Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

Instituto de Fisiología BUAP

INSTITUTO DE FISIOLOGÍA

LABORATORIO DE NEUROFISIOLOGÍA DE LA CONDUCTA Y CONTROL MOTOR

Evaluación del efecto de diferentes dopaminérgicos y del análogo de GnRH el acetato de leuprolida en el patrón de la marcha de un modelo de tubulinopatía H-ABC: la rata *taiep.*

Tesis para obtener el grado de:

Doctorado en Ciencias Fisiológicas

M en C.F. Juan Carlos Ahumada Juárez

Matrícula: 220570581

Fecha de examen: 11/04/2025

Tutor:	Tutora:
Dr. José Ramón Eguibar Cuenca	**Dra. Ma. del Carmen Cortés Sánchez**

Índice

Resumen. 4

Abstract 7

Introducción. 9

Leucodistrofias. 9

El citoesqueleto. 21

Las tubulinas. 27

Tubulinopatías. 29

Tubulinopatía asociada al gen β tubulina 4a clase IVa. 33

Manifestaciones clínicas de las tubulinopatías. 35

La arquitectura y la topografía en la médula espinal. 36

Fisiología de la locomoción. 42

Fisiología y biomecánica de la marcha. 48

Dopamina. 52

Receptor de la familia D2 para dopamina. 58

Rol de la dopamina en la actividad locomotora 60

La apomorfina, como un agonista dopaminérgico no selectivo. 61

El pramipexol, como un agonista dopaminérgico de la familia D2. 64

El quinpirol, como una agonista dopaminérgico de la familia D2. 66

La hormona liberadora de gonadotropinas y sus efectos terapéuticos. 67

Acetato de leuprolida, un agonista de la hormona liberadora de gonadotropinas. 71

Antecedentes 75

Justificación. 81
Hipótesis. 82
Objetivo general. 83
Objetivos específicos. 84
Metodología 85
Animales 85
Drogas 86
Equipo para el análisis del patrón de la marcha en la rata *taiep* 86
Habituación y entrenamiento de la marcha 87
Los parámetros para el análisis de la marcha en la rata *taiep* 89
Análisis estadístico 91
Resultados. 92
Resultados de la evolución de la marcha con la edad en la rata *taiep.* 93
Resultados de los grupos dopaminérgicos. 94
Efecto de la administración del agonista dopaminérgico apomorfina, en los parámetros estáticos y dinámicos de la marcha en la rata *taiep*. 95
Efecto de la administración del agonista dopaminérgico D2, el pramipexol, en los parámetros estáticos y dinámicos de la marcha en la rata *taiep.* 100
Efecto de la administración del agonista dopaminérgico D2, el quinpirol, en los parámetros estáticos y dinámicos de la marcha en la rata *taiep.* 105
Resultados de los grupos administrados con acetato de leuprolida. 110
Discusión. 125
Efecto de los agonistas D2 en el patrón de la marcha en la rata *taiep*. 131
Efecto del acetato de leuprolida en el patrón de la marcha de la rata *taiep.* 139
Conclusiones 144
Referencias 145

Dedicatoria

Dedico esta tesis con todo mi amor y gratitud a mi mamá, María Haydée Juárez Santiesteban, a mi hermano mayor, Héctor Juárez Santiesteban, y a mi hermano menor, Erick Ahumada Juárez y a toda mi familia. A lo largo de este arduo camino, su amor incondicional, apoyo y fortaleza han sido mi refugio y mi impulso para seguir adelante. Cada logro y cada paso dado en esta travesía se debe, en gran parte, a la inspiración y calidez que siempre me han brindado, y por ello, dedico este trabajo con el corazón lleno de agradecimiento y emoción.

Agradecimientos

Quiero expresar mi sincero agradecimiento a mis tutores de tesis, la Doctora Ma del Carmen Cortés Sánchez, el Doctor José Ramón Eguibar Cuenca y la Maestra Araceli Ugarte, por su orientación, paciencia y dedicación, fundamentales para la culminación de este proyecto. A mis amigos y compañeros del laboratorio, especialmente a Juan Manuel Ibarra, Salvador Hernández, Adriela Fierro, Ariana Hernández, Lilia Díaz, Rubén Castillo y a todos los que, con su apoyo y camaradería, han enriquecido mi experiencia investigativa. Asimismo, agradezco profundamente a mi familia y amigos, al Instituto de Fisiología de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla y al CONACYT, pues sin su respaldo y recursos, este sueño no habría sido posible. Cada palabra de aliento, cada consejo y cada gesto de confianza han dejado una huella indeleble en mi formación profesional y personal.

Resumen.

Las tubulinopatías son un conjunto de mutaciones que afectan a las tubulinas, la mutación puntual del gen TUBB4A puede generar un tipo de leucodistrofia llamada hipomielinización con atrofia de los ganglios basales y cerebelo (H-ABC). Las alteraciones motoras como son la ataxia y la distonía son signos comunes en esta leucodistrofia. La rata *taiep* es el primer modelo de la tubulinopatía que afecta el gen tubb4a, las imágenes por resonancia magnética muestran una hipomielinización con atrofia del putamen y el cerebelo. El nombre *taiep* es un acrónimo de los signos motores que le afectan, como son: temblor, ataxia, inmovilidad, epilepsia y parálisis. El objetivo de este estudio fue el de evaluar los parámetros del patrón de la marcha en ratas *taiep* a los 21 días postnatales (DPN) y hasta los 90 DPN, y tras la administración del agonista dopaminérgico inespecífico la apomorfina, del agonista dopaminérgico D2 el pramipexol, del agonista dopaminérgico D2 el quinpirol y del agonista sintético de la hormona liberadora de gonadotrofinas el acetato de leuprolida, en ratas *taiep* macho adultas (90 DPN).

Los sujetos de investigación fueron 85 ratas taiep macho de tres meses y seis ratas taiep de 21 DPN, los grupos se dividieron en n=6 para el protocolo del análisis del patrón de la marcha en el día 21 postnatal (DPN) y en el 90 DPN. Otro de 25 sujetos para el protocolo de administración de acetato de leuprolida (n=5 para el grupo control, n=5 para la dosis de 1.2 μg/Kg, n=5 para la dosis de 2.4 μg/Kg, n=5 para la dosis de 10 μg/Kg y n=5 para la dosis de 30 μg/Kg. Otros 60 sujetos para el protocolo de administración de dopaminérgicos (n=6 para cada uno de los grupos control, pramipexol a las dosis de 0.25, 0.5 y 1 mg/Kg; quinpirol a las dosis de 0.25, 0.5 y 1 mg/Kg y de apomorfina a las dosis de 0.25, 0.5 y 1 mg/Kg). Los registros de la macha se realizaron mediante el equipo CatWalk™ (Noldus Technologies, Países Bajos). El patrón y secuencia de la marcha se realizaron con el programa CatWalk 9.1™. Los parámetros analizados fueron: longitud de zancada, fase de soporte, fase de balanceo, cadencia, coordinación y velocidad.

La administración de apomorfina a la dosis de 0.5 mg/Kg disminuye la fase de soporte ($P<0.05$), a la dosis de 1 mg/Kg disminuye la fase de balanceo ($P<0.05$) y la dosis de 1 mg/Kg aumenta la coordinación del patrón de la marcha ($P<0.05$). El pramipexol a las dosis de 0.5 y 1 mg/Kg disminuye la fase de soporte ($P<0.05$) y a la dosis de 0.25 aumenta la coordinación del patrón de la marcha ($P<0.001$). El quinpirol a las dosis de 0.25 y 0.5 mg/Kg disminuye la fase de balanceo ($P<0.05$), a la dosis de 0.25 aumenta la coordinación ($P<0.001$) y la velocidad el patrón de la marcha ($P<0.05$). El acetato de leuprolida disminuye la fase de soporte de las extremidades posteriores ($P<0.001$) y aumenta la longitud de la zancada en las extremidades posteriores ($P<0.05$) en todas las dosis empleadas, a la dosis de 0.25 y 10 μg/Kg aumenta la velocidad del patrón de la marcha.

En conclusión, la administración de la apomorfina, pramipexol y quinpirol son capaces de mejorar las fases de soporte, balanceo y la coordinación del patrón de la marcha. El acetato de leuprolida mejora la fase de soporte, la longitud de la zancada y la velocidad del patrón de la marcha. El estudio de los agonista dopaminérgicos y del agonista sintético de GnRH el acetato de leuprolida puede emplearse como un futuro tratamiento para los signos motores de los pacientes con tubulinopatía H-ABC y con otras patologías desmielinizantes.

Abstract

Tubulinopathies constitute a group of mutations affecting tubulin proteins. In particular, a point mutation in the TUBB4A gene can lead to a form of leukodystrophy known as hypomyelination with atrophy of the basal ganglia and cerebellum (H-ABC). Motor impairments such as ataxia and dystonia are common clinical features in this leukodystrophy. The taiep rat represents the first animal model of tubulinopathy involving the TUBB4A gene; magnetic resonance imaging reveals hypomyelination accompanied by atrophy of the putamen and cerebellum. The term “taiep” is an acronym derived from the motor signs observed in this model: tremor, ataxia, immobility, epilepsy, and paralysis. The aim of the present study was to evaluate gait parameters in taiep rats at 21 days postnatal (PND) up to 90 PND. This evaluation was carried out following the administration of the nonspecific dopaminergic agonist apomorphine, the D2 dopaminergic agonists pramipexole and quinpirole, and the synthetic gonadotropin-releasing hormone (GnRH) agonist leuprolide acetate in adult male taiep rats (90 PND).

A total of 85 three-month-old male taiep rats and 6 taiep rats at 21 PND were used as research subjects. For the gait analysis protocol, groups of n = 6 were established for evaluations at both 21 PND and 90 PND. An additional cohort of 25 subjects was designated for the leuprolide acetate administration protocol, with n = 5 assigned to the control group and n = 5 to each of the following doses: 1.2 µg/Kg, 2.4 µg/Kg, 10 µg/Kg, and 30 µg/Kg. A further 60 subjects were allocated to the dopaminergic administration protocol, with n = 6 per group. In this protocol, pramipexole, quinpirole, and apomorphine were administered at doses of 0.25, 0.5, and 1 mg/Kg, respectively. Gait recordings were acquired using the CatWalk™ system (Noldus Technologies, The Netherlands), and gait patterns and sequences were analyzed with the CatWalk 9.1™ software. The parameters assessed included stride length, stance phase, swing phase, cadence, coordination, and gait velocity.

Regarding the results, administration of apomorphine at a dose of 0.5 mg/Kg resulted in a significant decrease in the stance phase ($P < 0.05$); at 1 mg/Kg, apomorphine

significantly reduced the swing phase ($P < 0.05$) and enhanced the coordination of the gait pattern ($P < 0.05$). Pramipexole, when administered at doses of 0.5 and 1 mg/Kg, significantly decreased the stance phase ($P < 0.05$), whereas a dose of 0.25 mg/Kg improved gait coordination ($P < 0.001$). Quinpirole at doses of 0.25 and 0.5 mg/Kg elicited a significant reduction in the swing phase ($P < 0.05$); additionally, at a dose of 0.25 mg/Kg, it significantly increased both coordination ($P < 0.001$) and gait velocity ($P < 0.05$). Leuprolide acetate decreased the stance phase of the hind limbs ($P < 0.001$) and increased the stride length in the hind limbs ($P < 0.05$) across all doses tested; at doses of 0.25 and 10 µg/Kg, it also significantly increased gait velocity.

In conclusion, the administration of apomorphine, pramipexole, and quinpirole improves the stance and swing phases as well as gait coordination, whereas leuprolide acetate enhances the stance phase, stride length, and gait velocity. These findings suggest that dopaminergic agonists, in conjunction with the GnRH agonist leuprolide acetate, may serve as a prospective treatment for the motor deficits observed in patients with H-ABC tubulinopathy and other demyelinating disorders.

Introducción.

Las mutaciones en los genes de la tubulina pueden alterar la función y arquitectura típicas de los microtúbulos, lo que resulta en intrincados trastornos congénitos y progresivos del desarrollo neurológico que están marcados por malformaciones cerebrales significativas (Maillard y cols., 2023). Estas afecciones son poco frecuentes, y aunque las capacidades diagnósticas han avanzado en los últimos años debido a la implementación de nuevas metodologías de secuenciación del genoma o del exoma y de los conocimientos obtenidos por medio las imágenes por resonancia magnética (IRM), los médicos aún enfrentan dificultades para diagnosticar y manejar estos trastornos. Existen instancias documentadas de poco más de 200 casos a nivel mundial, y el empleo de modelos animales, junto con investigaciones *in silico* e *in vitro*, son esenciales para dilucidar los mecanismos fisiopatológicos subyacentes y para idear una estrategia terapéutica efectiva que mitigue sus distintas manifestaciones clínicas.

Leucodistrofias.

Las leucodistrofias representan una categoría de trastornos de la materia blanca del sistema nervioso central, con o sin afectación en el sistema nervioso periférico, de origen genético y se caracterizan en gran medida por su curso progresivo. La designación “leucodistrofia” se deriva de las raíces griegas, con “leuco” que significa blanco y “distrofia” denotando una forma de deterioro o degeneración; por lo tanto, son enfermedades que presentan una degeneración de la materia blanca. Las leucodistrofias, si bien se observan con poca frecuencia, afectan colectivamente a 1 de cada 7,000 habitantes (Schmidt y cols., 2020).

La instancia documentada inaugural de una patología hereditaria de la materia blanca del sistema nervioso se remonta a 1910, cuando tanto los doctores Pelizaeus como Merzbacher caracterizaron de manera independiente una forma difusa, crónica

y progresiva de esclerosis hipomielinizante, que estuvo marcada por la existencia de un endurecimiento esclerótico dentro de la materia blanca del sistema nervioso central (Pelizaeus y cols., 1910, Merzbacher y cols., 1910). Por lo que la primera leucodistrofia caracterizada clínicamente fue bautizada como Pelizaeus-Merzbacher. Setenta y cuatro años después, un nuevo padecimiento identificado como esclerosis familiar difusa, se caracterizó como un trastorno hereditario que impacta predominantemente a la mielina o a las células de la oligodendroglía, con presencia de un deterioro funcional progresivo (citado por Morell y cols., 1984).

En la actualidad, debido a las innovaciones tecnológicas pertenecientes a nuevas metodologías de detección y a la categorización de un conjunto sustancial de nuevas entidades, la conceptualización de las leucodistrofias ha evolucionado y según un consenso entre los investigadores de la Red de Ensayos Clínicos de la Iniciativa Mundial contra la Leucodistrofia (GLIA-CTN, por sus siglas en inglés; Vanderver y cols., 2015) concluyen que:

"Las leucodistrofias son trastornos hereditarios que afectan a la sustancia blanca del sistema nervioso central con o sin afectación del sistema nervioso periférico. Estos trastornos tienen en común anomalías en las células gliales o en la vaina de mielina. Cuando se conoce, la neuropatología se caracteriza principalmente por la afectación de los oligodendrocitos, los astrocitos y de otros tipos de células no neuronales, aunque en muchos trastornos el mecanismo de la enfermedad sigue siendo desconocido, y en otros casos se sospecha que incluye una patología axonal significativa."

Dentro de los avances tecnológicos en las metodologías de diagnóstico se incluye la secuenciación genoma-exoma de próxima generación y el cribado neonatal, junto con la técnica establecida de imágenes por resonancia magnética (IRM), se han identificado más de 30 nuevas leucodistrofias en la última década (van der Knaap y cols., 2019; van der Knaap y cols., 2017; Wolf y cols., 2021; véase Figura 1). En consecuencia, el enfoque tradicional y prevalente para categorizar estos trastornos es como leucodistrofias desmielinizantes y leucodistrofias hipomielinizantes que se pueden observar en las IRM (Schmidt y cols., 2020; Wolf y cols., 2021).

En el contexto de las leucodistrofias desmielinizantes, se puede identificar una irregularidad caracterizada por la presencia de una señal T2-hiperintensa junto a una correspondiente hipointensidad T1 dentro de las regiones de la materia blanca implicadas con los métodos de análisis asociados a las IRM. En el caso de las hipomielinizantes se observa hiperintensidad T2, acompañada de diversa hipointensidad T1 supeditada al grado de mielinización (Adang y cols., 2022).

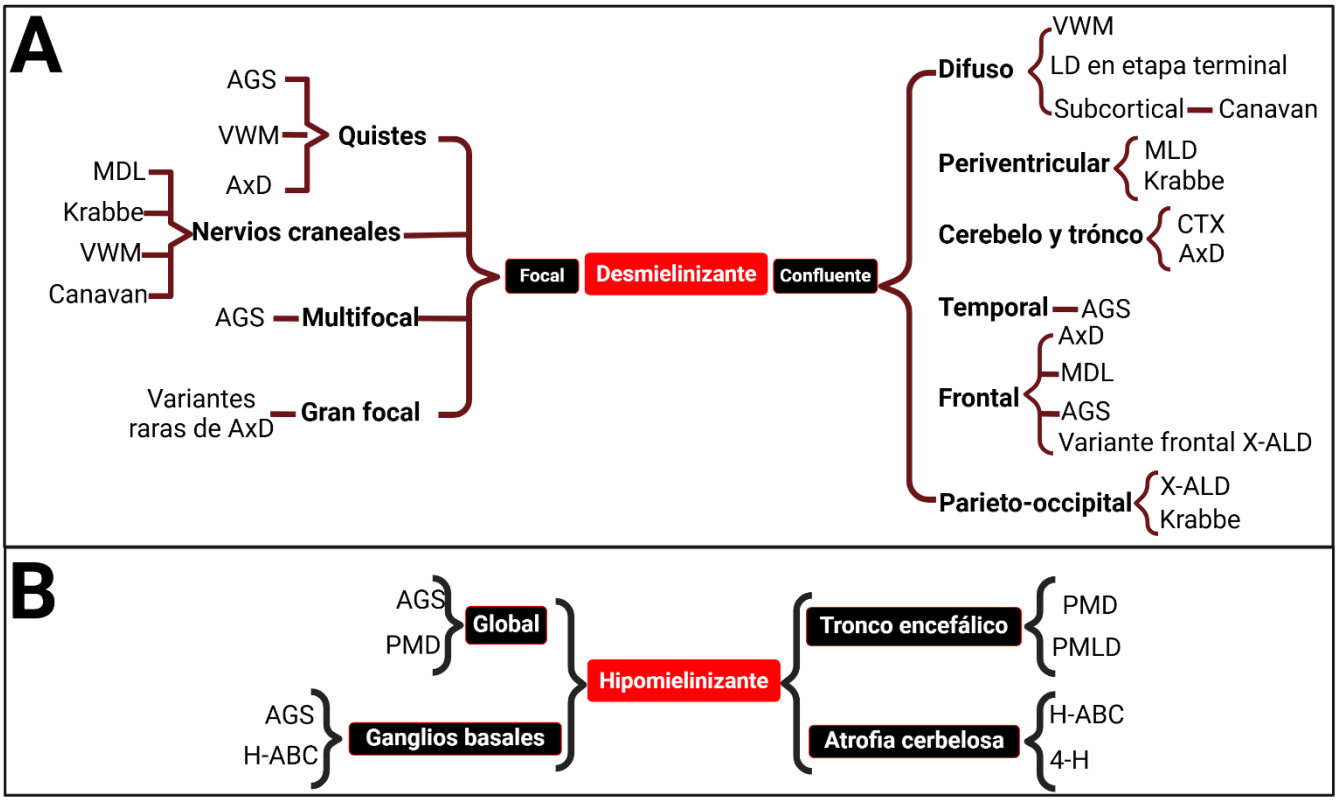


Figura 1. Clasificación de las leucodistrofias de acuerdo con los hallazgos obtenidos mediante las IRM. **A)** Leucodistrofias desmielinizantes. **B)** Leucodistrofias hipomielinizantes. H = síndrome 4H; AGS = Síndrome de Aicardi-Goutières; ALD = adrenoleucodistrofia; AxD = enfermedad de Alexander; CTX = xantomatosis cerebrotendinosa; HABC = Hipomielinización con atrofia de los ganglios basales y del cerebelo; LD = Leucodistrofia; MLD = Leucodistrofia metacromática; PMD = Enfermedad de Pelizaeus-Merzbacher; PMLD = Enfermedad similar a Pelizaeus-Merzbacher; VWM = Enfermedad de la sustancia blanca que se desvanece; X-ALD = Adrenoleucodistrofia ligada al cromosoma X. Modificado de Adang y cols., (2020).

Por el contrario, Van de Kaap y sus cols., introdujeron un novedoso sistema de clasificación basado en la patología celular en concomitancia de los hallazgos obtenidos por IRM, las cuales se muestran resumidas en la tabla 1 (Van der Kapp y cols., 2017). Esta terminología permite la categorización de las leucodistrofias en:

- Trastornos de la mielina: se afectan principalmente a los oligodendrocitos y a la mielina, se incluyen los trastornos hipomielinizantes, desmielinizantes y las patologías con vacuolización de la mielina.
- Trastornos de la sustancia blanca: constituyen modificaciones o anormalidades en los constituyentes genéticos que conforman a los astrocitos, a los que también se hace referencia como astrocitopatías.
- Leuco-axonopatías: alteración de la materia blanca resultantes de anormalidades en estructuras neuronales o axonales.
- Microgliopatías: comprende los trastornos de la materia blanca resultantes de anormalidades en determinadas expresiones de genes microgliales.
- Leuco-vasculopatías: se refiere a las alteraciones genéticas de la sustancia blanca derivadas de una patología vascular.

Tabla 1. Clasificación de las leucodistrofias.

Enfermedad	Gen/ proteína afectada	Herencia	Prevalencia	Sistema afectado	Clasificación Histórica (Radiográfica)	Clasificación funcional
Errores congénitos del metabolismo						
Adrenoleucodistrofia ligada al cromosoma X (X-ALD)	*ABCD1/*Casete de encuadernación ATP , subunidad D	Ligado al cromosoma X (las portadoras femeninas pueden verse afectadas)	1/14,000–17,000 en hombres	Peroxisoma, metabolismo de los lípidos	Desmielinización	Trastorno de la mielina (desmielinización)
Leucodistrofia de células globoides (Krabbe)	*GALC/* Galactosil-ceramidasa	Autosómico recesivo	1–5/100,000	Lisosoma, metabolismo de los lípidos	Desmielinización, vacuolización de mielina	Trastorno de la mielina (desmielinización)
Leucodistrofia metacromática (MLD)	*ARSA/* Arilsulfatasa A	Autosómico recesivo	1/40,000–160,000	Lisosoma, metabolismo de los lípidos	Desmielinización	Trastorno de la mielina (desmielinización)
Enfermedad de Fabry (FD)	*A-GLA/* α-galactosidasa	Ligado al cromosoma X (las mujeres portadoras pueden verse afectadas)	1/20,000–40,000	Lisosoma, Metabolismo de los lípidos	Hipomielinización	Secundario (depósitos de glicoesfingolípidos)

Xantomatosis cerebrotendinosa (CTX)	*CYP27A1/* enzima mitocondrial Esterol 27-hidroxilasa	Autosómico recesivo	1/50,000–1,000,000	Metabolismo de los lípidos (colesterol)	Atrofia cerebelosa y cerebral	Secundario (acumulación de derivados del colesterol)
Síndrome de Sjögren-Larsson (SLS)	*FALDH (ALDH3A2)* / Aldehído graso deshidrogenasa	Autosómico recesivo	1/250,000	Metabolismo lipídico	Atrofia cerebral	Secundarios (acumulación de alcoholes y aldehídos grasos)
Enfermedad de Pompe	*GAA/* ácido α-glucosidasa	Autosómico recesivo	1/40,000	Lisosoma, Metabolismo del glucógeno	Desmielinización	Secundario a la acumulación de glucógeno.
Enfermedad de Canavan	*ASPA/* aspartoacilasa	Autosómico recesivo	1/100,000	Ausencia de síntesis de lípidos de mielina	Espongiforme (vacuolización de mielina)	Trastorno de la mielina (vacuolización)
Trastornos de la biogénesis peroxisomal (síndrome de Zellweger, leucodistrofia neonatal y enfermedad de Refsum infantil)	*PEX1/*Factor de biogénesis peroxisomal 1	Autosómico recesivo	1/50,000	Ensamblaje de peroxisomas	desmielinización	Trastorno de la mielina
Trastornos de la transcripción/traducción de ARN/ADN						
Neuropatía hipomielinizante periférica congénita, desmielinización central y Waardenburg-Hirschsprung	*SOX10/*SOX10	Autosómico dominante	<1/ 1.000.000	Desarrollo de la mielina	Hipomielinización	Trastorno de la mielina
Síndrome de Aicardi-Goutieres	*ADAR, TREX1, RNASEH2A, RNASEH2B, RNASEH2C, SAMHD1, IFIH1*	Autosómico recesivo o dominante	1–5/10,000	Genes de la nucleasa	calcificaciones intracerebrales , atrofia cerebral, quistes temporales	Astrocitopatías
Ataxia infantil con hipomielinización del SNC/ enfermedad de la sustancia blanca evanescente (CACH/VWM)	*EIF2B1-5*/subunidades del factor de iniciación de la traducción eIF2B	Autosómico recesivo	De 1 a 4/ 1.000.000 de nacimientos	Muerte celular aislada de oligodendrocitos y astrocitos	hipomielinizante	Astrocitopatías
Citoesqueleto						

Enfermedad de Alexander	*GFAP/proteína á* cida fibrilar glial	Autosómico dominante	1/ 1,000,000 nacimientos	Acumulación de GFAP en las fibras de Rosenthal	Hipomielinización espongiforme	Astrocitopatías
Leucodistrofia hipomielinizante con atrofia de los ganglios basales y el cerebelo (H-ABC)	*TUBB4A/*tubulina β-4A	Autosómico dominante	Desconocido	Alteración de la dinámica o estabilidad de los microtúbulos	Hipomielinización, putamen pequeño o ausente, atrofia cerebral y cerebelosa	Leuco-axonopatía
Trastornos de la mielina						
Enfermedad de Pelizaeus-Merzbacher (PMD, HLD1)	*PLP1/* proteína proteolípida	Ligado al cromosoma X	1/100,000	Trastorno de la proteína mielina	Hipomielinización difusa espongiforme	Trastorno de la mielina (hipomielinización)
Enfermedad similar a Pelizaeus-Merzbacher (PMLD)	*GJC2/*proteína de unión gap, gamma-2 y otras (*HSPD1, FAM126A, POLR3A, POLR3B, RARS, PYCR2, POLR1C, VPS11, SLC16A2)*	Autosómico recesivo	Desconocido	Uniones de separación	Hipomielinización difusa	Trastorno de la mielina (hipomielinización)
Leucodistrofia hipomielinizante (HLD3)	*AIMP1/*Proteína multifuncional 1 que interactúa con el ARS	Autosómico recesivo	Desconocido	Hiperfosforilación de proteínas de neurofilamentos	Atrofia cerebral, hipomielinización	Leuco-axonopatía
Fucosidosis	*FUCA1/*alfa fucosidasa	Autosómico recesivo	<1/200.000 nacimientos	Lisosoma	Hipomielinización, atrofia cerebral y cerebelosa	Leuco-axonopatía (oligodendrocitos)
Hipomielinización con catarata congénita (CHC)	*FAM126A* (*DRCTNNB1A*) / Hyccin	Autosómico recesivo	Desconocido	Producción de mielina	Hipomielinización, atrofia de la sustancia blanca	leuco-axonopatía (oligodendrocitos)

Se muestra la clasificación propuesta de acuerdo con la patología celular, los hallazgos por IRM, la incidencia y el gen asociado. AGAL: gen de la α-galactosidasa; ARDA: ácido ribonucleico específico de la adenosina desaminasa; CACH: ataxia infantil con hipomielinización del sistema nervioso central; CTX: xantomatosis cerebrotendinosa; FD: enfermedad de Fabry; GAA: ácido α-galactosidasa; GALC: galactosilceramidasa; MLD: leucodistrofia metacromática; PEX1: factor de biogénesis peroxisomal tipo 1; SNC: sistema nervioso central; SLS: Síndrome de Sjögren-Larsson; RNASEH2A: subunidad a de la ribonucleasa H2; RNASEH2B: subunidad b de la ribonucleasa H2; RNASEH2C: subunidad c de la ribonucleasa H2; TREX1: exonucleasa de reparación primaria tipo 1; VWM: enfermedad de la sustancia blanca evanescente. Modificado de Van der Kaap y cols.,(2017).

Hasta 1997 se había estimado la incidencia de los pacientes con leucodistrofias y el rango era relativamente amplio desde de 1 en cada 5,000 hasta 1 en cada 50,000 niños nacidos vivos (Heim y cols., 1997). Sin embargo, estudios epidemiológicos recientes describen que la incidencia global es de 1 por cada 7,663 niños nacidos vivos, la mortalidad ronda el 34% de los casos, la edad media es de tan solo 8.2 años y la enfermedad de Pelizaeus-Merzbacher se coloca como la entidad más común y siendo los costos promedio al año por cada paciente de alrededor de 22,579 dólares (Bonkowsky y cols., 2010). Sin embargo, en un estudio de cohorte retrospectivo para determinar la frecuencia relativa empleando técnicas de secuenciación de nueva generación en Estados Unidos de América (véase la Figura 2), identificaron que las leucodistrofias más comunes son la adrenoleucodistrofia ligada al cromosoma X (X-ALD, de sus siglas en inglés), seguida de la leucodistrofia metacromática (MLD, de sus siglas en inglés), la enfermedad de Pelizaeus-Merzbacher (PMD, de sus siglas en inglés), el síndrome de Aicardi Goutieres (AGS, de sus siglas en inglés) y la leucodistrofia asociada al gen TUBB4A (Schmidt y cols., 2020).

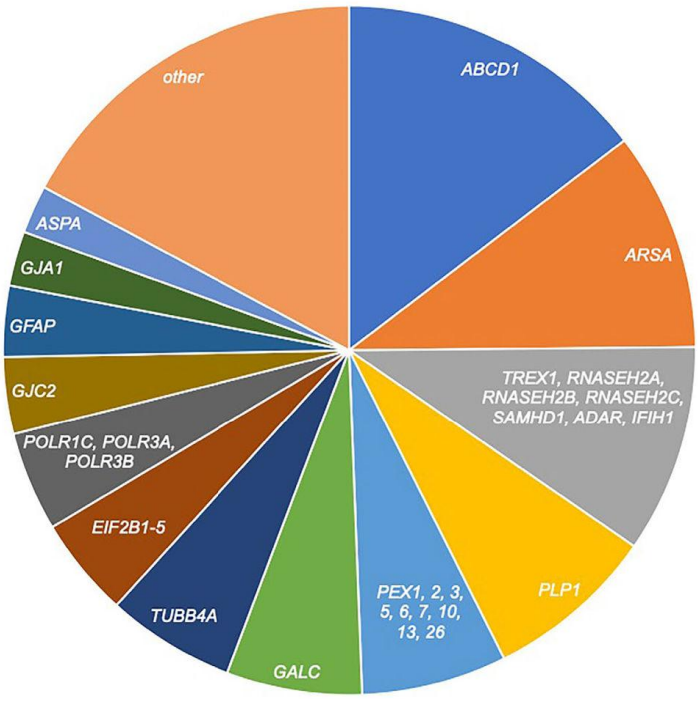


Figura 2. Frecuencia porcentual de diversas leucodistrofias. La frecuencia relativa de los casos identificados en la secuenciación del exoma y de un solo gen en 332 casos de leucodistrofia en los Estados Unidos de América. Modificado de Schimidt (2020).

