, cabe mencionar que también salivaba demasiado, y se agitaba, por lo que se inició suspendió el experimento a esta dosis de 0.33 mg/Kg, debido a los problemas respiratorios que presentaban las ratas taiep macho con esta dosis.
    - Por lo que no se reportaron estos datos, debido a lo mencionado con las dosis de 0.5 y 0.33 mg/Kg de quinpirole.
    - Se menciona que se dejó pasar 5 días para volver aplicar otro fármaco (ver figura 21).

RATAS DE LA DOSIS DE (-)- APOMORFINA DE 0.05 mg/Kg

1. Se utilizaron las 2 ratas taiep macho de la dosis anterior para este nuevo fármaco, con un peso de 300 ± 80 gramos, para la dosis de 0.05 mg/Kg de (-)- apomorfina de 0.05 mg/Kg de los cuales se registró la marcha de los dos sujetos, durante 3 días con un horario de entre 12:00-12:30 p.m.

RATAS DE LA DOSIS DE (-)- APOMORFINA DE 0.5 mg/Kg

2. Se volvieron a utilizar las 2 ratas taiep macho de la dosis anterior con un peso de 300 ± 70 gramos, para la dosis de –(-) apomorfina de 0.5 mg/Kg de los cuales se registró la marcha de los dos sujetos, durante 3 días con un horario de entre 12:00-12:30 p.m. (ver figura 21).

RATAS GRUPO CONTROL

1. Se utilizaron dos ratas taiep macho con nuevo registro de aproximadamente dos meses y medio de edad con los siguientes pesos 300 ± 80 gramos, para el grupo control, de los cuales se inició registrando la marcha de los dos sujetos del grupo control, se les administró agua destilada, utilizando el peso de las ratas durante 3 días con un horario de entre 12:00-12:30 p.m. (ver figura 21).

RATAS DE LA DOSIS DE (-)- APOMORFINA DE 0.05 mg/Kg

1. Se emplearon las 2 ratas taiep macho de la dosis del grupo control con un peso de 300 ± 70 gramos, para la dosis de (-)- apomorfina de 0.05 mg/Kg de los cuales se registró la marcha de los dos sujetos, durante 3 días con un horario de entre 12:00-12:30 p.m. (ver figura 21).

RATAS DE LA DOSIS DE (-)- APOMORFINA DE 0.5 mg/Kg

2. Se emplearon las 2 ratas taiep macho de la dosis anterior con un peso de 300 ± 70 gramos, para la dosis de (-)- apomorfina de 0.5 mg/Kg, de las cuales se registró la marcha de los dos sujetos, durante 3 días con un horario de entre 12:00-12:30 p.m. (ver figura 21).

RATAS DE LA DOSIS DE (-)- APOMORFINA DE 1 mg/Kg

3. Se emplearon las 2 ratas taiep macho de la dosis anterior con un peso de 300 ± 80 gramos, para la dosis de –(-) apomorfina de 1 mg/Kg, de las cuales se registró la marcha de los dos sujetos, durante 3 días con un horario de entre 12:00-12:30 p.m. (ver figura 21).

RATAS DE LA DOSIS DE (-)- QUINPIROLE DE 0.125mg/Kg

1. Se utilizaron dos ratas taiep con nuevo registro de aproximadamente dos meses y medio de edad con los siguientes pesos 300 ± 60 gramos, para la dosis de 0.125 mg/Kg, de los cuales se inició registrando la marcha de los dos sujetos, durante 3 días con un horario de entre 12:00-12:30 p.m. (ver figura 21).

RATAS DE LA DOSIS DE (-)- QUINPIROLE DE 0.5 mg/Kg

2. Se utilizaron las dos ratas taiep de la dosis anterior, para la dosis de 0.5 mg/Kg, de los cuales se inició registrando la marcha de los dos sujetos, durante 3 días con un horario de entre 12:00-12:30 p.m. (ver figura 21).

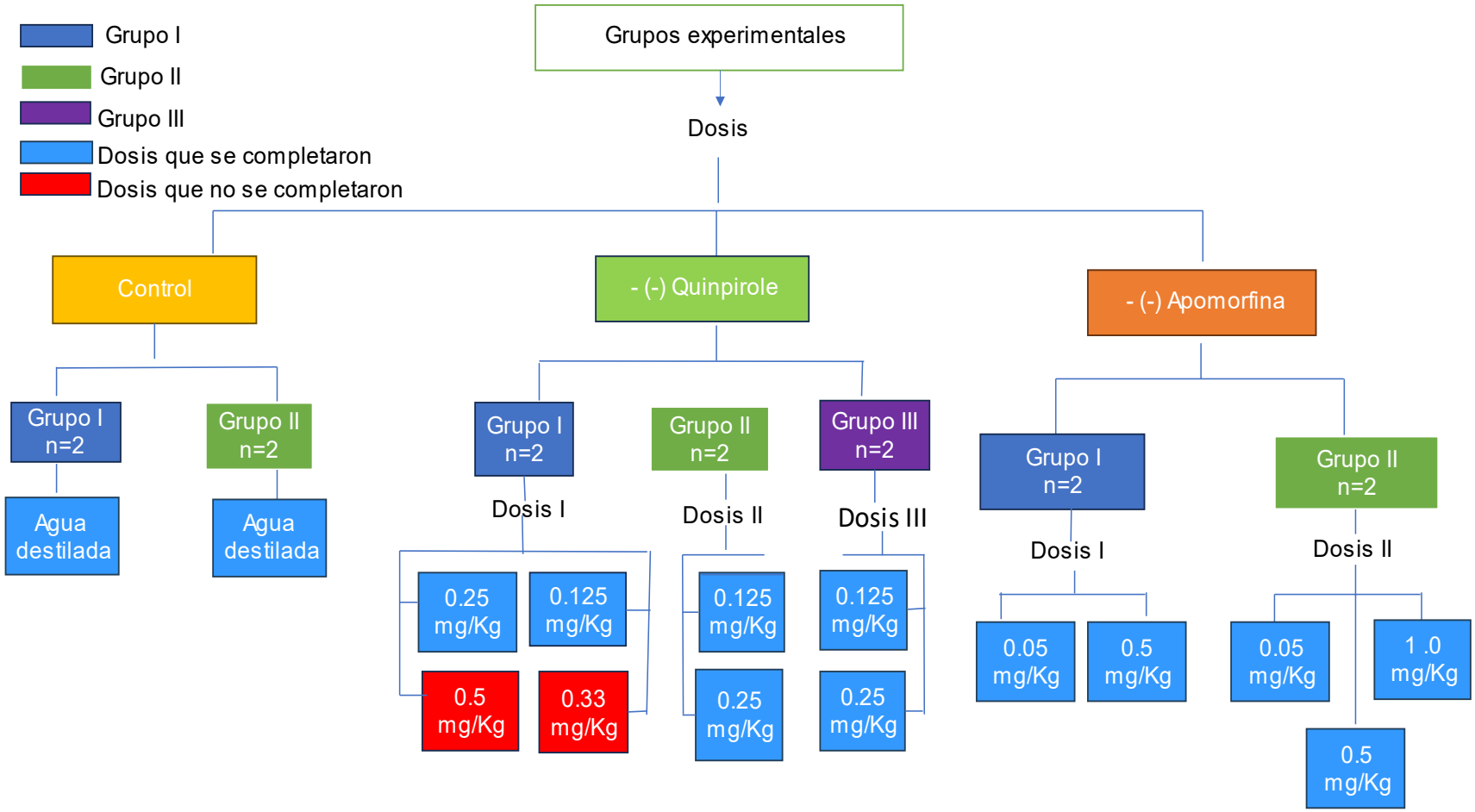


Figura 23. Esquema de la organización de los grupos experimentales del grupo control y de los dos fármacos –(-) quinpirole y apomorfina en sus distintas dosis.

Equipo para el análisis de la marcha Catwalk XT (Noldus Technologies)

Se empleó el equipo de análisis de la marcha Catwalk XT (Noldus Technologies, Países Bajos) que consiste en un pasadizo tipo pasarela, con un techo, que se ilumina con un diodo de emisor de luz (LED) de color rojo, para proporcionar contraste con el piso.

El piso consiste en una pieza de vidrio con un espesor de 6 mm (Kappos y cols., 2017), que difracta luces de diodo emisor de luz (LED) de color verde, delimitado de ambos lados por una pared de plexiglás negro. El aparato Catwalk, mide 120 cm de largo y 21 cm de ancho. El vidrio es el área de registro donde las patas de la rata hacen contacto con el piso del Catwalk.

A cierta distancia del borde, la luz se reflejará internamente en el vidrio (el mismo principio que la fibra óptica), excepto en aquellos lugares donde el aire ha sido reemplazado por otro medio como lo es la pata del animal que camina donde la luz abandona el cristal e ilumina la pata (Clarke, 1992; Clarke y cols., 1992).

Los animales se filmarán con una cámara de alta eficiencia y velocidad, desde abajo mientras cruzan la pasarela en una habitación oscura, proporcionando así un buen contraste entre las huellas de las patas y el resto del cuerpo (Hamers y cols., 2001; Vrinten y Hamers, 2003).

Se adquirieron para este estudio de cincuenta a sesenta campos (fotogramas) por segundo, usando una cámara acoplada al dispositivo (CCD), y se almacenan en un disco duro de una computadora tipo servidor con procesadores xeón para el análisis fuera de línea (Hamers y cols., 2001; Vrinten y Hamers, 2003).

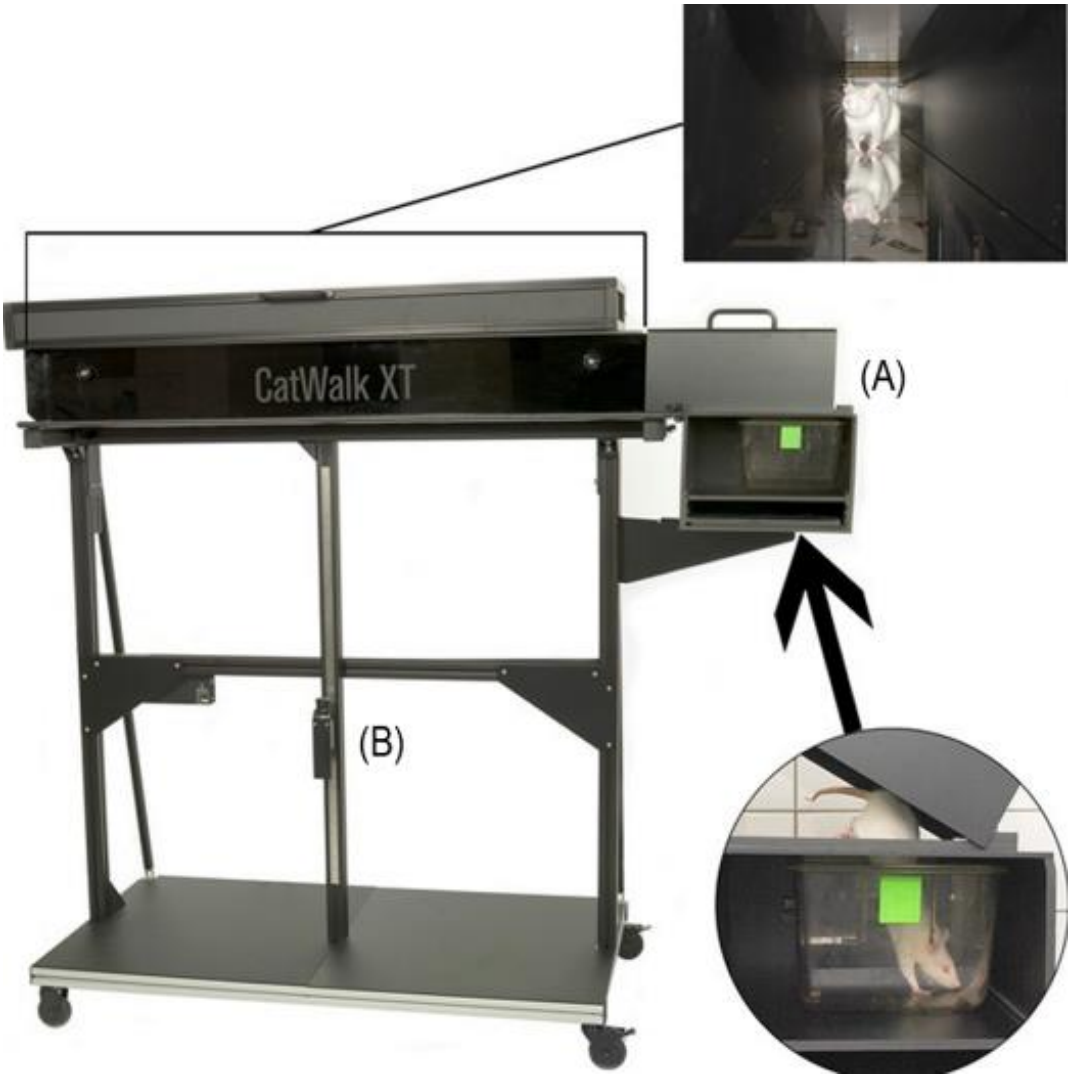


Figura 24. Aparato tipo pasarela “Catwalk XT” de la compañía Noldus Tecnologies (Países Bajos), donde los animales pasan el túnel, para llegar a la caja de refugio **(A)** donde se va a desplazar hacia abajo donde se encuentra la caja de acrílico. La pasarela detecta sus huellas en la placa de vidrio y las transfiere a la computadora a través de una cámara CCD **(B)** (Imagén tomada de Kappos y cols., 2017).

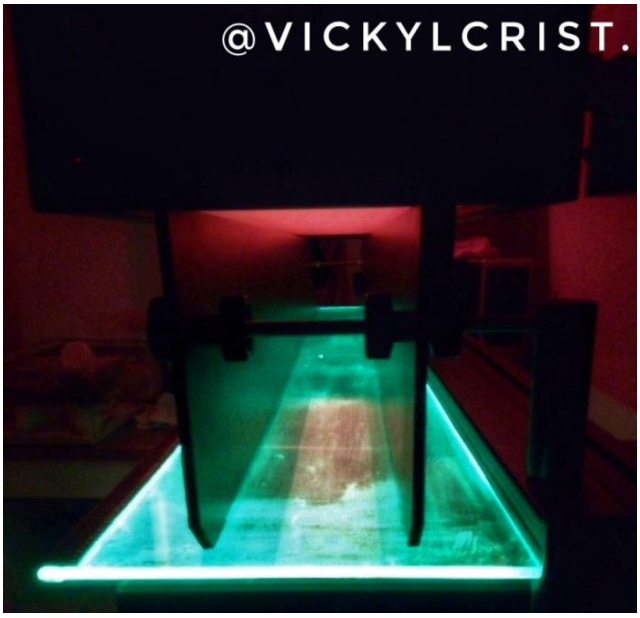


Figura 25. Vista lateral derecha de la pasarela Catwalk. El piso tipo pasarela que difracta luz (LED) de color verde, área donde las ratas *taiep* hacen su recorrido en cada prueba de registro.

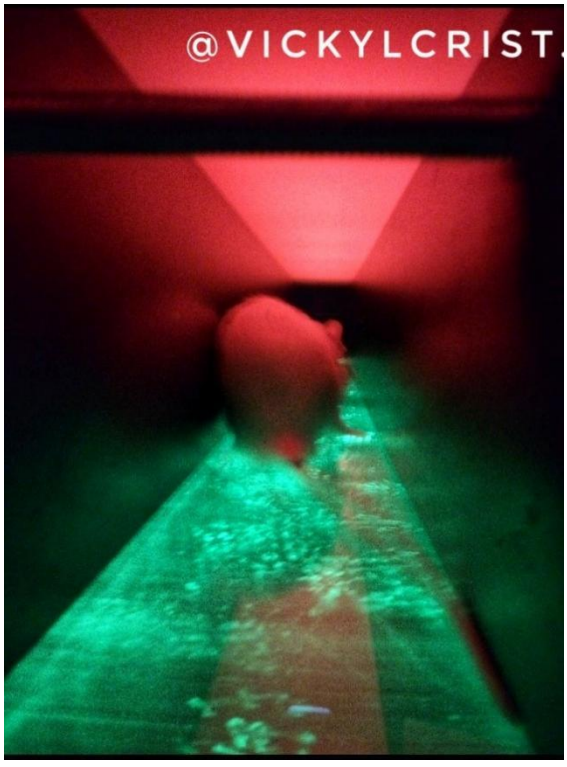


Figura 26. Vista lateral izquierda de la pasarela tipo Catwalk. Una rata *taiep* deambulando por la pasarela tipo Catwalk XT.

Habituación

Las ratas *taiep* fueron habituadas durante 7 días a las condiciones experimentales en la pasarela para que hicieran un recorrido adecuado (Ver Figura 23).

Entrenamiento

Una semana previa al experimento, se entrenó a las ratas *taiep* para realizar el recorrido por la pasarela sin detenerse, en el sistema Catwalk, durante 7 días consecutivos, repitiendo el ensayo 3 veces por día colocándolas en la pasarela un minuto para que pudiesen explorar el área y de esa manera, cruzar la pasarela hasta llegar a la caja refugio con aserrín similar a su condición de vida.

Procedimiento

1. Una vez entrenados los animales se realizaron los registros. El número de registros fue de tres veces por cada individuo, dando un total de nueve registros por rata, durante tres días.
2. Para evaluar el análisis de la marcha se revisó el video se seleccionaron los fotogramas cuadro por cuadro.
3. Las impresiones de las huellas se evaluaron por separado, con los diagramas consecutivos en el tiempo para obtener la ubicación de las cuatro extremidades.

Parámetros a evaluar

Los parámetros de la marcha que se consideraron para el análisis y la evaluación fueron dinámicos y estáticos:

- ✓ **Parámetros estáticos**

  - **Fase de apoyo de las extremidades anteriores y posteriores:** Es la duración en segundos del contacto de cada una de las patas con el piso de cristal; de tal manera que al momento de apoyarse la rata con el piso del Catwalk, el equipo de cómputo detectará cada una de las

extremidades de acuerdo a como empiece a deambular la rata en el túnel tipo “pasarela” del Catwalk (Ver Fig.16-B)

- **Fase de oscilación de las extremidades anteriores y posteriores:** Es la duración en segundos sin contacto de la pata con el piso del cristal; es decir que al momento de no apoyarse la rata con el piso del Catwalk, el equipo detectará cada una de las extremidades de acuerdo a como empiece a deambular la rata en el túnel tipo “pasarela” del Catwalk (Ver Fig.16-B)
- **Longitud de la zancada de las extremidades anteriores y posteriores:** Es la distancia en (mm) entre las ubicaciones sucesivas de la misma pata. El cálculo de la longitud de la zancada se basa en las coordenadas X del centro de la huella de la pata en dos ubicaciones consecutivas de la misma pata durante el contacto máximo y teniendo en cuenta el teorema de Pitágoras (Ver Fig. 16-A).
- **Base de apoyo de las extremidades anteriores y posteriores:** Es la distancia en milímetros perpendicular a la trayectoria del movimiento entre pares de miembros, es decir, entre los dos miembros anteriores o entre los dos miembros posteriores (Ver Fig. 16-A) (Kappos, 2017).

✓ **Parámetros dinámicos**

- **Velocidad de la marcha:** Se calculó dividiendo la distancia recorrida (cm) de la pasarela entre el tiempo total para realizar el recorrido completo en la pasarela (Kappos, 2017).
- **Coordinación de la marcha:** El índice de regularidad establece que cada paso quede completamente coordinado, si el animal siguió una sucesión de cuatro a seis patrones de pasos regulares sin errores de intervención. Cuanto mayor sea el número de errores entre los patrones de paso regulares, menor será el índice de regularidad (Kappos, 2017).

  Se sabe que el patrón de pasos fue regular porque, el equipo de cómputo del Catwalk determina la marcha como regular cuando hay coordinación

entre las extremidades, esto es derecha e izquierda y entre las anteriores y las posteriores, de tal forma que si el paso lo da la anterior izquierda debe avanzar la posterior derecha y el siguiente paso lo opuesto. El equipo cuando se da esa alternancia tres veces al pasar por la pasarela determina que esa marcha es regular.