En México se ha reportado que la X-ALD es la leucodistrofia más común, seguida de la MLD y la enfermedad de Canavan (Mejia-Santos y cols., 2011). Sin embargo, se han reportado casos clínicos de manera aislada de la leucoencefalopatía megalencefálica con quistes subcorticales, enfermedad de Alexander y de la hipomielinización con atrofia de los ganglios basales y el cerebelo (H-ABC, de sus siglas en inglés; Garduno-Robles y cols., 2019; Lopez-Juarez y cols., 2021).

El cuadro clínico de las leucodistrofias es heterogéneo y depende de la edad de inicio, sin embargo, existe un escenario clínico similar el cual se caracteriza por manifestaciones clínicas neurológicas y no neurológicas, como se muestra en la Tabla 2.

Tabla 2. Cuadro clínico en los pacientes con leucodistrofias.

Manifestaciones clínicas en los pacientes con leucodistrofias	
Manifestaciones neurológicas	
Alteraciones motoras	Retraso en las etapas del desarrollo motor (hipomielinizante) Disminución en las habilidades motoras (desmielinizante) Espasticidad, distonía, alteración en la marcha, ataxia.
Disautonomía	Alteración en diferentes sistemas incluido el cardiovascular, gastrointestinal, renal. Se presenta principalmente en pacientes adolescentes y adultos
Alteraciones cognitivas	Retraso en las etapas del desarrollo cognitivo. Trastorno de hiperactividad y déficit de atención en X-ALD.
Alteraciones psiquiátricas	Ansiedad, depresión, dolor crónico, aislamiento social, irritabilidad, etc.
Epilepsia	Pueden presentarse como signo tardío en las leucodistrofias Signos principales MLD y VWM (enfermedad de la sustancia blanca que se desvanece). También se ha mostrado en la enfermedad de Alexander, enfermedad de Canavan, la

	leucodistrofia ligada al cromosoma X, la enfermedad de Krabbe, la enfermedad de Pelizaeus-Merzbacher y la enfermedad H-ABC.
Alteración del SNP	Neuropatía periférica con disminución de los reflejos tendinosos en MLD y enfermedad de Krabbe.
Otras	Macroliscencefalia, microliscencefália, nistagmo
Manifestaciones no neurológicas	• Endócrina: fallo adrenal, hipogonadotropismo, hipogonadismo, deficiencia de hormona de crecimiento, disgenesia y falla ovárica. • Oftalmológicas: cataratas, retinitis pigmentosa, nistagmos, deficiencia vascular ocular, miopía, atrofia óptica, glaucoma y oftalmoplejía. • Dentales: hipodoncia, oligodoncia, displasia de esmalte. • Piel: angioqueratoma, fotosensibilidad cutánea, hiperpigmentación, xantoma tendinoso, perniosis. • Gastrointestinal: diarrea-vómito, afectación en la vesícula biliar, hepatoesplenomegalia. • Corazón: cardiomegalia, alteraciones en la conducción cardiaca.

En general en las leucodistrofias los tratamientos farmacológico tienen un enfoque para mitigar los síntomas ocasionados por la hipotonía, la espasticidad, la epilepsia, el dolor crónico y los trastornos del sueño (Van der Knaap y cols., 2019). Sin embargo, el avance en los últimos años en la clínica y en la biomédica ha promovido la búsqueda de nuevas opciones de tratamiento como son: la terapia génica (Eichler y cols., 2017; Leone y cols., 2012), la terapia con oligonucleótidos antisentido (Finkel y cols., 2021), la edición genética basada en CRISPR/Cas 9 (Liang y cols., 2017) y las terapias basadas en células madre (Mahmood y cols., 2007; Moser y cols., 2007). Dentro del tratamiento no farmacológico se ha implementado el uso de cirugía de cadera, cirugía de columna vertebral para tratar la escoliosis, así como la fisioterapia mediante un plan de ejercicios terapéuticos y el uso de agentes físicos como la electroterapia, el láser terapéutico y el ultrasonido (Adang y cols., 2022).

En humanos las leucodistrofias más comunes son:

1. Enfermedad de Pelizaeus Merzbacher (PMD, por sus siglas en inglés): enfermedad hipomielinizante que afecta al cerebro y la médula espinal. La PMD afecta al cromosoma X en el gen PLP1 que codifica a la proteína proteolipídica (PLP) tipo 1. Clínicamente se caracteriza por presentar nistagmo, retraso en el desarrollo, hipotonía, ataxia, espasticidad, alteraciones respiratorias y movimientos involuntarios (Van der Kaap y cols., 2017).
2. Enfermedad de Krabbe: también conocida como leucodistrofia de las células globoides, es un trastorno que afecta a la sustancia blanca tanto del sistema nervioso central (SNC) como del sistema nervioso periférico (SNP). Se trata de una mutación en el gen de la enzima lisosomal galactocerebrosidasa (GALC, por sus siglas del inglés), afecta a la capacidad para degradar los galactolípidos que se encuentran en la mielina, debido a la baja actividad enzimática. Clínicamente se caracteriza por la presencia de debilidad muscular, fiebre, alteraciones cognitivas, retraso en el desarrollo y postura rígida (Wenger y cols., 2000).

3. Leucodistrofia metacromática (MLD, por sus siglas en inglés): es un trastorno autosómico recesivo que es causado por mutaciones en el gen ARSA que codifica para la encima arilsulfatasa A (ASA). La disminución en la actividad de la ASA promueve la acumulación de sulfatidas en el SNC y SNP produciendo desmielinización. La MLD se clasifica en un tipo de inicio infantil, juvenil y adulto, según la edad de aparición de los signos y síntomas como lo son: irritabilidad, ataxia, neuropatía periférica, disfagia y convulsiones (Gieselman y cols., 2010).

4. Adrenoleucodistrofias (ADL): es la leucodistrofia más común en niños y se trata de un trastorno ligado al cromosoma X que afecta al gen ABCD1 que codifica una proteína de la membrana peroxisomal, la cual pertenece a la superfamilia de transportadores de unión al adenosín trifosfato (ATP), por lo que tiene un impacto en el SNC, glándulas supra renales y las células de

Leydig de los testículos. Las alteraciones están relacionadas con la acumulación de ácidos grasos de cadena muy larga (VLCFA, por sus siglas en inglés) causada por una anomalía en la degradación oxidativa en los peroxisomas (Van der Kaap y cols., 2017).

5. Enfermedad con hipomielinización y atrofia de los ganglios basales y el cerebelo (H-ABC, de sus siglas en inglés): es un trastorno relacionado con el gen TUBB4A, incluye un espectro fenotípico que va de la hipomielinización aislada hasta la hipomielinización con atrofia de los ganglios basales y cerebelo. Los hallazgos neurológicos reportados incluyen la vía piramidal, la vía extrapiramidal, el cerebelo y el bulbo raquídeo (Norah y cols., 2016).

Los modelos animales han jugado un papel fundamental a lo largo de la historia para dilucidar la fisiopatología de diversos trastornos y facilitar la investigación de estrategias terapéuticas novedosas, siendo los modelos murinos de los más utilizados desde hace más de un siglo. El ratón Twitcher, caracterizado por una mutación del gen para la galactosidasa denominado Galc, se ha establecido como un modelo animal ejemplar para la investigación de la enfermedad de Krabbe (KD), demostrando una desmielinización central y gliosis que se correlacionan con lo descrito en la patología humana (Duchen y cols., 1980; Suzuki y cols., 1995). Otro biomodelo reportado es la rata *taiep*, que tiene una mutación en el gen Tubb4a y posee rasgos genéticos y fenotípicos análogos a la leucodistrofia H-ABC humana (Alata y cols., 2021; Carmen y cols., 2022; Garduno-Robles y cols., 2019), por lo que es el principal modelo de estudio para esta tubulinopatía y que se describirá con mayor detalle en el presente escrito .

Por el contrario, la escasez de modelos naturales requiere el empleo de técnicas genéticas en ratones manipulados que carecen (knock-out) o que sobre expresan (knock-in) un gen específico, las cuales han sido utilizadas para replicar diversas patologías, incluyendo las leucodistrofias. Los biomodelos de enfermedades que afectan a la mielina se muestran en la Tabla 3.

Tabla 3. Modelos animales en las leucodistrofias.

Modelo	Enfermedad relevante	Fenotipo	Referencias
Ratón Twitcher	Enfermedad de Krabbe	Desmielinización central, gliosis, infiltración de células globoides (macrófagos multinucleados), debilidad progresiva de las extremidades posteriores, reducción de la supervivencia	Duchen y cols., 1980; Suzuki y cols., 1995.
ASA knock-out	Leucodistrofia metacromática	Acumulación de cerebrósido-3-sulfato, gliosis, alteraciones neuromotoras	Hess y cols., 1996
TREX1 knock-out	Síndrome de Aicardi-Goutières	Inflamación multiorgánica (miocarditis inflamatoria), reducción de la supervivencia	Morita y cols., 2004.
ABCD1 knock-out	Adreno-leucodistrofia ligada al cromosoma X	Reducción de la beta-oxidación de VLCFA, niveles elevados de VLCFA saturados, anomalías de la mielina a los 15 meses	Pujol y cols., 2002.
Ratones knock-in GFAP	Enfermedad de Alexander	Formación de fibras de Rosenthal, aumento de la expresión de la GFAP, reactividad de los astrocitos	Hageman y cols., 2006.
Rata taiep	H-ABC	Hipomielinización con presencia de atrofia en los ganglios basales y el cerebelo.	Garduño-Robles 2020; Alata y cols., 2021.
Ratón Shiverer	Leucodistrofias dismielinizantes	Alteración en los oligodendrocitos por mutación en la MBP.	Mikoshiba y cols., 1992.

Rata temblorosa	Enfermedad de Canavan	Vacuolización en la mielina.	Hofker y Van Deursen, 2011.
Rata deficiente de mielina	Enfermedad de Pelizaeus-Merzbacher	Dismielinización por mutación en PLP	Csiza y cols., 1979
Ratón Jimpy	Enfermedad de Pelizaeus-Merzbacher	Dismielinización por mutación en PLP	Nussbaum y cols., 1969.

ASA: arilsulfatasa A; GFAP: proteína ácida fibrilar glial; H-ABC: hipomielinización con atrofia de los ganglios basales y el cerebelo; MBP: proteína básica de la mielina; PLP: proteína proteolipídica; TREX1: exonucleasa de reparación primaria tipo 1; VLCFA: ácidos grasos de cadena muy larga.

El citoesqueleto.

Todos los organismos vivos, que abarcan una amplia gama de formas de vida diversas, pueden clasificarse sistemáticamente en función de su composición celular en dos categorías primarias, a saber, procariotas y eucariotas (Hohmann y cols., 2019). Ante la observación meticulosa de las células procariotas, que incluyen predominantemente bacterias, bajo las capacidades avanzadas de un microscopio electrónico, se puede discernir claramente la conspicua ausencia de un núcleo bien definido; estos organismos se caracterizan por su notable capacidad para reproducirse a un ritmo acelerado mediante un proceso conocido como fisión, que no sólo facilita el intercambio genético sino que también les permite evolucionar a un ritmo relativamente rápido (Wiese y cols., 2000). Por el contrario, las células eucariotas, que exhiben un mayor nivel de complejidad, presentan división a través del proceso de mitosis, y se distinguen por la presencia de membranas internas que encierran el material genético, con lo que se forma un núcleo estructurado, además de esto, desarrollan estructuras especializadas denominadas orgánulos, las cuales están compartimentadas y funcionalmente segregadas en el citoplasma (Hohmann y cols., 2019). En la década de los setenta, investigaciones pioneras demostraron de manera concluyente que las células eucariotas están equipadas con un sofisticado e

intrincado ensamblaje de redes interconectadas integradas por polímeros filamentosos y proteínas reguladoras, denominadas colectivamente citoesqueleto, que juega un papel esencial en mantener la integridad celular y facilitar diversos procesos intracelulares (Wickstead y cols., 2011).

El citoesqueleto representa uno de los marcos más intrincados y multifuncionales dentro de la arquitectura celular, dado que juega un papel fundamental en una multitud de procesos biológicos esenciales que incluyen pero no se limitan a: endocitosis, el intrincado proceso de división celular, la compleja dinámica del transporte intracelular, la motilidad celular, la transmisión de fuerzas mecánicas, la resistencia contra diversas fuerzas externas ejercidas sobre la célula, adhesión celular, la preservación de la integridad celular, así como la notable capacidad de las células para someterse a adaptaciones morfológicas en respuesta a diversos estímulos ambientales (Wickstead y cols., 2011). La ejecución de estas funciones multifacéticas se ve facilitada principalmente por la presencia de tres constituyentes proteínicos predominantes que conforman el citoesqueleto: filamentos de actina, que son cruciales para diversas formas de movimiento celular; microtúbulos, que cumplen funciones esenciales en la forma y transporte celular; y filamentos intermedios, que proporcionan soporte estructural y estabilidad al marco celular.

- Los filamentos de actina: son los elementos más pequeños con un diámetro aproximado de 6 nm y están compuestos por muchos monómeros llamados G-actina formando una estructura que se asemeja a una doble hélice denominada F-actina. Dentro de sus funciones esenciales es servir como rieles para el movimiento de una proteína motora llamada actina, funcionan como pistas dentro de la célula para el transporte de cargas y tienen funciones estructurales esenciales en la célula (Fletcher y cols., 2010; véase Figura 3).

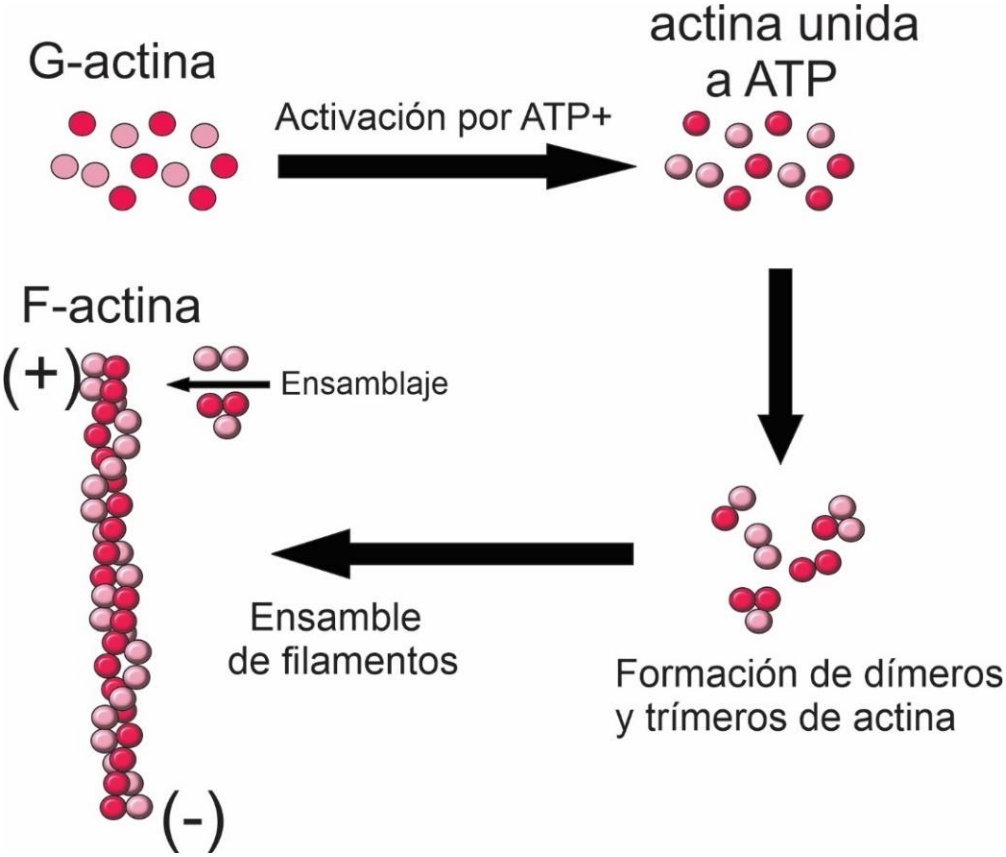


Figura 3. Estructura y ensamblaje de los filamentos de actina. Los monómeros de G-actina interactúan con el adenosín trifosfato (ATP), posterior a su unión se forman dímeros y trímeros de la actina unida a ATP. Los oligómeros se unen en el más terminal (+) para formar la F-actina. Modificado de Hofmann y cols., (2018).

- Los filamentos intermedios: son un elemento del citoesqueleto formado por muchas proteínas fibrosas entretejidas, tienen un diámetro de entre 8 a 10 nm. Al ser un elemento menos flexible, su principal función es resistir las fuerzas de tracción de forma más eficiente que a las fuerzas de compresión, y se pueden reticular entre sí por medio de las plectinas (Wiche, 1998; véase Figura 4).

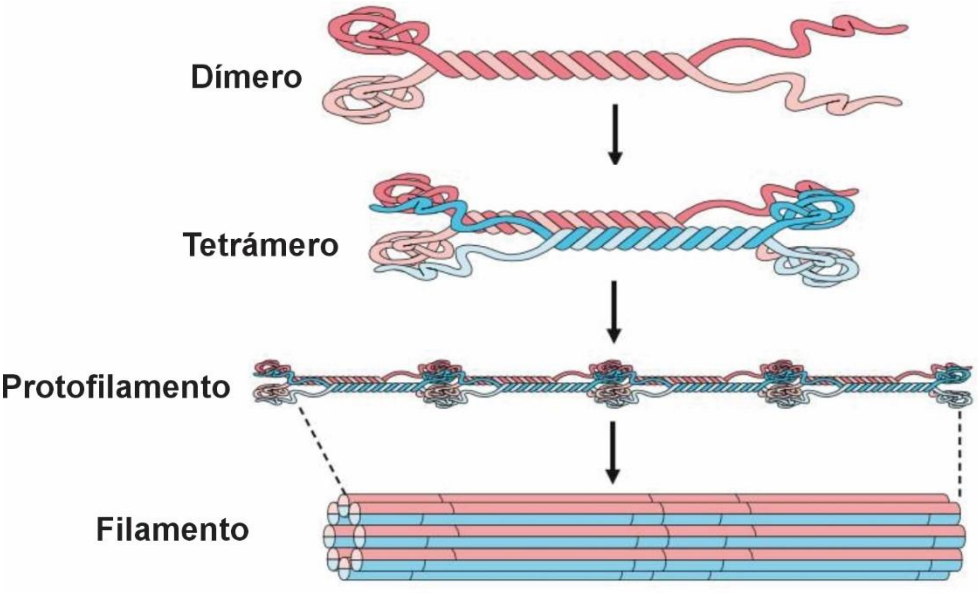


Figura 4. Ensamblaje del filamento intermedio. Las proteínas fibrosas α-helicoidales giran una alrededor de otra para formar dímeros, dos dímeros se unen para formar un tetrámero, ocho tetrámeros ensamblados entre ellos forman un protofilamento y múltiples de estas estructuras se ensamblan para producir un filamento, el proceso no requiere de adenosín trifosfato (ATP) o trifosfato de guanosina-5 (GTP) para su ensamblaje. Modificado de Herrmann y cols., (2016).

- Los microtúbulos son formaciones tubulares que son componentes esenciales de la arquitectura citoesquelética en células eucariotas, compuestas por complejos heterodiméricos de proteínas de α y de β tubulina. Estas estructuras exhiben un diámetro de 25 nanómetros, mientras que su naturaleza cilíndrica da como resultado una longitud de filamento de 15 nanómetros (Cleary y cols., 2021; véase Figura 5).

Los microtúbulos poseen una polaridad inherente, caracterizada por un extremo negativo de crecimiento lento y un extremo positivo más dinámico que es capaz tanto de extensión como de retracción (Hohmann y cols., 2019). En consecuencia, el atributo fundamental de los microtúbulos es su polarización, la cual es crucial para la ejecución de procesos celulares direccionales. Por ejemplo, los microtúbulos establecen rutas polarizadas que facilitan el transporte intracelular preciso, generan fuerzas orientadas en direcciones específicas, como lo demuestra la alineación y segregación de cromosomas, ofrecen soporte mecánico estructural a la célula, y se

organizan sistemáticamente en distintas entidades polares, incluyendo centriolos y cilios (Cleary y cols., 2021).

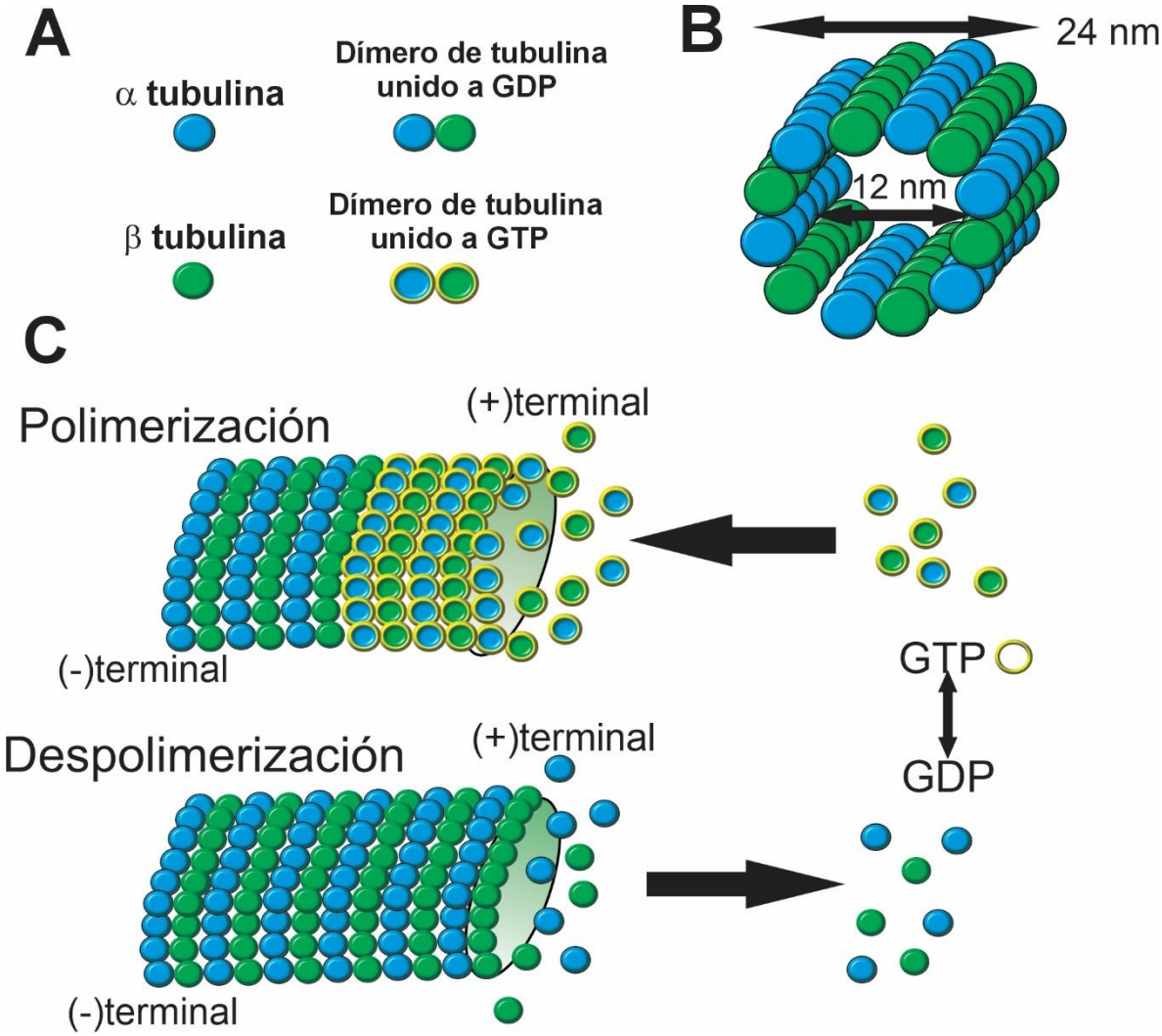


Figura 5. Estructura y ensamblaje de los microtúbulos. A) Se ilustran los isómeros de α tubulina y β tubulina, estas dos proteínas forman un heterodímero que puede estar acoplado a difosfato de guanosina (GDP) o a trifosfato de guanosina. **B)** El microtúbulo es una estructura cilíndrica que consta de un diámetro externo de 24 nm y de 12 nm en su luz. **C)** La hidrólisis del trifosfato de guanosina incorpora un dímero de tubulina al microtúbulo en dirección del (+), proceso denominado polimerización. Cuando los dímeros de la (+) están unidos a GDP se vuelven inestables, lo que lleva al proceso de catástrofe o despolimerización disminuyendo la longitud del microtúbulo. Modificado de Hohmann y cols., (2019).

La microscopía electrónica reveló distintos sitios subcelulares de los que parecían formarse los microtúbulos, a estas áreas se le les denominó centros organizadores de microtúbulos (MTOC, de sus siglas en inglés). El centrosoma es denominado como el principal MTCO, es un orgánulo que no está anclado a la membrana y está compuesto por dos centriolos rodeados por materia pericentroliar (Farache y cols., 2018), y complejos asociados a la gamma-tubulina. Existen dos complejos de gamma-tubulina distintos identificados por su composición proteica y por sus dimensiones. Los complejos iniciales se denominan pequeños complejos de gamma-tubulina (γTuSC, de sus siglas en inglés) y consisten en heterotetrámeros formados por las proteínas GCP2 y GCP3, cada una de las cuales se asocia con una molécula de gamma-tubulina (Wiese y cols., 2000). Los complejos posteriores se designan como anillos de gamma-tubulina (γTurc); estas estructuras surgen de la agregación de múltiples γTUSC junto con GCPs 4, 5 y 6, culminando en una configuración helicoidal que se asemeja a una estructura de anillo (Farache y cols., 2018).

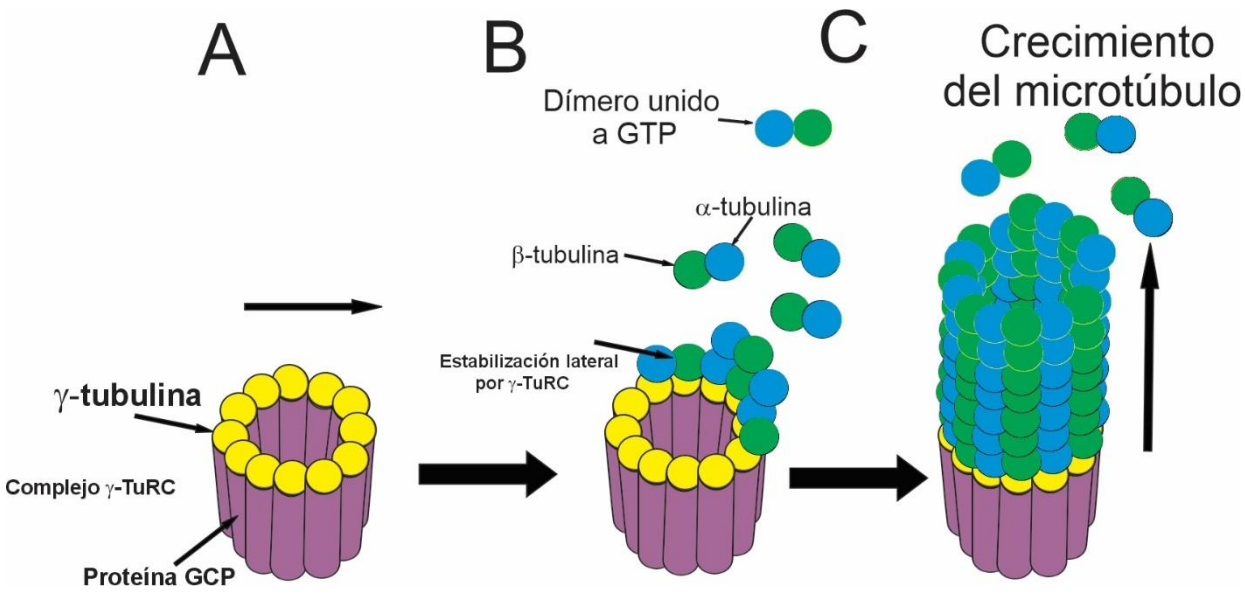


Figura 6. El anillo de gamma-tubulina y la nucleación del microtúbulo. A) La proteína γ-tubulina se une a las proteínas del complejo γ-tubulina (GCPs, de sus siglas en inglés) para formar el anillo de gamma-tubulina (γTuRC). **B)** Las moléculas de α-tubulina se unen con los dímeros de α/β-tubulina unidos a guanosina trifosfato (GTP), esta interacción facilita las asociaciones laterales entre los dímeros de α/β-tubulina a medida que pasan a ser protofilamentos. **C)** Una vez que el anillo

de gamma-tubulina (γTuRC) estabiliza múltiples dímeros de α/β-tubulina, se facilita el proceso de polimerización por medio de la hidrólisis de GTP y el microtúbulo crece. Modificado de Tovey y cols., (2018).

Por otro lado, la inestabilidad dinámica es una propiedad descrita por Tim Michision y cols., (1984), se trata de un proceso donde las subunidades de la tubulina se asocian y disocian del extremo positivo del microtúbulo, acción que permite que el protofilamento se polimerice o despolimerice en cuestión de minutos o segundos. Esta propiedad está impulsada por dos estados distintos de los heterodímeros de α y β tubulina unidos a GTP y GDP, a la frecuencia de acortamiento se le denomina catástrofe y a la transición al crecimiento se le denomina rescate (Brangwynne y cols., 2007).

Las tubulinas.

Las tubulinas son una familia distinta de GTPasas que están conservadas en las células eucariotas y son los componentes estructurales de los microtúbulos (Nogales y col., 2000). La superfamilia eucariota está compuesta por seis miembros: α, β, γ, δ, ε y una sexta familia llamada ζ-tubulina (Nogales, 2000). Las isoformas de la α y la β tubulina son las más comunes en humanos y están presentes en todas las células nucleadas (Mckean y cols., 2001).

La α y la β tubulina se ensamblan en un heterodímero de la cabeza a la cola para formar a los microtúbulos en el MTCO, hay un total de 20 genes de tubulina humana conocidos a la fecha, 10 son de α-tubulina, 9 de la β-tubulina, tres para la γ-tubulina, como se muestran en la Tabla 4 (Mckean y cols., 2001; Buisson y cols., 2016).

Las neuronas migran desde su ubicación inicial durante la neurogénesis a diferentes sitios en el sistema nervioso formando núcleos y circuitos neuronales, a este proceso se le denomina migración neuronal post-mitótica (Rubenstein y cols., 2003). Esta migración requiere un conjunto de elementos del citoesqueleto, principalmente de los

microtúbulos, ya que juegan un papel mecánico importante, porque están involucrados con los procesos de alargamiento de la neurona migrante y el movimiento nuclear (Rubenstein y cols., 2003). También, los microtúbulos se asocian con proteínas de señalización extracelular para controlar el movimiento celular, tal como con la reelina, glucoproteína producida por las células horizontales de Cajal, que al unirse a los receptores VLDLR inicia una cascada de señalización que regula a los microtúbulos guiando la migración neuronal (Beffert y cols., 2004).

Tabla 4. Clasificación de los genes de alfa y beta-tubulina en humanos.

Tipo de tubulina	Grupo/clase	Subtipo(gen)
α-tubulina	Grupo 1	TUBA1A, TUBA1B, TUBA1C
	Grupo 2	TUBA4A, TUBA4B
	Grupo 3	TUBA3C, TUBA3D, TUBA3E
	Grupo 4	TUBA8, TUBAL3
β-tubulina	Clase I	TUBB, TUBB1
	Clase IIa	TUBB2A
	Clase IIb	TUBB2B
	Clase III	TUBB3
	Clase IVa	TUBB4A
	Clase IVb	TUBB4B
	Clase V	TUBB6, TUBB8

Clasificación de las isoformas de la α y la β tubulina en la ortología de los genes humanos presentada por el Comité de Nomenclatura Genética. Modificado de Gonçalves y cols., (2018).

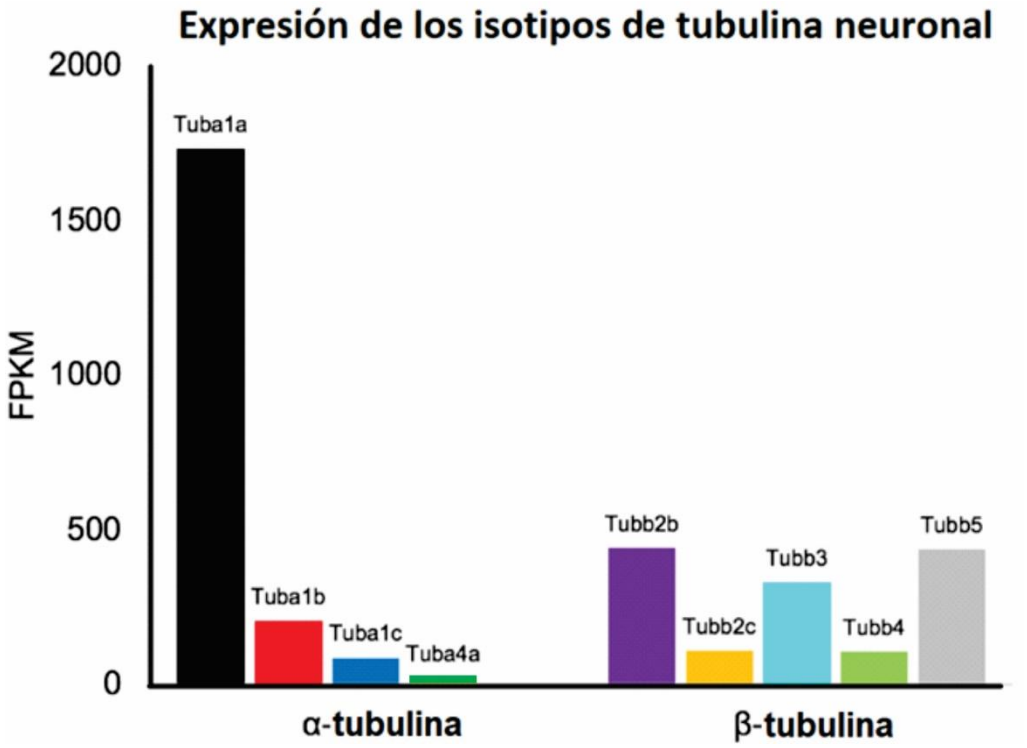


Figura 7. Secuencia del ácido desoxirribonucleico para los isotipos de α y β tubulina en neuronas de ratón. Se muestran el número de fragmentos por kilobase de secuencia de transcripción por millón de fragmentos mapeados (FPKM, de sus siglas en inglés) de las diferentes isoformas de a y b tubulinas en neuronas corticales de ratón en los días postnatales 7 al 17. Modificado de Aiken y cols., (2018).

Tubulinopatías.

A lo largo de las etapas del neurodesarrollo de los mamíferos, la intrincada estructura del cerebro requiere procesos esenciales a nivel neuronal, incluyendo la proliferación, la migración, la estratificación y la diferenciación de diversas poblaciones neuronales (Cleary y cols., 2021). Los microtúbulos son parte integral de cada uno de estos procesos, ya que juegan un papel fundamental en la división mitótica y citocinesis de las células progenitoras neuronales (Guzik y cols., 2004; Mitchison y cols., 1984). En consecuencia, cualquier alteración en los componentes de la tubulina que constituyen los microtúbulos puede conducir a modificaciones en

sus características principales como es su inestabilidad, su dinámica o las interacciones con proteínas asociadas a microtúbulos, lo que potencialmente puede producir diferentes trastornos neurológicos (Maillard y cols., 2023; Tischfield y cols., 2010).

Antes de la década de los 90's del siglo pasado, dichos trastornos neurológicos se clasificaban dentro de una categoría diversa conocida como malformaciones del desarrollo cortical (MCD), las cuales se distinguen por una aberración en la estructura de la corteza cerebral acompañada de la presencia de materia gris heterotópica, resultando en síntomas como epilepsia, retrasos en el desarrollo y parálisis cerebral (Buisson y cols., 2016). No obstante, los avances en las técnicas de detección molecular facilitaron la identificación de una mutación en el gen TUBA1A, responsable de codificar a la proteína alfa tubulina 1a, la cual se vinculó a la manifestación de lisencefalia, sello clínico de un tipo específico de MCD que se caracteriza por un alisamiento en múltiples regiones de la corteza cerebral. Estos recientes descubrimientos subrayaron la importancia de las alteraciones en los heterodímeros de tubulina alfa y beta en la etiología de las malformaciones corticales (Barkovich y cols., 2012).

Actualmente las mutaciones en las tubulinas o en las proteínas asociadas a los microtúbulos se asocian a un amplio espectro de malformaciones del SNC, que se les denomina tubulinopatías (Romero y cols., 2018). Hasta el 2018 se habían caracterizado tubulinopatías de solo un subconjunto de genes de la tubulina como son: TUBB2A, TUBB2B, TUBB3, TUBG1, TUBA8, TUBB, TUBA3E y TUBB4A (Gonçalves y cols., 2018). Sin embargo, gracias a las nuevas técnicas de secuenciación del genoma o del exoma se han identificado más de 255 mutaciones en las tubulinas hasta el momento (Attard y cols., 2022), por ende, tanto el número de tubulinopatías como el espectro fenotípico de las mismas ha crecido debido a estos hallazgos.

Los genes TUBA1A, TUBB2B y TUBB3 son responsables del noventa por ciento de las tubulinopatías que causan malformaciones severas en el SNC, los signos más comunes son:

- Lisencefalia: se caracteriza por un claro engrosamiento de la corteza con mayor afectación en los lóbulos parietales y occipitales. Puede estar acompañada con hipoplasia cerebelosa, agenesia del cuerpo calloso o con la paquigiria (alteración en la organización de las circunvoluciones en el cerebro) predominantemente central que involucra la ínsula y la opércula frontal, temporal y parietal (Buisson y cols., 2016; Gonçalves y cols., 2018).
- Microliscencefália: se trata de una displasia cortical grave que combina microcefalia extrema y lisencefalia, visible a través de IRM prenatal a las 25 semanas de gestación (Buisson y cols., 2016).
- Displasia cortical similar a la polimicrogiria (PMG): a través de la resonancia magnética se observa un aumento en el grosor de la corteza, excesivos pliegues corticales y una disminución en la profundidad de los surcos en comparación con cerebros sin alteraciones (Buisson y cols, 2016).
- El patrón de giro simplificado: se trata de una malformación cortical menos severa, en la cual el grosor de la corteza es normal pero las circunvoluciones son más anchas y los surcos muy superficiales (Kumar y cols., 2010).

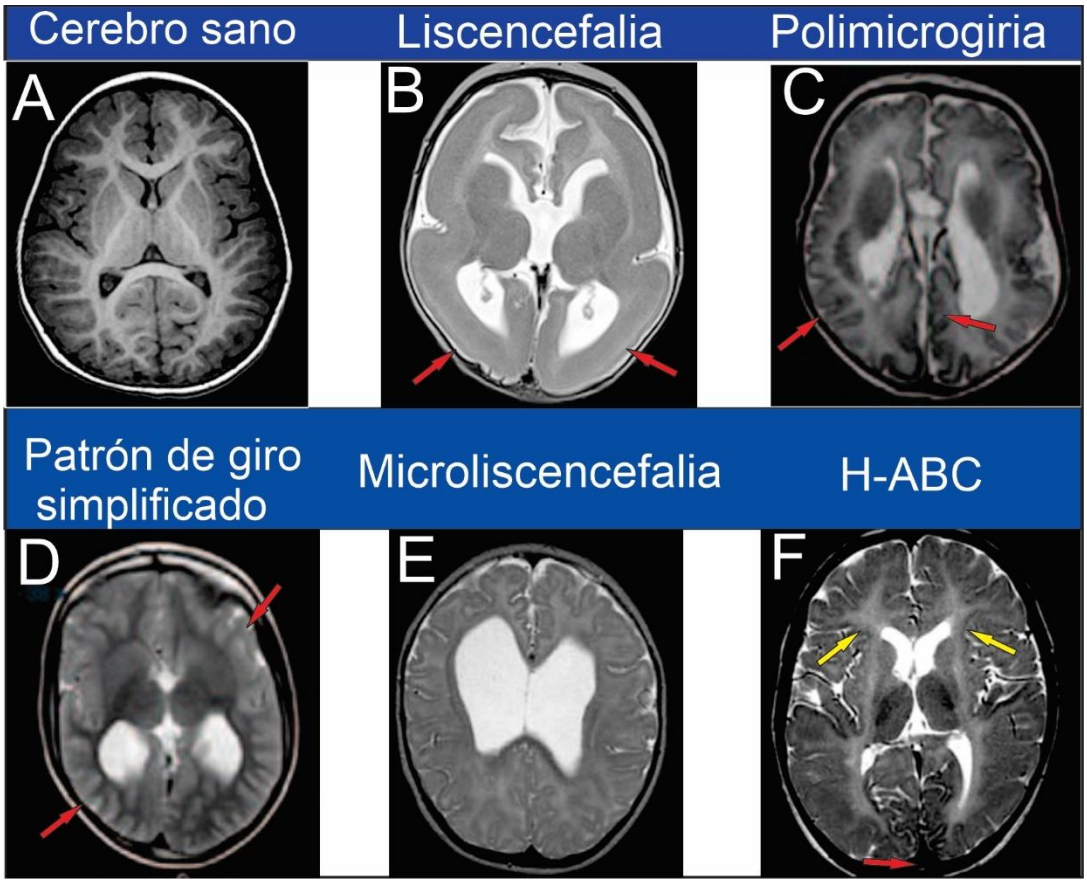


Figura 8. Imágenes por resonancia magnética ponderadas en T2 de los signos más comunes en las tubulinopatías. **A)** Corte axial de una imagen por resonancia magnética (IRM) de un cerebro sano. **B)** Corte axial de una IRM con lisencefalia clásica, el patrón de alisado en la corteza es más conspicuo en la zona occipital (en flechas rojas). **C)** IMR con polimicrogiria, note que los giros anormales prevalecen en la zona posterior (véase las flechas rojas). **D)** IRM que presenta un patrón de giro simplificado, las circunvoluciones anormales están presentes tanto en el lóbulo frontal como en el occipital (véase las flechas rojas). **E)** IRM fetal, muestra microcefalia con lisencefalia generalizada leve, ventriculomegalia y ausencia de ganglios basales. **F)** IRM con hipomielinización y pérdida moderada del volumen de la materia blanca, atrofia cerebelosa (véase la flecha roja), y atrofia del cuerpo estriado (véase flechas amarillas). Modificado de Barkovich y cols., (2012); Goncalves y cols., (2019); Buisson y cols., (2022).

Tubulinopatía asociada al gen β tubulina 4a clase IVa.

La mayoría de las tubulinopatías que impactan el sistema nervioso central (SNC) conducen a malformaciones cerebrales significativas; sin embargo, la tubulinopatía ligada al gen β tubulina 4a clase IVa (TUBB4A) representa una notable excepción. La mutación en este gen se correlaciona con la hipomielinización acompañada de atrofia tanto de los ganglios basales como del cerebelo (H-ABC), ejerciendo una influencia más pronunciada sobre la materia blanca del SNC, lo que da como resultado una síntesis inadecuada de mielina o incluso una desmielinización progresiva que comienza durante la infancia (Gonçalves y cols., 2018).

Por otra parte, las mutaciones asociadas al gen TUBB4A tiene un amplio espectro fenotípico que incluye a la distonía-4 o distonía susurrante (DYT4, de sus siglas en inglés), diplejía espástica, encefalopatía infantil, hipomielinización aislada y la H-ABC (Curiel y cols., 2017). En un estudio reportado por Curiel y cols.,(2017) los hallazgos *in vitro* de la mutación con la patología H-ABC, fueron el único subconjunto que afectó a la morfología neuronal y a los oligodendrocitos; además, presenta una afectación severa en la corteza cerebelosa que afecta a las neuronas de la capa granular y a las células de Purkinje, también se observa una pérdida de las neuronas propias del putamen acompañada de un proceso de inflamación en el axón, véase la Tabla 5 (Curiel y cols., 2017).

Tabla 5. Fenotipos en la mutación del gen b tubulina 4a clase IVa

Descripción de la enfermedad	**Distonía tipo 4 (DYT4)**	**H-ABC**	**Hipomielinización aislada**	**Hipomielinización aislada**	**Encefalopatía infantil temprana**
Cambio de aminoácidos	R2G	D249N	V255I	R282P	N414K
Presencia de morfología anormal de	Solo neuronal	Neuronas y oligodendrocitos	Solo oligodendrocitos	Solo oligodendrocitos	Solo oligodendrocitos

células transfectadas *in vitro*					
Dinámica de microtúbulos	Normal	Anormal, aumento de la polimerización.	Polimerización anormal, disminuida	Polimerización anormal, disminuida	Anormal, aumento de la polimerización.
Expresión de proteínas asociadas a la mielina	Normal	Disminuido	Disminuido	Disminuido	Disminuido
Patología humana	No disponible	Disponible	No disponible	No disponible	Disponible
Neuronas estriatales		Pérdida con esferoides axonales.			Preservadas
Oligodendrocitos		Pérdida con disminución del número de oligodendrocitos.			Aumento de la densidad de oligodendrocitos.
Mielinización		Hipomielinización			Hipomielinización
Capa granular cerebelosa / células de Purkinje		Afectado			Afectado

Los efectos patológicos de estudios *in vitro* para las diferentes mutaciones asociadas al gen TUBB4A. Modificado de Curiel y cols., (2017).

Para las tubulinopatías, el criterio diagnóstico por excelencia son los estudios de imagen por resonancia magnética (IRM) donde se tiene como signo principal la hipomielinización, seguida de las técnicas de secuenciación del genoma y del exoma de nueva generación (Maillard y cols., 2023). La tubulinopatía del gen TUBB4A no es la excepción, ya que se puede observar el signo H-ABC en los pacientes con esta mutación (véase Figura 9).

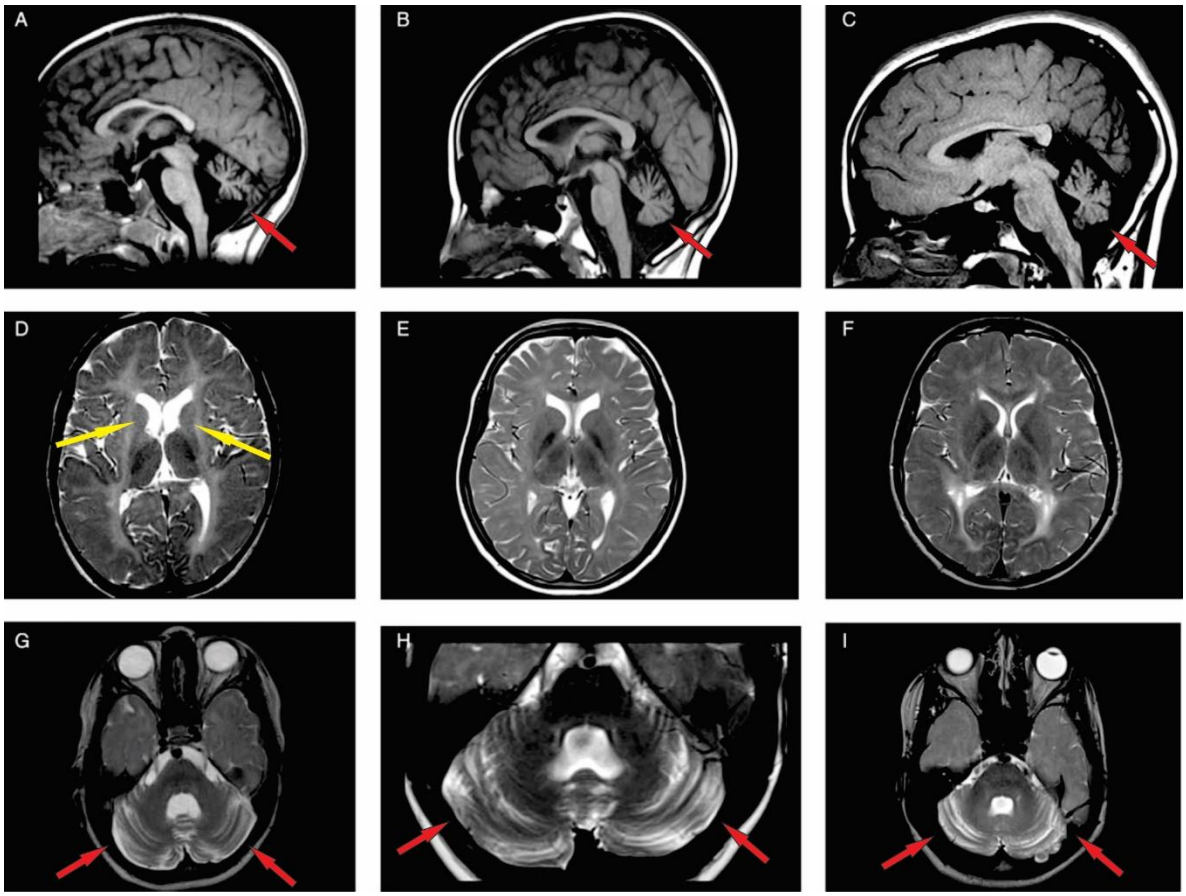


Figura 9. Imágenes de resonancia magnética en pacientes con tubulinopatía con mutación en el gen b tubulina 4a clase IVa. Se muestran los signos de la leucodistrofia H-ABC en tres pacientes, el paciente 1 (A, D y G), el paciente 2 (B, E y H) y el paciente 3 (C, F e I). La línea media sagital (A, B y C) y a nivel de los ganglios basales (D, E y F) y la fosa posterior del cerebelo (G, H e I). Todos los pacientes muestran atrofia cerebelosa (señalado con las flechas rojas) e hipomielinización, en E y F se observa pérdida del volumen de la sustancia blanca y atrofia de los ganglios basales (señalado con las flechas amarillas). Modificado de Gonçalves y cols., (2018).

Manifestaciones clínicas de las tubulinopatías.

En general, las tubulinopatías tienen diversas características clínicas ya que son una amplia gama de alteraciones tanto morfológicas como funcionales en el SNC. Dentro de las características clínicas más comunes se encuentran las deficiencias

cognitivas y motoras, que están presentes en casi todos los sujetos con algún tipo de tubulinopatía y se correlacionan directamente con la gravedad de las malformaciones en el cerebro (Buisson y cols., 2016)

La epilepsia es una característica presente en las tubulinopatías, la cual no está relacionada con la severidad en las malformaciones del SNC. Las convulsiones están presentes en alrededor de treinta por ciento de los sujetos afectados, a excepción de la alteración del gen TUBB2A, ya que esta cursa con una encefalopatía epiléptica más común o síndrome de West, y parece ser patognomónico de este tipo de tubulinopatía (Cushion y cols., 2013).

Por otra parte, se ha reportado diplejía facial y estrabismo en la displasia cortical similar a la polimicrogiria (Buisson y cols., 2016), fibrosis congénita en los músculos extra oculares y debilidad facial en las tubulinopatías del tipo TUBB3 y TUBB2B (Chew y cols., 2013), la polineuropatía sensoriomotora progresiva en algunas variantes como TUBB3 y TUBB2 (Tischfield y cols., 2010) y la microcefalia congénita en más del 75 por ciento de los sujetos con tubulinopatías del tipo TUBA1A, TUBA8, TUBB2B y TUBBG1 (Buisson y cols., 2016).

En el caso de la isoforma TUBB4A, se han reportado anormalidades de movimientos extrapiramidales, espasticidad, ataxia cerebelosa, discapacidad visual cortical, disartria y en algunos casos epilepsia (Gonçalves y cols., 2018; Hamilton y cols., 2014; Vander Kaap y cols., 2019).

La arquitectura y la topografía en la médula espinal.

La médula espinal cumple un papel crucial en la regulación de la musculatura voluntaria, modula y procesa los datos sensoriales del torso y las extremidades. Constituye un componente del sistema nervioso central, la cual está anclada a la duramadre vía los ligamentos denticulados, y se extiende desde el bulbo raquídeo

hasta el borde inferior de la primera vértebra lumbar; su longitud aproximada es de 45 cm en hombres y 43 cm en mujeres (Bican y cols, 2013).

La médula espinal se puede clasificar en distintas regiones en función de su orientación cefalo-caudal en las zonas: cervical, torácica, lumbar, sacra y coccígea. Adicionalmente, se puede segmentar en treinta y un segmentos distintos que comprenden ocho cervicales, doce torácicos, cinco lumbares, cinco en la zona sacra y uno en el área del coxis (Bican y cols, 2013).

A nivel medial, la médula espinal presenta un par de fisuras —una anterior y una posterior— que bisectan la estructura medular en dos mitades simétricas, interconectadas por las comisuras transversales anteriores y posteriores. Es en esta coyuntura donde emergen las raíces anterior y posterior, culminando en la formación de los nervios espinales. Ubicado centralmente dentro de la médula se encuentra el canal central, que facilita la circulación del líquido cefalorraquídeo (LCR; Hochman, 2007).

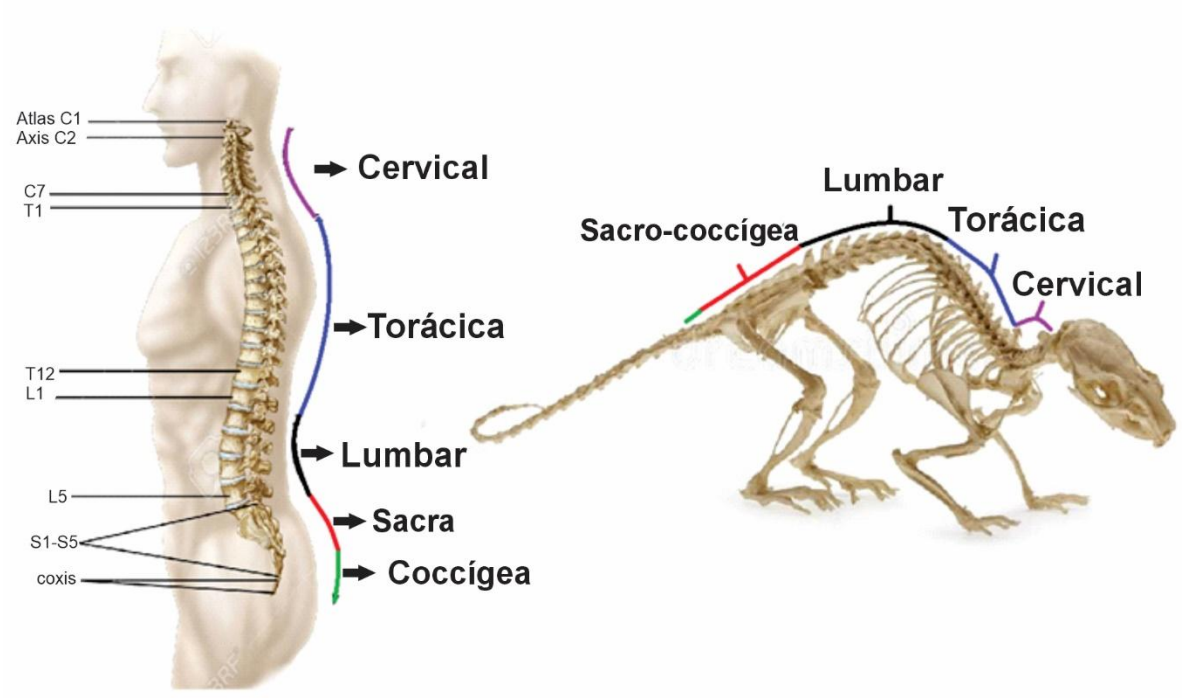


Figura 10. Esquemas representativos de la columna vertebral y sus segmentos en humanos y ratas. Note que en el humano se tienen 31 segmentos vertebrales subdivididos

en las zonas: cervical, torácica, lumbar, sacro-coccígea, la cola de caballo o *filum terminale* y sus equivalentes en el esqueleto de la rata.

La arquitectura de la médula espinal se caracteriza por la materia gris, que exhibe una morfología parecida a la de una mariposa, y se subdivide además en cuernos dorsal y ventral. El cuerno dorsal es una estructura en capas que se origina en la placa del ala embrionaria, mientras que el cuerno ventral surge de la placa basal del tubo neural y está poblado con grupos sustanciales de neuronas motoras. El neuroanatomista Rexed (1952) categorizó la materia gris de los felinos en diez láminas distintas con base en sus parámetros citoarquitectónicos; esta clasificación se ha aplicado posteriormente a diversas especies, incluyendo humanos y ratas (Véase la Figura 10). Las placas I a IV se ubican dentro del cuerno dorsal, mientras que la placa V se ubica en la base del cuerno dorsal, correspondiendo a la zona central del cuerno ventral a la lámina X; además, las láminas VI y VII pertenecen al núcleo intermedio, y las láminas VIII y IX están asociadas con los núcleos motores que albergan a las neuronas motoras.

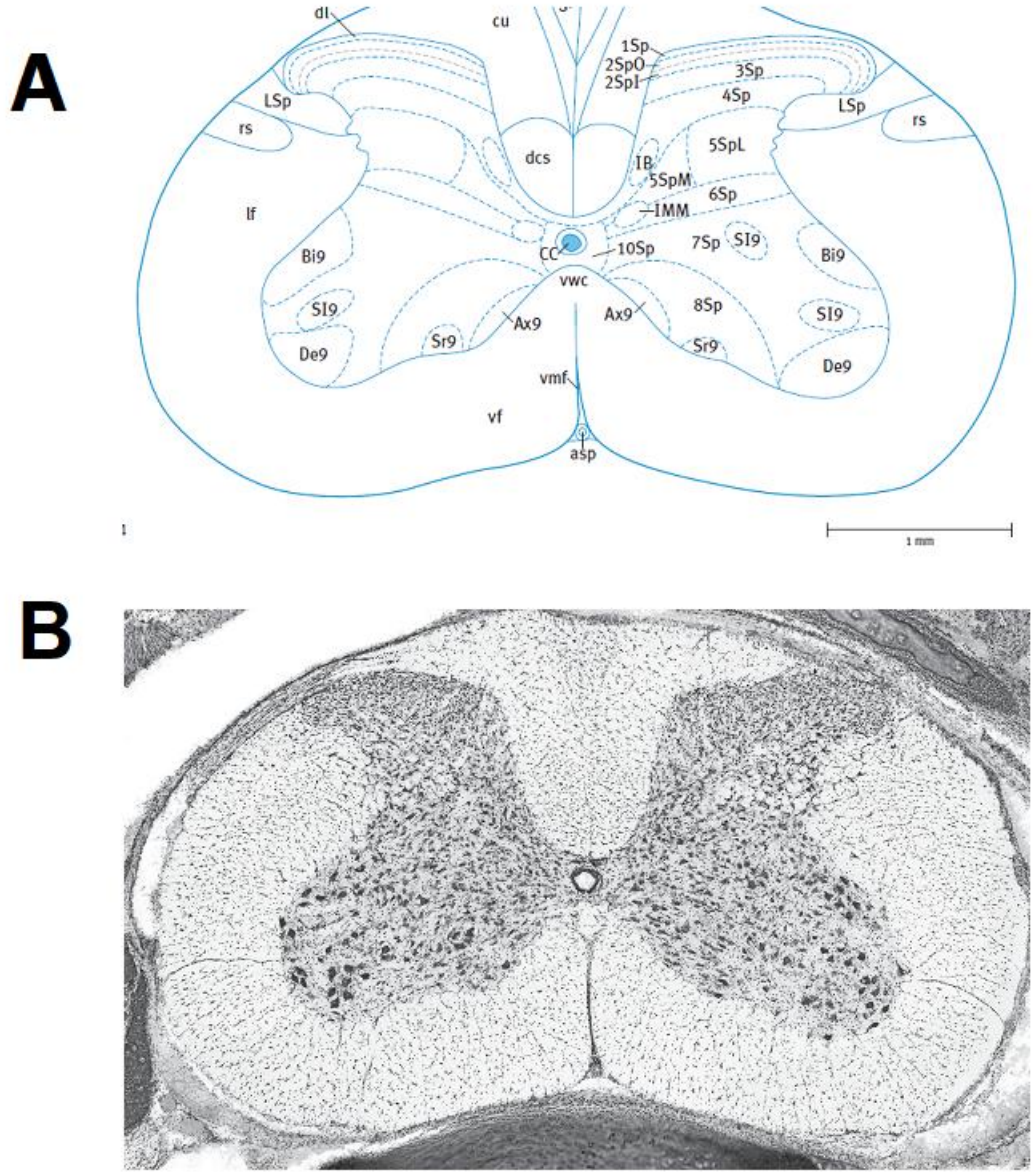


Figura 11. Corte coronal de la médula espinal de la rata. A) se muestra un mapa topográfico de la médula donde se describen los núcleos y diferentes tractos ascendentes y descendentes, en la citología se describe en abreviaturas: (1Sp) lámina uno, (2SpI) lámina dos en su porción interna, (2SpO) lámina dos en su porción externa, (3Sp) lámina tres, (4Sp) lámina 4, (5Spl) lámina 5 en su porción medial, (6Sp) lámina 6, (7Sp) lámina 7, (8Sp) lámina 8, (10Sp) lámina 10, (Axp) zona de los músculos axiales, (Bi9) zona del bíceps, (CC) canal central, (De9) deltoides, (fdl) fascículo dorso lateral, (gr) fascículo grácil, (SI9) supra espinoso, (Sr9) serrato anterior, (rs) tracto rubro espinal. **(B)** se muestra un corte coronal del segmento L3 de la médula espinal de rata con la tinción de Cajal-Gallego. Modificado de Paxinos y cols., (2009).