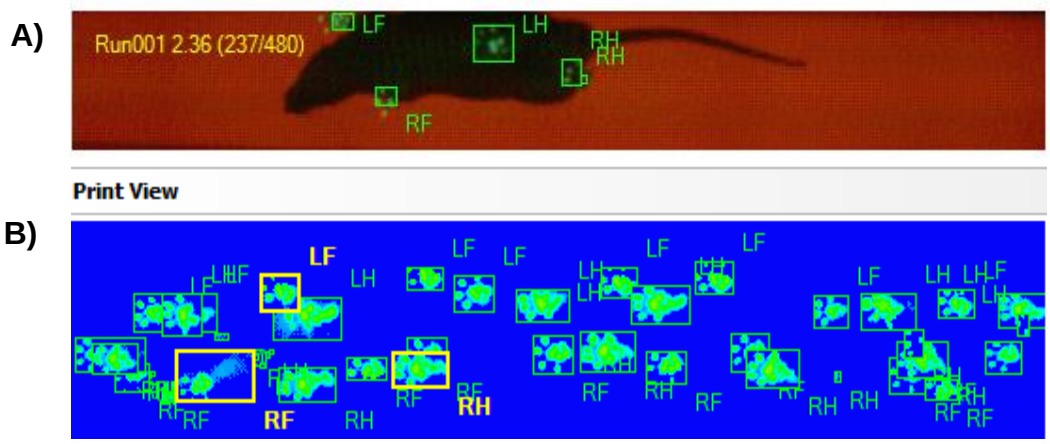


Figura 27. A) Evaluación de los patrones de la marcha, en la imagen se muestran las huellas de las ratas *taiep* impresas en el piso de cristal del equipo, de esta manera el equipo las detecta y comienza generar registros con los datos que se van evaluando, en este caso los patrones corresponden a cada extremidad, (RF) extremidad anterior derecha (LF), extremidad anterior izquierda (RH), extremidad posterior derecha (LH), extremidad posterior izquierda. Todos estos datos que se van evaluando, para generar los parámetros evaluados de la marcha de la presente tesis que son la fase de apoyo, fase de oscilación, base de apoyo, longitud de zancada, velocidad y coordinación.

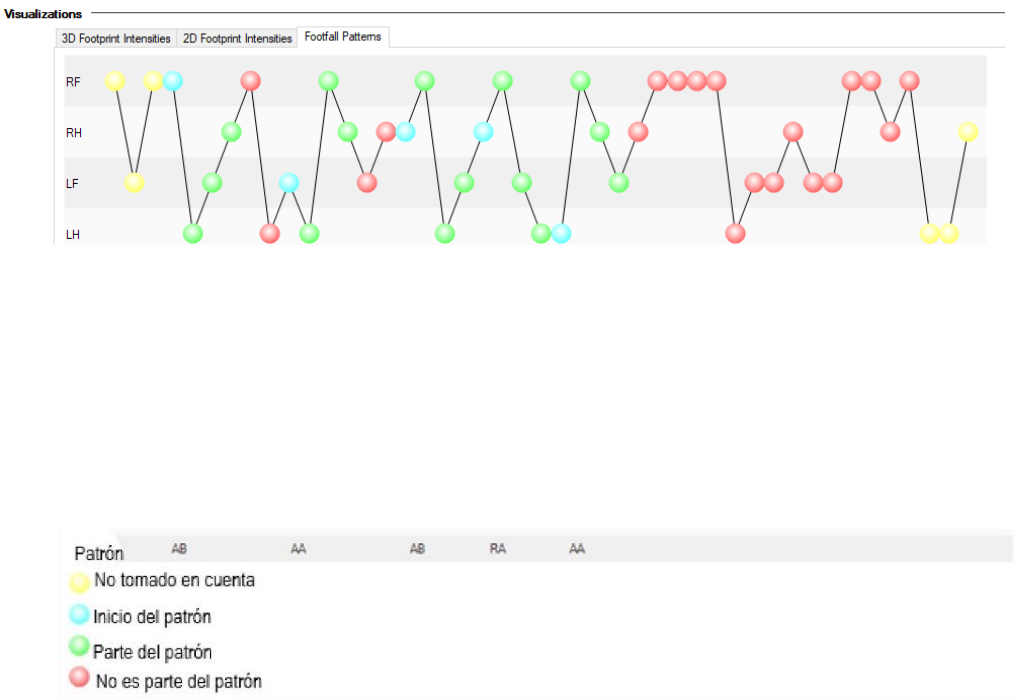


Figura 28. **A)** Vista de tiempo de la evaluación de las huellas de la rata *taiep*, en el sistema Catwalk XT. **B)** Visualización de los patrones de la caída de cada pata en sus respectivos patrones de la extremidad anterior derecha (RF); como izquierda (LF) y la extremidad posterior derecha (RH); como izquierda (LH). En esta figura se puede visualizar, como se va ejecutando la marcha de tal manera que los círculos en color verde van indicando si la marcha es "parte del patrón" o por lo contario si "no es parte del patrón", los círculos en azul indican el "inicio del patrón", mientras que los círculos en amarillo el programa los detecta como "no tomados en cuenta".

Análisis de los datos

1. Se registraron en el programa Catwalk XT versión 9.1, por cada registro en cada rata *taiep* macho.
2. Se capturaron los datos y fueron evaluados en el programa de cómputo del Catwalk XT. La matriz de datos fue transferida a una tabla en el programa Excel de Microsoft.
3. Se empleó el programa estadístico Sigma Plot versión 11.
4. Para el análisis de los datos estadísticos se empleó un análisis de varianza (ANOVA) de un factor de medidas repetidas seguido de la prueba de Dunn con un valor de significancia de $p<0.05$, para cada uno de los tratamientos, obteniendo los gráficos de barras, para cada parámetro a evaluar.

RESULTADOS

RESULTADOS DEL AGONISTA DOPAMINÉRGICO TIPO D_2 (-)- CLORHIDRATO DE QUINPIROLE.

Resultados que fueron estadísticamente significativos con respecto al grupo control en las ratas *taiep* macho, donde se evaluaron parámetros dinámicos como estáticos, mostrando la media y el error estándar de las dosis 0.125 y 0.25 mg/Kg, así como del grupo control.

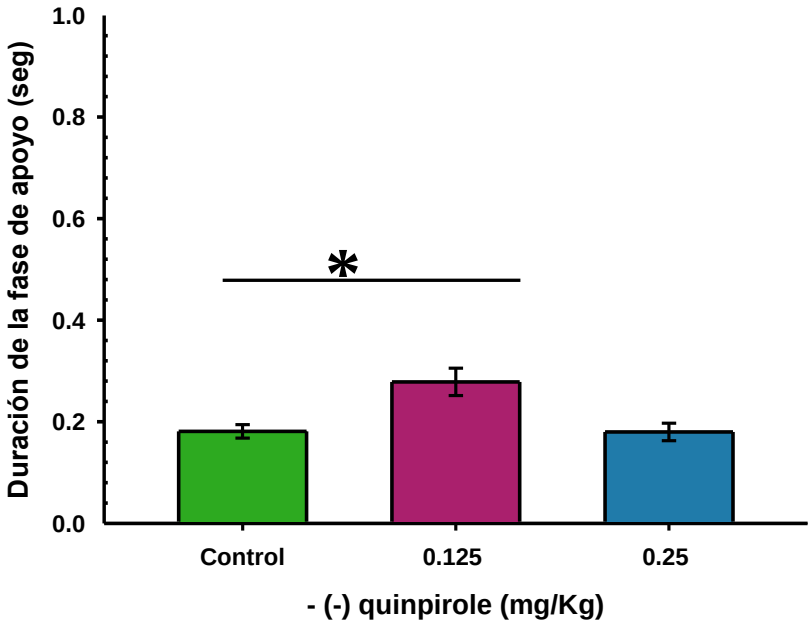


Figura 29. Fase de apoyo de las extremidades posteriores. La administración con (-)- quinpirole a la dosis de 0.125 mg/Kg, en las ratas *taiep* incrementó, de manera significativa la duración de la fase de apoyo, con respecto al grupo control (ANOVA, H=14.60, gl=2, *$P<0.001$, seguido de la prueba de Dunn, *$P< 0.05$).

En la Figura 29, la administración de (-)- quinpirole a la dosis de 0.125 mg/Kg, incrementó de manera significativa la duración de la fase de apoyo de las extremidades posteriores con 0.27 segundos (ANOVA, H=14.603, gl=2, *$P<0.001$, seguido de la prueba de Dunn, *$P< 0.05$). No obstante, la administración de (-)- quinpirole a la dosis de 0.25 mg/Kg no aumentó la duración.

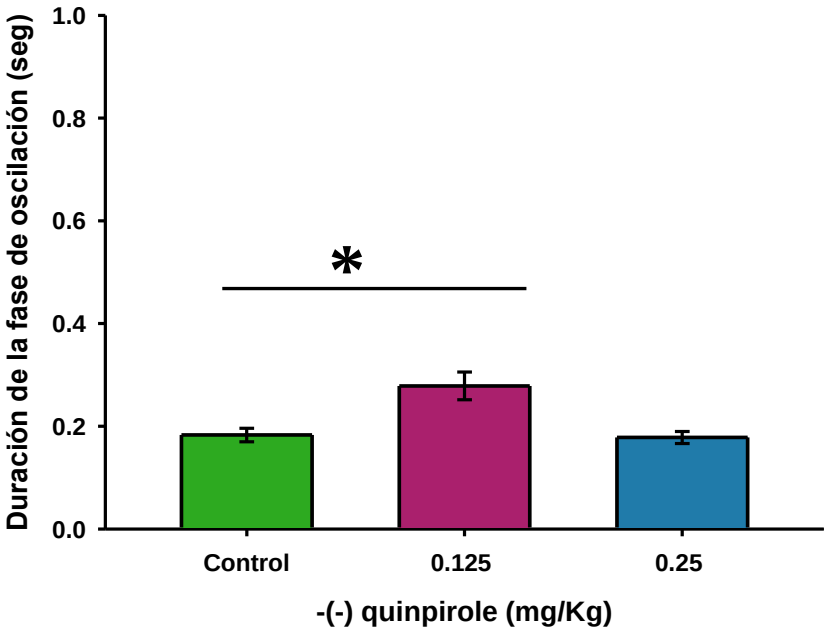
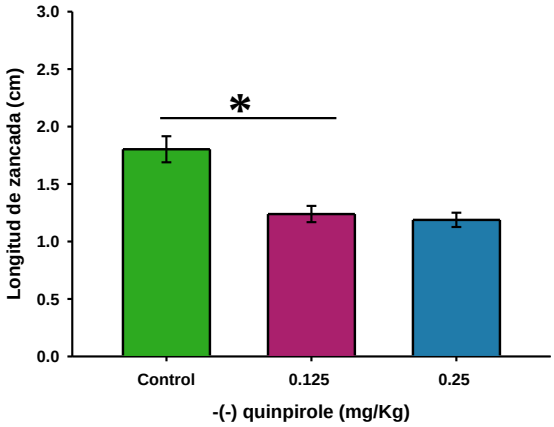


Figura 30. Fase de oscilación de las extremidades posteriores. La administración de (-)- quinpirole a las dosis de 0.125 mg/kg, en las ratas *taiep* macho, produjo una diferencia estadísticamente significativa con respecto al grupo control en la duración de la fase de oscilación de las extremidades posteriores (ANOVA H= 16.754, gl=2, *$P = <0.001$, seguido de la prueba de Dunn, *$P< 0.05$). Con la dosis de 0.25 mg / Kg, no se obtuvo diferencias estadísticamente significativas con respecto al grupo control.

La administración de (-)- quinpirole a la dosis de 0.125 mg/Kg, aumentó la duración de la fase de oscilación de las extremidades posteriores, se obtuvo una diferencia estadísticamente significativa con respecto al grupo control en las ratas *taiep* (ANOVA H = 16.75, gl=2, *$P = <0.001$, seguido de la prueba de Dunn, *$P< 0.05$). Mientras que la dosis de 0.25 mg/Kg no produjo diferencias estadísticamente significativas con respecto al grupo control en las ratas *taiep* macho.



Figuras 31. Longitud de zancada de las extremidades anteriores. Con la administración de (-)- quinpirole a la dosis de 0.125 mg/Kg, en ratas *taiep* macho de tres meses de edad, se obtuvieron reducciones significativas en ambos tratamientos con respecto al grupo control (ANOVA, H=19.60, gl=2, * *P = <0.001*, seguido de la prueba de Dunn, **P< 0.05*).

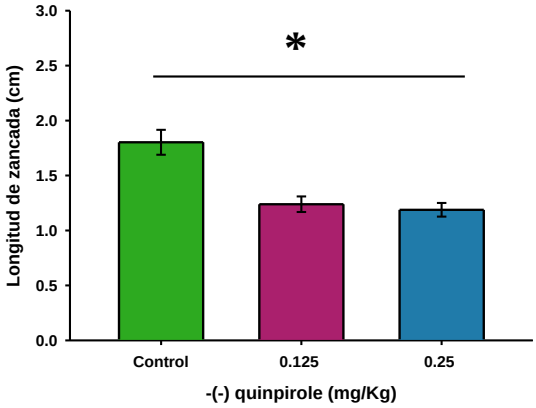


Figura 32 Longitud de zancada de las extremidades anteriores. Con la administración de (-)- quinpirole a la dosis de 0.25 mg/Kg en ratas *taiep* macho de tres meses de edad, se obtuvieron reducciones significativas con respecto al grupo control (ANOVA, H=19.60, gl=2, * *P = <0.001*, seguido de la prueba de Dunn, **P< 0.05*).

En las Figuras 31 y 32 observamos los tratamientos con (-)- quinpirole a las dosis de 0.125 y 0.25 mg/Kg los cuales disminuyeron la longitud de zancada de las extremidades anteriores, se obtuvo un notable retraso del desplazamiento de los miembros anteriores en el recorrido del trayecto. Se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas en ambas dosis con respecto al grupo control en las ratas *taiep* macho (ANOVA, H=19.60, gl=2, * P = *<0.001*, seguido de la prueba de Dunn, **P< 0.05*).

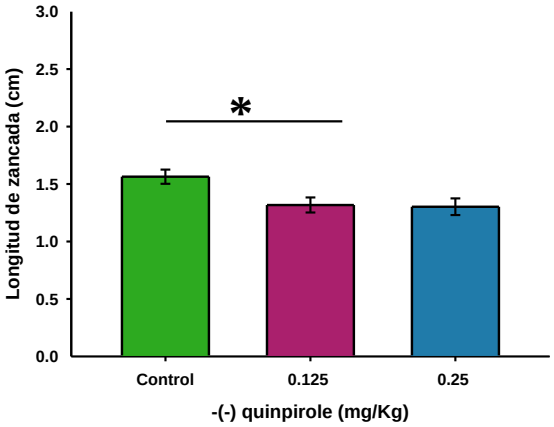


Figura 33. Longitud de zancada de las extremidades posteriores. La administración de (-)- quinpirole a la dosis de 0.125 mg/Kg a las ratas taiep macho, se obtuvo una diferencia estadísticamente significativa con respecto al grupo control (ANOVA, gl=2 * P = <0.013, seguido de la prueba de Dunn, **P<0.05*).

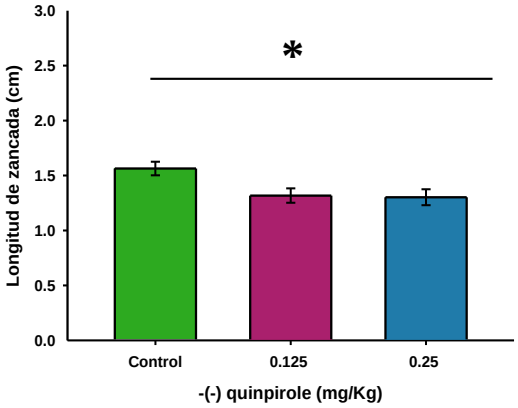


Figura 34. Longitud de zancada de las extremidades posteriores. La administración de (-)- quinpirole a las dosis de 0.25 mg/Kg, a las ratas taiep macho, se obtuvo una diferencia estadísticamente significativa con respecto al grupo control (ANOVA, gl=2 * P = <0.013, seguido de la prueba de Dunn, **P<0.05*).

En las Figuras 33 y 34 se muestran los resultados de los tratamientos de (-)-quinpirole a las dosis de 0.125 y 0.25 mg/Kg las cuales disminuyeron la longitud de zancada de las extremidades posteriores. Por lo que las ratas *taiep* acortaron su distancia del trayecto de las extremidades posteriores tras la administración de (-)-quinpirole, con ambas dosis, produjeron diferencias estadísticamente significativas con respecto al grupo control en las ratas *taiep* macho (ANOVA, gl=2, *P= <0.013, seguido de la prueba de Dunn*, *P< 0.05).*

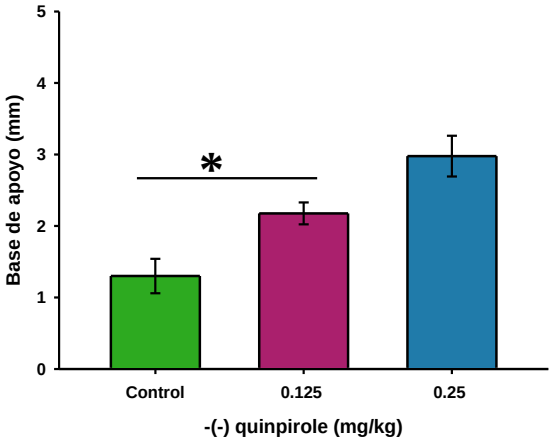


Figura 35. Base de apoyo de las extremidades posteriores. La administración de (-)- quinpirole a las dosis de 0.125 mg/Kg a las ratas *taiep* macho se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas con respecto al grupo control en la base de apoyo de las extremidades posteriores (ANOVA, gl=2, * *P = <0.001*, seguido de la prueba de Duncan, **P< 0.05*).

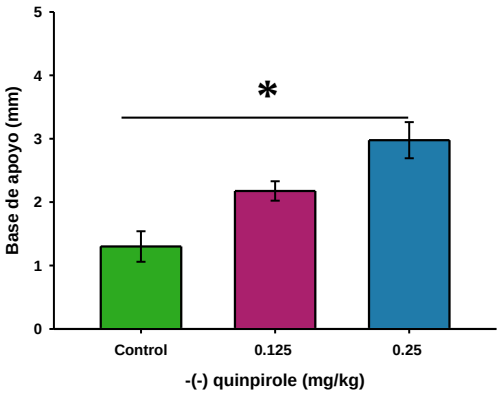


Figura 36. Base de apoyo de las extremidades posteriores. La administración de (-)- quinpirole a las dosis de 0.25 mg/Kg, a las ratas *taiep* macho se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas con respecto al grupo control en la base de apoyo de las extremidades posteriores (ANOVA, gl=2, * *P = <0.001*, seguido de la prueba de Duncan, **P< 0.05*).

En las Figuras 35 y 36 se muestran los resultados de los tratamientos de (-)-quinpirole a las dosis de 0.125 y 0.25 mg/Kg las cuales produjeron diferencias estadísticamente significativas en la base de apoyo entre los dos pares de miembros posteriores. Se puede observar que con la dosis de 0.25 mg/Kg aún más se obtuvo el mejor apoyo con respecto al grupo control en las ratas taiep macho (ANOVA, gl=2, * *P = <0.001*, seguido de la prueba de Duncan, **P< 0.05*).

RESULTADOS DEL AGONISTA DOPAMINERGICO TIPO D_2 (-)- CLORHIDRATO DE APOMORFINA.

Resultados que fueron estadísticamente significativos con respecto al grupo control en las ratas *taiep* macho, donde se evaluaron parámetros dinámicos como estáticos, mostrando la media y el error estándar de las dosis 0.05,0.5 y 1.0 mg/Kg, así como del grupo control.

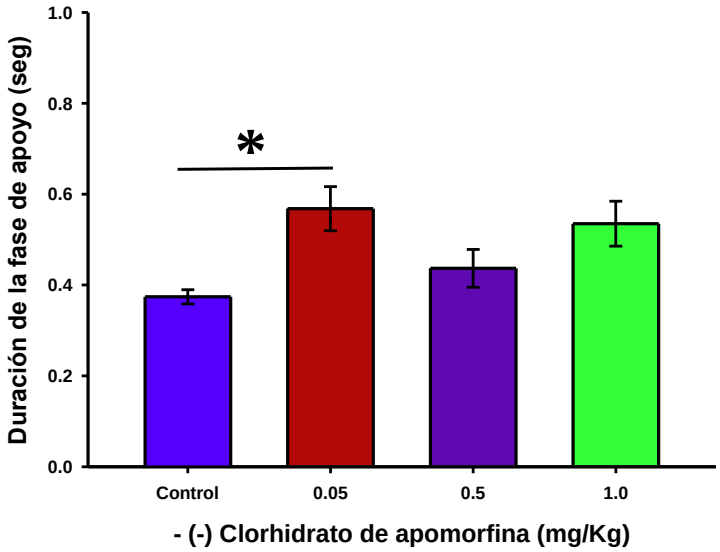


Figura 37. Fase de apoyo de las extremidades anteriores, se administró (-)- apomorfina a la dosis de 0.05 mg/Kg, a las ratas *taiep* macho de tres meses de edad lo cual hubo una diferencia estadísticamente significativa en la duración de la fase de apoyo de las extremidades anteriores con respecto al grupo control (ANOVA, H=12.04, gl=3, P=0.007 seguido de la prueba de Dunn * *P=0.05*). Por lo que las dosis de 0.5 y 1.0 mg/Kg no hubo diferencias estadísticamente significativas con respecto al grupo control en las ratas *taiep* macho.