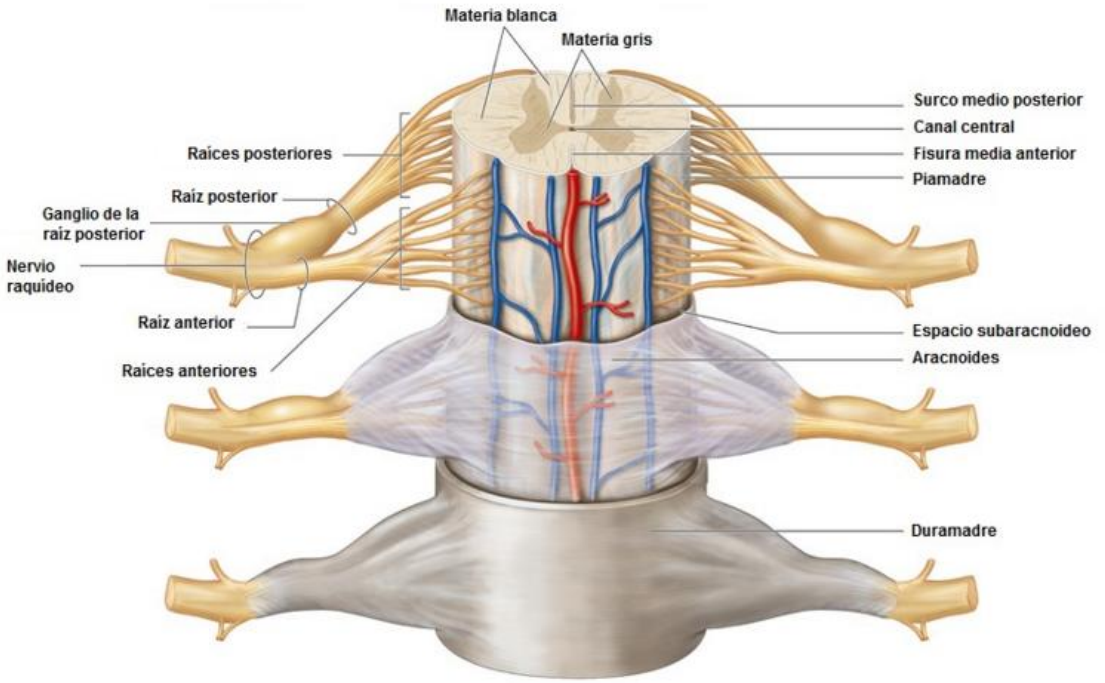


Figura 12. Estructura de la médula espinal y las meninges. La duramadre y la aracnoides han sido seccionadas para mostrar las raíces anteriores y posteriores y el ligamento dentado. Este es un engrosamiento bilateral, longitudinal y dentado de la piamadre que fija la médula en el centro del conducto vertebral. La médula espinal está seccionada para mostrar los cuernos (astas) de la sustancia gris. Las meninges se extienden a lo largo de las raíces nerviosas y después se fusionan con el epineuro en el punto donde la raíz anterior y la posterior se juntan, formando la vaina dural que encierra los ganglios sensitivos de las raíces posteriores de los nervios espinales. Modificado de Moor, (2007).

La médula espinal está envuelta por tres membranas protectoras: la duramadre, la aracnoides y la piamadre, como se muestra en la Figura 12. La duramadre, se sitúa externamente, cumple un papel protector; dentro del espacio epidural, funciona para separarse del canal vertebral y contiene una capa adiposa. Adicionalmente, está presente una red de vasos sanguíneos epidurales, denominada plexo de Batson. El espacio subaracnoideo es de suma importancia, ya que delimita el aracnoides de la piamadre que rodea la médula espinal y es el reservorio del líquido cefalorraquídeo; colectivamente, el aracnoides y la piamadre se denominan leptomeninges (Diaz and Morales, 2016).

Los nervios espinales emergen de la médula espinal en forma de raicillas que convergen para formar dos raíces:

- Una raíz nerviosa ventral o anterior que está compuesta de fibras motoras, que funcionan de manera eferente, viajan desde el asta anterior de la sustancia gris medular y se dirigen hacia los músculos estriados. axones de neuronas motoras alfa de gran diámetro a las fibras musculares estriadas extrafusales y axones de neuronas motoras gamma, que suministran los huesos musculares estriados intrafusales, así como fibras motoras autónomas preganglionares (Bican, 2013).

- Una raíz nerviosa dorsal o posterior que está formada de fibras aferentes sensitivas organizadas somatotópicamente, se originan en los ganglios sensitivos de la raíz dorsal. Las fibras aferentes de mayor tamaño como lo son las aferentes Ia y las aferentes Ib, son fibras mielinizadas que conducen la información de los husos musculares y de los órganos tendinosos de Golgi respectivamente. Las cuales están involucradas en la activación de los reflejos miotático y miotático inverso. Las fibras de tamaño mediano denominadas A-beta, transmiten los impulsos de los mecanorreceptores en la piel y las articulaciones. Las fibras pequeñas, poco mielinizadas, A-delta y tipo M sin mielina, transmiten señales del tipo nociceptiva y térmica (Bican, 2013).

La vascularización de la médula espinal es proporcionada principalmente por la arteria espinal anterior, la cual está constituida por dos ramas que se originan en las arterias vertebrales a nivel intracraneal, que discurren longitudinalmente a través de la fisura media anterior, además de varias arterias espinales posteriores que de manera similar provienen de las arterias vertebrales (Hochman, 2007).

Fisiología de la locomoción.

La locomoción constituye una función motora que es iniciada por el sistema nervioso central (SNC) y conlleva un compromiso secuencial, rítmico, estereotipado, y preciso de los músculos de las extremidades o tronco para facilitar un movimiento adecuado (Kiehn y cols., 2017).

El minucioso examen de la locomoción se originó a partir de los esfuerzos del fotógrafo inglés Eadweard Muybridge, quién grabó la marcha de un caballo empleando una batería de 12 a 24 cámaras, lo que mostró que, durante una fase específica del movimiento galopante, el caballo podía progresar sin que sus extremidades hicieran contacto con el suelo (citado en Clarac, 2008). Esta revelación incitó al fisiólogo belga Maurice Philippson a cultivar un interés significativo en la investigación de la biomecánica locomotora, utilizando las imágenes de Muybridge para analizar de manera detallada la cinemática asociada con las articulaciones de cadera, rodilla y tobillo del caballo (Muybridge, 1898). Haga clic o pulse aquí para escribir texto.

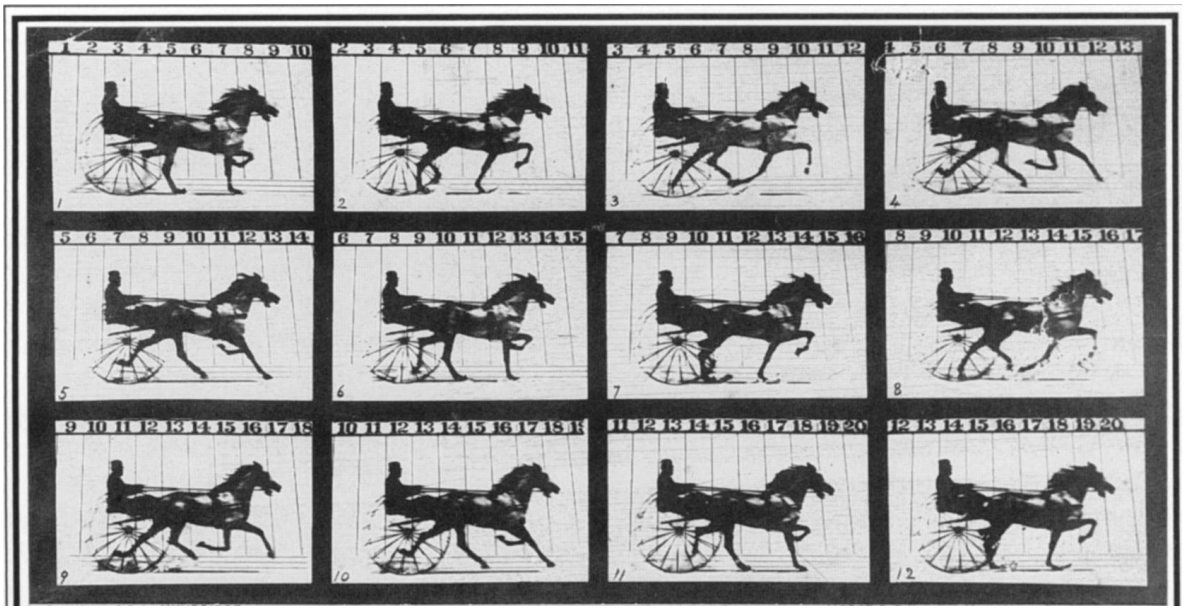


Figura 13. El caballo en movimiento. Secuencia de fotografías del galope de un caballo con su jinete, empleando la electro-fotografía automática, método patentado por Eadweard Muybridge en 1878. Tomado de William y cols., (1989).

A pesar de que comenzaba la investigación precisa sobre la biomecánica de la locomoción, aún no se habían dilucidado las complejidades del control neuronal que gobierna este comportamiento. En 1910, Sir Charles Scott Sherrington, fisiólogo de la Universidad de Oxford en el Reino Unido, propuso la teoría refleja de la regulación del movimiento en las actividades locomotoras, postulando que las acciones locomotoras se producían por la activación de la piel y los receptores propioceptivos, que a su vez suscitaban respuestas reflejas (Clarac, 2008). En consecuencia, el reflejo miotático, el reflejo de retirada, y el reflejo de extensión cruzada eran capaces de inducir flexión y extensión de las extremidades para iniciar las funciones locomotoras (Clarac, 2008).

Por el contrario, el colega de Sherrington, Thomas Graham Brown, adoptó una perspectiva divergente sobre el control neuronal; sus experimentos realizados entre 1910-1913, revelaron que los movimientos flexores y extensores de las extremidades y extremidades posteriores en felinos podrían estimularse incluso en ausencia de entrada sensorial. Estos hallazgos corroboraron la noción de que la médula alberga una red neuronal capaz de iniciar y sostener acciones locomotoras, concepto referido como el modelo de los hemicentros, el cual ahora es reconocido como los generadores de patrones centrales (GCP's; Clarac 2008). Estos hallazgos obtenidos a través de experimentos realizados en gatos descerebrados describieron que:

- La marcha refleja no necesita de estructuras supra-espinales para producir su patrón básico de la alternancia entre los músculos flexores y extensores.
- La actividad rítmica de los patrones básicos de la marcha está contenida en circuitos neuronales dentro de la médula espinal.
- Las señales tónicas del encéfalo pueden activar los circuitos neuronales espinales que comandan la marcha.

Los resultados obtenidos por Brown fueron ignorados por más de 50 años y permaneció la idea de la teoría refleja de Sherrington. En 1968 el fisiólogo sueco Anders Lundberg recreó los experimentos de Brown, y la comunidad científica aceptó la idea de las redes espinales e inició una revolución en el estudio del control neural de la locomoción (Lumber, 1968). Al inicio de la década de los 70s, los investigadores

soviéticos Shik y Orlovsky realizaron registros electromiográficos (EMG) en los músculos extensores de gatos intactos y demostraron que la extremidad trasera tiene contacto con el suelo al inicio de la fase de postura, de 5 a 10 ms después de la activación de los músculos extensores, datos que corroboraron que el inicio de la fase extensora se debe a un comando central espinal, reforzando así la idea de los GCPs (Orlovsky 1999). Concomitante a estos hallazgos, la fisióloga polaca Elzbieta Jankowska, reportó mediante trabajos de registro intracelular que se puede provocar la actividad rítmica y alternante empleando la administración sistémica de L-DOPA en la médula espinal en una preparación de gato espinalizado, demostrando la importancia de una monoamina como lo es la dopamina en el circuito espinal que comanda los procesos locomotores (Jankowska y cols., 1967; Parrilla y cols., 1969; Clarac, 2005).

Actualmente se conoce que esta red neuronal o GCPs, son modulados tanto por vías serotonérgicas, dopaminérgicas, noradrenérgicas como por los propioceptores de las extremidades y los diferentes tipos de aferentes musculares (Leiras et al., 2022).

Por lo tanto, la locomoción depende de una red neuronal específica llamada GCP's, los cuales se encuentran a nivel de la médula espinal en el engrosamiento cervical y a nivel lumbosacro para las extremidades inferiores. Este tipo de neuronas tienen la capacidad de generar patrones rítmicos de actividad en las motoneuronas en ausencia de aferencias, por lo que la generación de la actividad motora dada por los CPGs depende de tres factores:

1. Las propiedades celulares de las neuronas individuales que construyen la red.
2. Las propiedades de las conexiones sinápticas interneuronales.
3. El patrón de las interconexiones entre dichas neuronas.

Los CPGs tienen excitadores endógenos, por tal motivo, poseen activación espontánea, principalmente los que producen ritmos continuos, como son la deambulación, la respiración, el nado y el rascado (Field y cols.,1959). Se ha demostrado que existe solo un CPG encargado de la marcha para cada extremidad (McCrea y cols., 2008).

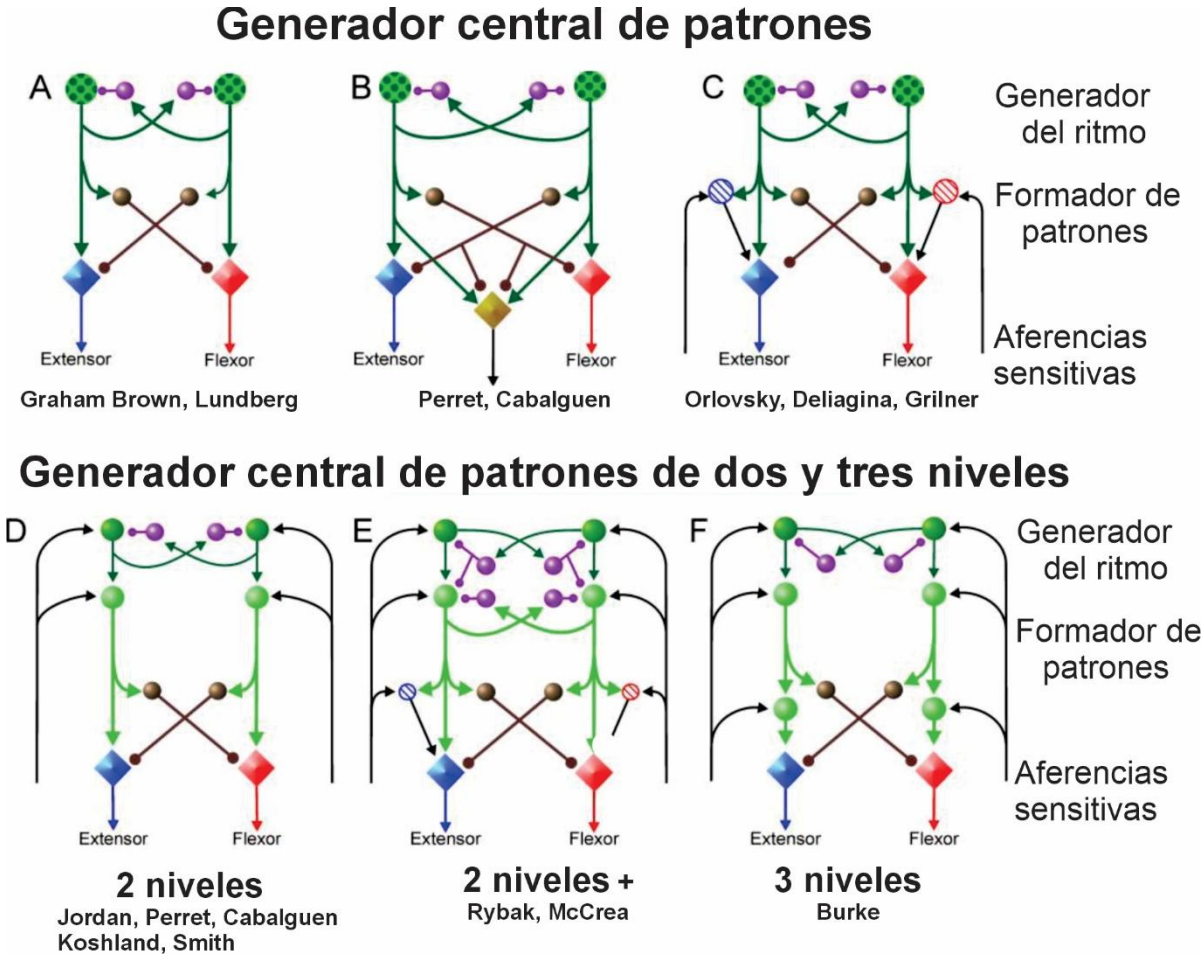


Figura 14. Diferentes modelos del generador central de patrones propuestos para la marcha. Los círculos representan las poblaciones de interneuronas y los diamantes a las motoneuronas. **(A-C)** Modelos de generador central de patrones de un solo nivel, en el cual el ritmo y la formación de patrones se genera de las interneuronas superiores en color verde y actúa directamente sobre las motoneuronas. Los círculos cafés son las inhibiciones recíprocas de las interneuronas. **(D-F)** Los modelos de GCP's de dos y tres niveles, en el cual las interneuronas funcionan a más niveles, el primero en verde oscuro es el generador de ritmo, el segundo en verde claro es el generador de patrones, el tercero son las aferencias sensitivas, los circuitos en morado son las inhibiciones recíprocas entre las interneuronas y en café las inhibiciones recíprocas inter-motoneuronas. Modificado de McCrea y cols., (2008).

No solo los CPGs son requeridos para modular la locomoción, ya que en la marcha son necesarios los reflejos espinales, los centros motores corticales y subcorticales para que exista un correcto ajuste en el patrón de la marcha según se requiera, dadas las condiciones medio ambientales o debido a los trastornos del movimiento (Field y cols.,1959). Las eferencias que emanan de las motoneuronas suelen depender de la

fase de la marcha, es decir, la activación de los músculos flexores o extensores depende de qué fase del ciclo se encuentre en el proceso locomotor (Hamers y cols., 2001; Rybak y cols., 2006).

Aunque el patrón básico de la marcha pueda ser regulado a nivel espinal, las vías descendentes supra-espinales son necesarias para iniciar y controlar la marcha y se dividen en tres sistemas. El primero activa el sistema locomotor de la médula espinal y el control la velocidad global de la marcha. El segundo refina el patrón motor a través de las aferencias de las fibras musculares, los propioceptores y el tercer factor está constituido por las aferencias visuales que ajustan el patrón locomotor (Takakusaki y cols., 2013).

Por otro lado, casi en paralelo con el regreso a los estudios del control neural de la locomoción, Shik y Orlovsky realizaron experimentos en gatos decorticados, pero esta vez buscando una estructura superior que se relacionara con el control de la locomoción. En 1966 mostraron que existe un área en el mesencéfalo que delimitaba al núcleo cuneiforme (CnF), que cuando se estimulaba eléctricamente el área que comprendía 1mm, esta era capaz de producir movimientos locomotores dependientes de la intensidad del estímulo, a esta área se le denominó región locomotora mesencefálica (RLM; Shik y cols., 1966; Noga y cols., 2022). Posteriormente se describió que el CnF no era el único núcleo relacionado a la actividad locomotora ya que Skinner y García-Rill describieron el límite anatómico de la RLM en ratas, donde incluía a las neuronas colinérgicas de núcleo pedunculopontino (PPN; Skinner y cols., 1990). Empleando técnicas de electrofisiología y optogenética se han identificado neuronas glutamatérgicas, colinérgicas y GABAérgicas en el PPN; así como glutamatérgicas y GABAérgicas tanto en el PPN como en el CnF (Mena-Segovia y cols., 2017; Roseberry y cols., 2016).

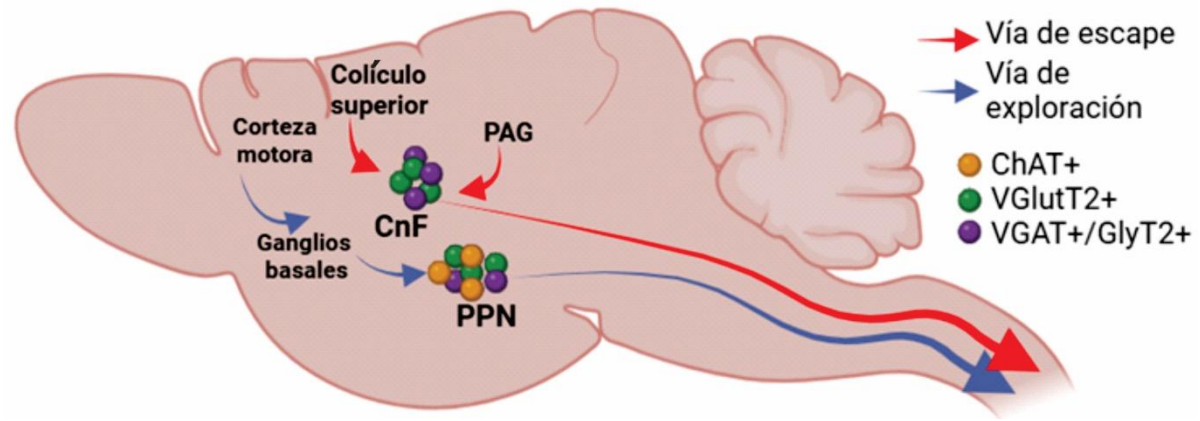


Figura 15. Poblaciones de neuronas en la región locomotora mesencefálica. La región locomotora mesencefálica (RLM) está compuesta por dos áreas distintas: el núcleo PPN y CnF. El núcleo PPN contiene al menos tres poblaciones diferenciadas neuroquímicamente: neuronas glutamatérgicas (moradas), colinérgicas (amarillas) e inhibidoras (verdes). El CnF consiste en una combinación de interneuronas glutamatérgicas e inhibidoras. PAG: sustancia gris periacueductal. Realizado en Biorender y modificado de Gatto y cols., (2018).

Por otra parte, Caggiano y cols., (2018) demostraron que al estimular las neuronas glutamatérgicas del CnF podían producir actividad locomotora a diferentes velocidades, por lo que pueden representar una vía de escape (Caggiano y cols., 2018). Mientras que las neuronas glutamatérgicas del PPN solo se activaban con movimientos locomotores lentos que se asocian a una conducta exploratoria (Caggiano y cols., 2018; Roseberry y cols., 2016). Los axones de la RLM pueden llegar a los núcleos del rafé dorsal para descender por la vías retículo-espinales (Noga y cols., 2003), también se proyectan al *locus coeruleus* (Steeves y cols., 1980), y las neuronas glutamatérgicas y GABA/Glicinérgicas bilateralmente a través del funículo ventral para contactar a las interneuronas del CPGs (Noga y cols., 2003; Takakusaki, 2013).

Por otra parte, existe evidencia de que las aminas biogénicas regulan la magnitud y la evolución temporal de la actividad motora y tanto la vía noradrenérgica procedente del *locus coeruleus,* como la actividad serotoninérgica del núcleo del rafé dorsal, son componentes fundamentales para la marcha (Jordan, 1998). Sin embargo, aunque estas vías son importantes, ninguna es fundamental para el inicio de la locomoción, ya que la marcha se puede inducir sin la participación activa de estas dos vías

(Guertin, 2009). En los gatos descerebrados y en la rata neonata se ha mostrado que la administración de un agonista que se une a los receptores de aminoácidos excitadores de la familia del N-metil D-aspártico (NMDA) puede inducir la locomoción, y por otra parte los antagonistas específicos de los receptores NMDA pueden impedir el inicio de la locomoción (Cazalets y cols., 1990). Estos hallazgos sugieren que la vía glutamatérgica descendente está implicada de manera directa en el inicio de la locomoción (Pearson y cols., 2000). Finalmente, el cerebelo recibe información de los haces cerebelosos dorsal y ventral que es donde se integra la información permitiendo ajustar el patrón de la marcha, dado que cuando los movimientos de alternancia se apartan de los movimientos de intención, son las vías cerebelosas las que participan en el ajuste. Una de las patologías más estudiadas con objetivo de entender cuál es el rol de la vías espinocerebelosas dorsales y ventrales es el estudio de la marcha atáxica (Arshavsky y cols., 1972).

Las alteraciones caracterizadas principalmente por una falta de coordinación muscular en la postura o en las extremidades resultante por una atrofia o patología del cerebelo o de la médula espinal involucran una marcha atáxica, esta patología fue reconocida por el neurólogo francés Pierre Marie desde 1893 (citado en Bastian y cols., 1996). El Instituto Nacional de los Trastornos Neurológicos y Accidentes Cerebrovasculares (NINDS, de sus siglas en inglés), reporta que la ataxia de Friedreich es la más frecuente, es una enfermedad hereditaria que afecta a la médula espinal, inicia a partir de los cinco años a los quince años de edad y se caracteriza por presentar marcha atáxica y problemas de lenguaje (NINDS, 2007).

Fisiología y biomecánica de la marcha.

Los mecanismos biomecánicos y fisiológicos subyacentes a la postura y la marcha han sido ampliamente examinados en numerosas investigaciones académicas. Las contribuciones fundacionales en este campo se remontan a Borelli y su obra seminal, *“Motu Animalum”*, publicada a mediados del siglo XVII, seguida por la elucidación de los hermanos Weber sobre el ciclo de caminar en 1873 (Baker y cols., 2007). En la

investigación contemporánea, el advenimiento de las plataformas de fuerza y los avances en las tecnologías de imagen han mejorado significativamente nuestra capacidad para analizar la marcha y sus características distintivas con mayor precisión (Dujardin y cols., 2009).

La postura es un concepto multifacético que varía según la naturaleza del estudio realizado; en humanos, típicamente se caracteriza por una postura erguida y bípeda, la cual requiere del mantenimiento del equilibrio con un gasto energético mínimo. Este equilibrio requiere la activación coordinada de los músculos espinales, flexores de cadera, flexores de rodilla, y flexores plantares del tobillo (Crowninshield y cols., 1981; Dujardin y cols., 2009).

En un contexto más amplio, la marcha abarca una serie de patrones simétricos de movimiento articular que facilitan una transición rítmica desde el golpe del talón hasta el despegue de los dedos en la fase de soporte en contacto con la superficie de soporte (Dujardin y cols., 2009). Al igual que con cualquier fenómeno biológico, existe una variabilidad considerable que depende del individuo bajo investigación, el entorno circundante, y particularmente los patrones locomotores exhibidos, lo que lleva a un marco generalizado compuesto por fases fundamentales:

Doble fase de soporte: durante esta fase, ambas extremidades inferiores mantienen contacto con el suelo, ya que el pie izquierdo transita progresivamente a una posición del dedo del pie, impulsado por un aumento en el peso del sujeto, dando como resultado una fuerza vectorial que se origina en la pelvis.

Fase unipodal: En esta fase, la extremidad inferior contralateral se encuentra únicamente en contacto con el suelo, donde la cadera transmite fuerza en dirección cefalo-caudal, pero sin atravesar la articulación, debido a la estabilidad dinámica facilitada por los músculos abductores.

Fase de oscilación: implica el retorno de los miembros inferiores a su posición inicial e inicia con la retracción del miembro que se encuentra en la parte posterior del vector central o resultante, mientras el miembro contralateral entra en extensión articular para alcanzar la fase de apoyo (Nilsoon y cols., 1985).

Fase del paso: es el intervalo del contacto del talón ipsilateral hacia el talón contralateral.

La longitud de la zancada: distancia recorrida durante el ciclo completo de la marcha (véase Figura 10).

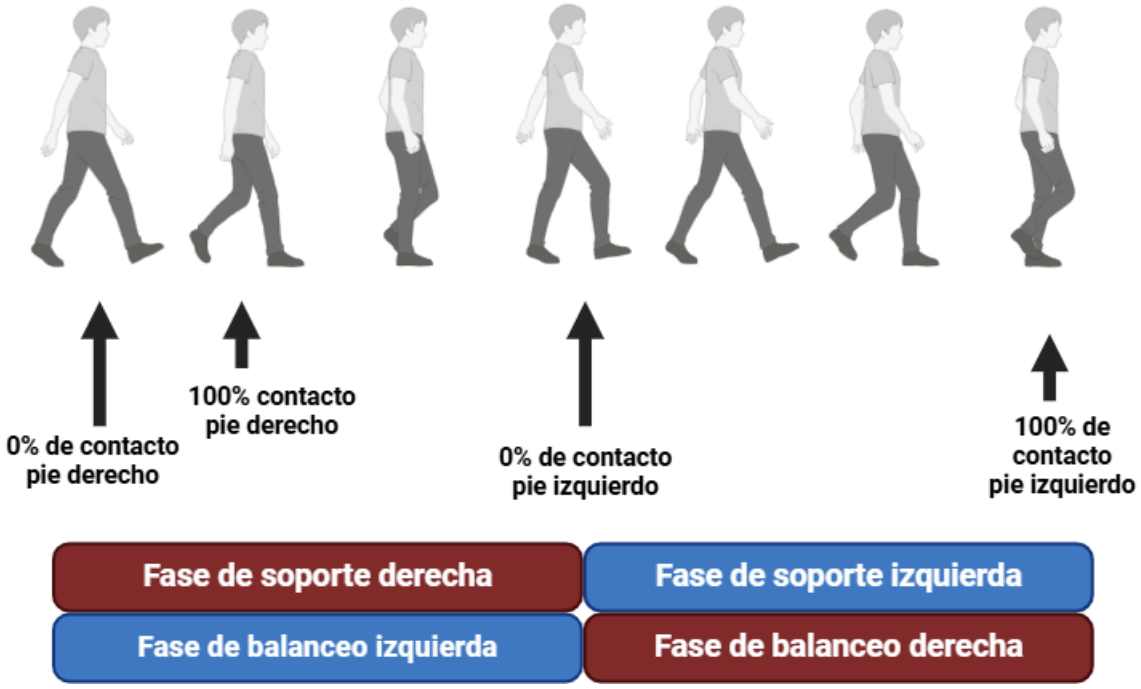


Figura 16. Fases de la marcha. Se ilustra el ciclo completo de la marcha de manera porcentual, donde se detallan los elementos en la marcha humana, la fase de apoyo y la fase de oscilación (Dujardin y cols., 2009).

La marcha cuadrúpeda también es un ciclo dividido en fases, la primera tiene por nombre fase de oscilación, e involucra principalmente la flexión de la cadera, la rodilla y el tobillo; la segunda es la fase de apoyo y consiste en el contacto de la pata con la superficie, extensión de la rodilla y el tobillo, posteriormente existe una ligera flexión de la cadera y finalmente la extensión de los complejos articulares de la cadera, rodilla y tobillo (Hamers y cols., 2001; Parker y cols., 1990).

La marcha también consta de parámetros espaciotemporales, la velocidad observada en un grupo de adultos promedio se encuentra entre 0.7 a 1.5 m/s; aunque Whittle (1999) ha descrito que la velocidad puede alcanzar hasta los 1.6 m/s. Las

ratas pueden alcanzar una velocidad promedio de 10 a 40 cm/s en ratas Sprague-Dawley adultas (Hamers y cols., 2001). La cadencia es otro parámetro que se analiza en la marcha y se refiere al número de pasos por minuto, en el humano varia de 85 a 150 pasos por minuto y en la rata de 86 a 103 pasos por minuto (Cucarián y cols., 2017).

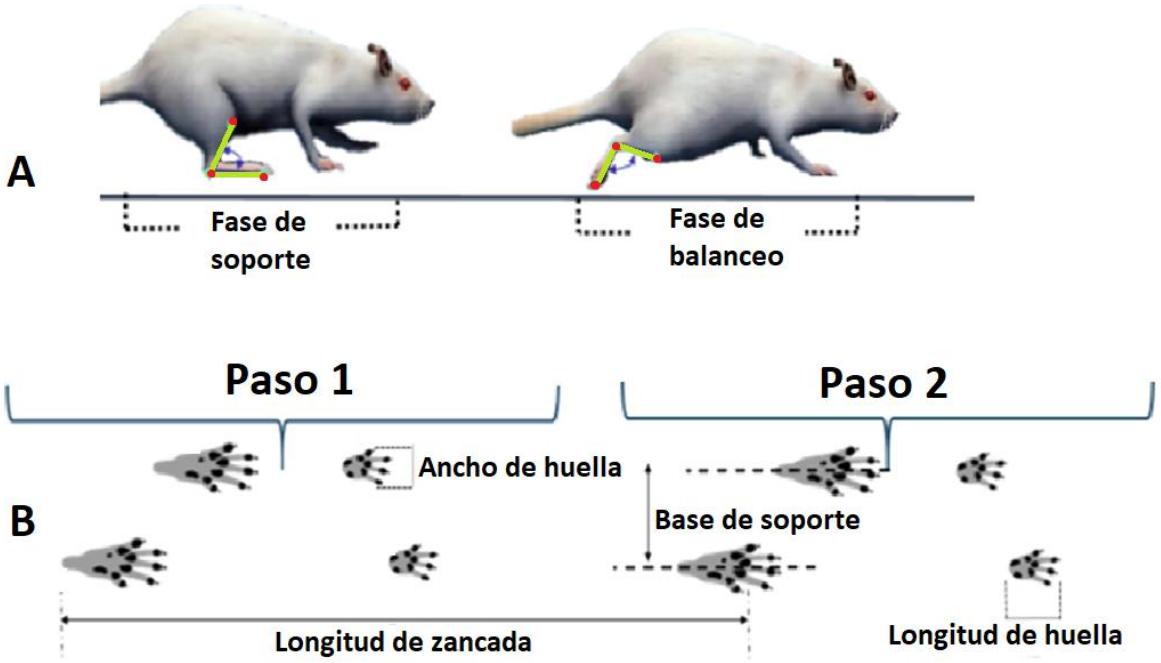


Figura 17. Esquema de los principales parámetros temporo-espaciales de la marcha de la rata. **A)** Se ilustra la vista lateral de la marcha de la rata en sus dos fases, la fase de soporte y la fase de balanceo, en amarillo y rojo se muestra el ángulo de las articulaciones del tobillo y la rodilla en cada fase de la marcha. **B)** Se ilustran los parámetros estáticos de la marcha en la rata (Cucarián y cols., 2017).