En la Figura 37 se muestran los resultados de los tratamientos de apomorfina a la dosis de 0.05 mg/Kg, la cual aumentó la duración de la fase de apoyo de las extremidades anteriores, por lo que hubo una diferencia estadísticamente significativa con respecto al grupo control (ANOVA, H=12.04, gl=3 P=0.007 seguido de la prueba de Dunn **P= 0.05*). A diferencia de las dosis de 0.5 y 1.0 mg/Kg que, si aumentaron, pero discretamente la duración de la fase de apoyo, por tanto, no superaron la prueba estadística y no lograron producir diferencias estadísticamente significativas con respecto al grupo control en las ratas taiep macho.

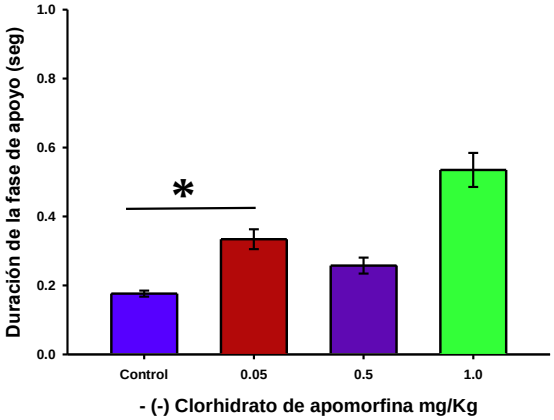


Figura 38. Fase de apoyo de las extremidades posteriores. La administración de (-)- apomorfina a la dosis de 0.05 mg/kg, a las ratas taiep macho de tres meses de edad, la cual hubo una diferencia estadísticamente significativa en la fase de apoyo de las extremidades posteriores con respecto al grupo control (ANOVA, H= 72.46, gl=4, **P=<0.001*, seguido de la prueba de Dunn **P=0.05*).

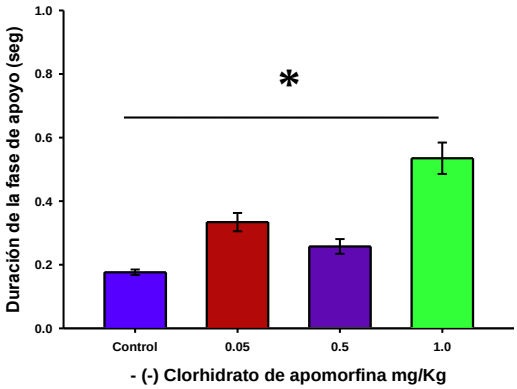


Figura 39. Fase de apoyo de las extremidades posteriores. La administración de (-)- apomorfina a las dosis de 1.0 mg/kg, a las ratas taiep macho de tres meses de edad, la cual hubo una diferencia estadísticamente significativa en la fase de apoyo de las extremidades posteriores con respecto al grupo control (ANOVA, H= 72.46, gl=4, **P=<0.001*, seguido de la prueba de Dunn **P=0.05*).

En las Figuras 38 y 39 los tratamientos con apomorfina a la dosis de 0.05 y 1.0 mg/Kg, aumentó de manera significativa la duración de la fase de apoyo de las extremidades posteriores, con la dosis de 1.0 mg / Kg se obtuvo una notable mejoría, por lo que hubo una diferencia estadísticamente significativa con respecto al grupo control (ANOVA, H=72.46, gl=4 **P=0.001* seguido de la prueba de Dunn **P= 0.05*). A diferencia de la dosis de 0.5 mg/Kg no incrementó la duración de la fase de apoyo, con respecto al grupo control, con las ratas *taiep* macho.

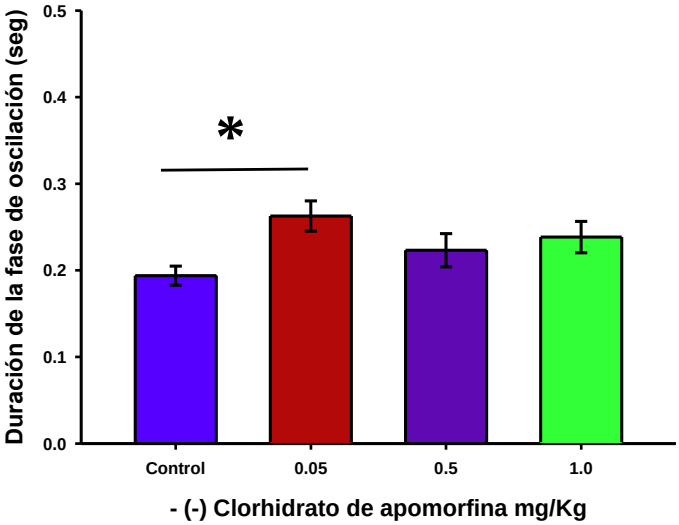


Figura 40. Fase de oscilación de las extremidades posteriores. La administración de (-)-apomorfina a la dosis de 0.05 mg / Kg, en las ratas *taiep* se obtuvo diferencias estadísticamente significativas con respecto al grupo control (ANOVA, H=9.83, gl=3, P=0.020 seguido de la prueba de Dunn **P= 0.05*). La dosis de 0.5 y 1.0 mg / Kg no se obtuvo diferencias estadísticamente significativas con respecto al grupo control.

En la Figura 40 los tratamientos de apomorfina a la dosis de 0.05 mg/Kg, la cual aumento la duración de la fase de oscilación de las extremidades posteriores, con respecto al grupo control (ANOVA, H=9.83, gl=3, P=0.020 seguido de la prueba de Dunn **P= 0.05*). Las dosis de 0.5 y 1.0 mg/Kg no incrementaron la fase de oscilación de las extremidades posteriores, respecto al grupo control en las ratas *taiep*.

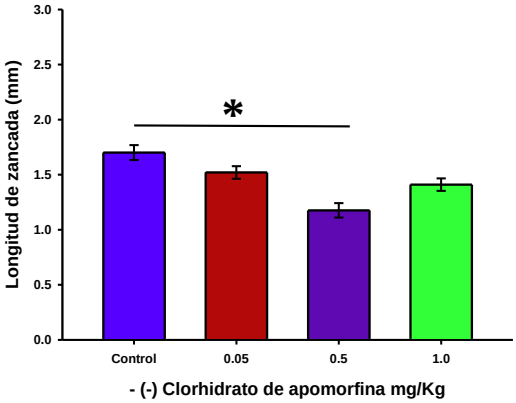


Figura 41. Longitud de zancada de las extremidades anteriores, la administración de (-)- apomorfina a la dosis de 0.5 mg/Kg, en ratas *taiep* macho de tres meses de edad, se obtuvo diferencias estadísticamente significativas con respecto al grupo control en la longitud de zancada de las extremidades anteriores (ANOVA, gl=3, **P=0.001*, seguido de la prueba de Dunn **P=0.05*).

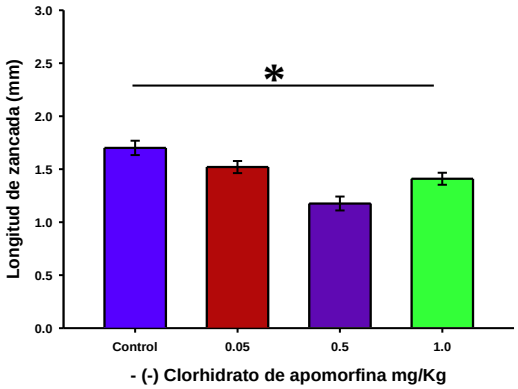


Figura 42. Longitud de zancada de las extremidades anteriores, la administración de (-)- apomorfina a la dosis de 1.0 mg/Kg, en ratas *taiep* macho de tres meses de edad, se obtuvo diferencias estadísticamente significativas con respecto al grupo control en la longitud de zancada de las extremidades anteriores (ANOVA, gl=3, **P=0.001*, seguido de la prueba de Dunn **P=0.05*)

En las Figuras 41 y 42 los resultados obtenidos con apomorfina a las dosis de 0.5 y 1.0 mg/Kg, redujeron significativamente la longitud de zancada de las extremidades anteriores, con respecto al grupo control (ANOVA, gl=3, **P=0.001*, seguido de la prueba de Dunn **P=0.05*). La dosis de 0.05 mg/Kg reduce en forma no significativa la longitud de zancada con respecto al grupo control de las ratas *taiep* macho.

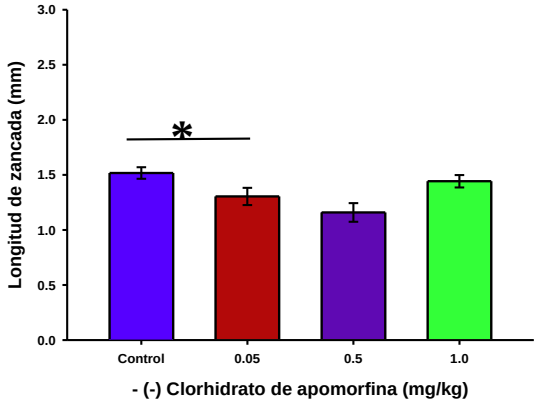


Figura 43. Longitud de zancada de las extremidades posteriores. La administración de (-)- apomorfina a las dosis de 0.05 mg/Kg, a las ratas *taiep* macho se obtuvo diferencias estadísticamente significativas con respecto al grupo control en la longitud de zancada de las extremidades posteriores (ANOVA, H=17.280, gl=3, **P=0.001*, seguido de la prueba de Dunn **P=0.05*).

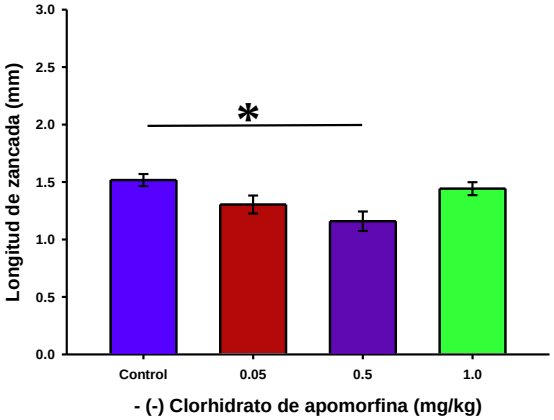


Figura 44. Longitud de zancada de las extremidades posteriores. La administración de (-)- apomorfina a las dosis de 0.5 mg/Kg, a las ratas *taiep* macho se obtuvo diferencias estadísticamente significativas con respecto al grupo control en la longitud de zancada de las extremidades posteriores (ANOVA, H=17.280, gl=3, **P=0.001*, seguido de la prueba de Dunn **P=0.05*).

En la Figura 43 y 44 los resultados de apomorfina a las dosis de 0.05 y 0.5 mg/Kg, acortaron de forma significativa la longitud de zancada de las extremidades anteriores, con respecto al grupo control (ANOVA, H=17.28, gl=3, **P=0.001*, seguido de la prueba de Dunn **P=0.05*). La dosis de 1.0 mg/kg no aumentó la longitud de zancada de las extremidades posteriores no hubo diferencias estadísticamente significativas con respecto al grupo control de las ratas *taiep* macho.

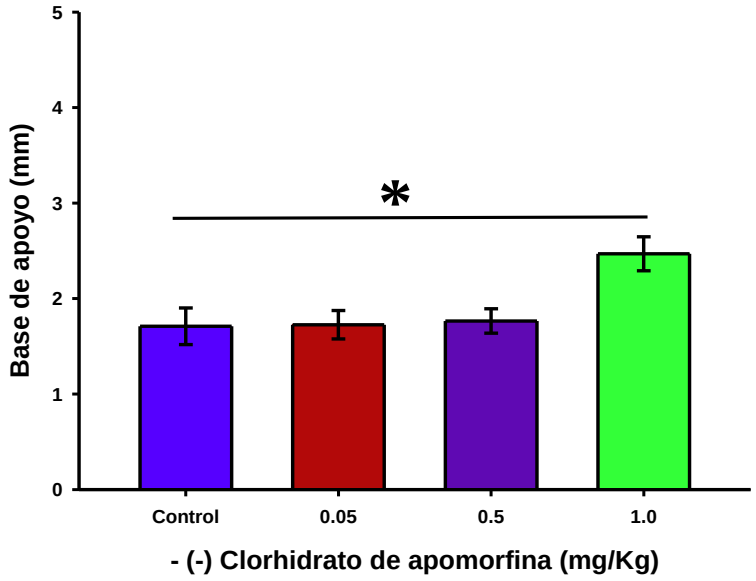


Figura 45. Base de apoyo de las extremidades posteriores. La administración de (-)- apomorfina a la dosis de 1.0 mg/Kg, en las ratas *taiep* macho de tres meses de edad no se obtuvo diferencia estadísticamente significativa con respecto al grupo control (ANOVA, gl=3, **P=0.003*, seguido de la prueba de Dunn **P=0.05*). Las dosis de 0.05 y 0.5 mg/Kg no se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas con respecto al grupo control.

En la Figura 45 se muestran los resultados de apomorfina a las dosis de 1.0 mg/Kg, incrementó la longitud de la base de apoyo de las extremidades posteriores, con respecto al grupo control (ANOVA, gl=3, **P=0.003*, seguido de la prueba de Dunn **P=0.05*).

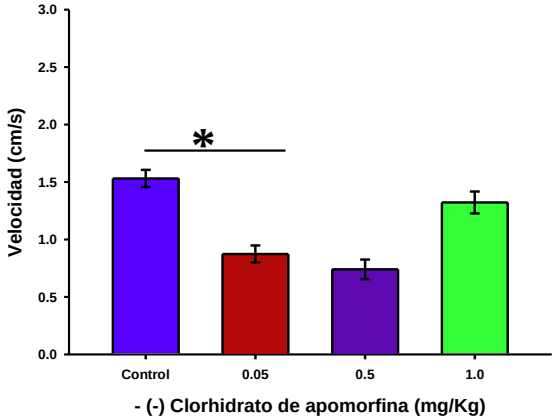


Figura 46. Velocidad de la marcha. La administración de (-)- apomorfina a la dosis de 0.05 mg/Kg, en las ratas *taiep* macho se obtuvo diferencias estadísticamente significativas con respecto al grupo control (ANOVA, gl=3, **P=0.001*, seguido de la prueba de Dunn **P=0.05*).

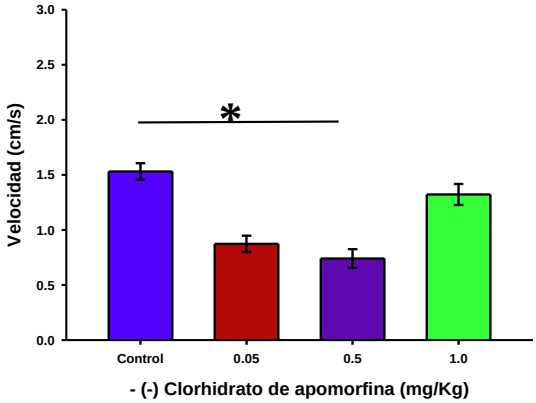


Figura 47. Velocidad de la marcha. La administración de (-)- apomorfina a las dosis de 0.5 mg/Kg, en las ratas *taiep* macho se obtuvo diferencias estadísticamente significativas con respecto al grupo control (ANOVA, gl=3, **P=0.001*, seguido de la prueba de Dunn **P=0.05*).

En la Figura 46 y 47, se muestran los resultados obtenidos tras la administración de apomorfina a las dosis de 0.05 y 0.5 mg/Kg, por lo que se puede observar que la reducción es mayor al 33% para la dosis de 0.05 y del 50% para una dosis diez veces mayor (0.5) (ANOVA, gl=3, **P=0.001*, seguido de la prueba de Dunn **P=0.05*).

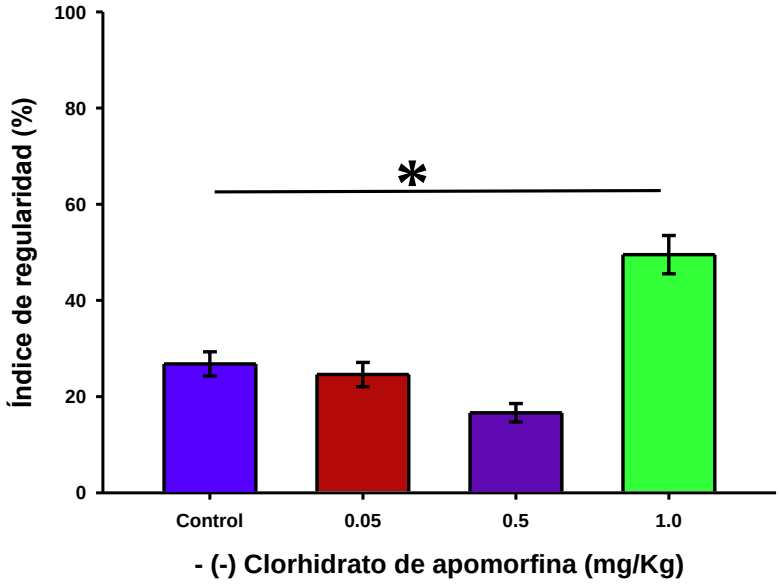


Figura 48. Coordinación de la marcha. La administración de (-)- apomorfina a la dosis de 1.0 mg/Kg, en las ratas *taiep* macho de tres meses de edad, incremento el índice de regularidad, con respecto al grupo control (ANOVA, H=43.299, gl=3 **P=0.001*, seguido de la prueba de Dunn **P=0.05*). En las dosis de 0.05 y 0.5 mg/Kg no se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas con respecto al grupo control.

En la Figura 48, se muestran los resultados de apomorfina a la dosis de 1.0 mg/kg, incremento el porcentaje del índice de regularidad en la coordinación de la marcha, se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas con respecto al grupo control (ANOVA, H=43.299, gl=3, *P=*0.001*, seguido de la prueba de Dunn **P=0.05*). A diferencia de las dosis de 0.05 y 0.5 mg/Kg disminuyeron el porcentaje del índice de regularidad en la coordinación de la marcha, en las ratas *taiep* macho de tres meses de edad.

Tabla 5. Resultados de las dosis que se aplicaron de los agonistas dopaminérgicos - (-) quinpirole y - (-) apomorfina.

Fármaco	Dosis	Fase de apoyo		Fase de oscilación		Longitud de zancada		Base de apoyo		Velocidad	Coordinación
		Ant.	Post.	Ant.	Post.	Ant.	Post.	Ant.	Post.		
Quinpirole	0.125mg/Kg										
	0.25 mg/Kg										
Apomorfina	0.05 mg/Kg										
	0.5 mg/Kg										
	1 mg/Kg										

Tabla 5: Resultados de los efectos de las distintas dosis de los agonistas dopaminérgicos (-)-quinpirole y (-)- apomorfina de las ratas taiep macho. Las flechas en color anaranjado indican un aumento en cada parámetro, tanto de las extremidades anteriores como posteriores, mientras que las flechas de color verde indican un descenso en cada parámetro, los signos en igual indican que no hubo resultados estadísticamente significativos con respecto a los grupos control, por otro lado, las estrellas de color rojo indican que hubo diferencias estadísticamente significativas en los resultados que se indica.

DISCUSIÓN

El análisis de la marcha se ha convertido en una herramienta de evaluación viable que tiene aplicaciones en el deporte, la rehabilitación física, la vigilancia, el reconocimiento humano en la investigación biomecánica básica, se ha expandido hasta convertirse en un instrumento muy valioso en el diagnóstico clínico, el seguimiento de la recuperación funcional y en la rehabilitación musculoesquelética (Klöpfer y cols., 2020; Jarchi y cols., 2018).

Se han desarrollado pruebas diferentes para analizar la marcha en animales de laboratorio, que van desde la puntuación de la locomoción espontánea en un campo abierto (Tarlov y Klinger, 1954; Basso y cols.,1995) hasta tareas específicas como la viga estrecha (Walker y cols., 1998), caminata en una cuerda (Kim y cols., 2001; Berg y cols., 2003), pasarela en cuadrícula o escalera horizontal (Berger y cols., 1990), registros electromiográficos (Yakovleff y cols., 1995; Lohn herr y cols., 1997), análisis de las huellas (Bagden y cols., 1993; Fouad y cols., 2000y de manera automatizada los estudios de pasarela Catwalk (Hamers y cols., 2001).

Es así como en la presente tesis se empleó un análisis sofisticado de marcha "Catwalk" para evaluar los parámetros dinámicos y estáticos (Ver nota en pág.92) de la marcha en una rata con alteraciones de la mielina.

Esta tesis se suma a los estudios de la evaluación de fármacos dopaminérgicos de la clase D_2 a los que pertenecen (-)- quinpirole y (-)- apomorfina, teniendo como modelo experimental a la rata *taiep*, que es un mutante de mielina, que presenta al primer mes de vida una hipomielinización, la cual es seguida por una desmielinización progresiva de los axones del sistema nervioso central (Duncan y cols.,1992; Lunn y cols.,1997).