Dopamina.

El compuesto químico C6H3 (OH) 2-CH2-CH2-NH2, comúnmente conocido como dopamina, fue identificado y sintetizado originalmente por George Barger, James Ewens y Henry Dale en 1910 con el objetivo de crear una molécula análoga a la epinefrina. No obstante, no fue hasta la década de los 50's del siglo pasado que las investigaciones de Arvid Carlsson revelaron que la dopamina se sintetiza en el cerebro y funciona como un neurotransmisor, descubrimiento que finalmente le valió el Premio Nobel de Fisiología y Medicina en 2000 (Björklund y cols., 2007; Carlsson y cols., 1958).

A lo largo de más de cinco décadas de investigación, se ha establecido que la dopamina es parte integral de una variedad de funciones que incluyen el control motor, la motivación y el aprendizaje entre otras (Iversen y cols., 2007). En mamíferos, esta monoamina constituye el 80% del contenido global de catecolaminas presentes en el cerebro (Werkman y cols., 2006). Sirve como neurotransmisor y neuromodulador principal dentro del sistema nervioso de los mamíferos, siendo sintetizado y liberado por neuronas dopaminérgicas (Hurd y cols., 2001). Estas neuronas se distribuyen a través de diversas regiones del cerebro denominadas núcleos dopaminérgicos, el más prominente de los cuales es A9, ubicado en la vertiente ventral del cerebro, particularmente dentro de la substancia nigra *pars* compacta. Sus proyecciones axonales se extienden hasta el estriado y el putamen, estableciendo la vía nigrostriatal, la cual es de importancia crítica para la regulación motora (Björklund y cols., 2007). Además, el área tegmental ventral, o A10, contiene una población significativa de neuronas dopaminérgicas que inervan principalmente el núcleo accumbens, la amígdala, y la corteza prefrontal, formando así la vía mesocortico-límbica; esta vía está implicada en la regulación de las emociones, la motivación, y la memoria (Weiner y cols., 1991).

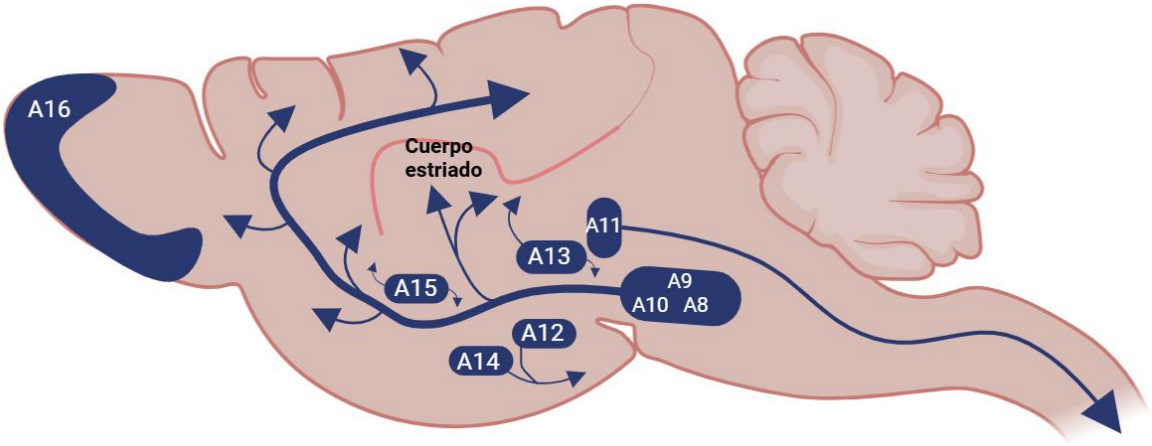


Figura 18. Neuronas dopaminérgicas en el cerebro de la rata adulta. Los grupos de neuronas dopaminérgicas propuesta por Dahlstrom y Fuxe en 1964, comprenden del grupo dopaminérgico A8 hasta el grupo A16, dichos grupos se distribuyen desde el mesencéfalo hasta el bulbo olfatorio. Las proyecciones principales de los grupos de neuronas dopaminérgicas se representan con las flechas azules. A8= área retro-rubral, A9= sustancia νιγρα παρσ compacta, A10= área ventral tegmental, A11= núcleo periventricular posterior del hipotálamo, A12= núcleo paraventricular, A13= zona incierta, A14= núcleo preóptico anterodorsal, A15= núcleo periventricular preóptico, A16= bulbo olfatorio. Modificado de Bjorklund y cols., (2007).

Las catecolaminas, incluyendo la dopamina, la adrenalina y la noradrenalina, se sintetizan a partir de un precursor compartido conocido como L-tirosina, que es un aminoácido esencial adquirido a través de fuentes dietéticas. La vía biosintética para cada catecolamina se rige por la enzima limitante de la tasa, que es la tirosina hidroxilasa. En el caso específico de la síntesis de dopamina, la tirosina hidroxilasa cataliza la conversión de L-tirosina, utilizando oxígeno como sustrato y tetrahidrobiopterina como cofactor, para producir L-DOPA, seguido de la acción enzimática de la L-DOPA descarboxilasa que produce dopamina (Barrett y cols,.2013).

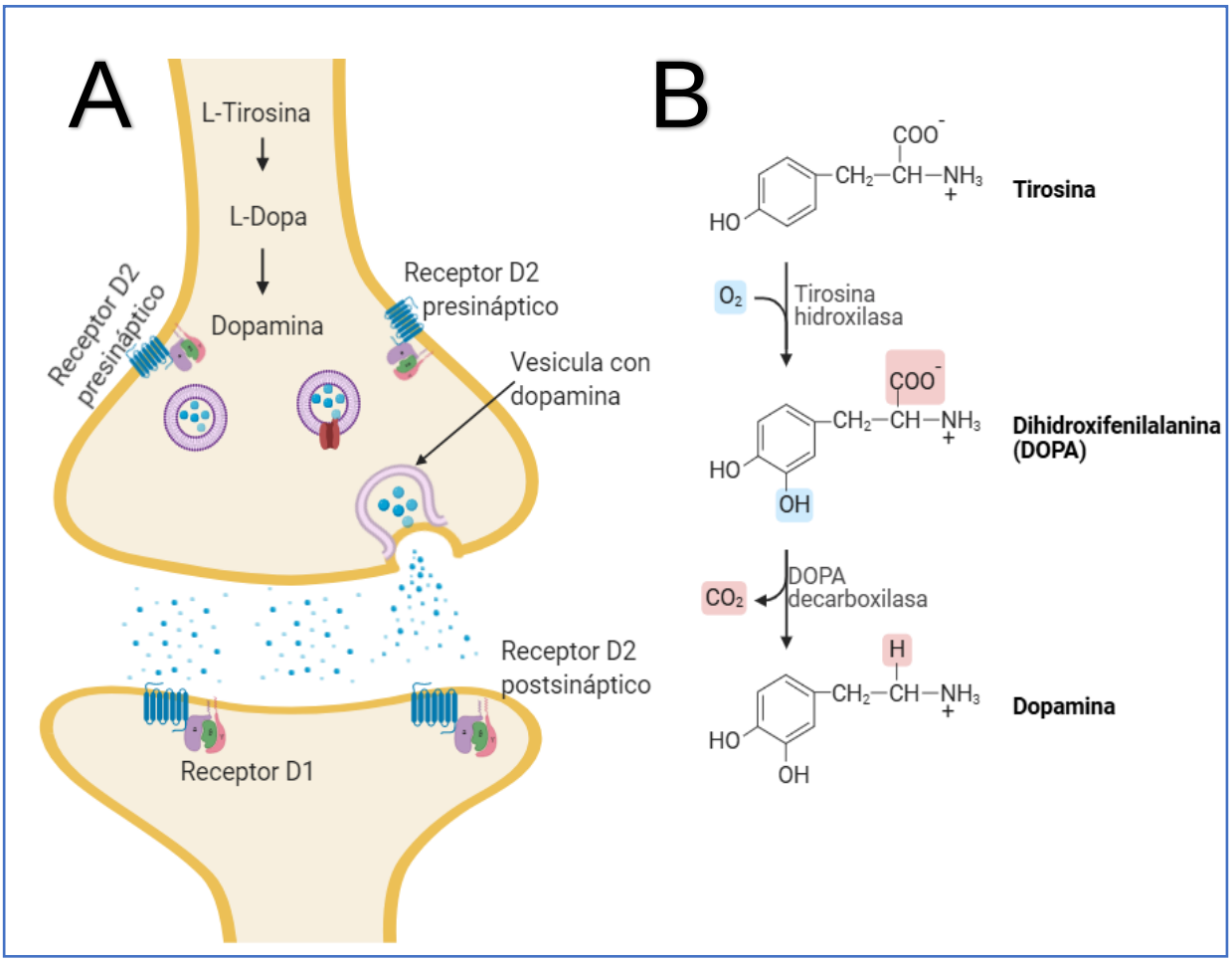


Figura 19. Esquema de una sinapsis dopaminérgica y la biosíntesis de dopamina. **A)** Se ilustra una neurona presináptica, la cual sintetiza dopamina a través del aminoácido esencial L-Tirosina, la dopamina es almacenada en vesículas. Su liberación al espacio sináptico depende de la apertura de canales de calcio y la función de las vesículas en la membrana plasmática y la liberación en la hendidura sináptica. Migra y se une a sus receptores metabotrópicos de la familia D1 o de la familia D2 tanto presinápticos como postsinápticos. **B)** La tirosina sufre una reducción de dos moléculas de oxígeno como consecuencia de la actividad enzimática de la tirosina hidroxilasa, convirtiéndola así en dihidroxifenilalanina (DOPA), que posteriormente se transforma en dopamina a través de la acción catalítica de la DOPA descarboxilasa. Modificado de Barrett y cols., (2013).

Posterior a su síntesis, la dopamina es encapsulada dentro de vesículas por medio del transportador monoamínico vesicular tipo 2 (VMAT2); a partir de entonces, el complejo SNARE facilita la fusión de estas vesículas con la membrana plasmática, permitiendo una correcta liberación y difusión a través de la hendidura sináptica

(Björklund y cols., 2007). La identificación de los receptores para la dopamina dentro del cerebro comenzó con el descubrimiento del adenilato ciclasa estimulada por la dopamina (Kebabian y cols., 1972). Actualmente, se han caracterizado cinco subtipos distintos de receptores, todos los cuales están acoplados a proteínas G y categorizados en dos familias: familia D1 que abarca los receptores D1 y D5, que están ligados a proteínas Gs o Gq; y la familia D2, que incluye los receptores D2, D3 y D4, acoplados a proteínas Gi. La activación de los receptores de la familia D1 es capaz de potenciar la actividad intracelular de la adenilato-ciclasa, mecanismo que puede elevar la excitabilidad neuronal; por el contrario, los receptores D1 requieren concentraciones elevadas para la activación, lo que también se conoce como respuesta fásica (Dreyer y cols., 2010).

Dentro del cuerpo estriado de los ganglios basales, se cree que la orquestación de la activación, liberación y reactivación de dopamina en neuronas que expresan el receptor D1y el receptor D2 ejerce una influencia considerable en el comportamiento motor (Atcherley y cols., 2015). Se prevé que la activación incrementada de las neuronas dopaminérgicas mantenga los niveles iniciales de dopamina tónica, que activa constitutiva y selectivamente a los receptores D2, manteniendo así la vía indirecta en un estado “silencioso”, mientras que no logra alcanzar niveles adecuados para la activación del receptor D1, inhibiendo consecuentemente la vía directa (Björklund y cols., 2007). Los episodios de mayor actividad dan como resultado un aumento temporal de la dopamina extracelular, que se une al receptor D1 y activa la vía directa, dando lugar a plasticidad sináptica y alteraciones en la excitabilidad que potencian procesos como el aprendizaje relacionado con la recompensa y el inicio de actos motores (Kaeser y cols., 2014). Por el contrario, las interrupciones en la activación neuronal producen una disminución transitoria en los niveles de dopamina, disminuyendo las vías inhibitorias indirectas mediadas por el receptor dopaminérgico D2, lo que potencia su excitabilidad y fomenta resultados como el aprendizaje relacionado con el castigo y la supresión de la producción motora (Björklund y cols., 2007). Por otro lado, se ha demostrado que la activación de receptores D1 ejerce efectos duales sobre la descarga provocada en las neuronas espinosas medianas del cuerpo estriado, este efecto depende del potencial de membrana en reposo, ya

que a potenciales hiperpolarizados (~80 mV) la activación por SKF 81297 (un agonista de los receptores D1) reduce la actividad neuronal, pero en condiciones donde el potencial de membrana es menos negativo (~55 mV), similares al estado "up" inducido por la entrada cortical, el mismo agonista aumenta la respuesta provocada (Hernández-López y cols., 1997). Este efecto excitatorio se atribuye a la potenciación de la corriente a través de canales de Ca^{++} tipo L, ya que se observa un prolongación de la latencia en los potenciales de acción dependientes del Ca^{2+}, fenómeno que es replicado por el agonista BayK 8644 (agonista selectivo de los canales de calcio tipo L) y bloqueado por antagonistas como nicardipina y calciseptina (Uchimura et al., 1986; Calabresi et al., 1987; Wilson and Kawaguchi, 1996).

En el contexto de la vía indirecta, el mismo grupo de investigación demostró que la activación de los receptores D2 en neuronas enkefrinérgicas del cuerpo estriado disminuye directamente la corriente a través de canales de Ca^{++} tipo L. Este efecto no se debe a la clásica inhibición del adenilato ciclasa, sino a la activación de la fosfolipasa Cβ1 mediante la subunidad Gβγ, la movilización de Ca^{2+} intracelular vía inositol trifosfato (IP_3) y la activación subsecuente de calcineurina, lo que reduce la excitabilidad neuronal (Hernández-López et al., 2000; Sibley, 1995; Surmeier et al., 1995).

Estudios recientes han ampliado el paradigma clásico de los ganglios basales al demostrar que la modulación dopaminérgica en el estriado involucra complejas dinámicas de red. La activación de receptores D1 incrementa la sincronía neuronal formando circuitos cerrados y recurrentes, lo que sugiere la selección de secuencias motoras específicas. En contraste, la activación de receptores D2 genera patrones de actividad diversos y múltiples trayectorias, permitiendo que los circuitos exploren diferentes alternativas para la ejecución o preparación del movimiento (Carrillo-Reid y cols., 2011).

Además, estos hallazgos subrayan que la función del estriado no se reduce a un simple modelo “facilitador vs inhibidor”, sino que depende de la interacción de mecanismos postsinápticos y presinápticos. En las neuronas de la vía directa, la

activación D1 potencia la región de conductancia de pendiente negativa inducida por NMDA, aumentando la excitabilidad, mientras que en la vía indirecta la activación D2 reduce dicha conductancia y modula la liberación de GABA a través de colaterales axonales, alterando la inhibición lateral, evidenciando que la integración de rutas fijas y de alternativas dinámicas es fundamental para la adaptación precisa de la respuesta motora. (Carrillo-Reid et al., 2011).

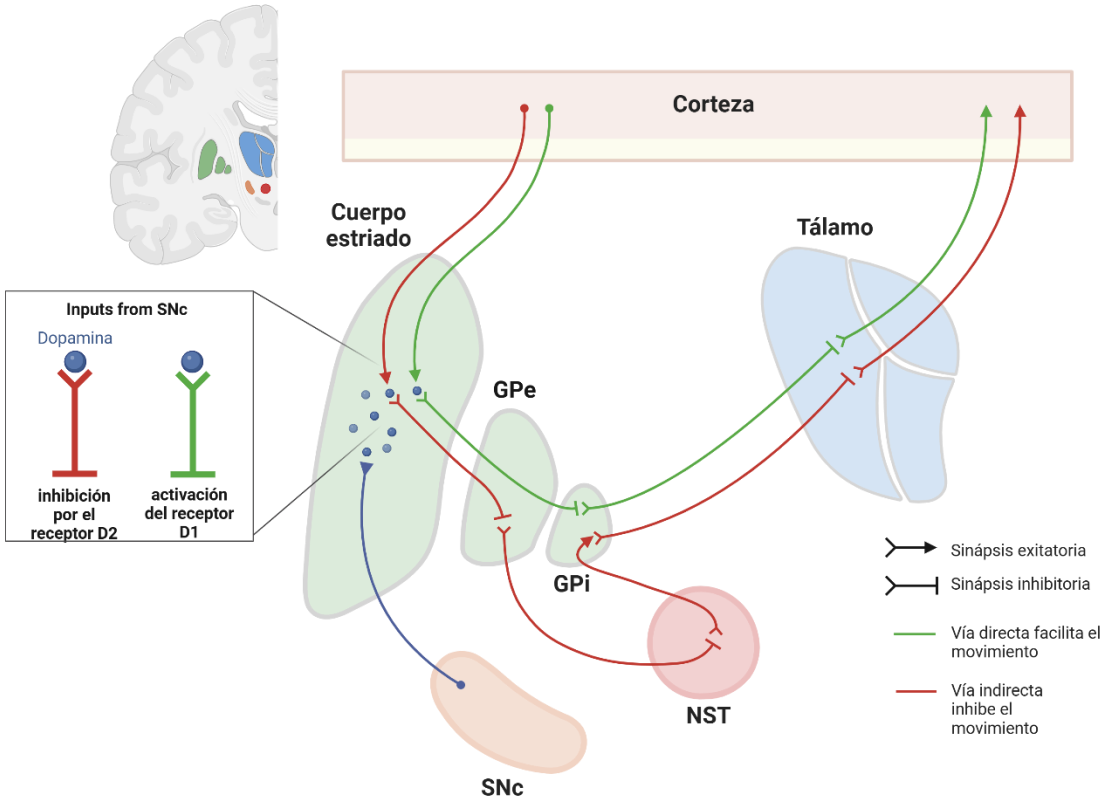


Figura 20. Vías dopaminérgicas clásicas de los ganglios basales. Circuito de redes anatómicas entre los ganglios basales, el tálamo y el cuerpo estriado, ilustrando la vía directa y la vía indirecta. Los receptores para dopamina D1 y D2 se encuentran en las neuronas espinosas medianas de eferencia procedentes del cuerpo estriado, los cuales dan lugar a la vía directa (en verde) y a la vía indirecta (en rojo). SNc=sustancia nigra compacta; GPi= globo pálido interno; GPe= globo pálido externo; NST= núcleo subtalámico. Realizado en Biorender y modificado de Calabresi y cols., (2014).

Receptor de la familia D2 para dopamina.

En general, todos los receptores dopaminérgicos se caracterizan por la presencia de siete dominios transmembranales, comprendiendo cada uno entre 20 y 25 residuos de aminoácidos hidrófobos. Estos receptores se clasifican como metabotrópicos debido a su asociación con las proteínas Gi (Missale y cols., 1998).

El receptor para dopamina tipo D2 fue el primer receptor que se aisló mediante técnicas de clonación en las investigaciones realizadas por Bunzow y sus cols., (1988); esta proteína se derivó de células de fibroblastos de ratón. El receptor D2 exhibe similitudes estructurales con los receptores D3 y D4, particularmente en su bucle i3 intramembranoso alargado, que abarca aproximadamente de entre 101 hasta 166 aminoácidos (Jackson y cols., 1994).

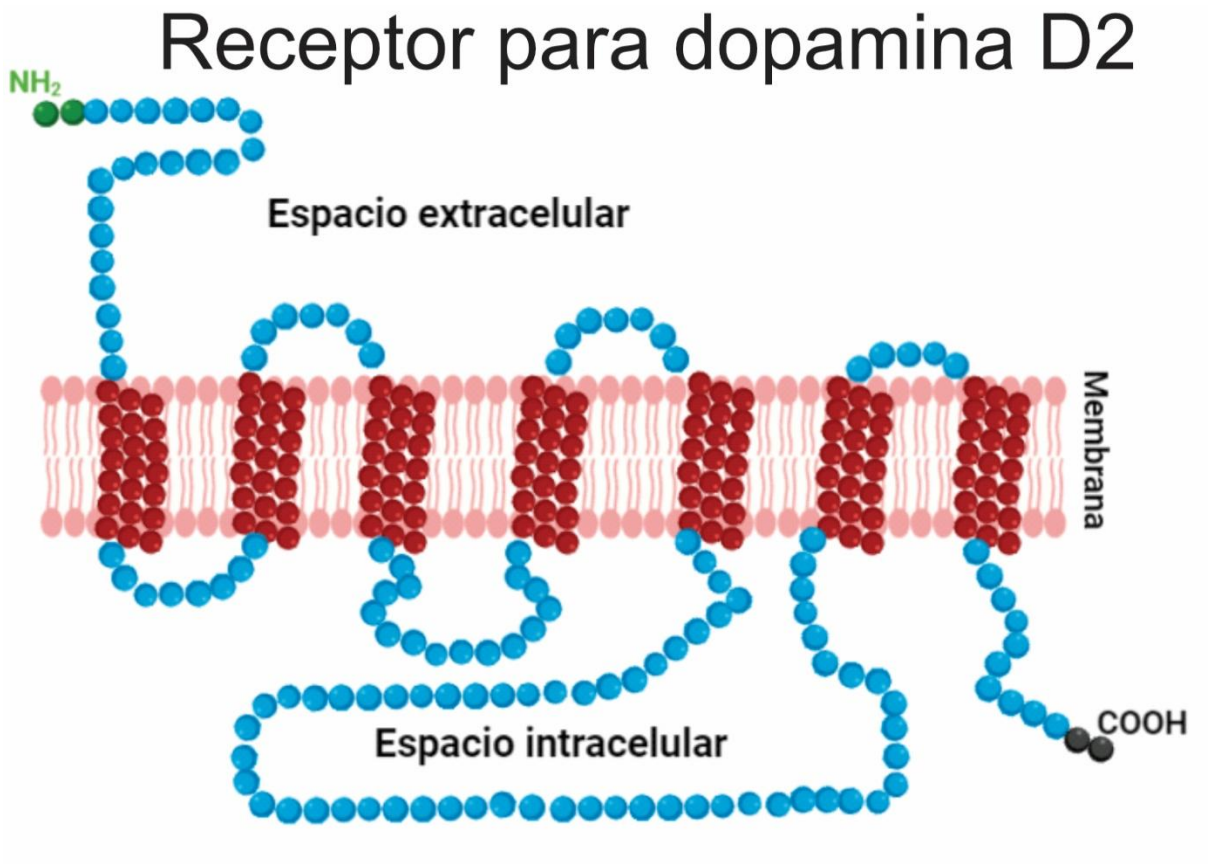


Figura 21. Descripción gráfica de la estructura del receptor D2 para la dopamina. Se muestra la zona extracelular, la zona intramembranal en color ocre y la zona citoplasmática. Modificado de Jackson y cols., (1994).

Los receptores D2 existen en dos morfologías resultantes del empalme alternativo del ácido ribonucleico mensajero (ARNm). El primero, designado D2S (corto), es referido como tal debido a su longitud reducida, que consiste en tan solo 414 aminoácidos en los humanos y de 415 aminoácidos en las ratas (Kukstas y cols., 1991). La variante D2L (larga) presenta una secuencia más extensa de 443 aminoácidos en humanos y de 444 aminoácidos en las ratas, siendo la distinción primaria en la región intracelular (i3), que es fundamental para la interacción con las proteínas Gi. Todos los segmentos integrales están interconectados por tres bucles intracelulares y tres extracelulares (Missale y cols., 1998).

Además, los receptores D2 funcionan de manera autónoma como autorreceptores y han sido identificados como reguladores clave de la biosíntesis y liberación de

dopamina al tiempo que poseen la capacidad de modular la exocitosis de neurotransmisores adicionales (Jackson y cols., 1994).

Rol de la dopamina en la actividad locomotora

Anteriormente, se ha descrito la función de la dopamina dentro de los ganglios basales, facilitando el movimiento por la activación de los receptores D1 a través de la vía directa, o inhibiendo el movimiento a través de la vía indirecta con la activación de los receptores D2. No obstante, estudios contemporáneos realizados en lampreas, ratas, ratones y pez cebra han dilucidado que las neuronas meso-diencefálicas extienden las proyecciones a tres niveles subordinados: la RLM, las neuronas retículo-espinales, y los GPC's (Grillner y cols., 2014).

En 2009, se realizaron experimentos en primates utilizando un transportador de dopamina (DAT), revelando que las terminales dopaminérgicas que se originan en la sustancia *nigra pars* compacta, están presentes dentro del núcleo pedúnculo pontino (Rolland y cols., 2009). Investigaciones adicionales, empleando técnicas de hibridación y trazado *in situ* para la tirosina hidroxilasa, mostraron que las vías dopaminérgicas del tubérculo posterior (un homólogo de SnC en mamíferos) proyectan hacia abajo en la RLM (Pérez-Fernández y cols., 2014; Ryczko y cols., 2016). Adicionalmente, estudios en ratas empleando voltamperometría *in vivo* demostraron que un estímulo químico con anfetamina dentro de la sustancia *nigra pars* compacta potencia la liberación de dopamina en el RLM, principalmente en el PPN (Ryczko y cols., 2016). El mismo grupo de investigación mostró, en lampreas, un aumento en la concentración de dopamina en la RLM se correlaciona con una mayor actividad de nado debido a la activación de neuronas glutamatérgicas (Ryczko y cols., 2013).

Por otra parte, se implementó voltamperometría de barrido rápido en las neuronas retículo-espinales de lampreas, mostrando la presencia de liberación dopaminérgica en los cuatro núcleos reticulares (Ryczko y cols., 2020). Además, cuando se

administró el agonista SCH 23390 a una concentración de 0.5 μM, se produjo una reducción de la velocidad de nado en las lampreas (Ryczko y cols., 2020).

A nivel espinal, se ha documentado que todos los receptores para dopamina se encuentran expresados (Zhu y cols., 2007). Tradicionalmente se reconoce que la dopamina a bajas concentraciones puede ejercer una influencia inhibitoria y viceversa. No obstante, en 2012 se realizaron una serie de investigaciones para examinar los efectos de la dopamina a dosis bajas (1-5 μM) y altas dosis (50-100 μM) utilizando agonistas para los receptores de dopamina D1 y D2, reportando que la activación de los receptores D1 en *Xenopus levis* o en *C. elegans* promueve un aumento locomoción ficticia, mientras que la activación de los receptores D2 produce un efecto supresor en la natación (Clemens y cols., 2012). Otra serie de experimentos muestra que la activación de heterodímeros D1 y D2 en la médula espinal puede facilitar la despolarización a través de una elevación del calcio intracelular, mediada principalmente por fosfolipasa C (Sharples y cols., 2020). Estos hallazgos indican que, si bien D1 puede mejorar la actividad de las neuronas motoras en varios modelos, su coactivación con D2 puede ser fundamental para mantener una comunicación efectiva entre las interneuronas que conforman el GCP espinal.

La apomorfina, como un agonista dopaminérgico no selectivo.

La apomorfina es un agonista dopaminérgico no selectivo caracterizado por una alta afinidad por los receptores para dopamina dependiendo de la dosis. La síntesis inicial de este compuesto fue en 1845, realizada por el químico finlandés Adolf Edvard Arppe, quien logró esto calentando morfina con ácido sulfúrico a una temperatura de 100° Celsius, designándola posteriormente como sulfomarfuro (Citado en Gancher y cols., 1989) Posteriormente, Augustus Matthiessen y Charles Romley Alder Wright sintetizaron con éxito apomorfina a partir de codeína y ácido sulfúrico; sin embargo, no fue hasta 1869 que su valor fue reconocido por la comunidad médica tras la

publicación de trabajos relacionados con los alcaloides del opio (Auffret y cols., 2018).

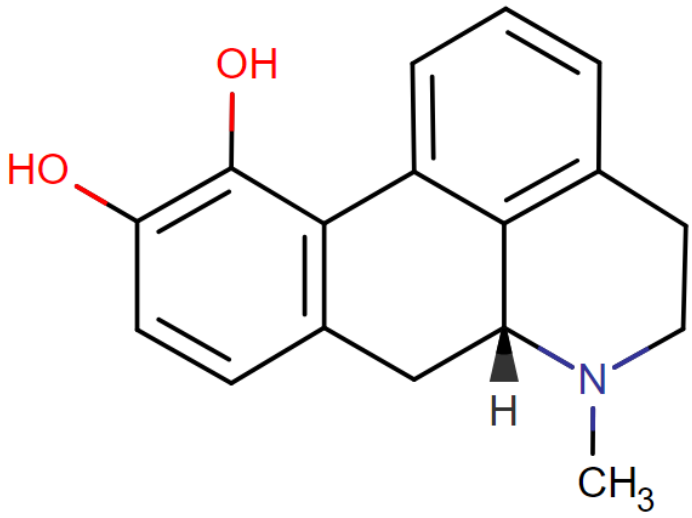


Figura 22. Estructura molecular de la apomorfina. Se ilustra la estructura molecular del agonista no selectivo de los receptores de para dopamina, nótese que el doble hidroxilo se asemeja a la estructura de la dopamina **(**https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Apomorphine.).

La apomorfina o C_{17}- H_{17}- NO_2, se categoriza como un agonista dopaminérgico no selectivo, lo que significa que tiene afinidad por las familias de los receptores dopaminérgicos D1 y D2 dependiendo de la concentración (Deleu y cols., 2004); también se ha documentado que exhibe una notable afinidad por los receptores de serotonina 5HT1A, 5HT2A, 5HT2B y 5HT2C, junto con los receptores α1B, α1D, α2A, α2B y α2C (Millan y cols., 2002) Las investigaciones *in vitro* han demostrado que, aparte de sus propiedades dopaminérgicas, la apomorfina posee la capacidad de neutralizar los radicales libres, convirtiéndola en un potente agente antioxidante y neuroprotector (Grunblatt y cols., 1999).

Se ha observado que una sola dosis intravenosa de apomorfina puede potenciar la actividad locomotora de tres a cinco minutos después de su administración y exhibe una vida media que va desde 30 hasta 90 minutos (Gancher y cols., 1989). Los efectos secundarios reportados incluyen náuseas, hipotensión postural y azotemia pre-renal atribuida a la acumulación de metabolitos dentro del sistema renal (Deleu y cols., 2004). Debido a su alta solubilidad, se ha observado que la apomorfina puede

alcanzar altas concentraciones en el cerebro que son hasta ocho veces mayores que las encontradas en el plasma, manteniendo sus efectos farmacodinámicos hasta treinta minutos después de su administración (Gancher y cols.,1989).

Experimentos *in vitro* muestran que este compuesto se une desde un ochenta y cinco hasta un noventa por ciento a las proteínas presentes en el plasma, se metaboliza predominantemente en el hígado, con procesos de glucuronidación y sulfatación que explican la conversión de aproximadamente el 10 por ciento de la apomorfina total en metabolitos como la apocodeina y del tres hasta el cinco por ciento se expulsa sin cambios vía la orina (Neef y cols., 1999).

La apomorfina se utiliza actualmente como agente terapéutico para la enfermedad de Parkinson avanzada, el manejo de la disfunción eréctil y para la enfermedad de Alzheimer (Ribaric y cols., 2012). Investigaciones recientes han indicado que la administración de apomorfina a concentraciones de 0.5 y 50 μM resultó en una mejora de la actividad locomotora, observada veinte minutos después de la administración en larvas de pez cebra (Irons y cols., 2013). En ratas Wistar, la apomorfina se administró en dosis de 1, 2 y 4 mg/Kg; y se presentó una activación en la actividad locomotora. Los autores sugieren que este fenómeno puede ser atribuible al compromiso inicial de los receptores D3 seguido de la activación de los receptores D2 (Ikram y cols., 2011). Esta modulación bifásica de la actividad locomotora también se ha documentado en ratas Sprague-Dawley, con la administración de pramipexol a dosis de 0.1, 0.3, y 1 mg/Kg por vía subcutánea (s.c). En todas las dosis, la locomoción se disminuyó durante los 40 minutos iniciales, seguido de un aumento, con la dosis de 0.3 mg/Kg, que se mantuvo más allá de los 90 minutos del periodo experimental (Chang y cols., 2011). Estos hallazgos ilustran que el impacto del pramipexol sobre la actividad locomotora en las ratas es similar a las observadas en el pez cebra, puede dilucidarse más eficazmente a través de una respuesta hipodopaminérgica inicial que se debe a los autorreceptores D3, sucedida por una respuesta hiperdopaminérgica tardía debido a la activación de los receptores D2 (Chang y cols., 2011).

El pramipexol, como un agonista dopaminérgico de la familia D2.

El pramipexol ((6S) -6-N-propil-4,5,6,7-tetrahidro-1,3-benzotiazol-2,6-diamina) se clasifica como un derivado no ergolico del aminobenzotiazol sintético, que posee la capacidad de interactuar con los receptores de la familia dopamina D2, exhibiendo una afinidad de unión para los receptores D3 que es siete veces mayor que para los receptores D2 y D4 (Watts y cols, 1997). Este agonista dopaminérgico sirve como un complemento en el régimen terapéutico para pacientes con enfermedad de Parkinson avanzada resistentes al tratamiento convencional con la L-DOPA (Neef y cols, 1999). La Asociación de Drogas y Alimentos de los Estado Unidos de América (FDA, de sus siglas en inglés) otorgó la aprobación del pramipexol en 1997 como un tratamiento primario o terapia complementaria a los medicamentos de primera línea para la enfermedad de Parkinson, y en 2006 para el síndrome de piernas inquietas, un trastorno del sueño (Contin y cols., 2019). Adicionalmente, este agente farmacológico ha demostrado eficacia en el tratamiento de la depresión bipolar y en la depresión que no responde a otros medicamentos, como los inhibidores de la recaptura de serotonina (Moirand y cols., 2019). Las investigaciones experimentales en modelos animales han demostrado que el pramipexol mitiga eficazmente los síntomas motores parkinsonianos en monos y macacos con enfermedad de Parkinson inducida por la N-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina (Frampton y cols., 2014).

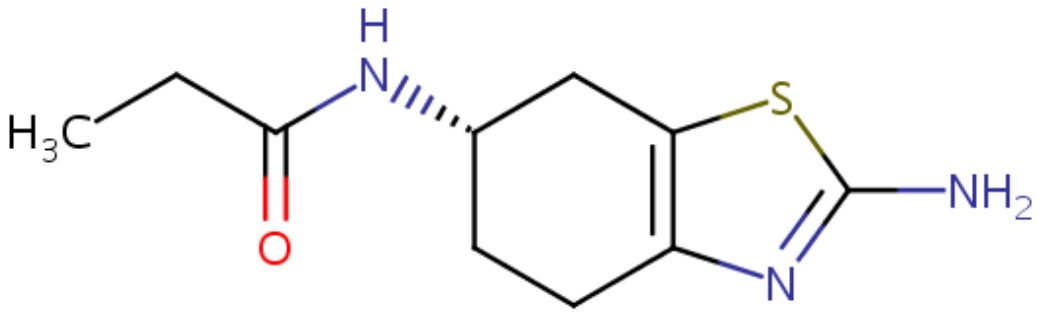


Figura 23. Estructura molecular del pramipexol. La estructura molecular $C_{10}H_{17}N_3S$, funciona como un agonista de la familia D2 para la dopamina. Es utilizado como un agente anti

parkinsoniano y para el síndrome de piernas inquietas (modificado de https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Pramipexole).

Se postula que el efecto terapéutico del pramipexol en la enfermedad de Parkinson probablemente se deba a su preferencia por los receptores D3, lo que engendra un mecanismo de retroalimentación negativa sobre la síntesis endógena de dopamina, mitigando así el estrés oxidativo y preservando la integridad de las neuronas nigroestriatales (Li y cols., 2002).

Los análisis farmacocinéticos indican que el pramipexol posee una vida media de aproximadamente 8 horas en individuos más jóvenes, y doce horas en poblaciones mayores, alcanzando concentraciones plasmáticas máximas dos horas después de la administración, con una biodisponibilidad superior al 90 por ciento; se metaboliza en menor medida el 10 por ciento y el 90 por ciento es excretado vía orina (Contin y cols., 2019). Los efectos secundarios reportados incluyen: náuseas, somnolencia, fatiga, cefalea, estreñimiento, alucinaciones, interrupciones del sueño y síntomas extrapiramidales (Chen y cols., 2007).

En modelos murinos, la administración de pramipexol a una dosis de 0.1 mg/Kg se ha asociado con aumento sostenido en la actividad locomotora hasta por 57 días de administración continua, sin alterar la expresión del receptor D2 para dopamina en el estriado, incluso después de 71 días de tratamiento diario (de Almeida y cols., 2014). Por el contrario, la investigación realizada en un modelo de lesión medular muestra que la administración de este agente dopaminérgico a una dosis de 2 mg/Kg por vía intravenosa durante 28 días produjo mejoras en las funciones locomotoras según lo evaluado por la escala de Basso, Beattie, Bresnahan (BBB), junto con una expresión mejorada del receptor D2, apoptosis reducida y niveles disminuidos de citocinas proinflamatorias en la médula espinal (Liu y cols., 2023).

El quinpirol, como una agonista dopaminérgico de la familia D2.

El quinpirol ((4*aR,8 aR*)-5-propil-1,4,4 a,6,7,8,8 a,9-octahidropirazolo[3,4-g]quinolina) es una pirazoloquinolida (compuesto químico que combina estructuras del pirazol y una quinilona) sustituida por un grupo propilo en la posición 5 (Levin y cols., 1986).

Este compuesto fue designado inicialmente como LY 171555, en 1981, el neurocientífico John W. Kebabian junto con su equipo de investigación reportaron que este compuesto exhibía una afinidad por los receptores de la familia D2 para la dopamina (Levin y cols., 1986). Posteriormente, se realizaron una serie de experimentos en ratas Long-Evans para evaluar su impacto en el comportamiento locomotor, administrando quinpirol a dosis variables desde 0.03, 0.125, 0.5 hasta 8 mg/Kg, con evaluaciones conductuales cada 10 minutos a lo largo de 110 minutos que duraba el ensayo. Los resultados revelaron que este agonista produjo una respuesta bifásica, caracterizada por una reducción inicial de la actividad locomotora durante los primeros 50-60 minutos, seguida de un aumento en la conducta locomotora (Eilam y cols., 1989).

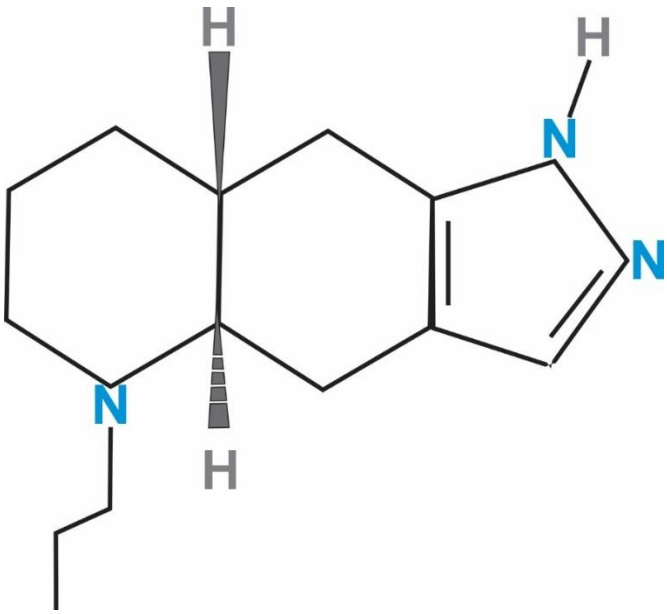


Figura 24. Estructura molecular del quinpirol. Se ilustra la estructura química del agonista para la familia de los receptores D2, el quinpirol. Modificado de https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Quinpirol.

Una posible justificación de esta respuesta bifásica postula que el quinpirol exhibe una mayor afinidad por los receptores D3, lo que produce una disminución de la actividad locomotora (Missale y cols., 1998), mientras que la estimulación de los autorreceptores D2 inhibe la liberación de dopamina en las neuronas dopaminérgicas, contribuyendo así también a una reducción de la actividad locomotora (Missale y cols., 1998). No obstante, a dosis elevadas empleadas en modelos murinos, el quinpirol puede activar los receptores D2 de 30 a 60 minutos después de su administración (Li y cols., 2002). También, se ha reportado que el efecto en la actividad locomotora es dependiente de una ritmo circadiano, la administración a dosis de 1 mg/Kg produce una actividad locomotora diurna, pero una hipoactividad locomotora en la fase nocturna (Akhisaroglu y cols., 2005).

En un modelo de lesión traumática cerebral en ratón, se reportó que el uso del quinpirol a una dosis de 1mg/Kg administrado por 7 días, fue capaz de aumentar expresión de los receptores D2 en comparación con los sujetos que no recibieron el tratamiento, adicionalmente muestra un efecto neuroprotector porque el nivel de gliosis se ve atenuado al igual que el porcentaje de células apoptóticas (Alam y cols., 2021).

La hormona liberadora de gonadotropinas y sus efectos terapéuticos.

El decapéptido (PGlu-His-TRP-Ser-Tyr-Gly-Leu-Arg-Pro-Gly · NH2), conocido como hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH, de sus siglas en inglés), fue identificado por Andrew V. Schally en 1971 a través de investigaciones realizadas en el hipotálamo de cerdos, lo que contribuyó a los reconocimientos que recibió, entre ellos el Premio Nobel de Fisiología y Medicina en 1977 (citado por Casteel y cols.,

2023). La GnRH juega un papel crítico dentro del eje hipotalámico-pituitario-gonadal (HPG), sirviendo como el principal modulador de las funciones reproductivas y la manifestación de los rasgos sexuales; su vía biosintética se localiza principalmente en el hipotálamo de los mamíferos (Maggi y cols., 2016; Schally y cols., 1971). En humanos, el gen de GnRH se denota como GnRH1, que comprende cuatro exones y tres intrones, ubicados en el brazo corto del cromosoma 8 (Okubo y cols., 2008).

Se ha establecido que este péptido interactúa con sus receptores ubicados en células gonadotrópicas dentro de la glándula pituitaria, facilitando la síntesis y liberación de la hormona luteinizante (LH, de sus siglas en inglés) y la hormona folículoestimulante (FSH, de sus siglas en inglés), esto observado en diversas especies de mamíferos (Schally, 1971). A la fecha, se han identificado un total de 20 formas estructurales distintas entre todos los taxones de vertebrados, sin embargo, la secuencia de aminoácidos constituyentes permanece altamente conservada, lo que indica una trayectoria evolutiva para el sistema reproductivo (Okubo and Nagahama, 2008).

Las neuronas productoras de GnRH emergen de la placa olfativa medial durante el proceso de desarrollo embrionario, migrando posteriormente al bulbo olfatorio antes de llegar finalmente al hipotálamo (Maeda y cols., 2010). El soma de estas neuronas se localiza en el área preóptica medial y en el núcleo infundibular arcuato del hipotálamo (Maeda y cols., 2010). En humanos, la población estimada de estas neuronas es de entre 1,000 a 1,500 células (Madea y cols., 2010). Tras su liberación, la GnRH interactúa con el receptor GnRH1, que se clasifica dentro de la familia de receptores acoplados a proteína G (GPCR, de sus siglas en inglés) caracterizado por siete dominios transmembrana (Kakar y cols., 1992), y se expresa principalmente en la superficie de las células gonadotrópicas en la glándula pituitaria. En humanos, este receptor es una proteína compuesta por 328 aminoácidos, codificada por el gen ubicado en 4q13 en el cromosoma 4 (Yan y cols., 2020). Adicionalmente, se ha identificado un receptor de GnRH II, expresado predominantemente en la eminencia media del hipotálamo como lo demuestran los estudios realizados en primates, y también está implicado en la estimulación de la producción de LH (Lescheid y cols.,

1997). Ambos receptores para las gonadotropinas están acoplados a proteínas Gq, facilitando así la generación intracelular de fosfato de inositol (Yan y cols., 2020). No obstante, el receptor GnRH I exhibe expresión predominante en las células gonadotrópicas de mamíferos, incluyendo humanos, y representa la vía primaria para la secreción de las gonadotropinas FSH y LH (Perrett y cols., 2013).

Se ha mostrado que la secreción de GnRH por las neuronas se manifiesta en dos modalidades distintas: el modo pulsátil y un modo continuo o de sobretensión (Dierschke y cols., 1970). Las observaciones de estudios de lesión hipotalámica en monos Rhesus revelaron un cese en la secreción pulsátil endógena de la LH y la ciclicidad menstrual, subrayando con ello el papel crítico de la liberación pulsátil de GnRH por las neuronas hipotalámicas (Dierschke y cols., 1970), como muestran estudios en ratas (Gay and Sheth, 1972), en ovejas (Burtler 1972), y en otras especies de mamíferos (Stamatiades y cols, 2018). En mujeres, se ha demostrado que la frecuencia y amplitud de los pulsos de LH están supeditadas a la etapa del ciclo menstrual. Durante la fase folicular se documentaron pulsos de LH cada dos horas, mientras que se ha reportado una secreción continua a mitad del ciclo, y un intervalo de secreción de cada cuatro horas durante la fase lútea (Yen y cols., 1971).

Se ha establecido que la dinámica secretora de las gonadotropinas FSH y LH en los subtipos de células de la pituitaria es diferente. La frecuencia de pulsos de GnRH potencia selectivamente la actividad transcripcional de los genes gonadotrópicos (Stamatiades y cols., 2018). Los pulsos rápidos facilitan la síntesis y liberación de LH, mientras que los pulsos más lentos son propicios para la producción y secreción de FSH (Stamatiades y cols., 2018). Tanto la FSH, como la LH juegan un papel fundamental en la regulación de la producción de esteroides sexuales (Hrabovszky y

cols., 2013) .

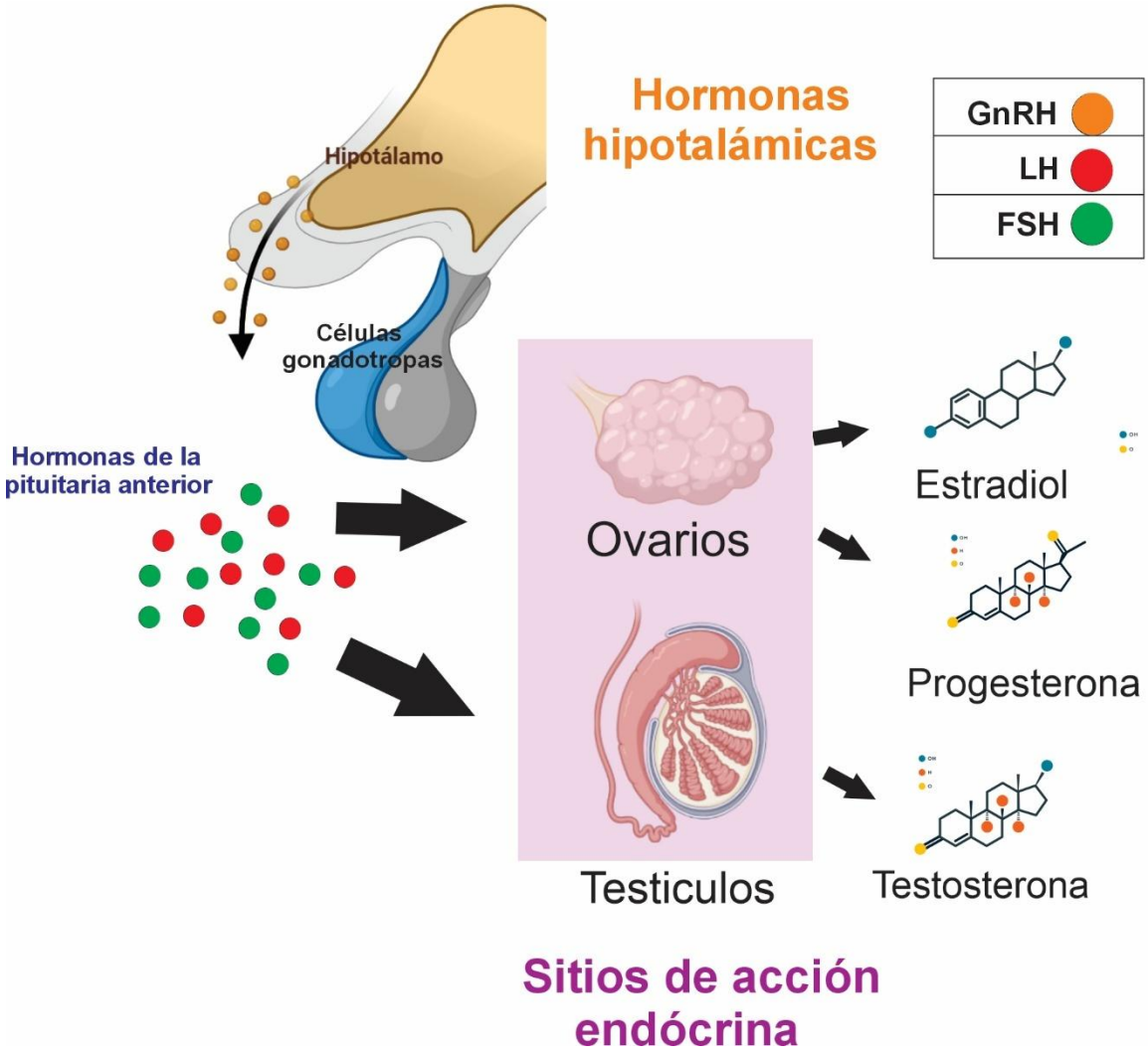


Figura 25. Secreción de la hormona liberadora de gonadotropinas. La hormona liberadora de gonadotropinas se libera por neuronas del hipotálamo, se desplazan a la glándula pituitaria en su porción anterior para estimular las liberación de la hormona luteinizante (LH) y la hormona folículo estimulante (FSH), se dirigen a los sitios de acción endócrinos en los ovarios y los testículos, promueve la secreción de andrógenos, progesterona y estradiol. Modificado de Perrett y cols., (2013).

Estudios recientes indican que múltiples vías centrales y periféricas están implicadas en la dinámica funcional de las neuronas GnRH (Maggi y cols., 2016). La kisspeptina, la norepinefrina y diversos neuropéptidos han sido identificados como señales estimuladoras para la secreción de gonadotropinas, mientras que los opioides

endógenos, la interleucina I y la progesterona sirven como señales inhibidoras (Maggi y cols., 2016).

La Sociedad Americana de Medicina Reproductiva (ASRM de sus siglas en inglés) ha reportado que varias patologías pueden alterar la frecuencia y amplitud de la secreción de GnRH, incluyendo el síndrome de ovario poliquístico, hiperplasia suprarrenal congénita de inicio tardío y la anovulación hiperandrogénica, entre otras (Sheiber y cols., 2020). En consecuencia, se ha explorado la GnRH como un posible blanco de intervención terapéutica para estas afecciones. Las vías de administración de la GnRH han incluido métodos intravenosos, subcutáneos, intramusculares, nasales y sublinguales. Sin embargo, la administración intravenosa ha demostrado ser de una eficacia superior en la estimulación de la liberación de FSH y LH (liu y cols.,1984). Uno de los retos asociados a esta modalidad de tratamiento dirigida a mejorar las tasas de ovulación en mujeres con trastornos en la ovulación, es la vida media notablemente corta de la GnRH, de tan solo 2 hasta 4 minutos (Levine y cols., 1982). Como resultado, se han dirigido esfuerzos hacia el desarrollo de análogos de GnRH que puedan replicar los efectos deseados, pero en una vida media prolongada, como lo es el acetato de leuprolida.

Acetato de leuprolida, un agonista de la hormona liberadora de gonadotropinas.

La leuprolida es un péptido sintético que consiste de nueve residuos de aminoácidos ($C_{59}H_{84}N_{16}O_{12}$), estructuralmente similar a la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH), con la distinción de incorporar un único residuo D-Leucina que extiende su vida media a aproximadamente a tres horas en comparación de los 3 minutos de la GnRH (Conn y cols., 1991). La droga fue introducida inicialmente en 1985 como una opción terapéutica para el cáncer de próstata (citado en Schally y cols., 2000), en investigaciones ulteriores demostraron la eficacia de este análogo en el tratamiento de diversas afecciones, incluyendo la endometriosis, los fibromas

uterinos, la pubertad precoz de origen central y como terapia adyuvante en los protocolos de fecundación asistida (Wilson y cols., 2007).

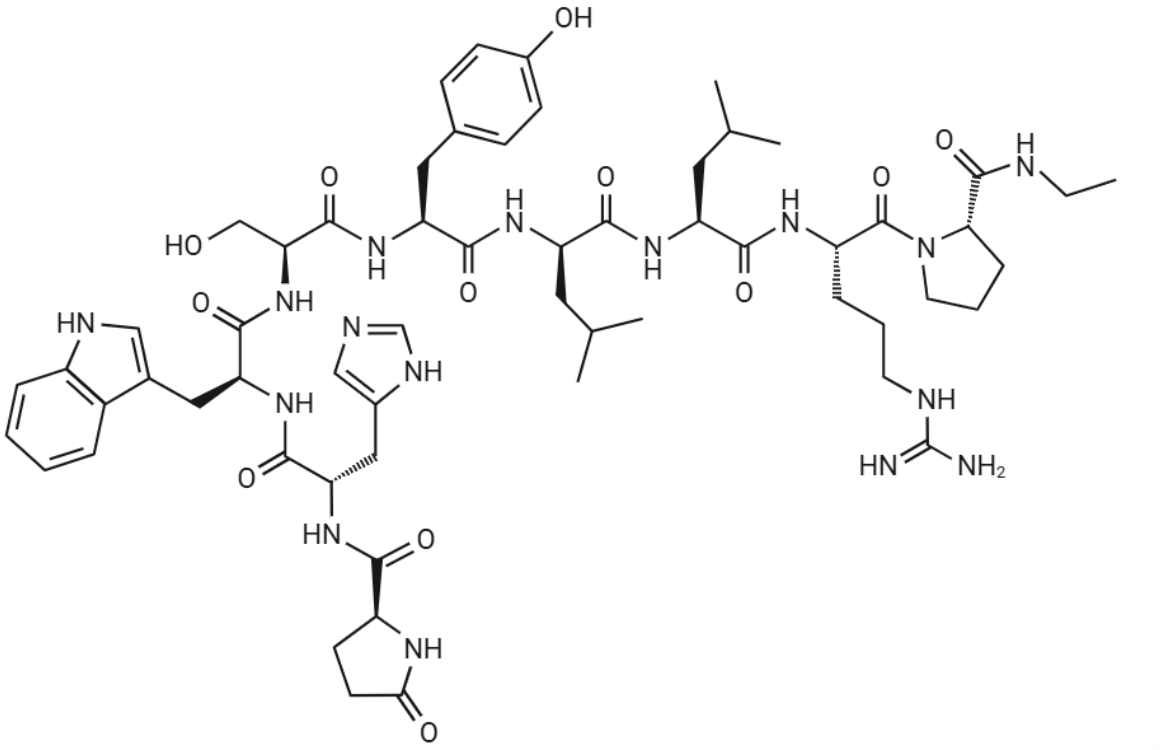


Figura 26. Estructura molecular del acetato de leuprolida. El acetato de leuprolida es un análogo sintético de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH, de sus siglas en inglés), químicamente es un oligopéptido que comprende residuos de piroglutamil, histidilo, triptofila, serilo, tirosil, D-leucilo, leucilo, arginilo y N-etilprolinamida unidos en secuencia. Modificado de https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Leuprolide.

En un estudio clínico que evaluó el efecto terapéutico de la endometriosis, en 56 mujeres que recibieron acetato de leuprolida (LA) a una dosis de 3.75 mg cada mes durante un período de seis meses; los resultados indicaron que, al tercer mes, las participantes a las que se les administró acetato de leuprolida, experimentaron una reducción en el dolor pélvico sin ningún efecto adverso reportado (Dlugi y cols., 1990). Adicionalmente, también se ha documentado que la administración de acetato de leuprolida a una dosis de 7.5 mg cada tres meses para el tratamiento de la endometriosis es segura y eficaz (Avid y cols., 2001). La aplicación de este oligopéptido tomó una dirección alternativa cuando se investigó en un modelo murino de la enfermedad de Alzheimer los efectos del acetato de leuprolida; con una dosis

de 1.5 mg/Kg produjo una disminución de un 32% en los niveles cerebrales de Aβ1-42 (un precursor de la proteína beta amiloide), y las evaluaciones cognitivas después de cuatro semanas de tratamiento mostraron una mejora en el rendimiento de los ratones tratados (Wilson y cols., 2007). Posteriormente, un equipo de investigación de la Universidad de Aguascalientes, en México, mostró que tanto la GnRH como su contraparte sintética, el acetato de leuprolida, exhiben propiedades neurotróficas y neuroprotectoras dentro del sistema nervioso central y el sistema nervioso periférico (Guzmán-Soto y cols., 2016). Con base a estos hallazgos, se han emprendido investigaciones para evaluar al acetato de leuprolida como una posible intervención terapéutica para la esclerosis múltiple, lesiones en la médula espinal, y otras afecciones neurológicas (Altamira-Camacho y cols., 2020; Guzmán-Soto y cols., 2016; Hernández-Jasso y cols., 2020; Olvera-Sandoval y cols., 2018; Quintanar y cols., 2018).

Tabla 6. Aplicaciones clínicas de la hormona liberadora de gonadotropinas y sus análogos sintéticos.

Estimulación pulsátil de GnRH	
Alteración	**Efecto**
Infertilidad	Estimula la producción de gametos y de las hormonas sexuales.
Criptorquidia	Descenso del o de los testículos.
Pubertad tardía	Las hormonas LH y FSH aceleran el proceso de la pubertad.
Agonistas y antagonistas de GnRH	
Anticoncepción	Inhibición de la ovulación y de la espermatogénesis.
Patologías dependientes de hormonas sexuales	• Cáncer de próstata • Hipertrofia prostática benigna • Cáncer de mama • Endometriosis

	• Fibrosis uterina • Síndrome premenstrual • Síndrome de ovario poliquístico • Hirsutismo • Acné vulgar • Pubertad precoz • Porfiria intermitente aguda
Infertilidad	Inhibición de la gonadotropina endógena junto con la administración controlada de gonadotropina exógena, especialmente en la inducción de la ovulación en técnicas de reproducción asistida.

GnRH: hormona liberadora de gonadotropinas, LH: hormona luteinizante, FSH: hormona foliculoestimulante. Modificado de Millard y cols., (2005).

Antecedentes

La rata *taiep* es el primer modelo de la tubulinopatía TUBB4A, este modelo fue derivado de una mutación espontánea dentro de una colonia de ratas de la cepa Sprague-Dawley, mantenidas en el bioterio de investigación del Laboratorio de Neurofisiología de la Conducta y el Control Motor del Instituto de Fisiología de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (Holmgren y cols., 1989). Las ratas de alto bostezo (HY, se sus siglas en inglés) se obtuvieron a partir de un macho que bostezó de manera espontánea 21 bostezos por hora, a partir de este macho se han reproducido por entrecruzamientos endogámicos (hermanos con hermanas). En la generación F4 las ratas *taiep* aparecieron como una mutación espontánea (Holmgren y cols., 1989; Urbá-Holmgren, 1990). El padecimiento genético se transmite como un rasgo autosómico recesivo, con la mutación localizada en el cromosoma 9, específicamente dentro del gen Tubb4a, que codifica para la β tubulina 4a (Li y cols., 2003; Duncan y cols., 2017; Garduno-Robles y cols., 2020).

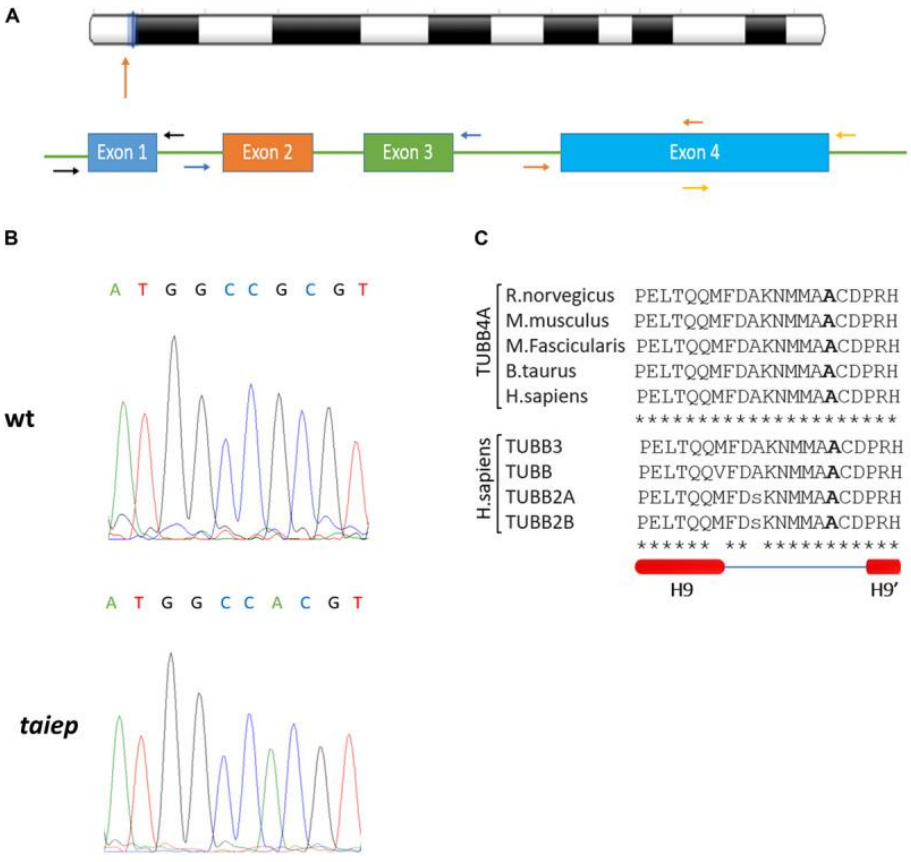


Figura 27. Mutación de la rata *taiep* en el gen de la β tubulina 4a. **A)** Secuencia de la β tubulina en el cromosoma 9 y la secuencia con cuatro exones del gen Tubb4a en la rata. **B)** Se muestra los electroferogramas de las ratas Sprague-Dawley y *taiep.* Note la mutación de una G por una A en el exón 4 de la rata *taiep.* **C)** C-1 Se muestra la secuencia de los aminoácidos que codifican para la proteína tubulina β 4a de la rata, el ratón, el macaco, el bovino y el humano. C-2. Se muestra la secuencia de aminoácidos que corresponde al gen TUBB4A en diferentes especies incluida la rata *taiep* (modificado de Garduno-Robles y cols., 2020).