Se ha demostrado una modulación prolongada de la dependencia del estado utilizando agonistas y antagonistas farmacológicos de sistemas de neurotransmisores seleccionados que se sabe son importantes en la generación de la locomoción (Rossignol y Barbeau.,1993). La característica definitoria de la generación de patrones centrales que se considera más crítica es su capacidad

para generar patrones repetitivos de actividad recíproca entre los músculos extensores y flexores de manera consistente en ausencia de cualquier entrada descendente supraespinal (Matthews, 1972, 1991; Kandel y cols., 2012).

La investigación en este campo puede contribuir al desarrollo de estrategias farmacológicas novedosas para la recuperación funcional en pacientes con lesión de la médula espinal (Guertin, 2016). Los generadores de patrones centrales (CPG) se han estudiado más en modelos animales reducidos, incluidas preparaciones aisladas *in vitro*, ratones modificados genéticamente, en animales espinales (Guertin, 2016), como lo es en esta tesis con el modelo experimental "*taiep*".

Se ha demostrado que compuestos farmacológicos desencadenan la actividad de generadores de patrones centrales después de una lesión de médula espinal en diversos animales, con varias familias de compuestos, incluidos los agonistas de los receptores para el glutamato, la serotonina, la dopamina y la noradrenalina las cuales pueden provocar de forma aguda actividad rítmica o actividad locomotora en ausencia de entradas aferentes fásicas a la médula espinal (Fedirchuk y cols.,1998).

La dopamina es un neuromodulador de monoaminas que es bien conocido por la selección de acciones en vertebrados a través del control de circuitos directos e indirectos de los ganglios basales que expresan los receptores D1 excitadores e inhibidores D_2, respectivamente (Cai, 2006; Cazalets, 1922).

Los fármacos agonistas de la dopamina aumentan la locomoción, el olfateo y otros comportamientos (Ljungberg y Ungerstedt 1976; Sharp y cols., 1987), los animales a los que se les administra quinpirole, (Gehlert y cols., 1992; Levant y cols.,1992; Freedman y cols.,1994; Merchant y cols;1996), experimentan un período de supresión locomotora antes de que se observen elevaciones locomotoras (Eilam y Szechtman 1989; Van Hartesveldt y cols.,1992). La supresión locomotora inducida por el quinpirole se observa no solo a dosis bajas del fármaco, (0.1 mg/Kg) como podría esperarse si la supresión del comportamiento se debiera a las reducciones mediadas por autorreceptores en la liberación de dopamina (Koller y cols., 1987; Eilam y Szechtman, 1989).

Cuando se administraba el fármaco quinpirole por vía intraperitoneal a las ratas taiep, se les dejaba alrededor de 30 min, para que su metabolismo absorbiera el quinpirole y posteriormente a eso se le sometía a evaluación en el aparato del sistema Catwalk. Por lo que los hallazgos indican que probablemente el quinpirole si suprime la marcha, por tal motivo se tenía que dejar pasar 30 min, para que las ratas taiep lograrán superar dicha "depresión dopaminérgica" y de esa manera probar que el quinpirole estaba haciendo efecto sobre la marcha en las ratas *"taiep"*, al obtener una mejoría en los parámetros de la marcha especialmente en la fase de apoyo y oscilación de los miembros posteriores a una dosis de 0.125 mg/Kg. Por lo que esta tesis refuerza el estudio que hicieron Eilam y Szechtman en 1989 y Van Hartesveldt en 1992 al demostrar que los fármacos agonistas de dopamina como el quinpirole experimentaban un periodo se supresión locomotora antes de que se observara elevaciones locomotoras. Tal como se observó en el presente estudio. Por otro lado, se observó el quinpirole si logró suprimir la longitud de zancada de miembros anteriores como posteriores, como la velocidad y la coordinación en ambas dosis de 0.125 y 0.25 mg/Kg, por lo que estos parámetros no fueron beneficiosos en la marcha de la rata *taiep*, con esto se refuerza el estudio de Koller y colaboradores y Eilam y Szechtman de que no solo a dosis bajas del fármaco se suprime la locomoción si no también a una dosis más alta como lo es a 0.25 mg/Kg.

En dosis moderadas a altas de quinpirole (0.5 a 10 mg/Kg), los animales muestran patrones bifásicos de actividad locomotora en los que la locomoción puede suprimirse hasta 60 minutos antes de que se expresen los efectos locomotoras-excitadores del fármaco (Eilam y Szechtman 1989; Van Hartesveldt 1997). Se menciona que en el presente estudio no se registró esa supresión debido a que se registró dosis que estuvieron debajo de los 0.5 mg/Kg de quinpirole.

El mecanismo específico que subyace a este efecto supresor locomotor temprano del quinpirole es objeto de interés y de debate en la actualidad (Stahle, 1992; Waddington 1993; Wu y cols.,1993; Frantz y Van Hartesveldt, 1995; Van Hartesveldt 1997).

La presente tesis tuvo como objetivo evaluar los efectos de dos agonistas dopaminérgicos de la clase D_2 (-)-apomorfina y (-)- quinpirole en la marcha del mutante de mielina *taiep.*

De acuerdo a los resultados obtenidos en la presente tesis el agonista tipo D_2 (-) quinpirole administrado a la dosis de 0.125 mg/Kg produjo un aumento en la duración de la fase de apoyo de los miembros anteriores, aunque estadísticamente no fue significativo, por lo que si demostró diferencias estadísticamente significativas en la duración de la fase de apoyo de las extremidades posteriores. Lo que favorece la fase de apoyo con las extremidades posteriores que con las anteriores. De acuerdo a la literatura citada, no existe argumentos con respecto a que el quinpirole favorece específicamente la fase de apoyo de las extremidades posteriores, pero hay estudios que señalan, que el quinpirole posee múltiples efectos bifásicos de actividad locomotora antes de que expresen los efectos locomotores como lo señala Eilam, Szechtman y Van Hartesveldt, por otra parte en otros estudios se señala que el quinpirole es un modulador endógeno de la actividad locomotora espinal según Clemens y cols.,2012, por lo que se puede considerar que la fase de apoyo de las extremidades posteriores se vio aún más favorecida que con la de los miembros anteriores debido a que el quinpirole es un receptor de tipo D2 y es un modulador de la dopamina que posiblemente ejerció su efecto más en la zona lumbar de la medula espinal, donde quizá también es aquí donde opera los CPG´s desde centros más inferiores.

Con la dosis de 0.25 mg/Kg del agonista dopaminérgico quinpirole, no hubo diferencia significativa respecto al grupo control, por lo cual no se obtuvo un efecto en la duración de la fase de apoyo en las extremidades anteriores como posteriores de las ratas *taiep*.

Con quinpirole a la dosis de 0.125 mg/Kg, se obtuvo una diferencia estadísticamente significativa, lo que demuestra una mejora en la duración de la fase de oscilación de las extremidades posteriores con respecto a las ratas del grupo control.

Se han demostrado ejemplos de una modulación más prolongada de la dependencia del estado utilizando agonistas y antagonistas farmacológicos de

sistemas de neurotransmisores seleccionados que se sabe que son importantes en la generación de la locomoción (Rossignol y Barbeau, 1993).

Un ejemplo es la modulación dependiente de la fase de la respuesta al tocar el dorso de la pata, que induce una acción flexora en la extremidad ipsilateral durante la fase de oscilación, pero extensión durante la fase de apoyo (Forssberg, 1979).

De esta manera se puede determinar que los receptores dopaminérgicos suelen estar más involucrados en las regiones lumbosacras de la médula espinal para la generación de movimiento, esto explica por qué en las regiones anteriores de la fase de oscilación, no se produjeron diferencias estadísticamente significativas, por lo que se demuestra que la dopamina produce ritmos dependientes de la concentración en vertebrados como en invertebrados y por lo tanto, el estado de la red puede verse afectado por el tono modulador dependiendo de la dopamina (Clements y cols., 2012).

El agonista dopaminérgico tipo D_2 quinpirole a las dosis de 0.125 y 0.25 mg/Kg, produjo una disminución en la longitud de zancada tanto en extremidades anteriores como posteriores, lo que puede deberse a que el agonista dopaminérgico D_2 quinpirole suprime un conjunto de interneuronas denominadas V2a que son necesarias para la generación de ritmo locomotor (Kimira y cols., 2006). Al igual que hay estudios que demuestran los receptores dopaminérgicos inhiben las motoneuronas de la médula espinal a nivel torácico lumbar, lo cual afecta a los músculos extensores y limita su amplitud en el ciclo de la marcha (Guertin y Steuer, 2015).

El agonista quinpirole incrementó la base de apoyo de las extremidades posteriores tras la administración de la dosis de 0.125 mg/kg, siendo la dosis de 0.25 mg/Kg, que mejor tuvo efecto en el rendimiento locomotor de la rata *taiep*, una mejor base de apoyo entre los dos pares de patas de los miembros posteriores.

El agonista dopaminérgico tipo D_2 (-)- quinpirole no produjo diferencias estadísticamente significativas en la velocidad de la marcha y no mejoró la

coordinación en la marcha tras la administración de quinpirole a ambas concentraciones en las ratas *taiep*, por lo que no hubo efecto alguno.

Estudios demuestran que la dopamina parece tener efectos más complejos, por lo que concentraciones bajas (0.1-10 µM) resultan en un aumento en la frecuencia locomotora, concentraciones más altas (10-100 µM) ralentizan el ritmo y concentraciones tan altas como 100 µM-1 mM pueden suprimir el ritmo (Harris y Cohen, 1985; McPherson y Kemnitz, 1994; Schotland y cols , 1995; Svensson y otros, 2003).De esta manera se puede argumentar que dentro de los mecanismos que ejerció el quinpirole tras su administración es un efecto inhibidor en las motoneuronas capaces de generar los movimientos de alternancia en ambas extremidades.

En cuanto a los resultados tras la administración a las dosis de 0.5 y 0.33 mg/Kg de quinpirole, se observó que las ratas *taiep*, presentaban depresión al respirar, por tanto, la conducta motora de la marcha se vio afectada, al no permitir que el animal deambulara a largo de la pasarela del sistema de análisis Catwalk. Por lo que se reporta que no se obtuvieron registros a estas dosis (Ver nota de la pág. 79-80).

Los estudios *in vitro* como los preclínicos muestran que, debido a sus fracciones de catecol y 2-aminotetraleína, la apomorfina es un agonista de DA de amplio espectro, que actúa sobre los receptores de tipo D1 (D1 y D5), como en la de tipo D2 (D2, D3, D4). Colpaert y cols.,1976; Andén y cols.,1967; Schechter y cols.,1987).

Considerada como un agonista modelo para los receptores estriatales; Neumeyer y Lal,198; Soukers y Lal,1975).

La apomorfina, en un agonista de dopamina (DA) no ergolina y no selectiva, muestra interacciones complejas dentro de los receptores de dopamina (DA) cerebrales presinápticos y postsinápticos (Colpaert y cols., 1976; LeWitf, 2004; Millan y cols., 2002; Rodríguez y Castro,1991).Estudios demuestran que tiene un efecto bifásico, con dosis bajas (0.5 mg /Kg) que actúan preferentemente sobre los receptores presinápticos con una alta afinidad por los autorreceptores, reducciones en la transmisión de dopamina y el comportamiento inhibitorio asociado como lo es la

sedación (Colpaert y cols.,1976; Andén y cols.,1967; Rodríguez y Castro, 1991). Mientras que a dosis más altas (1 mg/Kg), la apomorfina es un agonista parcial de los receptores postsinápticos, lo que conduce a un aumento de la transmisión de dopamina (Cousini y cols.,1987; Austin y cols., 2000).

La apomorfina es un agonista directo del receptor tipo D_2 de dopamina, que provoca conductas motoras espontáneas, como la locomoción, la rotación y conductas estereotipadas, cuando se administra a roedores en dosis generalmente superiores a (0.5 mg / Kg). Sin embargo, los efectos estimulantes del aparato locomotor de este compuesto no se presentan a dosis bajas, como (0.1 mg / Kg).

La evidencia ha demostrado que la apomorfina tiene efectos bifásicos sobre las actividades locomotoras, con dosis altas aumentan la actividad locomotora y dosis bajas la disminuyen (Stromborn,1976; Thoornberg y Moore,1976). Aunque se considera que el efecto estimulante del aparato locomotor se debe a la activación de los receptores de dopamina postsinápticos en el prosencéfalo (Kelly y cols.,1975; Robers y cols.,1975).

Por eso mismo la velocidad no aumento, puesto que las dosis que se emplearon fueron bajas (0.05 mg/Kg y 0.5 mg/Kg) y de acuerdo a Stromborn,1976; Thoornberg y Moore,1976 las dosis que son bajas no producen aumentos en la locomoción y a pesar que la dosis de 1 mg/Kg no fue lo suficientemente alta para poder haber logrado una diferencia estadísticamente sigue quedándose por debajo del grupo control sin establecer alguna diferencia estadística.

El efecto supresor del aparato locomotor con dosis bajas se ha atribuido a la activación selectiva de los autorreceptores de dopamina presentes en las neuronas de dopamina, que da como resultado la inhibición de la descarga eléctrica de las neuronas de dopamina y una reducción de la síntesis y liberación de la dopamina. (Brown y cols.,1985; Costa y cols.,1972; Grooves y cols.,1975, Strecker y cols.,1987; Zetterstorm y Ungerstedl,1984). Por tanto, se cree que dosis bajas de apomorfina producen una disminución de la actividad locomotora en un campo abierto a través de una disminución del tono dopaminérgico (Liu y Brener,1996).

En la presente tesis obtuvimos que la (-)- apomorfina produjo diferencias estadísticamente significativas, en la duración de la fase de apoyo de las extremidades anteriores a la dosis de 0.05 mg/Kg, con un mayor tiempo de apoyo. Lo que se determina que las ratas *taiep* tienden a permanecer más tiempo de apoyo con las extremidades anteriores a la dosis de 0.05 mg/Kg. Se dice este argumento por el análisis estadístico que se hizo y se explicó anteriormente de que las ratas mantienen más tiempo estar apoyadas con las extremidades anteriores a la dosis de 0.05 mg/Kg, en el piso del sistema Catwalk que, con las posteriores, esto es debido a los datos que se registraron en el Catwalk, para generar la base de datos y elaborar el análisis estadístico y poder llegar a dicha observación.

En cuanto a los resultados obtenidos de la fase de apoyo de las extremidades posteriores podemos ver que hubo diferencias estadísticamente significativas con respecto al grupo control a las dosis de 0.05 y 1.0 mg/Kg, siendo la dosis de 1.0 mg/Kg la que incrementó la duración de la fase de apoyo de las extremidades posteriores.

Los resultados con apomorfina a las distintas concentraciones empleadas no produjeron diferencias estadísticamente significativas, en la duración de la fase de oscilación en las extremidades anteriores.

En el presente trabajo la apomorfina a las dosis de 0.5 y 1.0 mg/Kg, ejerció diferencias estadísticamente significativas, sin embargo, disminuyeron su longitud de zancada en las extremidades anteriores, tras la administración con apomorfina. Esto puede ser debido a como se dijo anteriormente que a dosis bajas la actividad locomotora no aumenta (Stromborn,1976; Thoornberg y Moore,1976). En cambio, nótese que a las dosis de 0.05 y 0.5 mg/Kg indujeron diferencias estadísticamente significativas en la disminución de la longitud de zancada de las extremidades posteriores.

Estudios demuestran los receptores dopaminérgicos inhiben las motoneuronas de la médula espinal a nivel torácico lumbar, lo cual afecta a los músculos extensores y limita su amplitud en el ciclo de la marcha (Guertin y Steuer, 2015).

Se analizó los efectos del agonista en la base de apoyo de las extremidades anteriores, lo que los resultados nos indican, es que no se obtuvo diferencias estadísticamente significativas, pero cuando se analizaron los efectos sobre la marcha a la dosis de 1.0 mg/Kg produjo diferencias estadísticamente significativas en la distancia de la base de apoyo de las extremidades posteriores. Los resultados muestran que se obtuvo un mejor apoyo entre los dos pares de miembros posteriores, esto es debido a que las ratas mostraron mejor desempeño en la marcha con los miembros posteriores al momento de apoyarse con el piso del Catwalk.

La velocidad como parámetro dinámico de la marcha a las dosis de 0.05 y 0.5 mg/Kg, las cuales produjeron diferencias estadísticamente significativas. Los resultados evaluados nos indican que la velocidad disminuyó a las distintas concentraciones de apomorfina (0.05 y 0.5 mg/Kg), mientras que la velocidad para la dosis de 1.0 mg/Kg fue igual que la del grupo control por lo que no hay diferencias estadísticas.

Estudios nos indican que la dopamina inhibe la actividad locomotora provocada por la raíz ventral ,que puede estar mediada por ese circuito , a través de la señalización del receptor D_2 , se plantea la hipótesis de que las interneuronas V_3 pueden ser un *locus* celular para la inhibición mediada por D_2 de la actividad de la red espinal y de acuerdo con Lambert (2016) los niveles más bajos de dopamina liberados durante la actividad tónica activan los receptores D_2 inhibidores de mayor afinidad y suprimen la producción motora (Falgorolle y Donovan,2019; Lambert; 2016).

Durante la locomoción, la modulación del tiempo, esto en la velocidad de locomoción, también puede estar mediada por señales a través del funículo ventrolateral (Shik y cols.,1969).

Estudios demuestran que algunas células reticuloespinales V2a en ratones y similares a V2a en lampreas detienen la locomoción mediada por los CPG´s (Bouvier y cols., 2015; Juvin y cols., 2016).

El ultimo parámetro que se evaluó es el índice de regularidad de la marcha a la dosis de 1.0 mg/Kg la cual produjo diferencias estadísticamente significativas, por lo que incrementó la regularidad del ciclo de la marcha, mientras que con las dos dosis (0.05 y 0.5 mg/Kg), no se produjeron cambios estadísticamente significativos. Esto indica que el fármaco aplicado a una concentración de 1.0 mg/Kg incrementó la coordinación en las ratas *taiep* macho de tres meses de edad. Esto se determina porque fue la dosis que incrementó con un hasta 10% del grupo control en la coordinación de la marcha

En diversos estudios se ha mostrado en preparaciones *in vitro* aisladas de la médula espinal de ratas neonatas, que la estimulación del funículo ventrolateral a nivel del segmento torácico proporciona entradas excitadoras a las motoneuronas cervicales, lo que sugiere un papel en la coordinación entre la extremidad anterior-posterior (Reed y Magnuson, 2013; Miller y cols., 1973; Juvin y cols., 2005).

En ratas adultas, los hallazgos clínicamente relevantes revelaron que la excitación neuroquímica de las neuronas propioespinales torácicas mejora la marcha de las patas traseras en ratas adultas con lesiones de la médula espinal (Cowley y cols., 2015).

De acuerdo a los resultados de esta tesis el agonista dopaminérgico (-)- quinpirole incrementó significativamente la duración de la fase de apoyo de las extremidades posteriores, como también incrementó la duración de la fase apoyo de las extremidades anteriores, incrementado la duración de la fase de apoyo de las extremidades posteriores.

De acuerdo a los resultados de la presente tesis el agonista dopaminérgico apomorfina, ejerció efectos estadísticamente significativos en la duración de la fase de apoyo de las extremidades anteriores, y de las extremidades posteriores.

Se puede observar en los resultados que hubo diferencias significativas en la longitud de zancada de las extremidades anteriores y de las posteriores con ambos agonistas.

Cabe resaltar que, de los dos fármacos, solo la apomorfina tuvo un efecto significativo sobre los parámetros dinámicos de la marcha, aunque redujo la velocidad, pero aumentó la coordinación.

CONCLUSIONES

El agonista dopaminérgico D_2 (-)- quinpirole, mejora el apoyo en la fase de apoyo con las extremidades posteriores con la dosis de 0.125 mg/Kg, produjo un mejor equilibrio al elevar las extremidades posteriores, sin que se mejorara la velocidad y la coordinación de la macha. Esto implica que (-)- quinpirole parece mejorar más el equilibrio en la marcha de la rata *taiep* y que podría ser un fármaco de segunda elección para el tratamiento al poder reducir las recurrencias en los trastornos de la marcha, causados por la desmielinización de los axones.

Se concluye que la longitud de zancada, acorto la distancia recorrida entre los dos pares de miembros posteriores como anteriores, por lo que no mejoro la marcha y no indujo cambios en la mejora de la distancia recorrida de ambas extremidades tanto anteriores como posteriores.

Por lo que el quinpirole, podría mejorar el desplazamiento entre los miembros posteriores y ser un medicamento auxiliar para reducir la aparición temprana de síntomas.

El agonista dopaminérgico (-)- apomorfina, mejora el apoyo de las extremidades anteriores a una dosis con acción preferencial presináptica de 0.05 mg/Kg con respecto al grupo control, de igual manera la apomorfina mejoró el apoyo de las extremidades posteriores a la dosis de 0.05 mg Kg y aún más a la dosis de 1.0 mg/Kg. Por otro lado, la (-)- apomorfina mejoró la duración en la suspensión en el aire de las extremidades posteriores con la dosis de 0.05 mg/Kg, al parecer los efectos de la apomorfina parecen ejercer influencia en las zonas lumbares de la médula espinal en las ratas *taiep* macho de tres meses de edad.