La tubulina representa una proteína crucial para la síntesis de los microtúbulos, siendo la tubulina β 4a la que tiene mayor expresión en los oligodendrocitos (Terada et al., 2005), y según un estudio reciente, la expresión aumenta en muestras postnatales en comparación con las muestras fetales, lo que probablemente indica que esta tubulina tiene un impacto en los procesos de mielinización postnatal en el cerebro (Park y cols., 2021).Las tubulinopatías constituyen un grupo diverso de patologías que se caracterizaron recientemente, afectan a las tubulinas α, β y γ, junto con proteínas asociadas con los microtúbulos como las dineínas y las quinesinas (Hoff y cols., 2022). Notablemente, las mutaciones en el gen TUBB4A humano no precipitan malformaciones cerebrales, sino que se correlacionan con distonías tipo 4 y con la leucodistrofia H-ABC (Gonçalves y cols., 2018).

La rata *taiep* tiene una hipomielinización inicial, seguida de una desmielinización progresiva del sistema nervioso central (Eguibar y cols., 2021). El término "*taiep*" es el acrónimo para los signos motores: el temblor, la ataxia, la inmovilidad, la epilepsia, y parálisis de las extremidades traseras (Cortés y cols., 2005; Holmgren y cols., 1989).

Investigaciones previas han indicado que el mutante de mielina puede lograr una sobrevida de hasta 24 meses con la atención adecuada, tal como una rata sana (Eguibar y cols., 2010, 2021; Foote y cols., 2005). Esta observación es significativa, ya que otros mutantes de mielina, como la rata MD (deficiente en mielina, de sus siglas en inglés), típicamente tienen una esperanza de vida de apenas 28 días. Debido a estas consideraciones, la rata *taiep* es reconocida como el único modelo de tubulinopatía con hipomielinización y atrofia de los ganglios basales y cerebelo

(H-ABC) con mayor sobrevida documentado hasta la fecha (Alata y cols., 2021; Eguibar y cols., 2021; Garduno-Robles y cols., 2020).

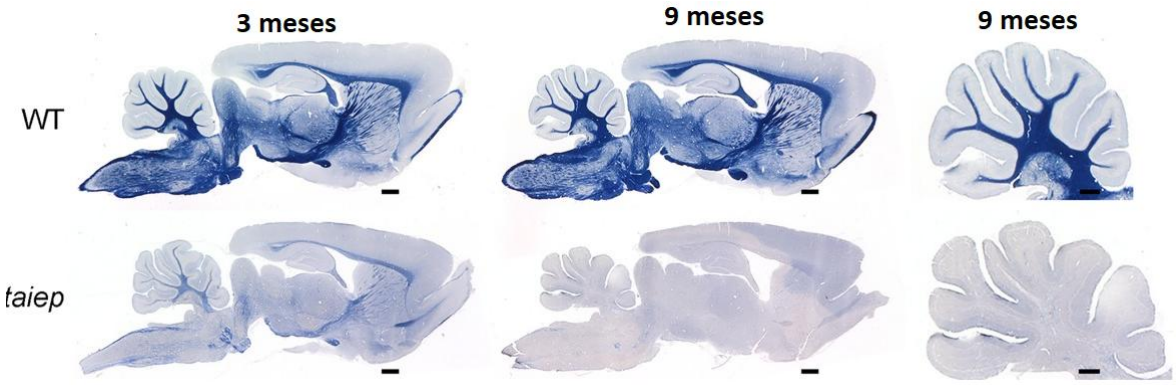


Figura 28. Corte sagital de cerebro de una rata *taiep* y de una rata sana de la cepa Sprague-Dawley. Se observa hipomielinización inicial en la rata *taiep* en comparación de la rata Sprague-Dawley (SD) y un proceso de desmielinización progresiva a los tres meses que progresa a los nueve meses de vida. En azul oscuro se muestra la concentración de mielina utilizando la técnica de azul de nitro-tetrazolio y diaminobenzidina. Modificado de O'Connor y cols., (2000).

En condiciones fisiológicas la producción de la mielina requiere de los oligodendrocitos para sintetizar distintas proteínas para la correcta formación de las vainas de mielina (Eguibar y cols., 2021). En la rata *taiep* todas las proteínas necesarias para la formación de la mielina se encuentran disminuidas como son la proteína básica de la mielina (PBM), la proteína proteolipídica (PLP), la glicoproteína asociada a la mielina (GAM), y la enzima 2,3-nucleótido cíclico 3 fosfodiesterasa (CNP; Möller y cols., 1997). En estudios previos se ha mostrado que las proteínas asociadas a la producción y mantenimiento de la mielina que se encuentran disminuidos en la rata *taiep* con relación a la rata Sprague-Dawley, disminuyen con la edad. (Eguibar y cols., 2021; Eguibar y cols., 2014; Möller y cols., 1997; O'Connor y cols., 2000).

La alteración de la mielina se debe a una acumulación anormal de microtúbulos alrededor del retículo endoplásmico rugoso de los oligodendrocitos, lo que se ha propuesto, es que se interrumpe el transporte de las proteínas recién sintetizadas desde del retículo endoplásmico hacia la porción Cis del aparato de Golgi (Couve y cols., 1997). La PLP es sintetizada en el retículo endoplásmico y posteriormente se

empaqueta en el aparato de Golgi, sin embargo, la PBM es sintetizada por ribosomas libres para después llegar a los procesos distales de los oligodendrocitos, y alinearse en forma de gránulos a los microtúbulos en la membrana (Milner y cols., 1985) . El uso del nocodazol o de la colchicina compromete el transporte del ácido ribonucleico mensajero (ARNm) de la MBP interrumpiendo la incorporación de la PLP a la membrana de la mielina, estos estudios muestran que la estructura normal de los microtúbulos en los oligodendrocitos es esencial para el transporte adecuado de las proteínas esenciales para la producción y mantenimiento de las vainas de mielina en los axones. De tal forma que en los oligodendrocitos de la rata *taiep* el transporte es anormal, esto fue mostrado por inmuno marcaje de la PLP con fluorescencia en los oligodendrocitos de ratas sanas Sprague-Dawley, el transporte es en sentido hacia los procesos distales; mientras que en las ratas *taiep* puede darse hacia los procesos distales o hacia atrás (Eguibar y cols., 2021; Song y cols., 1999). Por lo tanto, en los oligodendrocitos de la rata *taiep* la tasa de remplazo de las proteínas para el mantenimiento de la mielina es menor con respecto a las ratas Sprague-Dawley (Song y cols., 1999; Eguibar y cols., 2021).

A nivel ultraestructural existe una acumulación de microtúbulos (MT) unida al retículo endoplásmico (ER) formando el denominado complejo MT-ER. Couve y cols; (1997) propusieron que el complejo MT-ER son los responsables del bloqueo del transporte intracelular de las proteínas y de los lípidos necesarios para la producción y el mantenimiento de la mielina (Couve y cols., 1997). Adicionalmente, los oligodendrocitos de la rata *taiep* muestran niveles altos de microtúbulos y de la proteína asociada a microtúbulos (MAP1b), respecto a las ratas Sprague-Dawley (O'Connor y cols., 2000; Song y cols., 1999).

Todas las vías centrales que tienen un proceso de mielinización tardía, esto es que se mielinizan después del nacimiento, están más afectadas en la rata *taiep*, dentro de las cuales encontramos la vía corticoespinal, las columnas dorsales de la médula espinal y el nervio óptico (Roncagliolo y cols., 2003; Song y cols., 1997; Roncagliolo y cols., 2000). En comparación con las vías que mielinizan en la etapa fetal, como son las columnas ventrales de la médula espinal que están menos afectadas, lo que

describe que no existe una homogeneidad en cómo se afectan los distintos haces del sistema nervioso central (Lunn y cols., 1997).

En nuestro laboratorio, se efectuaron estudios de imagenología por resonancia magnética (IRM) comparativa entre grupos de ratas Sprague-Dawley (SD) y *taiep*, empleando un resonador de 7.0 T (Teslas). Los hallazgos de los resultados de las IRM mostraron que las ratas *taiep* presentan una hipomielinización en el cuerpo calloso y la comisura anterior, así como atrofia del cerebelo, del núcleo caudado y ventriculomegalia (Garduno-Robles y cols., 200.); que son los signos de IRM característicos de la tubulinopatía H-ABC humana (Goncalves y cols., 2018).

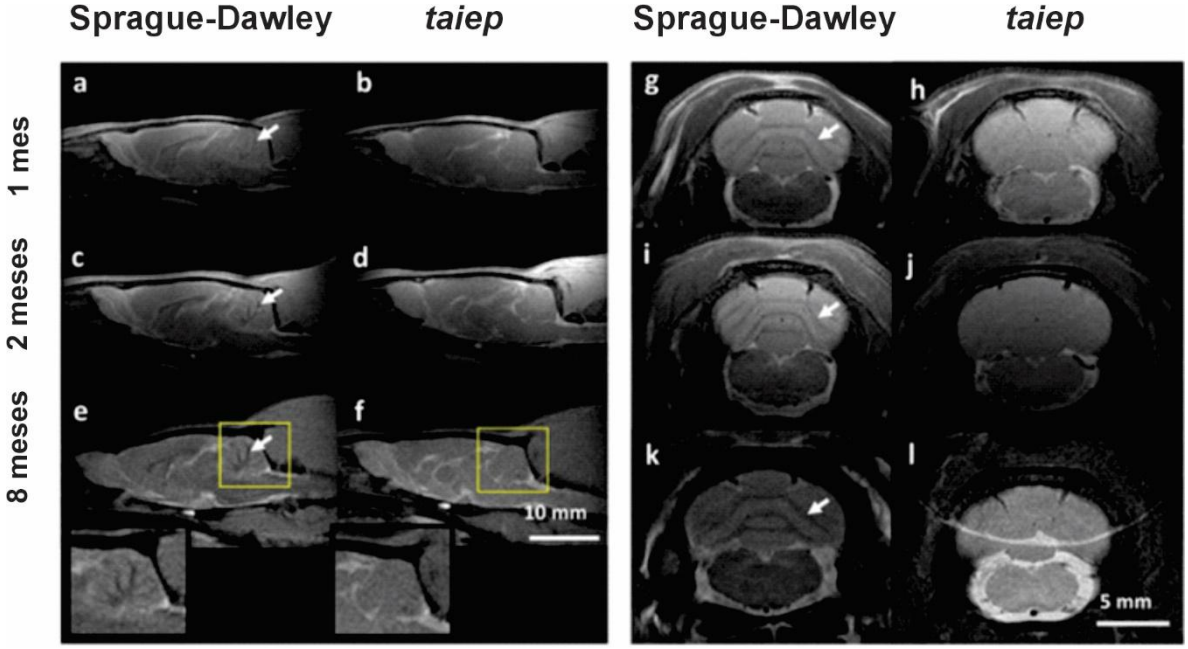


Figura 29. Imagen de resonancia magnética en un modelo de tubulinopatía con hipomielinización y atrofia en los ganglios basales y el cerebelo. Se muestran las imágenes ponderadas en T2 del cerebelo en ratas *taiep* y Sprague-Dawley (SD) al primer, segundo y octavo mes de vida. a-f) Corte sagital del cerebro de ambos grupos de ratas, en el recuadro amarillo se observa la mielina con una señal hipointensa en las ratas SD. g-l) Corte coronal del cerebelo, la señal hipointensa se observa más en las ratas SD, lo que denota menor un porcentaje de mielina en la rata *taiep*. Modificado de Garduno-Robles y cols., (2020).

Las investigaciones ulteriores han mostrado que la desmielinización progresiva conduce a alteraciones en los tractos corticoespinales, que son cruciales para las funciones motoras, manifestándose en cambios conductuales como es la deambulación (Moon y cols., 2016). En una serie de experimentos realizados en nuestro laboratorio, se mostró que el ciclo de marcha de la rata *taiep* es notablemente más lento y la coordinación se ve alterada en comparación con el de la cepa Sprague-Dawley (Alata y cols., 2021)

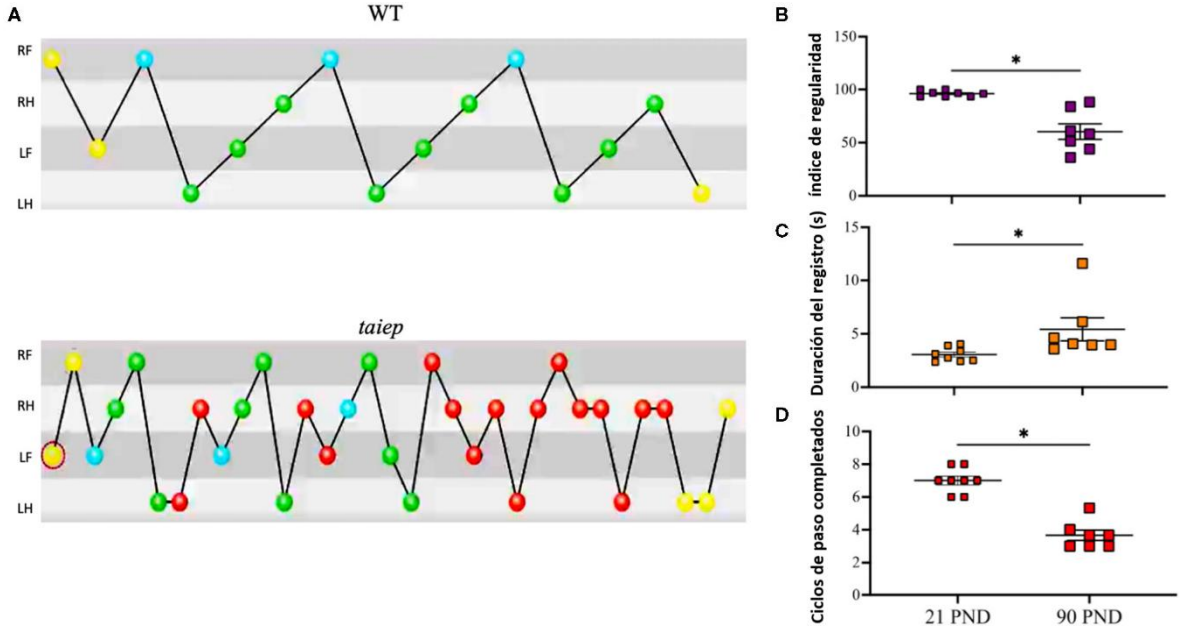


Figura 30. Alteración de la coordinación de la marcha en la rata *taiep*. **A)** Se ilustra el análisis de las pisadas en un registro de la marcha en la rata Sprague-Dawley (SD) en comparación con la rata *taiep*, los círculos en rojo denotan las pisadas que no pertenecen a un ciclo normal en los roedores. B-D) Análisis de los registros de la marcha en ratas *taiep* de 21 y 90 días postnatales (DPN). **B)** La coordinación de la marcha se deteriora con la edad. **C)** La duración de los registros es mayor en ratas de 90 DPN. **D)** El porcentaje de pisadas anormales aumenta con la edad, por lo que disminuye el número de ciclos completados. *P<0.05. Modificado de Alata y cols., (2021).

Justificación.

La rata *taiep* presenta una leucodistrofia debida a una tubulinopatía que afecta a la proteína β 4a (tubb4a) mostrando una hipomielinización seguida de una desmielinización progresiva del sistema nervioso central. Lo que altera la conducta locomotora modificando los parámetros de la marcha.

En un trabajo previo hemos mostrado que la administración de agonistas dopaminérgicos y serotonérgicos mejoran algunos parámetros de la marcha en las ratas *taiep* macho adultas. Sin embargo, es necesario realizar estudios adicionales con diferentes agentes dopaminérgicos para dilucidar el posible papel de este neurotransmisor en la frecuencia locomotriz de la rata *taiep*.

Los estudios realizados empleando agonistas GnRH en diferentes modelos murinos de esclerosis múltiple, lesión en la médula espinal muestran una mejoría en su actividad locomotora, además de tener efectos neurotróficos y neuroprotectores reportados con la administración sistémica del acetato de leuprolida, los cuales pueden tener un impacto positivo sobre los signos motores producidos por la tubulinopatía H-ABC en la rata *taiep.*

Hipótesis.

1. La administración sistémica de agonistas dopaminérgicos D2 mejorará los parámetros del patrón de la marcha en la *taiep.*
2. La administración crónica de un agonista de los receptores para la hormona liberadora de gonadotropinas mejorará los parámetros del patrón de la marcha en la rata *taiep.*

Objetivo general.

Evaluar los parámetros del patrón de la marcha en la rata *taiep* tras la administración sistémica de agonistas dopaminérgicos y después de una administración crónica del agonista de los receptores para la hormona liberadora de gonadotropinas, el acetado de leuprolida.

Objetivos específicos.

1. Realizar el análisis del patrón de la marcha en ratas *taiep* macho a los 21 días postnatales y hasta los 90 días postnatales.
2. Realizar una curva dosis-efecto del agonista D2, el pramipexol, sobre los parámetros estáticos y dinámicos del patrón de la marcha en ratas *taiep* machos de 3 meses de edad.
3. Realizar una curva dosis-efecto del agonista D2, el –(-) quinpirol, sobre los parámetros estáticos y dinámicos del patrón de la marcha en ratas *taiep* machos de 3 meses de edad.
4. Realizar una curva dosis-efecto del agonista dopaminérgico, la apomorfina, sobre los parámetros estáticos y dinámicos del patrón de la marcha en ratas *taiep* machos de 3 meses de edad.
5. Realizar una curva dosis-efecto del agonista GnRH, el acetato de leuprolida, sobre los parámetros estáticos y dinámicos del patrón de la marcha en ratas *taiep* machos de 3 meses de edad.

Metodología

Animales

Los sujetos de investigación fueron 85 ratas *taiep* macho de tres meses y seis ratas *taiep* de 21 DPN, los cuales se obtuvieron del bioterio del Laboratorio Neurofisiología de la Conducta y Control Motor del Instituto de Fisiología de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Los sujetos de investigación permanecieron en un ciclo luz-oscuridad 12:12 invertido (las luces se encienden a las 19:00), en condiciones ambientales controladas 22 ± 2 ° C y humedad relativa de 35-40%. Permanecieron de 2 a 3 sujetos por jaula de acrílico de 6 mm de espesor con medidas de 32 cm de ancho, 47 cm de largo y 20 cm de alto, con acceso libre de agua purificada Ciel™ (Coca Cola Co., México) y alimento balanceado para roedores (Purina Mills, Estados Unidos de América). Los procedimientos descritos se realizaron conforme a las leyes y códigos aprobados en el Título Séptimo del Reglamento de la Ley General de Salud en materia de Investigación en Salud del gobierno mexicano (NOM-062-ZOO-1999), y que se apega a la guía de los Institutos Nacionales de Salud de los EUA NIH para el cuidado y uso de animales de laboratorio (85-23, revisado en 2011). El protocolo experimental fue sometido a evaluación y aprobación por el CICUAL-BUAP. Los grupos se dividieron en n=6 para el protocolo del análisis del patrón de la marcha en el día 21 postnatal (DPN) y en el 90 DPN. Otro de 25 sujetos para el protocolo de administración de acetato de leuprolida (n=5 para el grupo control, n=5 para la dosis de 1.2 μg/Kg, n=5 para la dosis de 2.4 μg/Kg, n=5 para la dosis de 10 μg/Kg y n=5 para la dosis de 30 μg/Kg. Otros 60 sujetos para el protocolo de administración de dopaminérgicos (n=6 para cada uno de los grupos control, pramipexol a las dosis de 0.25, 0.5 y 1 mg/Kg; quinpirol a las dosis de 0.25, 0.5 y 1 mg/Kg y de apomorfina a las dosis de 0.25, 0.5 y 1 mg/Kg).

Drogas

Se utilizó acetato de leuprolida (AL), un análogo sintético de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH), y se administraron las dosis de 1.25, 2.5, 10 y 30 μg/Kg de acetato de leuprolida o solución salina al 0.9% (NaCl) como grupo control desde el primer día de registro y cada tres días durante un periodo de 21 días en los grupos experimentales y grupo control respectivamente por vía subcutánea en la región dorsal del cuello. Para los dopaminérgicos se empleó el agonista pramipexol para la familia de receptores D2 para dopamina, o quinpirol (-(-) quinpirol) y el agonista dopaminérgico inespecífico la apomorfina (Guzmán-Soto y cols., 2012; Galindo y cols., 2015; Guzmán-Soto y cols., 2016; Villanueva y cols., 2017; Quintanar y cols., 2019, 2022).

Equipo para el análisis del patrón de la marcha en la rata *taiep*

Se empleó un equipo tipo pasarela CatWalk™ (Noldus Technologies, Países Bajos) para medir los parámetros del patrón de la marcha en la rata *taiep*. El equipo consta de una pasarela con un extremo abierto y las paredes delimitadas por paneles de Plexiglás negro, el techo que cubre la pasarela es una lámpara de diodos emisores de luz de color rojo; el piso es un vidrio de 6mm de espesor, de 120 cm de largo y 21 cm de ancho retroiluminado por medio de una luz color verde, la cual se difracta al contacto de cada una de las extremidades de la rata y es proporcional a la fuerza de presión que ejerce la pata sobre el vidrio.

La utilización del equipo tipo pasarela se realizó en una habitación oscura de 248 cm de largo y 198 cm de ancho, lo que permitió iluminar la sala con una luz roja mediante un foco rojo de 40 Watts, dando una intensidad lumínica de 1 a 4 luxes a lo largo de las pruebas (Hamers y cols., 2001; Garrick y cols., 2021). Se fabricó una caja de madera que se coloca al final de la pasarela para simular un túnel que

desemboca en una caja de acrílico con medidas de 8 X 24.5 X 15 cm, con la finalidad de almacenar a los animales al finalizar cada ensayo (Cortés, 2011).

Los parámetros del patrón de la marcha se obtuvieron mediante la grabación con una cámara de alta velocidad (Gevicam modelo GP-2360C, Estados Unidos de América) ubicada en un ángulo perpendicular a 70 centímetros por debajo del piso de cristal de la pasarela, la cual tiene la capacidad de detectar la luz emitida al poner las huellas de la rata durante su paso a través del túnel. Subsecuentemente, la información adquirida por la cámara es enviada mediante un cable tipo Ethernet de calibre 5 a un servidor modelo Dell precisión T3500, esto con el fin de ser decodificada empleando el programa CatWalk ™ versión 9.1 bajo el sistema operativo Windows 7. Cada vez que las ratas atravesaron la pasarela sin detenerse se le consideró como "marcha buena" y el número total de marchas buenas se le denomino "prueba", siguiendo la nomenclatura de los desarrolladores (Hamers y cols., 2001; 2006).

Habituación y entrenamiento de la marcha

Todos los sujetos se habituaron al cuarto experimental en un periodo de diez con el fin de que se habituaran al periodo luz-oscuridad invertido (Leussis y cols., 2006). Posteriormente se les realizó un periodo de entrenamiento, el cual consiste en tres marchas buenas completas en la pasarela durante siete días consecutivos, se empleó cereal Frut Loops™ (Kellogg's, Co, México) para incentivar el aprendizaje durante la fase de entrenamiento al pasar el trayecto completo hasta la caja oscura.

Al término del periodo de entrenamiento se realizaron los registros de la marcha para cada grupo experimental durante 21 días consecutivos para los grupos de acetato de leuprolida y tres días consecutivos para los grupos que recibieron drogas dopaminérgicas, los cuales consistieron en tres marchas buenas por cada prueba de cada uno de los sujetos, siguiendo con los parámetros de los desarrolladores para

obtener un correcto análisis de los datos correspondientes para cada prueba (Hamers y cols., 2001)

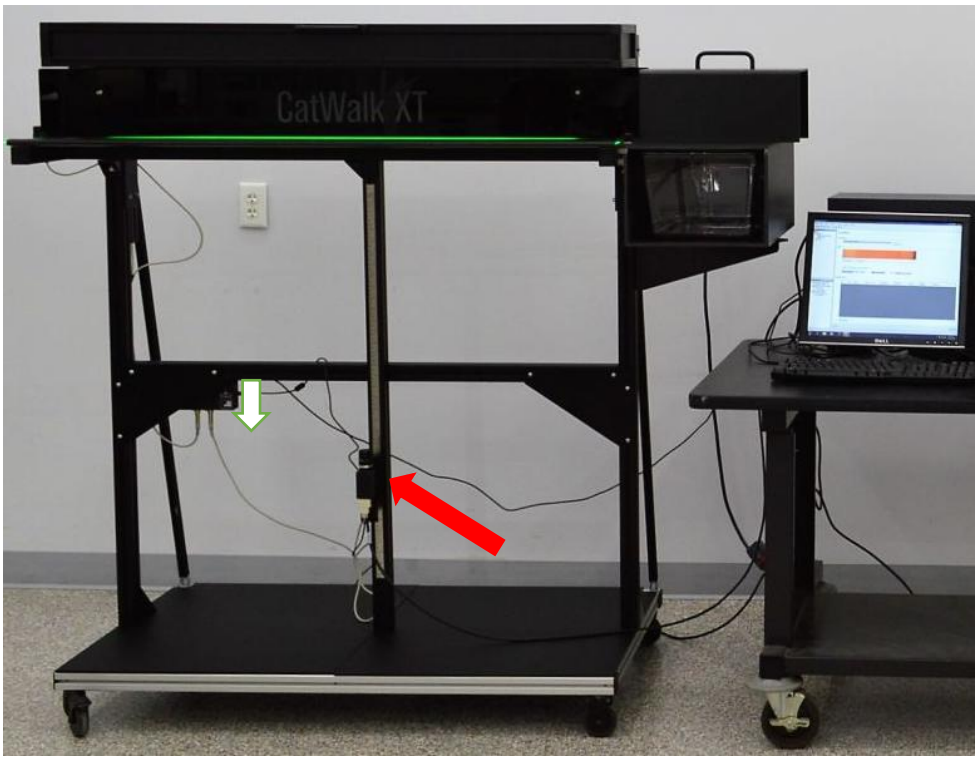


Figura 31. Sistema para el registro del patrón de la marcha, tipo Catwalk ™. Se ilustra la vista anterior del sistema de registro tipo pasarela. Nótese la cámara modelo Gevicam colocada en un ángulo inferior de la pasarela para registrar cada uno de los parámetros de la marcha (señalada por la flecha de color rojo), en la parte superior se observa el piso retroiluminado de color verde (en una raya) en el cual deambulará la rata para su registro (Ahumada-Juárez, 2020).

Los parámetros para el análisis de la marcha en la rata *taiep*.

En el programa Catwalk 9.1 (Noldus tecnología, Países Bajos) se puede analizar diferentes variables relacionadas con la marcha de los roedores. Sin embargo, se utilizaron los parámetros más empleados para el estudio de la marcha de acuerdo con un metaanálisis (Kappos y cols., 2017). Se analizaron los siguientes parámetros: duración de la fase de soporte, duración de la fase de balanceo, longitud de zancada, base de soporte, velocidad, área máxima de contacto de las patas, cadencia e índice de regularidad de la marcha (véase la Tabla 6). La mayoría de los parámetros se expresan por separado para las patas delanteras y para las traseras. El programa de cómputo CatWalk 9.1 proporciona los valores para cada una de las cuatro patas. Los cuales serán promediados como la media ± el error estándar de la media (E.E.M.).

Tabla 7. Parámetros a evaluar en los sujetos con el sistema de registro del patrón de la marcha Catwalk™.

Parámetro a evaluar	Descripción	Interpretación
Duración de la fase de soporte.	Duración en segundos del contacto de las patas con el piso de cristal.	El aumento de la duración de la fase de soporte sugiere un mecanismo compensatorio en las alteraciones motoras. Sin embargo, una disminución puede implicar otras alteraciones como dolor.
Duración de la fase de balanceo.	Duración en segundos en que la pata oscila y pierde el contacto con el piso de cristal	La disminución del balanceo se debe a un desequilibrio o problemas para el soporte del peso corporal.
Base de soporte	Distancia en centímetros entre las extremidades anteriores y posteriores	El aumento de la base de soporte está relacionado con problemas en la coordinación motora.

Longitud de zancada	Distancia entre las ubicaciones sucesivas de la misma pata.	La disminución de la zancada puede indicar una marcha alterada. Signo que se observa en la ataxia.
Velocidad de la marcha	Recorrido de la distancia en segundos de la marcha.	La disminución de la velocidad puede relacionarse con trastornos en la coordinación entre las extremidades, y/o alteraciones motoras del sistema nervioso central o el sistema nervioso periférico.
Índice de regularidad	Es un índice porcentual que representa la coordinación de la marcha, calculado en función del número de patrones de secuencia de pasos normales (PSPN), número de huellas y colocaciones de las patas, IR = 100% * (PSPN * # huellas) / # de colocaciones de las patas	Una disminución en el índice de regularidad indica un patrón de caminata irregular.
Cadencia	Se refiere al número de pasos en un minuto.	La disminución de la cadencia puede deberse a alteraciones de la marcha, y están relacionadas con la longitud de zancada.

Se muestran los parámetros a evaluar en los sujetos de investigación, la descripción y la interpretación de cómo puede estar relacionada la alteración en cada parámetro de la marcha.

Análisis estadístico

Para el análisis de datos de todos los grupos se utilizó el programa de cómputo Sigma-Plot versión 14 (Sigma Stat, San Jose, CA, Estados Unidos de América). Los datos se compararon mediante una prueba de kruskal Wallis, seguido de la prueba de Dunn para los datos obtenidos de los experimentos con los agentes dopaminérgicos. Para el acetato de leuprolida se efectuó un ANOVA de medidas repetidas de dos factores (día de administración y dosis del fármaco) seguido de una prueba de Dunnet. Para el valor de ”q” obtenido en la prueba de Dunnet, se indica con un subíndice la dosis correspondiente ($q_{0.25}$, ejemplo). Para todos los reportes estadísticos se consideró una $P<0.05$ como resultado significativo.

Resultados.