Las ratas *taiep* macho tiene un mejor apoyo con las extremidades posteriores a una dosis de 1.0 mg/Kg. Por otro lado, esta dosis aumentó el índice de regularidad de la marcha de las ratas *taiep.* Se concluye que la apomorfina mejoró el ritmo de la marcha de la rata *taiep* al incrementar la fuerza de sostén de los miembros posteriores y la coordinación entre ambas extremidades. También se concluye que no hubo aumento en la longitud de zancada de ambas extremidades, por tanto, la

apomorfina no es un medicamento útil para tratar la mejora en el desplazamiento de una marcha fluida.

Con esto se puede apoyar que la apomorfina y el quinpirole pueden servir como tratamientos de segunda elección para reducir las recurrencias en la enfermedad de esclerosis múltiple, causada por la desmielinización de los axones.

PERSPECTIVAS

- Evaluar un mayor rango de parámetros dinámicos como estáticos en la marcha del mutante de mielina *taiep.*
- Evaluar otros agonistas dopaminérgicos con acción selectiva sobre los receptores de la familia D_2 en la marcha de la rata *taiep*, que por el momento no se especifica.
- Realizar un análisis por inmunohistoquímica a nivel espinal o en la región locomotora mesencefálica en el modelo murino *taiep*, después de haber administrado el fármaco correspondiente o montar un electrodo en el centro locomotor mesencefálico y estimularlo para ver si induce cambios en la marcha.

Anexo

RESULTADOS NO ESTADISTICAMENTE SIGNIFICATIVOS DEL AGONISTA DOPAMINERGICO TIPO D_2 (-)- CLORHIDRATO DE QUINPIROLE.

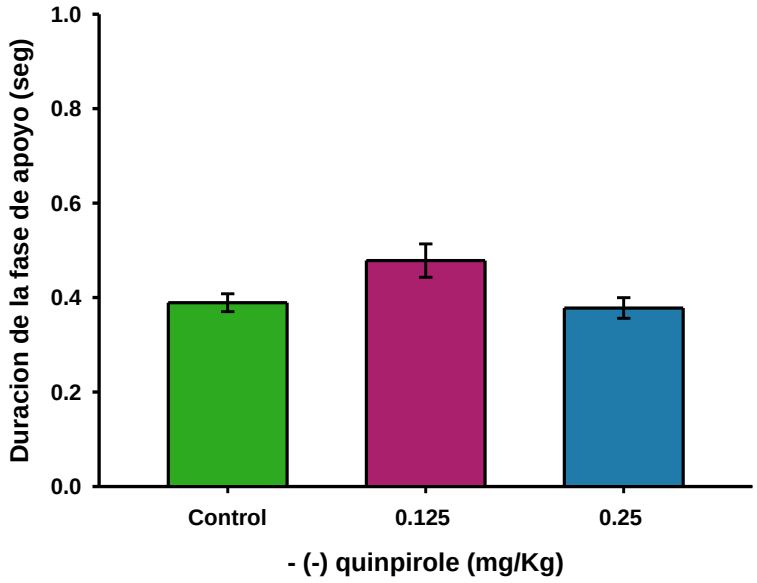


Figura 49. Fase de apoyo de las extremidades anteriores. El quinpirole a las dosis de 0.125 y 0.25 mg/Kg en las ratas *taiep* macho de tres meses de edad, no se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas con respecto al grupo control en la duración de la fase de apoyo en las extremidades anteriores (ANOVA, H= 5.46, gl= 2, P = 0.065).

En la Figura 49, se muestran los tratamientos tras la administración de (-) - quinpirole a la dosis de 0.25 mg/Kg no aumentó la duración de la fase de apoyo de las extremidades anteriores; y a la dosis de 0.125 mg/kg no se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas con respecto al grupo control (ANOVA, H= 5.46, gl= 2, P = 0.065).

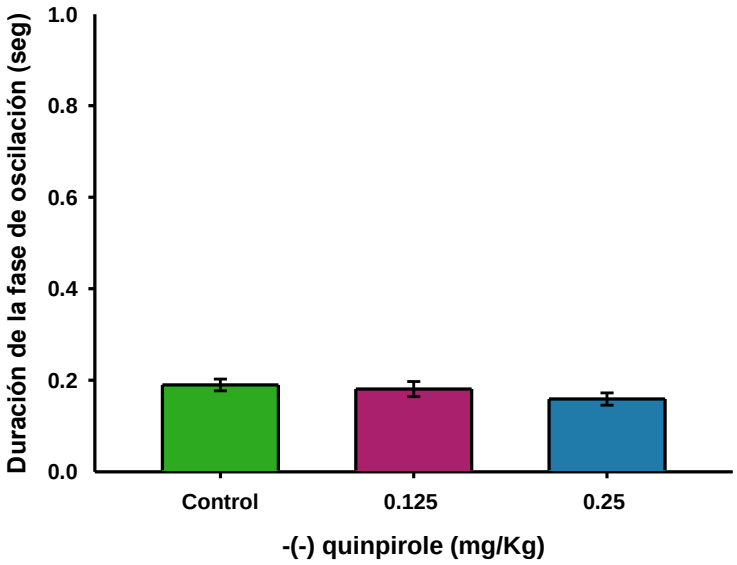


Figura 50. Fase de oscilación de las extremidades anteriores. La administración de (-)- quinpirole a las dosis de 0.125 mg/Kg y 0.25 mg/Kg en las ratas *taiep* macho no se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas con respecto al grupo control (ANOVA, H=5.01, gl=2, P=0.08).

En la Figura 50 se muestran los resultados obtenidos con la administración de (-)-quinpirole a las dosis de 0.125 mg/Kg y 0.25 mg/Kg las cuales no aumentaron la duración de la fase de oscilación de las extremidades anteriores con respecto al grupo control en las ratas *taiep* macho (ANOVA, H=5.01, gl=2, P=0.081).

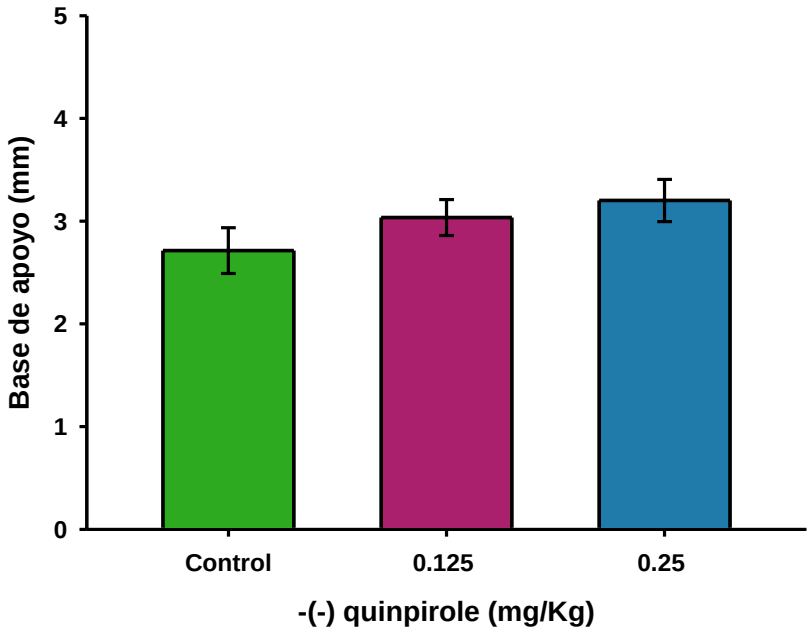


Figura 51. Base de apoyo de las extremidades anteriores. La administración de (-)- quinpirole a las dosis de 0.125 y 0.25 mg/Kg, a las ratas *taiep* macho no se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas con respecto al grupo control en la base de apoyo de las extremidades anteriores (ANOVA, H=2.989, gl=2, P = 0.224).

En la figura 51 se muestran los resultados de los tratamientos de (-)- quinpirole a las dosis de 0.125 y 0.25 mg/Kg las cuales, muestran tener una tendencia a incrementar en la distancia recorrida, pero no hay una diferencia significativa en la base de apoyo entre los dos pares de miembros anteriores, en las ratas taiep macho (ANOVA, H=2.98, gl=2, P = 0.224).

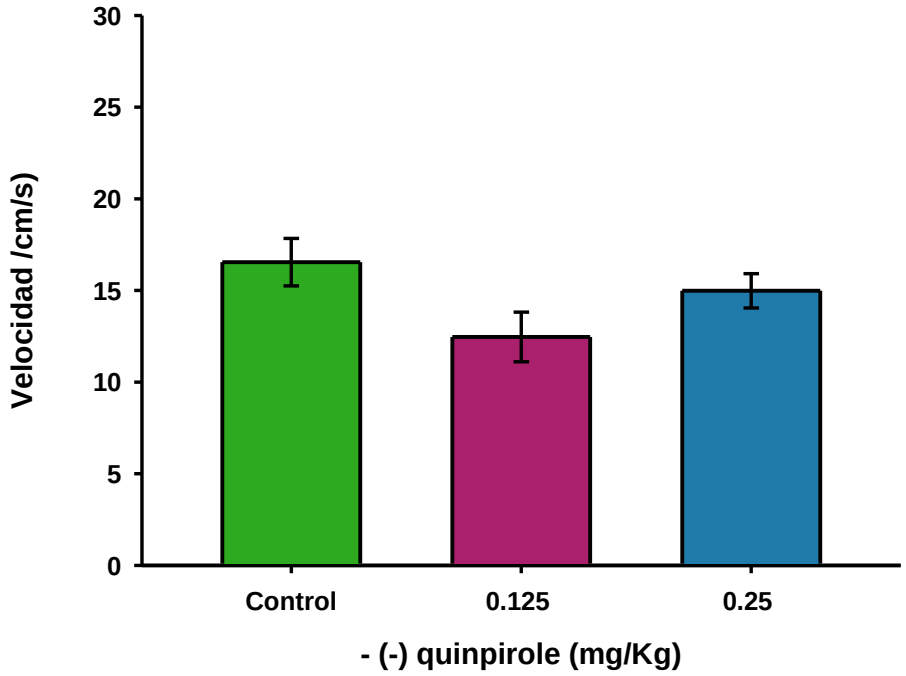


Figura 52. Velocidad de la marcha. La administración de (-)- quinpirole a las dosis de 0.125 mg/Kg y 0.25 mg/Kg a las ratas taiep macho de tres meses de edad, se puede observar que no se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas con respecto al grupo control en la velocidad de la marcha (ANOVA, H=4.83, gl=2, P= 0.089).

En la Figura 52 se muestran los resultados de los tratamientos de –(-) quinpirole a las dosis de 0.125 y 0.25 mg/Kg los cuales disminuyeron la velocidad de la marcha, pero para la dosis de 0.125, se puede observar que hay una notable tendencia a reducir la velocidad, por lo que no hay diferencias estadísticamente significativas con respecto al grupo control, en las ratas taiep macho (ANOVA, H=4.830, gl=2, P= 0.089).

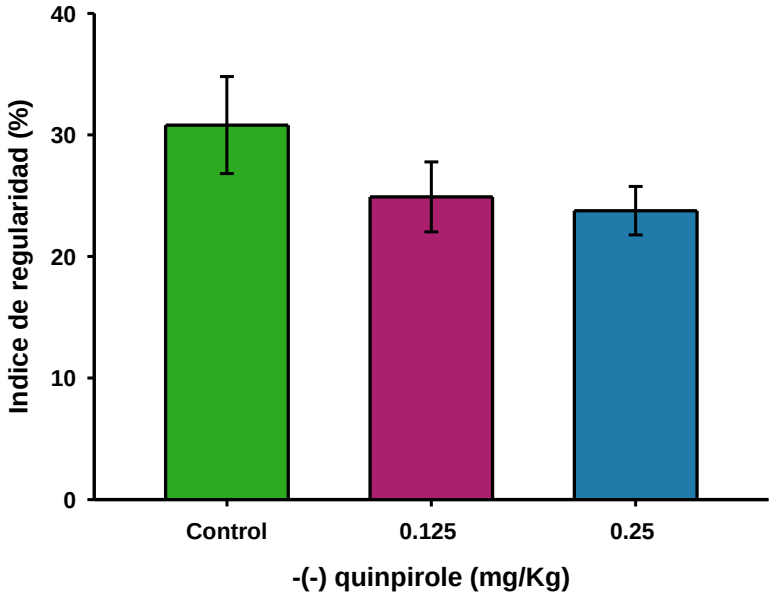


Figura 53. Coordinación de la marcha. La administración de (-)- quinpirole a las dosis de 0.125 mg /Kg y 0.25 mg / Kg en las ratas *taiep* macho de tres meses de edad, que no se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas con respecto al grupo control en el índice de regularidad de la marcha (ANOVA, gl=2, P= 0.195).

En la Figura 53 se muestran los resultados de los tratamientos de (-)- quinpirole a las dosis de 0.125 y 0.25 mg/kg los cuales no aumentaron la coordinación de la marcha, con respecto al grupo control en las ratas *taiep* (ANOVA, gl=2, P= 0.195).

Para los resultados de quinpirole a las dosis de 0.33 y 0.5 mg/Kg (ver páginas 79 y 89).

RESULTADOS NO ESTADISTICAMENTE SIGNIFICATIVOS DEL AGONISTA DOPAMINERGICO TIPO D_2 (-)- CLORHIDRATO DE APOMORFINA.

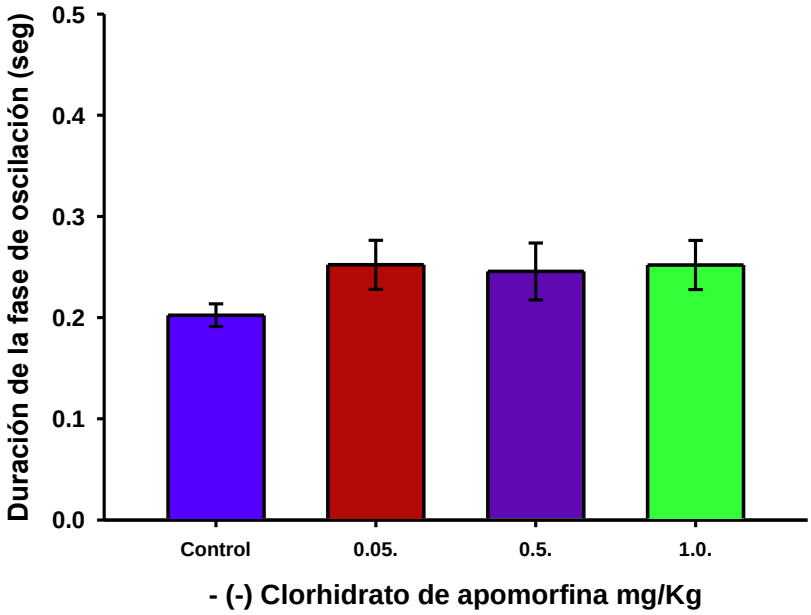


Figura 54. Fase de oscilación de las extremidades anteriores, la administración de apomorfina a las dosis de 0.05, 0.5 y 1.0 mg/Kg, en las ratas *taiep* macho de las cuales no se obtuvo diferencias estadísticamente significativas con respecto al grupo control (ANOVA, H=0.70, gl=3, P=0.872).

En la Figura 54 el tratamiento con apomorfina a la dosis de 0.05, 0.5 y 1.0 mg/Kg, las cuales aumentaron la duración de la fase de oscilación de las extremidades posteriores, pero no se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas con respecto al grupo control en las ratas *taiep* macho (ANOVA, H=0.70, gl=3, P=0.872).

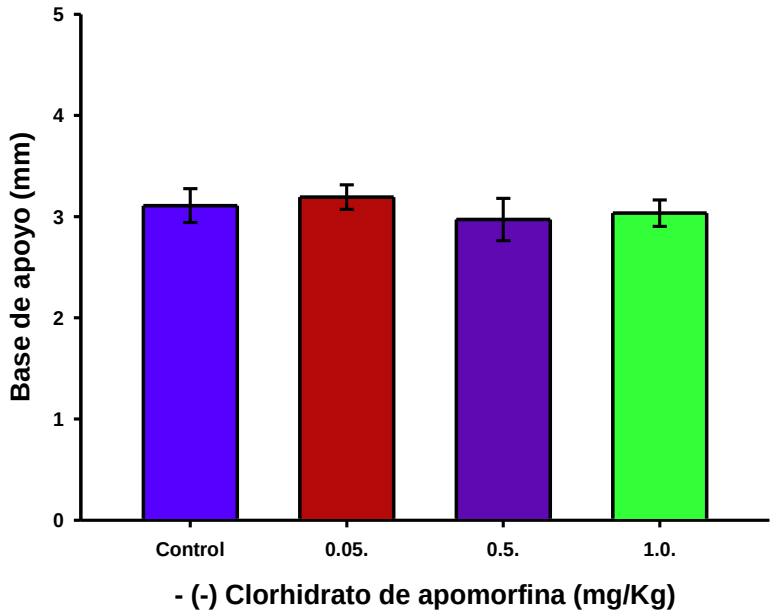


Figura 55. Base de apoyo de las extremidades anteriores. Se administró apomorfina a la dosis de 0.05, 0.5 y 1.0 mg/kg, a las ratas taiep macho de tres meses de edad, las cuales no hubo diferencias estadísticamente significativas con respecto al grupo control (ANOVA, H=17.280, gl=3, P=0.921).

En la figura 55 se muestran los resultados de apomorfina a las dosis de 0.05, 0.5 y 1.0 mg/Kg, por lo que se muestra que no hay incrementos en la longitud de la base de apoyo de las extremidades anteriores, por lo tanto, no se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas con respecto al grupo control (ANOVA, H=17.28, gl=3, P=0.921).

REFERENCIAS

Albanese, A., Cassetta, E., Carretta, D., Bentivoglio, A. R., Tonali, P. (1995). Acute challenge with apomorphine in Huntington's disease: a double-blind study. *Clinical neuropharmacology*, **5**:427–434.

Alireza, M., Alexander, J. S. (2005). Inflammatory Disorders of the Nervous System. *Springer*. *Advances in Experimental Medicine and Biology,* **15**:1-337.

Arat, M., Arslan, O., Gürman, G., Dalva, K., Ozcan, M., Uğur, A., Ilhan, O. (2004). The impact of granulocyte colony stimulating factor at content of donor lymphocytes collected for cellular immunotherapy. *Official journal of the European Society for Haemapheresis*, **30**:9–15.

Arshavsky, Y.I., Orlovsky, G.N., Perret, C. (1988). Activity of rubrospinal neurons during locomotion and scratching in the cat. *Behav Brain Res*, **28**:193–199.

Aggarwal, S., Yurlova, L., Simons, M. (2011). Central nervous system myelin: structure, synthesis and assembly. *Trends in cell biology*, **21**, 585–593.

Argiolas, A., Hedlund, H. (2001). The pharmacology and clinical pharmacokinetics of apomorphine SL. *BJU Int*, **3**:18–21.

Arppe, A. E. (1845). Ueber eine merkwürdige Veränderung des Morphins durch Schwefelsäure. *Liebig's Annalen der Chemie und Pharmacie*, **LV**: 96.

Ambrosini, E., Remoli, M. E, Giacomini, E., Rosicarelli, B., Serafini, B., Lande, R., Coccia, E. M. (2005). Los astrocitos producen quimiocinas que atraen

células dendríticas in vitro y en lesiones de esclerosis múltiple. *Revista de Neuropatología y Neurología Experimental*, **64:** 706-715.

Amsler, C. (1923). Beiträge zur Pharmakologie des Gehirns. Naunyn-Schmiedebergs. *Arch Exp Pathol Pharmakol*, **97**:1-14.

Andén, N. E., Rubenson, A., Fuxe, K., Hökfelt, T. (1967). Evidence for dopamine receptor stimulation by apomorphine. *The Journal of pharmacy and pharmacology*, **19**:627-629.

Anderson, D. P. (1935). Apomorphia Hydrochloride. *Canadian Medical Association Journal*,**1**:74–75.

Anderson T. (1853). On the constitution of codeine and its product of decomposition. *Trans R Soc Edinb*, **20**:57–86.

Antonini, A. (2009). Apomorphine and levodopa infusion therapies for advanced Parkinson's disease. *Journal of movement disorders*,**1**: 4–9.

Auffret, M., Drapier, S., Vérin, M. (2018). Pharmacological Insights into the Use of Apomorphine in Parkinson's Disease: Clinical Relevance. *Clinical drug investigation*, **4**: 287–312.

Austin, M. P., Mitchell, P. Hadzi, D., Hickie, I., Parker. G, Chan, J., Eyers, K. (2000). Effect of apomorphine on motor and cognitive function in melancholic patients: a preliminary report. *Psychiatry Res*, **2–3**:207–15.

Ayyappa, E. (1997). Locomoción humana normal. Parte 1: Conceptos básicos y terminología. *Journal Prótesis Orthot*, **9**:10–17

Basso, D. M., Beattie, M. S., Bresnahan, J. C. (1995). A sensitive and reliable locomotor rating scale for open field testing in rats. *Journal of neurotrauma*, **12:** 1–21.

Beeler, J. A., Frazier, C. R., Zhuang, X. (2012). Putting desire on a budget: dopamine and energy expenditure, reconciling reward and resources. *Frontiers in integrative neuroscience*, **6**, 49.

Bertorello A, Aperia., A. (1990) Short-term regulation of Na , K( )-ATPase activity by dopamine. *Am J Hypertens*, **3**:51S–54S.

Berkowitz, A. L. (2020). "Enfermedades desmielinizantes del sistema nervioso central", en *Neurología clínica y neuroanatomía, Un enfoque basado en la localización*. *McGraw-Hill Education*:419-430.

Bettelli, E., Korn, T., Kuchroo, V. K. (2007). Th17: the third member of the effector T cell trilogy. *Current Opinion in Inmunology*, **19**: 652–657.

Bhidayasiri, R. and Tarsy, D. (2012) "Adrenoleukodystrophy", in Movement Disorders*, A Video Atlas*: 138–140.

Bos, R., Sadlaoud, K., Boulenguez, P., Buttigieg, D., Liabeuf, S., Brocard, C., Vinay, L. (2013). Activation of 5-HT2A receptors upregulates the function of the neuronal K-Cl cotransporter KCC2. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, ***110***:348-353.

Borison, H. L., Wang, S. C. (1953). Physiology and pharmacology of vomiting. *Pharmacol Rev*, **2**:193–230.

Bourgeois, J. B. V. (1874). De l'Apomorphine, recherches cliniques sur un nouvel émétique. *A. Delahaye*: 61.

Bourneville, D. M., Bricon, P. (1885). Manuel des injections sous-cutanées, 2ème édition revue et augmentée. *A Delahaye, E. Lecrosnier*.

Bonavia, R., Bajetto, A., Barbero, S., Pirani, P., Florio, T., Schettini, G. (2003). Chemokines and their receptors in the CNS: expression of CXCL12/SDF-1 and CXCR4 and their role in astrocyte proliferation. *Toxicology letters*, **139**:181-189.

Butt, S.J., Harris-Warrick, R.M., Kiehn, O. (2002a). Firing properties of identified interneuron populations in the mammalian hindlimb central pattern generator. *J. Neurosci*, **22**:9961–9971.

Butt, S.J., Lebret, J.M., and Kiehn, O. (2002b). Organization of leftright coordination in the mammalian locomotor network. Brain Res. Brain Res. Rev, **40**:107–117

Brenton, J. N., Banwell, B. L. (2016). Therapeutic Approach to the Management of Pediatric Demyelinating Disease: Multiple Sclerosis and Acute Disseminated Encephalomyelitis. *Neurotherapeutics: the journal of the American Society for Experimental NeuroTherapeutics*, **13**:84–95.

Burkman, A. M. (1963). Loss of biological activity of apomorphine from auto-oxidation. *J Pharm Pharmacol*,**15**:461.

Byrnes, E. M., Bridges, R. S., Scanlan, V. F., Babb, J. A., Byrnes, J. J. (2007). Sensorimotor gating and dopamine function in postpartum

rats. *Neuropsychopharmacology: official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, **32**:1021–1031.

Caldeira, V. Dougherty, K. J, Borgius, L. Kiehn, O. (2017) Spinal Hb9: Cre derived excitatory interneurons contribute to rhythm generation in the mouse. *Sci Rep*, **7**:41369.

Cameron, M. H., Wagner, J. M. (2011). Anomalías de la marcha en la esclerosis múltiple: patogénesis, evaluación y avances en el tratamiento. *Informes actuales de neurología y neurociencia*, **11**: 507–515.

Charcot, J. (1868). Histologie de la sclerose en plaques. *Gazette Hôpitaux*, **41**:554.

Chaudhuri, K. R., Rizos, A. y Sethi, K. D (2013). Complicaciones motoras y no motoras en la enfermedad de Parkinson: ¿un argumento a favor de la administración continua de fármacos? *Revista de transmisión neuronal,* **9**:1305–1320.

Chavarrín, G.M., Santos, E.R., García, G.M.., Aguilar, T.C., Saldaña, B. A. (2014) Desarrollo de la vía dopaminérgica nigroestriatal*. Archivos de Neurociencia,* **19**:19.

Chen, Y. K., Lin, H. C., Liu, J. C., Wan, F. J. (2001). Potent, hydroxyl radicalscavenging effect of apomorphine with iron and dopamine perfusion in rat striatum. *Brain Res*,**1–2**:165–8.

Chouppe. (1875). Quelques recherches sur le mode d'action des vomitifs les plus employés. *Lyon Med*, **XVIII**:168.

Clarac, F. (2008). Some historical reflections on the neural control of locomotion. *Brain Res. Rev*, **57**: 13–21.

Clarac, F. Pearlstein, E. (2007). Invertebrate preparations and their contribution to neurobiology in the second half of then 20th C. *Brain Res. Rev*, **54**: 113–161.

Clarke, K. A. Parker, A. J. A. (1986). Quantitative study of normal locomotion in the rat. *Physiol. Behav*, **38**:345-35.

Cracco, J. B. y Cracco, R. Q. (1982). Potenciales evocados somatosensoriales espinales: estudios clínicos y de maduración. *Anales de la Academia de Ciencias de Nueva York*, **388**:526–537.

Compston A., Coles, A. (2008). Multiple sclerosis, **372**:1502–1517.

Cools, A. R. (2001). Commentary on: "Mode of action of apomorphine and dexamphetamine on gnawing compulsion in rats." *Psychopharmacology*,**13:** 222–223.

Colpaert, F. C., Van, W. F., Leysen, J. E. (1976). Apomorphine: chemistry, pharmacology, biochemistry. *Int Rev Neurobiol*,**19**:225–68.

Corsini, G. U., Onali, P., Masala, C., Cianchetti, C., Mangoni, A., Gessa, G. (1978). Apomorphine hydrochloride-induced improvement in Huntington's chorea: stimulation of dopamine receptor. *Archives of neurology*, **1**: 27–30.

Constantinescu, C. S., Farooqi, N., O'Brien, K. y Gran, B. (2011). Encefalomielitis autoinmune experimental (EAE) como modelo para la esclerosis múltiple (EM). *Revista británica de farmacología*, **164**:1079–1106.

Corsini, G. U., Piccardi, M. P., Bocchetta, A., Bernardi, F., Del, Z., M. (1981). Behavioural effects of apomorphine in man: dopamine receptor implications. In: Corsini, G. U., Gessa, G. L. editors. Apomorphine and Others Dopaminomimetics. *2nd ed. New York: Raven Press*:1–11.

Costall, B., Naylor, R. J., Neumeyer, J. L. (1975). Diferencias en la naturaleza del comportamiento estereotipado inducido por derivados de apomorfina en la rata y en sus acciones en áreas extrapiramidales y mesolímbicas del cerebro. *Revista europea de farmacología*, **1**:1–16.

Cortés, M. del C., Gavito, B., Ita, M. L., Valencia, J., Eguibar, J. R. (2005). Characterization of the spontaneous and gripping-induced immobility episodes on taiep rats. *Synapse*, **58**: 95–101.

Cotzias, G. C., Van Woert, M. H., Schiffer, L. M. (1967). Aromatic amino acids and modification of parkinsonism. *The New England journal of medicine*, **7**: 374.

Couve E., Cabello J. F., Krsulovic J., Roncagliolo M. (1997). Binding of microtubules to transitional elements in oligodendrocytes of the myelin mutant taiep rat. *J. Neurosci. Res*, **47:**573–581.

Cucarián, J. D., Leon, L. A., Luna, G. A., Torres, M. R., Corredor, K., Cardenas, P., Fernando. D. C. (2017). Caracterización temporo-espacial del patrón de marcha en roedores como modelo animal de lesión cerebrovascular. *Acta Biológica Colombiana,* **3**:307-321.

Cunningham, G. J. (2014). Fisiología Veterinaria: control central del movimiento. Klein, G.B., Cunnigham.G.J.5ta Ed. *Elsevier Saunders*:91-96.

David, C. (1875) Contribución al estudio fisiológico del clorhidrato de apomorfina. *Lausana: L. Vincent.*

Delcomyn, F. (1977). Coordination of invertebrate locomotion. Mechanics and Energetics of Locomotion, *Chapman and Hall*: 82–114.

Dent, J. Y. (1934). Apomorphine in the treatment of anxiety states, with special reference to alcoholism. *British Journal of Inebriety*, **32**:65–88.

De Weill, E. (1884). l'apomorphine dans certains troubles nerveux. *Lyon Med*, **47**:411–8.

Ding, B., Frisina, R. D., Zhu, X., Sakai, Y., Sokolowski, B., Walton, J. P. (2014). Direct control of Na+-K+-2Cl−-cotransport protein (NKCC1) expression with aldosterone. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, **306**: C66-C75.

Dordoni, F. (1948). Sugli effete dell'associazione morfina-apomorfina nel cane. II. L'apomorfina e l'ipertono da decerebrazione. *Boll. Soc.ital. biol. sper*, **24**:231-233.

Douglas, D. B. (1986). El alcoholismo como adicción: El concepto de enfermedad reconsiderado. Diario de tratamiento de abuso de sustancias, **2**:115-120.

Drapier, S., Eusebio, A., Degos, B., Vérin, M., Durif, F., Azulay, J. P., Viallet, F., Rouaud, T., Moreau, C., Defebvre, L., Fraix, V., Tranchant, C., Andre, K., Courbon, C. B., Roze, E., Devos, D. (2016). Quality of life in Parkinson's

disease improved by apomorphine pump: the optipump cohort study. Journal of neurology,**6**:1111–1119.

Drew, T., Marigold, D.S. (2015). Taking the next step: cortical contributions to the control of locomotion. *Curr. Opin. Neurobiol*. **33**, 25–33.

Düby, S. E., Cotzias, G. C., Papavasiliou, P. S., Lawrence, W. H. (1972). Injected apomorphine and orally administered levodopa in Parkinsonism. *Archives of neurology*,**6**: 474–480.

Duncan, I. D. (1990). Dissection of the phenotype and genotype of the X-linked myelin mutants. *Annals of the New York Academy of Sciences,* **605**:110-121.

Duncan. I.D., Lunn. K. F., Holmgreen. B., Urba-Holmgreen. R., Brignolo-Holmes, L. (1992) La rata *taiep*: Un mutante de mielina con un defecto microtubular oligodendrocitos asociado. *J Neurocytol*, **21**: 870-884

Duncan, I. D., Marik, R. L., Broman, A. T., Heidari, M. (2017). Thin myelin sheaths as the hallmark of remyelination persist over time and preserve axon function. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **114**: E9685–E969.

Durand, D. (1984). The somatic shunt cable model for neurons. *Biophysical journal*, **46**, 645–653.

Edwards, I. J., Bruce. G., Lawrenson, C., Howe, L., Clapcote. S. J., Deuchars, S. A., Deuchars, J. (2013) Na /K ATPase alpha1 and alpha3 isoforms are differentially expressed in alpha- and gamma-motoneurons. *Journal Neuroscience*,**33**:9913– 9919

Eguibar, R. J., Cortés, M. del C. (2010). El mutante de mielina Taiep como un modelo de crisis de ausencia. *Gaceta Médica Méxicana,* **146**:1-17.

Eguibar, R. J., Cortés, M. del C., Ugarte., A. León-Chávez A. (2014). The Myelin Mutant Rat Taiep as a Model of Neuroimmunological Disease. *Advances in Neuroimmune Biology*, **5**:9-17.

Eguibar, R. J., Cortés, M. C. (2001). La importancia de los modelos animales para el estudio de las enfermedades de la mielina y del sueño. *Temas Selectos de Neurociencias II, Ed. Javier Velázquez Moctezuma, UAM-PUIS.*

Ellaway, P. H., Taylor, A., & Durbaba, R. (2015). Muscle spindle and fusimotor activity in locomotion. *Journal of anatomy*, **227**:157–166.

Ernst, A. M. (1967). Mode of action of apomorphine and dexamphetamine on gnawing compulsión in rats. *Psychopharcologia*, **4**:316-323.

Ernst, A. M. (1965). Relation between the action of dopamine and apomorphine and their O-methylated derivatives upon the CNS. *Psychopharmacologia*, **6**:391-399.

Ernst, A. M., Smelik, P. G. (1966). Site of action of dopamine and apomorphine on compulsive gnawing behaviour in rats. *Experientia*, **12**:837-838.

Factor, S. A. (2004). Intermittent subcutaneous apomorphine therapy in Parkinson's disease. Literature review. *Neurology*, **4**:S12–7

Feinberg. M., Carroll., B. J. (1979). Effects of dopamine agonists and antagonists in Tourette's disease. *Arch Gen Psychiatry*,**9**:979–985.
Feinberg. M., Carroll., B. J. (1979). Effects of dopamine agonists and antagonists in Tourette's disease. *Arch Gen Psychiatry*, **9**:979–985.

Feldmann, H. (1959) The ambulatory treatment of alcoholic addicts: a study of 250 cases. *Br J Addict Alcohol Other Drugs,* **2**:121–128.

Feldman, F., Susselman, S., Barrera, S. E. (1945). Una nota sobre la apomorfina como sedante. *La revista estadounidense de psiquiatría*,**102**:403–405.

Filippi, M., Bar-Or, A., Piehl, F., Preziosa, P., Solari, A., Vukusic, S., Rocca, M. A. (2018). Multiple sclerosis. *Nature reviews, Disease primers*, **4**: 1-27.

Folland, J. P., Williams, A. G. (2007). The adaptations to strength training : morphological and neurological contributions to increased strength. *Sports medicine Auckland, N.Z*, **37**:145–168.

Foote, A. K., Blakemore, W. F. Repopulation of oligodendrocyte progenitor cell-depleted tissue in a model of chronic demyelination. Neuropathol Appl Neurobiol. 2005; **31**: 374-383.

Ganong, F. W. (2016). “Control reflejo y voluntario de la postura y el movimiento”. *En* Ganong *Fisiología médica.* 23ª ed por Barrett, K. E., Barman, S. M., Boitano, S., Brooks, H. L. McGraw-Hill Education, 241-262.

Garrido, J. M., Delerue, C., Borges, M. F., Macedo, T. R., Oliveira, A. M. (2002). Oxidative behaviour of apomorphine and its metabolites. Bioelectrochemistry, **1–2**:113–4.

Garduno-Robles, A., Alata, M., Piazza, V., Cortes, C., Eguibar, J. R., Pantano, S., Hernández, V. H. (2020). MRI features in a rat model of H-ABC tubulinopathy. *Frontiers in Neuroscience*, **14**: 1–12.

Gee, S. (1869). On the action of a new organic base, apomorphia. *Clin Soc Trans*, **2**:166-169.

Georgiou, T., Islam, R., Holland, S., van der Linden, J., Price, B., Mulholland, P. y Perry, A. (2020). Señalización háptica rítmica utilizando dispositivos portátiles como fisioterapia para la enfermedad de Huntington: estudio de caso. *JMIR rehabilitación y tecnologías de asistencia,* **18**:2-7.

Giesecke, J. (1977). The absolute configuration of apomorphine. *Acta Cryst*, **33**:302-303.

Gómez, D.R. (2017). Efecto de la administración crónica de taurina sobre el aprendizaje-memoria, estrés nitrosativo y expresión de quimiocinas en la rata taiep, en enfermedades desmielinizantes*. Tesis de maestría, Benemérita Universidad Autónoma Del Estado De Puebla, Posgrado en Ciencias Quimicas*:2.

Gopinathan, N.R., Behera, P. (2019). Paso. En: Dhatt, S., Prabhakar, S. Handbook of Clinical Examination in Orthopedics. *Springer, Singapur*.

Gossard, J.P., Brownstone, R.M., Barajon, I., Hultborn, H. (1994). Transmission in a locomotor-related group Ib pathway from hindlimb extensor muscles in the cat. *Exp. Brain Res.* **98**: 213–228.

Graue, W. (2015). Exploración de los reflejos pupilares. En Oftalmología en la práctica de la medicina general. *4ed por Wiechers, G. E. McGraw Hill.*

Grillner, S. (1981). Control of locomotion in bipeds, tetrapods, and fish. Handbook of Physiology – The Nervous System II. J.M. Brookhart and V.B.

Mountcastle, eds. *(Bethesda, USA: American Physiological Society):*1179–1236.

Grillner, S. (1969). The influence of DOPA on the static and the dynamic fusimotor activity to the triceps surae of the spinal cat. *Acta Physiol. Scand*, **77**:490–509.

Grillner, S. (1975). Locomotion in vertebrates: central mechanisms and reflex interaction. *Physiol. Rev,* **55**:247–304.

Grillner, S., Wallen, P. (2004). Innate versus learned movements a false dichotomy? Prog. Brain Res,**143**: 3–12.

Grillner, S., Zangger, P. (1975). How detailed is the central pattern generation for locomotion? *Brain Res*, **88**: 367–371.

Grillner, S., Zangger, P. (1979). On the central generation in the low spinal cat*. Exp. Brain Res,* **34**: 241–261.

Grillner, S., Stein, P.S.G., Stuart, D.G., Forrsberg, H., Herman, R. M. (1986). Neurobiology of Vertebrate Locomotion. *Macmillan Press, London*. Grillner, S., Markram, H., De Shutter, E., Silberg, G., LeBeau, F.E.N. (2005). Microcircuits in action—from CPGs to neocortex. *Trends Neurosci*. **28**, 525–533.

Guo, H., Tang, Z., Yu, .Y., Xu, L., Jin, G., Zhou, J. (2002). Apomorphine induces trophic factors that support fetal rat mesencephalic dopaminergic neurons in cultures. *Euopean Journal Neuroscience*,**16**:1861–70.

Guertin, P.A. Steuer, I. (2009). Key central pattern generators of the spinal cord. *Journal. Neuroscience. Res.* **87**, 2399–2405.

Guertin, P.A., Ung, R.V., and Rouleau, P. (2010). Oral administration of a tri-therapy for central pattern generator activation in paraplegic mice: proof-of-concept of efficacy. *Biotechnol. J,* **5**:421–426.

Guyton, C. A., Hall, E. J. (2011). “Funciones motoras de la medula espinal: los reflejos medulares”. *En tratado de fisiología médica*. 12ª Ed por Bonet, S. B. *Elsevier*, 655-656.

Han. P., Nakanishi, S. T., Tran, M. A., Whelan, P. J. (2007) Dopaminergic modulation of spinal neuronal excitability. *Journal Neuroscience*,**27**:13192–13204.

Haggard, H. W., Greenberg, L. A. (1932). Antidotes for strychnine poisoning. *JAMA*, **14**:1133–1136.

Hamers, F. P., Koopmans, G. C., Joosten, E. A. (2006). CatWalk-assisted gait analysis in the assessment of spinal cord injury. *Journal of neurotrauma*, **23**:3-4.

Hamers, F. P., Lankhorst, A. J., Van Laar, T. J., Veldhuis, W. B., Gispen, W. H. (2001). Automated quantitative gait analysis during overground locomotion in the rat: its application to spinal cord contusion and transection injuries. *Journal of neurotrauma*, **18**:187–201.

Haq, I.U, Lewitt, P. A., Fernández, H. H. (2007). Terapia con apomorfina en la enfermedad de Parkinson: una revisión. *Opinión de expertos sobre farmacoterapia*,**16**:2799–2809.

Hashim, A. G. (1985). Multiple Sclerosis and Allergic Encephalomyelitis. *Pathological neurochemistry,* **177**: 207-208.

Hara, H., Maeda, A., Kamiya, T., Adachi, T. (2013). Protective effects of apomorphine against zinc-induced neurotoxicity in cultured cortical neurons. *Biol Pharm Bull*,**4**:585–91.

Harnack, E. (1874). Ueber die Wirkungen des Apomorphins am Säugethier und am Frosch. *Arch Exp Pathol Pharmakol*, **2**:254-306.

Harrison, R. T. (2018). Enfermedades de la medula espinal, *Principios de Medicina Interna: Trastornos neurológicos.* Hauser, S.L., Ropper, H. A. 18e. *McGraw-Hill Education. New York NY*: 3366.

Harrison, R. T. (2018). Esclerosis múltiple y otras enfermedades desmielinizantes, *Principios de Medicina Interna: Neurología clínica y neuroanatomía.* Cree, B. C., Goodin, D.S., Jameson, J., Fauci, A. S., Kasper, D. L., Hauser, S. L., Longo, D. L., Loscalzo, J. Harrison., 20e. *McGraw-Hill Education. New York NY*: 3395-3409.

Halvorsen, K. A., Martensen, O. (1978). Apomorfina revivida: efecto terapéutico fortalecido, prolongado y mejorado. *La revista internacional de las adicciones*,**13**: 475–484.

Henriksen, T. (2014) Clinical insights into use of apomorphine in Parkinson's disease: tools for clinicians. *Neurodegener Dis Manag*,**4**:271–82.

Hazelwood LA, Free RB, Cabrera DM, Skinbjerg M, Sibley DR (2008) Reciprocal modulation of function between the D1 and D2 dopamine receptors and the Na , K -ATPase. *J Biol Chem,* **283**:36441–36453.

Harris-Warrick, R. M., Cohen, A. H. (1985). Serotonin modulates the central pattern generator for locomotion in the isolated lamprey spinal cord. *The Journal of experimental biology***, 116:** 27–46.

Harris-Warrick, R. M., Marder, E. (1991). Modulation of neural networks for behavior. *Annual review of neuroscience*, **14**, 39–57.

Harris-Warrick R. M. (2011). Neuromodulation and flexibility in Central Pattern Generator networks. *Current opinion in neurobiology*, **21** 685–692.

Henao, L. C., Parra, P. J. (2010). Lesiones medulares y discapacidades: revisión bibliográfica, **10**:157-172.

Hershenson, B. B., Brubaker, E. R. (1947) Scopolamine and apomorphine in labor. *Am J Obstet Gynecol*, **6** :980.

Henriksen, T. (2014). Conocimientos clínicos sobre el uso de apomorfina en la enfermedad de Parkinson: herramientas para los médicos. *Manejo de enfermedades neurodegenerativas*, **3**:271–282.

Höftberger, R., Lassmann, H. (2017). Inflammatory demyelinating diseases of the central nervous system. *Handbook of clinical neurology*, **145:**263–283.

Holmgren, B., Urbá-Holmgren, R., Riboni, L. (1989). Sprague Dawley rat mutant with tremor, ataxia, tonic immobility episodes, epilepsy and paralysis. *Laboratory animal science*, **39**: 226–228.

Horvitz, J., Williams, G., Joy, R. (2001). Acciones dependientes del tiempo del agonista quinpirole de la familia D $_2$ sobre el comportamiento espontáneo en la rata: disociación entre olfateo y locomoción. *Psychopharmacology*, **294**: 350–355.

Howe, M. W., Dombeck, D. A. (2016). Rapid signalling in distinct dopaminergic axons during locomotion and reward. *Nature*, **535**: 505–510.

Illhaa, J., Meireles, A., de Freitas, G.R., do Espiritu Santo, C.C., Pereira, N., Swarowsky, A., Santos, A. (2019). Overground gait training promotes functional recovery and cortical neuroplasticity in an incomplete spinal cord injury model. *Life sciences,* **232**:1-9.

Jarchi, D., Pope, J., Lee, T., Tamjidi, L., Mirzaei, A., & Sanei, S. (2018). A Review on Accelerometry-Based Gait Analysis and Emerging Clinical Applications. *IEEE reviews in biomedical engineering,* **11**: 177–194.

Jankowska, E. (2008). Interneuronal relay in spinal pathways from proprioceptors. *Prog. Neurobiol*, **38:**335–378.

Jones, T. (1885). Hypodermic or Subcutaneous Medication. *Br Med J*, **1291**:581–587.

Jordan, L.M., Liu, J., Hedlund, P.B., Akay, T., Pearson, K.G. (2008). Descending command systems for the initiation of locomotion in mammals. *Brain Res. Rev,***57**:183–191.

Jung, T. D., Jung, P. S., Raveendran, L., Farbod, Y., Dvorkin-Gheva, A., Sakic, B., Surette, M. G., Szechtman, H. (2018). Changes in gut microbiota during development of compulsive checking and locomotor sensitization induced by chronic treatment with the dopamine agonist quinpirole. *Behavioural pharmacology*, **29**: 211–224.

Juvin, L., Simmers, J., and Morin, D. (2005). Propriospinal circuitry underlying interlimb coordination in mammalian quadrupedal locomotion. *Joural Neuroscience*,**25**:6025–6035.

Kaneyama, T., Tomiki, H., Tsugane, S., Inaba, Y., Ichikawa, M., Akiba, H., Yagita, H., Kim, B. S., Koh, C. S. (2014). The TIM-3 pathway ameliorateS Theiler's murine encephalomyelitis virus-induced demyelinating disease. *International immunology*. **26**: 369–381.

Kandel, E. R. (2001). Kandel Principios de neurociencia. 4ª ed. *McGraw-Hill. Madrid, España*:738-754.
Kandel, E.R., Schwartz, J.H., Jessell, T.M., Siegelbaum, S.A., Hudspeth, A.J. (2012). Principles of Neural Science, 5th ed.*New York, USA:McGraw-Hill*: 1709.

Kappos, E. A., Sieber, P. K., Engels, P. E., Mariolo, A. V., D'Arpa, S., Schaefer, D. J., Kalbermatten, D. F. (2017). Validity and reliability of the CatWalk system as a static and dynamic gait analysis tool for the assessment of functional nerve recovery in small animal models. *Brain and behavior*, **7**:1-12.

Karussis, D. (2014). El diagnóstico de la esclerosis múltiple y los diversos síndromes desmielinizantes relacionados: una revisión crítica. *Revista de autoinmunidad*, **48-49**:134-142.

Kasumacic, N., Lambert, F. M., Coulon, P., Bras, H., Vinay, L., Perreault, M. C.,Glover, J. C. (2015). Segmental organization of vestibulospinal inputs to spinal interneurons mediating crossed activation of thoracolumbar motoneurons in the neonatal mouse. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, **35**: 8158–8169.

Katz P. S. (2016). Evolution of central pattern generators and rhythmic behaviours. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences*, **371**.

Kiehn, O. (2016). Decoding the organization of spinal circuits that control locomotion. *Nature reviews. Neuroscience*. **17**: 224–238.

Kakuri M. Omari, Gareth R. John, Stuart C. Sealfon, Cedric S. Raine. (2005). Receptores de quimiocinas CXC en oligodendrocitos humanos: implicaciones para la esclerosis múltiple. *Brain* ,**128**: 1003–1015.

Kiehn, O., Quinlan, K.A., Restrepo, C.E., Lundfald, L., Borgius, L.,Talpalar, A.E., and Endo, T. (2008). Excitatory components ofthe mammalian locomotor CPG. *Brain Res. Rev,* **57**: 56–63.

Knobler, R. L., Lampert, P. W., Oldstone, M. B. (1982). Virus persistence and recurring demyelination produced by a temperature-sensitive mutant of MHV-4. *Nature*, **298**: 279–280.

Klöpfer, K. I., Brand, A., Wackerle, H., Müßig, J., Kröger, I., Augat, P. (2020). Gait analysis - Available platforms for outcome assessment. *Injury,* **51**: S90–S96.

Krakauer, J. W., Ghilardi, M. F., Ghez, C. (1999). Independent learning of internal models for kinematic and dynamic control of reaching. *Nature neuroscience*, **2**: 1026–1031.

Lal, S. (1988). Apomorphine in the evaluation of dopaminergic function in man. *Progress in neuro-psychopharmacology and biological psychiatry Psychiatry*, **2-3**:117-164.

Lal S. (1981). Clinical studies with apomorphine. In: Corsini GU, Gessa G.L, editors. Apomorphine and others dopaminomimetics. *New York: Raven Press*: 1–11.

Laurent, A., Gerhardt, C. (1848). On sulphomorphide and sulphonarcotide, derivatives from morphia and narcotina *Philosophical Magazine Series 3*, **33:** 223, 396-397.

Leon-Chavez, B. A., Guevara, J., Galindo, S., Luna, J.,Ugarte, A.,Villegas, O., Mena, R., Eguibar, J. R., Martinez-Fong, D. (2001). Regional and temporal progression of reactive astrocytosis in the brain of the myelin mutant *taiep* rat. *Brain Res*, **900**: 152-155.

Libert F, Coudore´ F, Richard D, Durif F, Eschalier A. (2005). Development of a gas chromatographic/mass spectrometric method to quantify R (-)-apomorphine, R (-)-apocodeine and R (-)-norapomorphine in human plasma and urine. J Mass Spectrom, **40**:1521–5.

Liu, X., Strecker, R. E., Brener, J. M. (1996). Low doses of apomorphine suppress operant motor performance in rats. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*, **53**: 335–340.

Lim, S. Y., Constantinescu, C. S. (2010). Current and future disease-modifying therapies in multiple sclerosis. *International journal of clinical practice*, **64**: 637–650.

López-Juárez, A., González-Vega, A., Kleinert-Altamirano, A., Piazza, V., Garduno-Robles, A., Alata, M., Villaseñor-Mora, C., Eguibar, J. R., Cortes, C., Padierna, L. C., & Hernandez, V. H. (2021). Auditory impairment in H-ABC tubulinopathy. *The Journal of comparative neurology*, **529**: 957–968.

Lunn, K.F., Clayton, M. K., Duncan, I.D. (1997a) La progresión temporal del defecto de mielina en la rata *taiep. J Neurocytol* **26**: 267-281

Lunn, K. F., Baas, P.W., Duncan, I.D. (1997b) Organización y estabilidad de microtúbulos en el oligodendrocito. *J Neurosci* 17: 4921-4932.

Magee, D.J. (2014). Evaluación de la marcha. Evaluación física ortopédica. *6ta ed.St.Louis Sanders*:981-1016.

Marder, E., Calabresse, R. L. (1996). Principles of rhythmic motor pattern generation. Physiological reviews,**76:**687-717.

Martell, J. M. (2005). Pelvis, cadera y muslo, En: Reide. El examen físico ortopédico. 2da ed *Filadelfia: Saunders*:177-80

Martinez-Martin, P., Reddy, P., Katzenschlager, R., Antonini, A., Todorova, A., Odin, P., Henriksen, T., Martin, A., Calandrella, D., Rizos, A., Bryndum, N., Glad, A., Dafsari, H. S., Timmermann, L., Ebersbach, G., Kramberger, M. G., Samuel, M., Wenzel, K., Tomanschger, V., Storch, A., Chaudhuri, K. R. (2015). EuroInf: un estudio observacional comparativo multicéntrico de la infusión de apomorfina y levodopa en la enfermedad de Parkinson. *Trastornos del movimiento: publicación oficial de la Sociedad de Trastornos del Movimiento*, **4**:510–516.160.

Marigold DS, Drew T. (2011).Contribution of cells in the posterior parietal cortex to the planning of visually guided locomotion in the cat: effects of temporary visual interruption. *J Neurophysiol*,**105**: 2457–2470.

Matsuyama, K., Drew, T. (1997). Organization of the projections from the pericruciate cortex to the pontomedullary brainstem of the cat: a study using the anterograde tracer Phaseolus vulgaris-leucoagglutinin. *J Comp Neurol:* **389:617**–641.

Matthiessen, A., Burnside, W. (1870). Researches into the chemical constitution of the opium bases. Part IV. On the action of chloride of zinc on codeia*. Proc R Soc Lond*, **19**:71-73.

Matthiessen, A. (1868-1869). Researches into the constitution of the opium bases. Part II.On the action of hydrochloric acid on codeia. *Proc R Soc Lond*, **17**:460-462.

Matthiessen, A., Wright, C.R.A. (1868). Researches into the chemical constitution of the opium bases. Part I.—On the action of hydrochloric acid on Morphia. *Proc R Soc Lond*, **17**:455-460.

Matthews, P.B.C. (1991). The human stretch reflex and the motor cortex.*Trends Neuroscience*,**14**:87–90.

Matsuyama, K., Drew, T. (1997). Organization of the projections from the pericruciate cortex to the pontomedullary brainstem of the cat: a study using the anterograde tracer Phaseolus vulgaris-leucoagglutinin. *J Comp Neurol*.**389**:617–641.

Mazzoni, P., Hristova, A., Krakauer, J. W. (2007). Why don't we move faster? Parkinson's disease, movement vigor, and implicit motivation. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, **27**:7105–7116.

McCrea, D.A. Rybak, I.A. (2008). Organization of mammalian locomotor rhythm and pattern generation. Brain Res,**57**:134–146.

McKenzie, B. A., Mamik, M. K., Saito, L. B., Boghozian, R., Monaco, M. C., Major, E. O., Lu, J. Q., Branton, W. G., Power, C. (2018). Caspase-1 inhibition prevents glial inflammasome activation and pyroptosis in models of multiple sclerosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **115**: E6065–E6074.

McPherson, D. R., Kemnitz, C. P. (1994). Modulation of lamprey fictive swimming and motoneuron physiology by dopamine, and its immunocytochemical localization in the spinal cord. *Neuroscience letters*, **166**: 23–26.

Mehta, H. M., Malandra, M., Corey, S. J. (2015). G-CSF and GM-CSF In Neutropenia. *Journal of immunology*, **195**: 1341–1349

Millan, M. J., Maiofiss, L., Cussac, D., Audinot, V., Boutin, J. A. Newman-Tancredi A. (2002). Differential actions of antiparkinson agents at multiple classes of monoaminergic receptor. I. A multivariate analysis of the binding profiles of 14 drugs at 21 native and cloned human receptor subtypes. *J Pharmacol Exp Ther*, **2**:791–804.

Miller, A.J. (1972). Characteristics of the swallowing reflex induced by peripheral nerve and brain stem stimulation. *Exp. Neurol.***34**, 210–222.

Minassian, K., Hofstoetter, U. S., Dzeladini, F., Guertin, P. A., & Ijspeert, A. (2017). The Human Central Pattern Generator for Locomotion: Does It Exist and Contribute to Walking?. *The Neuroscientist: a review journal bringing neurobiology, neurology and psychiatry*, **23**:649–663.

Mileykovskiy, B. Y., Kiyashchenko, L. I., Kodama, T., Lai, Y. Y., & Siegel, J. M. (2000). Activation of pontine and medullary motor inhibitory regions reduces discharge in neurons located in the locus coeruleus and the anatomical equivalent of the midbrain locomotor region. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, **20**: 8551–8558.

Moore, L. K., Dalley, F.A., Agur. R. M. A., (2010). Capitulo 4-Dorso. Anatomía con orientación clínica. *6ta ed. Wolker Kluwer*, 496-500.

Moore, L. K., Dalley, F.A., Agur. R. M. A., (2010). Capitulo 5-*Miembro inferior. Anatomia con orientación clínica*. *6ta ed. Wolker Kluwer*, 543.

Möller, J. R., Durr, P. G., Quarles, R. H., Duncan, I. D. (1997). Biochemical analysis of myelin proteins in a novel neurological mutant: the taiep rat. *Journal of neurochemistry*, **69**:773–779.

Montoto, A., Ferreiro, M. E., Rodríguez A. (2006). Lesión medular. En: Sánchez, I., Ferrero, A., Aguilar, J. J., Climent, J. M., Conejero, J, A., Flórez, M. T., Peña, A., Zambudio, P. Manual SERMEF de Rehabilitación y Medicina Física. *Médica Panamericana*: 505-519.

Mori, S. (1987). Integration of posture and locomotion in acute decerebrate cats and in awake, freely moving cats. *Prog Neurobiol*,**28**:161–196.

Mori. S, Matsui. T, Kuze, B. (1999).Stimulation of a restricted region in the midline cerebellar white matter evokes coordinated quadrupedal locomotion in the decerebrate cat*. J Neurophysiol*,**82**:290–300.

Nadeau, S., Jacquemin, G., Fournier, C., Lamarre, Y., and Rossignol, . (2010). Spontaneous motor rhythms of the back and legs in a patient with a complete spinal cord transection. Neurorehabil. *Neural Repair*, **24**, 377–383.

Neamţu, M. C., Rusu, L., Neamţu, O. M., Enescu Bieru, D., Marin, M. I., Croitoru, I. C., Fronie, A. I., Manuc, D., Tarniţă, D. N. (2014). Analysis of neuromuscular parameters in patients with multiple sclerosis and gait disorders. Romanian journal of morphology and embryology = *Revue roumaine de morphologie et embryologie,* **50**:1423–1428.

Nicolle, E., Pollak, P., Serre-Debeauvais, F., Richard, P., Gervason, C. L., Broussolle, E., Gavend, M. (1993). Pharmacokinetics of apomorphine in parkinsonian patients. *Fundamental and clinical pharmacology*, **5**:245–252.

Noga, B.R., Kriellars, D.J., and Jordan, L.M. (1991). The effect of selective brainstem or spinal cord lesions on treadmill locomotion evoked by stimulation of the mesencephalic or pontomedullary locomotor regions. *J. Neurosci*ence, **11**:1691–1700.

Ohta, M., Mizuta, I., Ohta, K., Nishimura, M., Mizuta, E., Hayashi, K., Kuno, S. (2000). Apomorphine up-regulates NGF and GDNF synthesis in cultured mouse astrocytes. *Biochem Biophys Res Commun*,**1**:18–22.

Obuchowska, I. y Mariak, Z. (2009). Porazenie miedzyjadrowe mieśni zewnqtrzgałkowych--przyczyny, objawy' i postepowanie Oftalmoplejía internuclear: causas, síntomas y manejo. Klinika oczna, **4-6**:165–167.

Pachner, A. R. (2011). Experimental models of multiple sclerosis. *Current opinion in neurology*, **24**: 291–299.

Parr, D. (1956). Cardiovascular collapse during apomorphine treatment. *British medical journal*, **4997**:860–862.

Parker, A. J., Clarke, K. A. (1990). Gait topography in rat locomotion.*Physiol Behav*.**48**:41-47.

Pearson, K.G. (2004). Generating the walking gait: role of sensory feedback. *Prog. Brain Res*,**143**:123–129.

Pierce, F. M. (1870). Notes on apomorphia. *British medical Journal*, **478**:204.

Pinder, R. M., Buxton, D. A., Green, D.M. (1971) On the dopamine-like action of apomorphine. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, **12**: 995-996.

Philippson, M. (1905). L'autonomie et la centralisation dans le système nerveux des animaux [Autonomy and centralization in the animal nervous system]. *Trav. Lab. Physiol*,**7**:1–208.

Picton, L. D., Nascimento, F., Broadhead, M. J., Sillar, K. T., Miles, G. B. (2017). Sodium pumps mediate activity-dependent changes in mammalian motor networks. *Journal of Neuroscience*, **37**: 906-921.

Pocratsky, A. M., Burke, D. A., Morehouse, J. R., Beare, J. E., Riegler, A. S., Tsoulfas, P., States, G., Whittemore, S. R., Magnuson, D. (2017). Reversible silencing of lumbar spinal interneurons unmasks a task-specific network for securing hindlimb alternation. *Nature communications*, **9**:1-17.

Polman, C. H., Reingold, S. C., Banwell, B., Clanet, M., Cohen, J. A., Filippi, M., Fujihara, K., Havrdova, E., Hutchinson, M., Kappos, L., Lublin, F. D., Montalban, X., O'Connor, P., Sandberg-Wollheim, M., Thompson, A. J., Waubant, E., Weinshenker, B., Wolinsky, J. S. (2011). Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2010 revisions to the McDonald criteria. *Annals of neurology*, **69**: 292–302.

Pomerantz, S. M. (1990). Apomorphine facilities male sexual behavior of rhesus monkeys. *Pharmacology, biochemistry, and behavior,* **3**:659–664.

Popescu, B. F., Lucchinetti, C. F. (2012). Pathology of demyelinating diseases. *Annual review of pathology*, **7**:185–217.

Prentice, S.D., Drew, T. (2001). Contributions of the reticulospinal system to the postural adjustments occurring during voluntary gait modifications. *J. Neurophysiol*, **85**:679–698.

Przedborski, S. Levivier, M., Raftopoulos, C., Naini, A. B. (1995). Hildebrand J. Peripheral and central pharmacokinetics of apomorphine and its effect on dopamine metabolism in humans. *Mov Disord*,**1**:28–36.

Pschorr, R., Jaeckel, B., Fecht, H. (1902). Über die Constitution des Apomorphins. *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft*, **35**:4377-4392.

Purves, D., Augustine, G.J., Fitzpatrick, D., Hall, W.C., LaMantia, A.S., McNamara,J.O., y White, L.E. (2008). Lower Motor Neurons Circuits and Motor Control*.Neuroscience*.*5th ed.Sinauer Associates:*371-392.

Purves, D., Augustine, G.J., Fitzpatrick, D., Hall, W.C., LaMantia, A.S., McNamara, J.O., y White, L.E. (2008).Upper Motor Neuron Control of the Brainstem and Spinal Cord*.Neuroscience*.*5th ed.Sinauer Associates,* 393-416.

Purves, D., Augustine, G.J., Fitzpatrick, D., Hall, W.C., LaMantia, A.S., McNamara, J.O., White, L. E. (2008). Modulation of Movement by the Basal Ganglia*.Neuroscience*.*5th ed.Sinauer Associates:*417-434.

Purves, D., Augustine, G.J., Fitzpatrick, D., Hall, W.C., LaMantia, A.S., McNamara, J.O., y White, L.E. (2008). Modulation of Movement by the Cerebellum*.Neuroscience*.*5th ed.Sinauer Associates*:435-451.

Quesney, L.F., Andermann, F., Lal, S., Peelevic, S. (1980). Transient abolition of generalized photosensitive epileptic discharge in humans by apomorphine, a dopamine-receptor agonist. *Neurology*, **11**:1169–1174.

Rausten, D.S., Ochs, M. A. Apomorphine-naloxone controlled rapid emesis. *J Am Coll Emer*,**1**:44–45.

Raymond, M. J. (1963). The treatment of addiction by aversion conditioning with apomorphine. *Behav ResTher*,**2–4**:287–291.

Redgrave, P., Prescott, T. J., Gurney, K. (1999). Is the short-latency dopamine response too short to signal reward error?. *Trends in neurosciences*, ***22***:146–151.

Reed, W.R., Magnuson, D.S. (2013). Cervical response among ascending ventrolateral funiculus pathways of the neonatal rat.*Brain Res,* **1491**:136–146.

Reuter, I., Ellis, C. M., Ray, Chaudhuri. K. (1999). Infusión subcutánea nocturna de apomorfina en la enfermedad de Parkinson y el síndrome de piernas inquietas. *Acta neurologica Scandinavica*. **3**:163–167.

Ribarič, S. (2012). The pharmacological properties and therapeutic use of apomorphine. *Molecules*,**5**:5289–5309.

Rho, M. J., Lavoie, S, Drew T. (1999). Effects of red nucleus microstimulation on the locomotor pattern and timing in the intact cat: a comparison with the motor cortex. J Neurophysiol,**81**:2297– 2315.

Robinson, S., Tani, M., Strieter, R. M. (1998). Ransohoff RM, Miller RH. The chemokine growth-regulated oncogene-alpha promotes spinal cord oligodendrocyte precursor proliferation. J Neuroscience, **18**: 10457–63

Rodriguez, M., Castro, R. (1991). Apomorphine lowers dopamine synthesis for up to 48 h: implications for drug sensitization. *NeuroReport*,**7**:365-368.

Rosebrugh, A. M. (1908). A valuable discovery-a new hypnotic. *Can Practitioner Rev*, **33**:669–670.

Rossignol, S., Dubuc, R., Gossard, J.P. (2006). Dynamic sensorimotor interactions in locomotion. *Physiol. Rev*, **86**,89–154.

Rovenstine, E. A., Hershey, S. G. (1945). The utility of apomorphine in clinical anesthesia. *Anesthesiology*, **6**:574–579.

Ryczko, D. and Dubuc, R. (2013). The multifunctional mesencephalic locomotor region. *Curr. Pharm. Des*,**9**: 4448–4470.

Ryczko, D., Cone, J.J., Alpert, M.H., Goetz, L., Auclair, F., Dube, C., Parent, M., Roitman, M.F., Alford, S., and Dubuc, R. (2016). A descending dopamine pathway conserved from basal vertebrates to mammals. Proc. *Natl. Acad. Sci. USA* **113**: E2440–E2449.

Sam, E., Jeanjean, A. P., Maloteaux, J. M., Verbeke, N. (1995). Apomorphine pharmacokinetics in parkinsonism after intranasal and subcutaneous application. *European journal of drug metabolism and pharmacokinetics*,**1**: 27–33.

Siebert, V. (1871). Untersuchungen über die fisiologischen Wirkungen des Apomorphin. Disertación inaugural zur Erlangung der Doctorgrades. *Dorpat, Druck von Heinrich Laakmann*.

Sinnamon, H. M. (1993). Preoptic and hypothalamic neurons and initiation of locomotion in the anesthetized rat. *Prog Neurobiol*, **41**: 323–344.

Sigma-Aldrich. (2023). (-)-Quinpirolehydrocloride.*MerckGroup.*

Sharples, S. A., Humphreys, J. M., Jensen, A. M., Dhoopar, S., Delaloye, N., Clemens, S., Whelan, P. J. (2015). Dopaminergic modulation of locomotor network activity in the neonatal mouse spinal cord. *Journal of neurophysiology*, **113**:2500–2510.

Shao, W., Zhang, S. Z., Tang, M., Zhang, X. H., Zhou, Z., Yin, Y. Q., Zhou, Q. B., Huang, Y. Y., Liu, Y. J., Wawrousek, E., Chen, T., Li, S. B., Xu, M.,

Zhou, J. N., Hu, G., Zhou, J. W. (2013). Suppression of neuroinflammation by astrocytic dopamine D2 receptors via αB-crystallin. *Nature*, **494**: 90–94.

Shaw, A.C., Jackson, A.W., Holmes, T., Thurman, S., Davis, G.R., McClellan, A.D. (2010). Descending brain neurons in larval lamprey: spinal projection patterns and initiation of locomotion. *Exp. Neurol*,**224**:527–541.

Schechter, M.D., Greer, N. L. (1987). Evidence that the stimulus properties of apomorphine are mediated by both D1 and D2 receptor activation. *Life Sci,* **40**:2461–71.

Shik, M.L., Severin, F. V., Orlovsky, G. N. (1969). Control of walking and running by means of electrical stimulation of the mesencephalon. Electroencephalogr. *Clin. Neurophysiol*, **26**:549.

Schwab, R. S., Amador, L. V., Lettvin, J. Y. (1951). Apomorphine in Parkinson's disease. *Transactions of the American Neurological Association*, **56**:251–253.

Schotland, J., Shupliakov, O., Wikström, M., Brodin, L., Srinivasan, M., You, Z. B., Herrera-Marschitz, M., Zhang, W., Hökfelt, T., Grillner, S. (1995). Control of lamprey locomotor neurons by colocalized monoamine transmitters. *Nature,* **374**:266–268.

Sivertsen, M.S., Glover, J.C., and Perreault, M.C. (2016). Pontine reticulospinal projections in the neonatal mouse: internal organization and axon trajectories. *J. Comp. Neurol*, **524**:1270–1291.

Steeves, J.D. and Jordan, L.M. (1980). Localization of a descending pathway in the spinal cord which is necessary for controlled treadmill locomotion. *Neurosci. Lett*, **20**:283–288.

Steuer, I., Guertin, P. A. (2019). Central pattern generators in the brainstem and spinal cord: an overview of basic principles, similarities and differences. *Reviews in the neurosciences*, **30**: 107–164.

Stuart, D. G., Hultborn, H. (2008). Thomas Graham Brown (1882-1965), Anders Lundberg (1920-2009), and the neural control of stepping. *Brain research reviews*, **59**: 74–95.

Sharma, J. C., Macnamara, L., Hasoon, M., Vassallo, M. (2004). Diagnostic and therapeutic value of apomorphine in Parkinsonian patients. *International journal of clinical practice*, **11**:1028–1032.

Sharples, S. A., Koblinger, K., Humphreys, J. M., Whelan, P. J. (2014). Dopamine: a parallel pathway for the modulation of spinal locomotor networks. *Frontiers in neural circuits*, **8**:1-16.

Sharples, S. A., Humphreys, J. M., Jensen, A. M., Dhoopar, S. Delaloye, N., Clemens, S., Whelan, P. J. (2015) Dopaminergic modulation of locomotor network activity in the neonatal mouse spinal cord. *J Neurophysiol*, **113**:2500 –2510.

Sherrington, C.S. (1910). Flexion-reflex of the limb, crossed extension-reflex, and reflex stepping and standing. *J. Physiol,* **40**: 28–121.

Shimizu, Y., Chang, E.C., Shafton, A.D., Ferens, D.M., Sanger, G.J., Witherington, J., and Furness, J.B. (2006). Evidence that stimulation of ghrelin receptors in the spinal cord initiates propulsive activity in the colon of the rat. *J. Physiol*. **576**: 329–338.

Smith, R. C., Tamminga, C. A., Haraszti, J., Pnadey, G. N., Davis, J. M. (1977). Effects of dopamine agonists in tardive dyskinesia. *The American journal of psychiatry*, **7**:763–768.

Smith K. J. (1994). Conducción properties of central demyelinated and remyelinated axons, and their relation to symptom production in demyelinating disorders. *Eye London, England*, **8**: 224–237.

Snell, S. R. (2009). Médula espinal y vías ascendentes y descendentes. *En Neuroanatomía Clínica*. 6ta ed. Snell, S. R., Pont, S. C.,Treviño-Alanís, G., Ribera, S. G. Panamericana, 242-293.

Snir, O., Lavie, G., Achiron, A., Bank, I., Ben-Aharon, T., Sredni, B., Cohen, I. R., Mandel, M. (2006). G-CSF enhances the adhesion of encephalitogenic T cells to extracellular matrix components: a possible mechanism for exacerbation of multiple sclerosis. *Journal of neuroimmunology*, **172**: 145–155.

Soto-Rodrıguez, G., Martınez-Fong, D., Arroyo, R., Aguilar, A. P., Rubio, H., Eguibar, J. R., Ugarte, A., Torres-Soto, M., González-Barrios, J.A., Cebada, J., Brambila, E., Leon-Chavez, B.A. (2012) Nitric oxide production is associated to increased lipoperoxidation and active caspase-3 in demyelinated brain regions of the taiep rat. *Adv Bioscie Biotech*,**3**: 695-704.

Soto, Rodríguez, G., González. B. J., Martínez, F. D., Blanco. A., Eguibar, J.R., Ugarte, A., Martínez, P. F., Brambila, E., Peña, L.M, Pazos, S., Torres, S., M., García, R.G., Tomas, S. C., y Leon, C. B., (2015). Análisis del perfil de expresión de quimiocinas y receptores en la rata taiep mutante de mielina. Medicina oxidativa y longevidad celular. *Advance Bioscience Biotechology*, **3**:19.

Sokoloff, P., Martres, M. P., Schwartz, J. C. (1993). La famille des re´cepteurs de la dopamine. *Me´d Sci*, **9**:12.

Sourkes, T. L., Lal, S. (1975). Apomorphine and its relation to dopamine in the nervous system. In: Agranoff BW, Aprison MH, editors. *Advances in neurochemistry. Heidelberg*: Springer.

Skaper S. D. (2019). Oligodendrocyte precursor cells as a therapeutic target for demyelinating diseases. *Progress in brain research*, **245**: 119–144.

Skinner, R. D., Kinjo, N., Henderson, V.,Garcia-Rill, E. (1990). Locomotor projections from the pedunculopontine nucleus to the spinal cord.*Neuroreport*,**1**:183–186

Standaert, D.G., Walsh, R. R. (2017). Farmacología de la neurotransmisión dopaminérgica. En Las bases farmacológicas de la terapéutica de Goodman & Gilman. 12a ed por Brunton, L. L., Lazo, J. S., y Parker, K. L. Mc Graw Hill:186-191.

Stern, G. (2013). Apolaustic apomorphine. *Pract Neurol*,**5**:335–337.

Steuer, I., Guertin, P. A. (2019). Central pattern generators in the brainstem and spinal cord: an overview of basic principles, similarities and differences. *Reviews in the neurosciences*, **30**: 107–164.

Stibe, C., Lees, A., Stern, G. (1987). Subcutaneous infusion of apomorphine and lisuride in the treatment of parkinsonian on-off fluctuations. *Lancet*, **8537**: 329-871.

Svensson, E., Woolley, J., Wikström, M., y Grillner, S. (2003). Endogenous dopaminergic modulation of the lamprey spinal locomotor network. *Brain research,* **970**:1–8.

Taba, P., Lees, A., Stern, G., Erich, H. (2013). Erich Harnack (1852-1915) and a short history of apomorphine. *European neurology*, **69**:321-324.

Takakusaki K. (2013). Neurophysiology of gait: from the spinal cord to the frontal lobe. Movement disorders: *official journal of the Movement Disorder Society*, **28**:1483–1491.

Takakusaki, K. (2017). Functional neuroanatomy for posture and gait control. *J. Mov. Disord*,**10**:1–17

Takakusaki, K. (2008). Forebrain control of locomotor behaviors. *Brain Res Rev*,**57**:192–198.

Takakusaki, K., Saitoh, K., Nonaka, S. (2006). Neurobiological basis of state dependent control of motor behavior. *Sleep Biol Rhyth*, **4**:87–104.

Takakusaki, K., Saitoh, K., Harada, H. (2004) Role of basal ganglia brainstem pathways in the control of motor behaviors. Neuroscience,**50**:137–151.

Takakusaki, K., Kohyama, J., Matsuyama. K., (2003) Medullary reticulospinal tract mediating a generalized motor inhibition in cats: III. Functional organization of spinal interneurons in the lower lumbar segments. *Neuroscience*,**121**:731–746.

Takakusaki, K., Habaguchi, T., Ohtinata-Sugimoto, J., Saitoh, K., Sakamoto, T. (2003). Basal ganglia efferents to the brainstem centers controlling postural muscle tone and locomotion: a new concept for understanding motor disorders in basal ganglia dysfunction. *Neuroscience*,**119**:293–308.

Takakusaki, K., Habaguchi, T., Saitoh, K., Kohyama, J. (2014). Changes in the excitability of hindlimb motoneurons during muscular atonia induced by stimulating the pedunculopontine tegmental nucleus in cats. *Neuroscience*, **124**:467–480.

Tsai, H. H., Frost, E., To, V., Robinson, S., Ffrench-Constant, C., Geertman, R. (2002). The chemokine receptor CXCR2 controls positioning of oligodendrocyte precursors in developing spinal cord by arresting their migration. *Cell*,**110**: 373–83.

Tielke, A., Ahn, J., Lee, H. (2019). Non-ideal behavior of a treadmill depends on gait phase, speed, and weight. *Scientific reports*, **9**:1-12.

Tings, T., Stiens, G., Paulus, W., Trenkwalder, C., Happe, S. (2005). Treatment of restless legs syndrome with subcutaneous apomorphine in a patient with short bowel syndrome. *Journal of neurology*,**3**: 361–363.

Trenkwalder, C., Ray, C. K., García, R. P. J., LeWitt, P., Katzenschlager, R., Sixel-Döring, F. (2015). Expert consensus group report on the use of apomorphine in the treatment of parkinson's disease clinical practice recommendations. *Parkinsonism Relat Disord*.**21**:1023–30

Treviño, I. (2017). En México aumenta la incidencia de esclerosis multiple. *Boletin UNAM-DGSC*:375.

Tribl, G. G., Sycha, T., Kotzailias, N., Zeitlhofer, J., Auff E. Apomorphine in idiopathic restless legs syndrome: an exploratory study. (2005). *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry*, **2**:181–185.

Truitt, W. A., Coolen, L.M. (2002). Identification of a potential ejaculation generator in the spinal cord. *Science* **297**, 1566–1569.

Tolosa, E. S. (1974). Letter: paradoxical suppression of chorea by apomorphine. *JAMA*,**12**:1579–1580.

Tolosa, E. S., Sparber, S. B. (1974). Apomorphine in Huntington's chorea: clinical observations and theoretical considerations. *Life sciences*, **7**: 1371–1380.

Tolosa, E. S. (1978). Modification of tardive dyskinesia and spasmodic torticollis by apomorphine. Possible role of dopamine autoreceptors. *Arch Neurol*,**7**:459–462.

Trenkwalder, C., Ray, C. K., García, R. J., LeWitt, P., Katzenschlager, R., Sixel, F. (2015). Expert consensus group report on the use of apomorphine in the treatment of parkinson´s disease clinical practice recommendations. *Parkinsonism and related disorders*, **9**:1023-1030.

Ubeda, A., Montesinos., Paya, M., Alcaraz, M. J. (1993). Iron-reducing and free-radical-scavenging properties of apomorphine and some related benzylisoquinolines. *Free Radic Biol Med*. **2**:159–67.

Ungerstedt, U., Butcher, L., Butcher, S. G., Andén, N. E., Fuxe, K. (1969) Direct chemical stimulation of dopaminergic mechanisms in the neostriatum of the rat. *Brain reseach*, **2**:461–471.

Usiello, A., Baik, J. H., Rougé-Pont, F., Picetti, R., Dierich, A., LeMeur, M., Piazza, P. V., Borrelli, E. (2000). Distinct functions of the two isoforms of dopamine D2 receptors. *Nature*, **408**: 199-202.

Van Hartesveldt, C., Cottrell, G. A., Potter, T., Meyer, M. E. (1992). Effects of intracerebral quinpirole on locomotion in rats. *European journal of pharmacology*, **214**: 27–32.

Vallender, E. (1877) *Berl Klin Woch*,**14**:185–186.

Van Laar, T., Neef, C., Danhof, M., Roon, K. I., Roos, R. A. (1996). A new sublingual formulation of apomorphine in the treatment of patients with Parkinson's disease. *Movement disorders: official journal of the Movement Disorder Society*,**6**:633–638.

Van Rijswijk, R. E., Verbeek, J., Haanen, C., Dekker, A. W., van Daal, W. A., Van Peperzeel, H. A. (1987). Major complications and causes of death in patients treated for Hodgkin's disease. *Journal of clinical oncology: official journal of the American Society of Clinical Oncology*,**10**:1624–1633.

Verger, T. (1878). De l'emploi de l'apomorphine pour l'extraction des corps étrangers de l'œsophage. *Bulletin général de thérapeutique médicale et chirurgicale*,**95**:254–255.

Vietri, M., Vaglini, F., Pietrabissa, A., Spisni, R., Mosca, F., Pacifici, G. M. (2002) Sulfation of R(-)-apomorphine in the human liver and duodenum, and its inhibition by mefenamic acid, salicylic acid and quercetin. *Xenobiotica*,**7**:587–94.

Visanska, S. A. (1898). Apomorphine and its uses. *Med Rec Weekly J Med Surg*, **54**:15–16.

Vitale, C., Marconi, S., Di, M. L., De. M.G., Longo, K., Bonavita, V., Barone, P. (2007) Short-term continuous infusion of apomorphine hydrochloride for treatment of Huntington's chorea: a double blind, randomized cross-over trial. Mov Disord,**16**:2359–2364.

Vogelaar, C. F., Vrinten, D. H., Hoekman, M. F., Brakkee, J. H., Burbach, J. P., Hamers, F. P. (2004). Sciatic nerve regeneration in mice and rats: recovery of sensory innervation is followed by a slowly retreating neuropathic pain-like syndrome. *Brain research*,**1027**:67–72.

Watts AG, Sanchez-Watts G, Emanuel JR, Levenson R (1991) Cell-specific expression of mRNAs encoding Na ,K( )-ATPase Alpha and beta-subunit isoforms within the rat central nervous system. *Proc Natl Acad Sci U S A* **88**:7425–7429.

Watson, C., Paxinos, G., Kayalioglu, G. (2009). The Spinal Cord. A Christopher and Dana Reeve Foundation Text and Atlas. *New York, USA: Elsevier Inc.*

Westerga. J., Gramsbergen, A. (1990). The development of locomotion in the rat. *Brain Res Dev Brain Res*,**57**:163-174.

Wilson, J.M., Hartley, R., Maxwell, D. J., Todd, A. J, Lieberam, I., Kaltschmidt, J. A., Yoshida, Y., Jessell, T. M., Brownstone, R. M. (2005) Conditional rhythmicity of ventral spinal interneurons defined by expression of the Hb9 homeodomain protein. *Journal Neuroscience*, **25**:5710 –5719.

White, R. R. (1952). The use of apomorphine with scopolamine in labor. *American journal of obstetrics and gynecology*,**1**:91–100.

Wojkowska, D. W., Szpakowski, P., Ksiazek-Winiarek, D., Leszczynski, M., Glabinski, A. (2014). Interacciones entre neutrófilos, células Th17 y

quimiocinas durante el inicio del modelo experimental de esclerosis múltiple. *Mediadores de la inflamación*.

Wu, Z. Q., Chen, J., Chi, Z. Q., Liu, J. G. (2007) Involvement of dopamine system in regulation of Na ,K -ATPase in the striatum upon activation of opioid receptors by morphine. *Mol Pharmacol*, **71**:519 –530.

Yan, Y., Jiang, W., Liu, L., Wang, X., Ding, C., Tian, Z., Zhou, R. (2015). Dopamine controls systemic inflammation through inhibition of NLRP3 inflammasome. *Cell*, **160**:62–73.

Youdim, M.B., M., Gross. A., Mandel, S., Gru¨nblatt, E. (2000). Iron chelating, antioxidant and cytoprotective properties of dopamine M. Auffret y cols. receptor agonist; apomorphine. *J Neural Transm Suppl.***58**:83–96

Yuan, H., Liang, L. W., Chen, Z. J., Ji, H. R., Wang, M. K., Zhang, H. Y., Li, C., Xu J. Y. (2006). R-apomorphine protects against 6-hydroxydopamineinduced nigrostriatal damage in rat. *Neurosci Bull*, **6**:331–8.

Yuan, H., Sarre, S., Ebinger, G., Michotte, Y. (2004) Neuroprotective and neurotrophic effect of apomorphine in the striatal 6-OHDA-lesion rat model of Parkinson's disease. *Brain Res*,**1**:95–107.