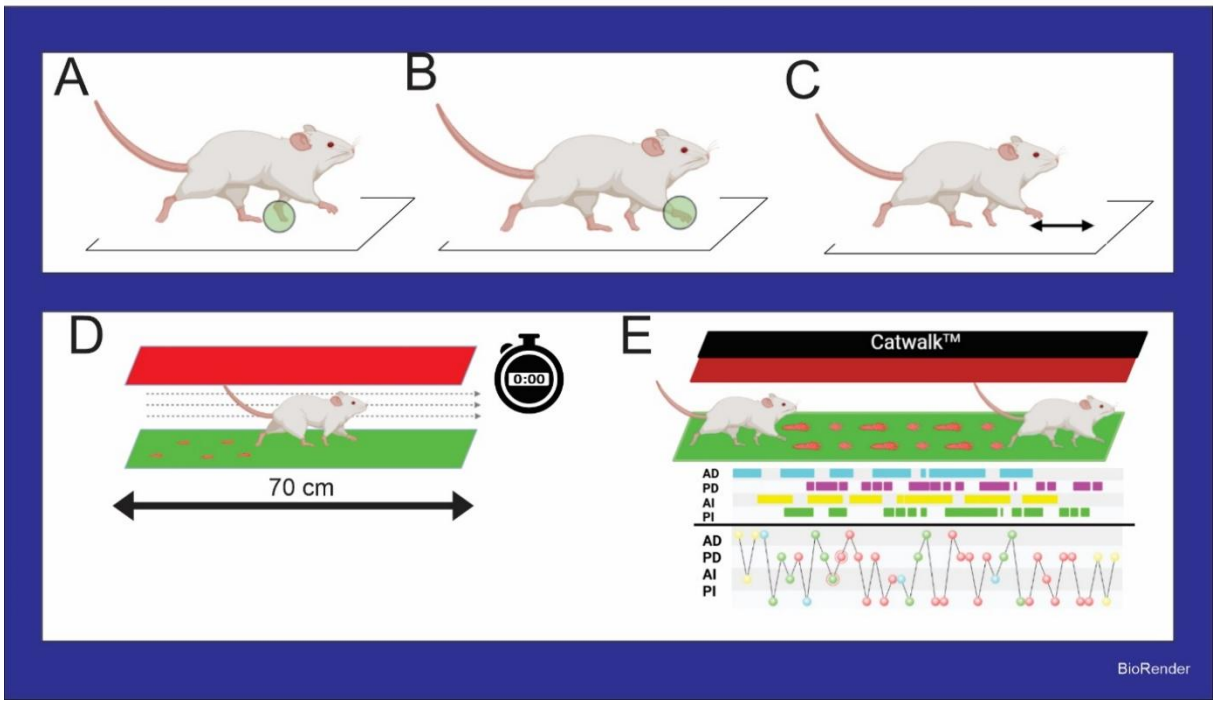


Figura 32. Parámetros del patrón de la marcha en la rata *taiep*. Se ilustran los parámetros del patrón de la marcha en la rata *taiep* obtenidos mediante el sistema de registro CatWalk™. **A)** Fase de soporte: duración del tiempo en que la pata de la rata se mantiene en el piso de cristal. **B)** Fase de balanceo: duración del tiempo donde la pata de la rata se mantiene suspendida en el aire, sin tener contacto con el piso de cristal. **C)** Longitud de la zancada: distancia recorrida durante un paso de cada extremidad de la rata *taiep*. **D)** Velocidad del patrón de la marcha: distancia del recorrido de la rata en la pasarela durante un periodo de tiempo. **E)** Coordinación entre las extremidades: en el sistema de registro CatWalk™ se obtiene mediante el índice de regularidad, este determina el número de pisadas correctas (circulo en verde) menos el número de pisadas que no pertenecen a un patrón normal de la marcha (círculos en rojo) entre el número total de pisadas, el circulo azul determina el inicio de cada ciclo de la marcha. AD: extremidad anterior derecha; PD: extremidad posterior derecha; AI: extremidad anterior izquierda; PI: extremidad posterior izquierda. Realizado mediante BioRender™.

Resultados de la evolución de la marcha con la edad en la rata *taiep.*

Los resultados experimentales reportados en esta tesis corresponden al grupo de ratas *taiep* macho de 21 días post natales (DPN) y hasta los 90 DPN. Todos los datos corresponden a la mediana y a los cuartiles de seis ratas *taiep* machos.

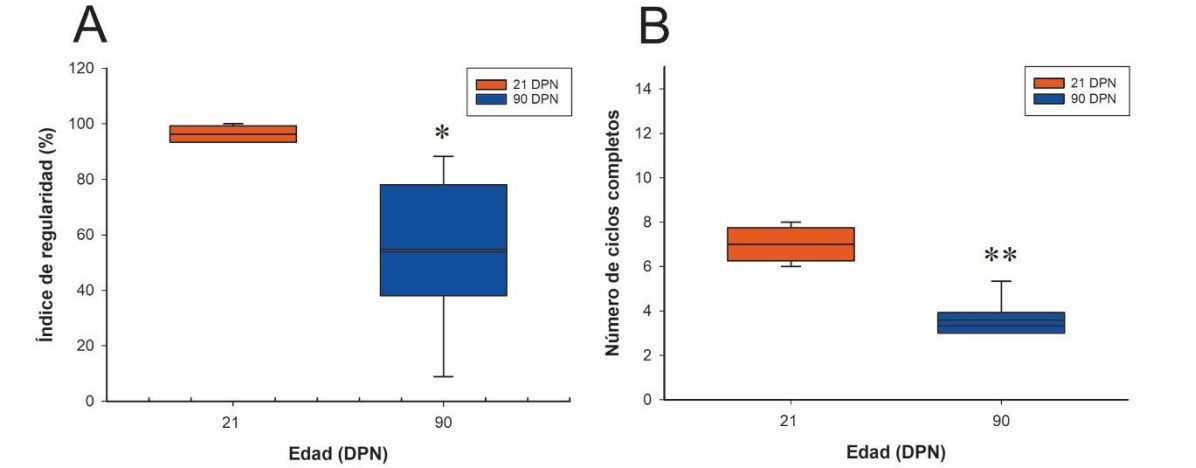


Figura 33. La coordinación y el número de ciclos del patrón de la marcha se modifica con la edad en la rata taiep macho. **A)** El índice de regularidad disminuye en la rata *taiep* macho de 90 DPN en comparación con la rata *taiep* de 21 DPN (*P<0.05). **B)** El número de ciclos del patrón de la marcha disminuye en las ratas *taiep* macho de 90 DPN en comparación con las ratas *taiep* de 90 DPN (**P<0.001).

El índice de regularidad, que cuantifica la coordinación entre las extremidades del patrón de la marcha es menor en ratas *taiep* macho adultas (90 DPN) en comparación a los registros obtenidos al tener 21 DPN por cambios alométricos (t-pareada, T=4.25, gl=5, *P<0.05; véase Figura 33). Para el del número de ciclos del patrón de la marcha durante los registros de la marcha, las ratas *taiep* macho de 21 DPN fueron capaces de completar una mayor numero de ciclos respecto de los 90 DPN (t-pareada, T=7.61, gl=5, **P<0.001; véase Figura 33).

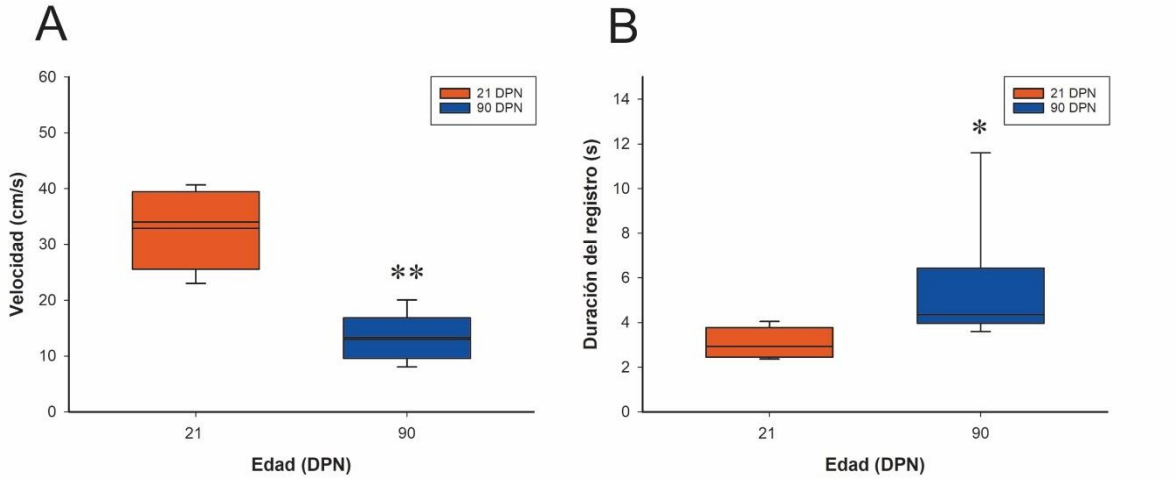


Figura 34. La velocidad de la marcha en la rata taiep decrementa con la edad.

A) La velocidad del patrón de la marcha en la rata *taiep* es mayor a los 21 DPN en comparación con los 90 DPN de edad (**P<0.001). **B)** La duración del registro del patrón de la marcha es mayor en las ratas *taiep* macho adultas (90 DPN) en comparación con las de 21 DPN (*P<0.05).

Las ratas *taiep* macho presentaron una mayor velocidad del patrón de la marcha a los 21 DPN en comparación de la evaluación de los registros a los 90 DPN (t-pareada, T=5.99, gl=5, **P<0.001; véase Figura 34). Adicionalmente, las ratas *taiep* macho jóvenes (21 DPN) completaron el recorrido de la pasarela en menor tiempo en comparación con los registros del patrón de la marcha obtenidos a los 90 DPN (21 DPN; t-pareada, T=2.38, gl=5, *P<0.05; véase Figura 34).

Resultados de los grupos dopaminérgicos.

Los resultados experimentales que se reportan en esta tesis corresponden al grupo de ratas tratadas con los tres agonistas dopaminérgicos de la familia D2. Todos los datos corresponden a la media ± el error estándar de la media (E.E.M.) de seis ratas *taiep* machos de tres meses de edad. Los datos recolectados fueron evaluados mediante la prueba de Shapiro-Wilk con el objetivo de verificar si se ajustaban a una

distribución normal. Dado que los resultados indicaron que no cumplían con esta condición, se procedió a aplicar la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis para llevar a cabo el análisis comparativo entre los grupos. Posteriormente, se empleó la prueba de Dunn como análisis post hoc para identificar las diferencias específicas entre los grupos estudiados, asegurando así una evaluación rigurosa y acorde con las características del conjunto de datos.

Efecto de la administración del agonista dopaminérgico apomorfina, en los parámetros estáticos y dinámicos de la marcha en la rata *taiep*.

La duración de la fase de soporte de las extremidades anteriores disminuyó significativamente tras la administración de apomorfina con la dosis de 0.5 mg/Kg (ANOVA, H=29.64, gl=3, P<0.001, seguido de la prueba de Dunn, q=5.31, **P<0.001) y disminuyó también en las extremidades posteriores (kruskal Wallis, H=29,6, gl=3, P<0.05, seguido de la prueba de Dunn, q=3.24, *P<0.05) con respecto al grupo control.

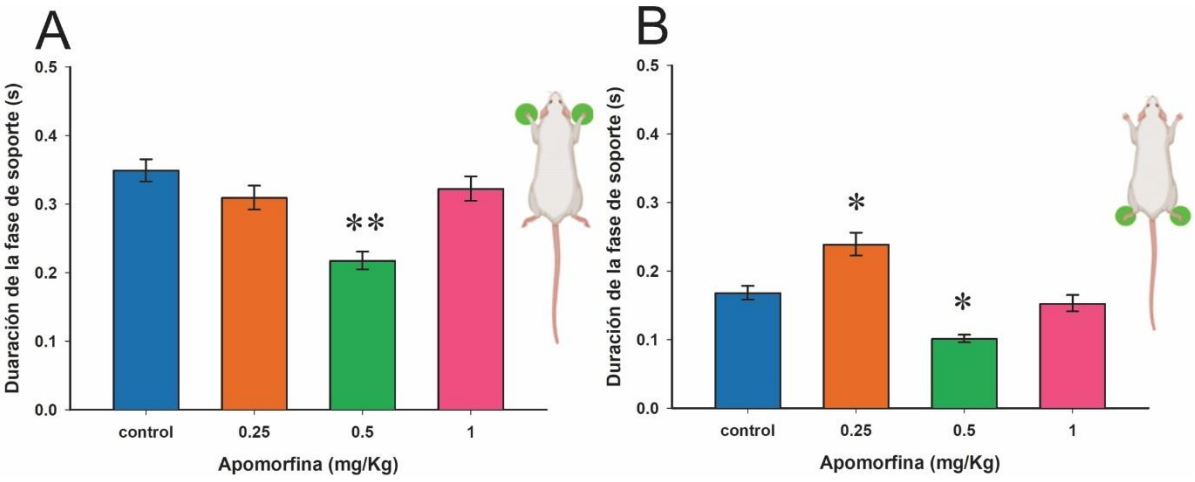


Figura 35. La administración sistémica de apomorfina modifica la fase de soporte en la rata *taiep*. **A)** La duración de la fase de soporte de las extremidades anteriores se disminuye tras la administración de apomorfina a la dosis de 0.25 mg/Kg (kruskal Wallis, P<0.001, seguido de la prueba de Dunn, **P<0.001). **B)** La fase de soporte de las extremidades posteriores

aumento tras la administración de apomorfina a la dosis de 0.25 mg/Kg (kruskal Wallis, P<0.001, seguido de la prueba de Dunn, *P<0.05), pero disminuye con la dosis de 0.5 mg/Kg (kruskal Wallis, P<0.001, seguido de la prueba de Dunn, *P<0.05.

La dosis de 0.25 mg/Kg aumentó el tiempo de la fase de soporte de las patas traseras, esto es el tiempo de contacto de la pata con el piso de cristal de la pasarela (kruskal Wallis, H=29.64, gl=3, P<0.001, seguido de la prueba de Dunn, q= 3.28, *P<0.05) con respecto al grupo tratado con solución salina isotónica. Con la dosis de 1 mg/Kg no se obtuvieron efectos significativos en la duración de la fase de soporte (véase Figura 35).

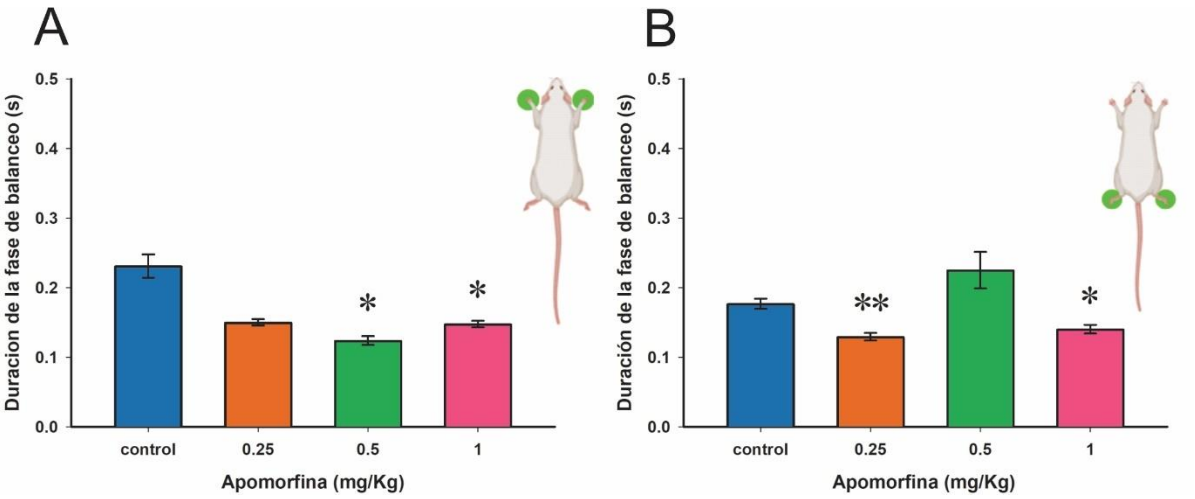


Figura 36. La apomorfina disminuye la duración de la fase de balanceo tanto en las extremidades anteriores como en las posteriores en la rata *taiep*. A) La duración de la fase de balanceo en las extremidades anteriores disminuye tras la administración de apomorfina a las dosis de 0.5 y 1 mg/Kg (kruskal Wallis, P<0.05, seguido de la prueba de Dunn, *P<0.05). **B)** En la duración de la fase de balanceo de las extremidades posteriores se obtuvo una disminución con las dosis de 0.25 (kruskal Wallis, P<0.05, seguido de la prueba de Dunn, *P<0.05) y 1 mg/Kg (kruskal Wallis, P<0.001, seguido de la prueba de Dunn, *P<0.05, **P<0.001).

Con respecto a la duración de la fase de balanceo, la apomorfina indujo una disminución de este parámetro con las dosis de 0.5 y 1 mg/Kg (kruskal Wallis,

H=18.92, gl=3, P<0.05, seguido de la prueba de Dunn, $q_{0.5}$=3.62, q_1=2.73 *P<0.05), y con la dosis más baja no modificó la duración de la fase de balanceo. Por otro lado, las dosis de 0.25 y 1 mg/Kg disminuyeron la duración de la fase de balanceo comparadas con el grupo tratado con solución salina isotónica (kruskal Wallis, H=33.59, gl=3 P<0.05, seguido de la prueba de Dunn, $q_{0.5}$=4.95, q_1=3.27, *P<0.05, **P<0.001; véase en la Figura 36). La longitud de la zancada tanto en las extremidades anteriores, como en las posteriores no modificó con ninguna de las dosis de apomorfina probadas (véase Figura 37).

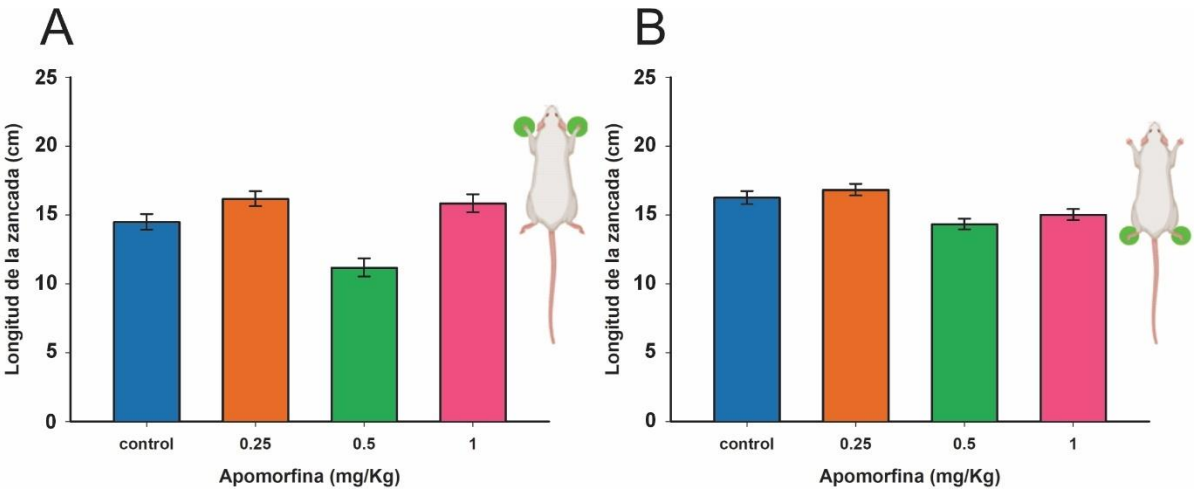


Figura 37. La apomorfina no modifica la longitud de la zancada en la rata *taiep*. **A)** La zancada en las extremidades anteriores, no se modificó con las tres dosis de apomorfina probadas. **B)** La apomorfina no modifica la longitud de la zancada en las extremidades posteriores, con ninguna de las dosis empleadas.

La coordinación del patrón de la marcha alterada que presenta la rata *taiep* en machos de tres meses, mejoró cuando se administró la apomorfina con las dosis de 0.25 y 1 mg/Kg al compararse con el grupo control (kruskal Wallis, H=17.66, gl=3, P<0.05, seguido de la prueba de Dunn, $q_{0.25}$=3.83, $q_{0.5}$=2.46, *P<0.05). Sin embargo, con la dosis intermedia de 0.5 mg/Kg no se obtuvieron resultados significativos (véase Figura 38). Pero con la dosis más alta de apomorfina (1 mg/Kg) aumentó la velocidad del patrón de la marcha en la rata *taiep* (ANOVA, H=10.156, gl=3, P<0.05, seguido de la

prueba de Dunn, q=2.92 *P<0.05). Mientras que la dosis media y baja no modificaron la velocidad del patrón de la marcha con respecto al grupo control (véase Figura 39). El número de pasos por minuto registrado en el patrón de la marcha de las ratas *taiep*, no se modificó con ninguna de las dosis empleadas de apomorfina (véase Figura 40).

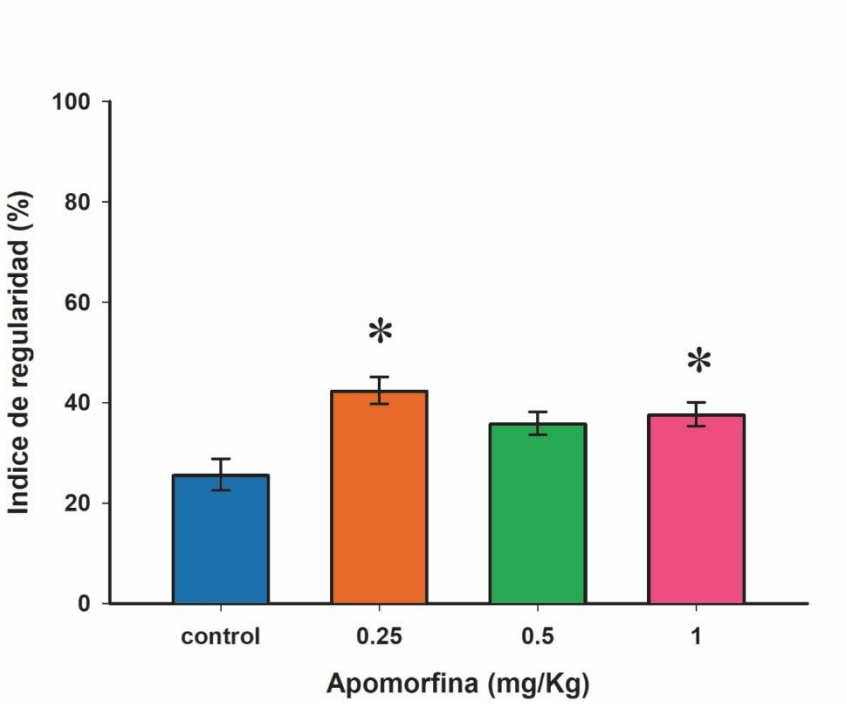


Figura 38. La apomorfina aumenta la coordinación entre las extremidades de la rata *taiep*. El índice de regularidad aumenta con la administración de apomorfina a las dosis de 0.25 y con 1m/Kg (kruskal Wallis, P<0.05, seguido de la prueba de Dunn, *P<0.05).

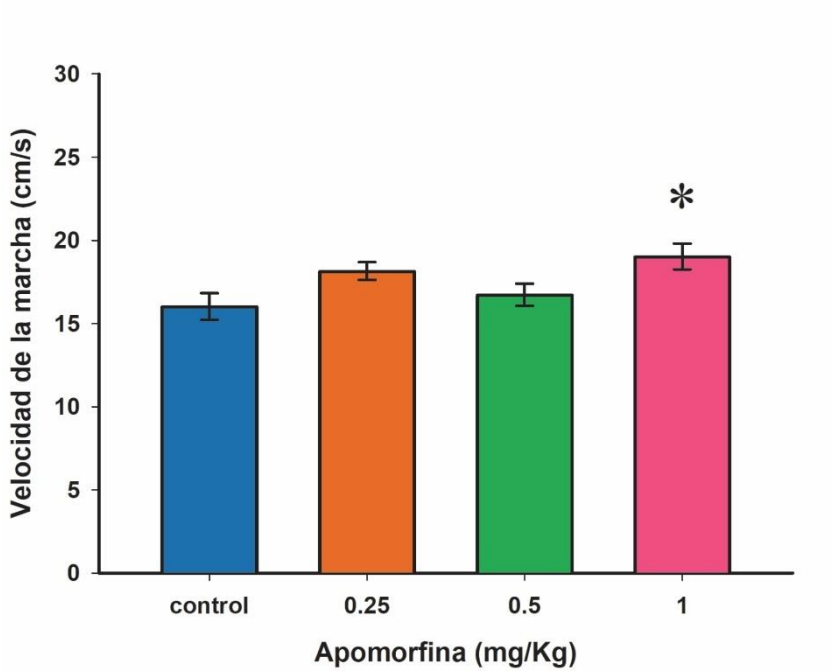


Figura 39. La apomorfina mejora la velocidad de la marcha en la rata *taiep*. La velocidad de la marcha medida en cm/s, aumentó significativamente con la administración de apomorfina a la dosis de 1 mg/Kg (kruskal Wallis, P<0.05, seguido de la prueba de Dunn, *P<0.05).

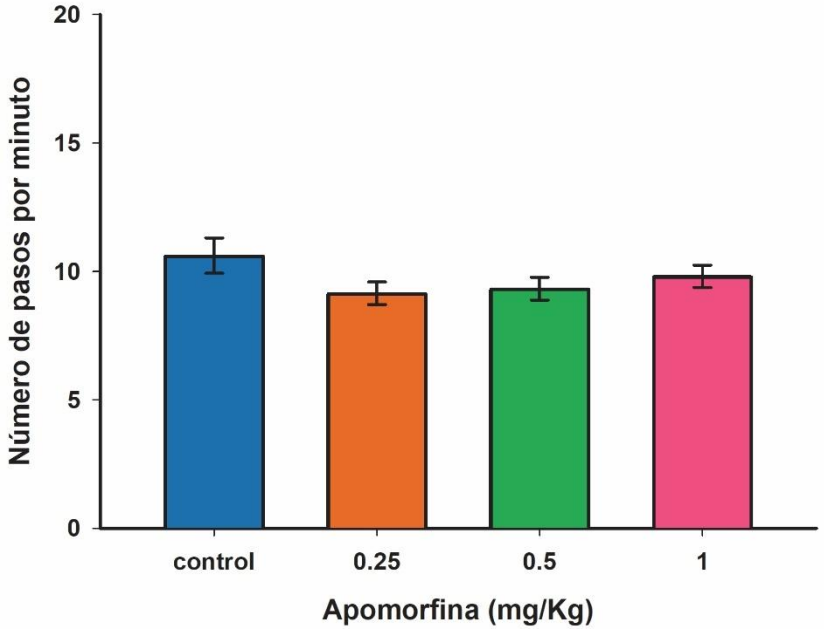


Figura 40. La apomorfina no modifica los pasos por minuto en la rata *taiep*. La cadencia del patrón de la marcha no se modifica tras la administración de la apomorfina, con ninguna de las dosis empleadas.

Efecto de la administración del agonista dopaminérgico D2, el pramipexol, en los parámetros estáticos y dinámicos de la marcha en la rata *taiep.*

La duración de la fase de soporte en las extremidades anteriores no se modificó con ninguna de las dosis administradas de pramipexol (véase Figura 40). Sin embargo, con la dosis de 0.25 y de 0.5 mg/Kg de este agonista dopaminérgico aumentó la duración de la fase de soporte de las extremidades posteriores con respecto al grupo control (kruskal Wallis, H=16.82, gl=3, P<0.05, seguido de la prueba de Dunn, $q_{0.25}$=3.1, $q_{0.5}$=3.86, *P<0.05), y con la dosis más alta no se modificó este parámetro dinámico del patrón de la marcha (véase Figura 41).

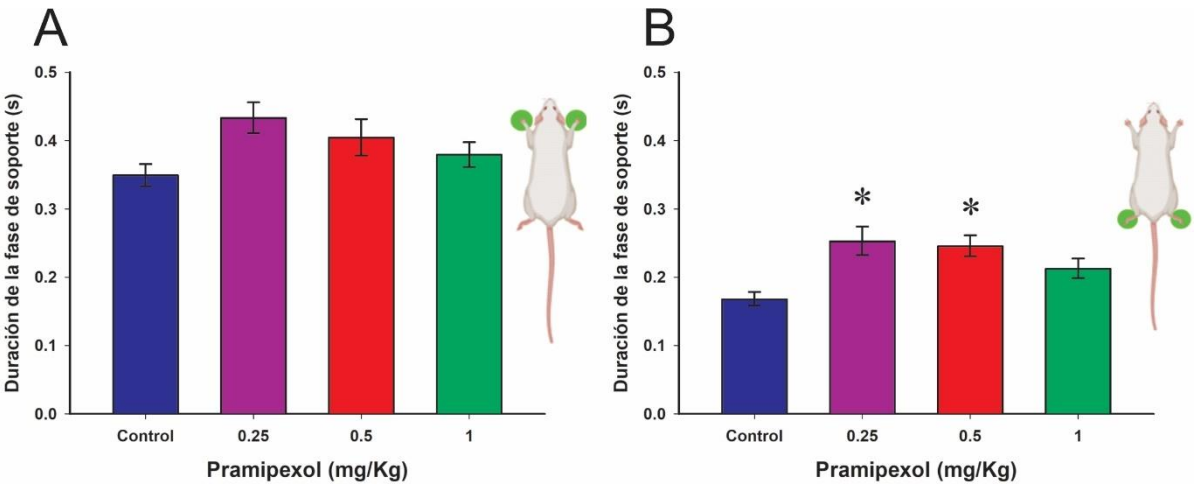


Figura 41. El pramipexol aumenta la duración de la fase de soporte en el tren posterior de la rata *taiep.* **A)** En las extremidades anteriores, el pramipexol no modifica la duración en la fase de soporte de las ratas *taiep* macho de tres meses. **B)** La duración de la fase de soporte de las extremidades posteriores disminuye tras la administración de pramipexol con las dosis de 0.25 y 0.5 mg/Kg (kruskal Wallis, H=16.824, gl=3, P<0.05, seguido de la prueba de Dunn, *P<0.05).

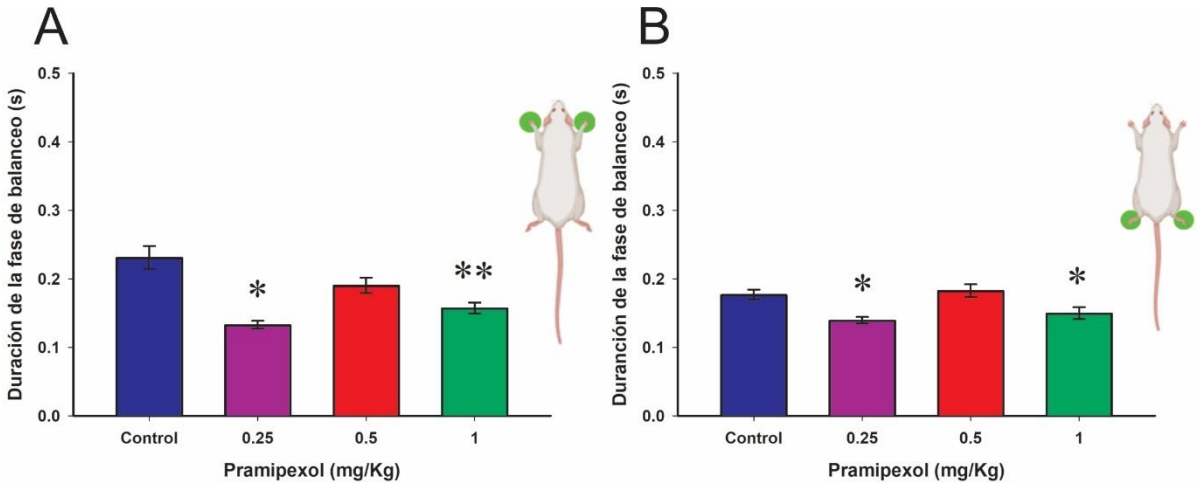


Figura 42. El pramipexol es capaz de disminuir la duración de la fase de balanceo en la rata *taiep*. A) La duración de la fase de balanceo en las extremidades anteriores disminuye con la administración de pramipexol a las dosis de 0.25 y 1 mg/Kg (kruskal Wallis, H=30.18, gl=3, P<0.05, seguido de la prueba de Dunn, *P<0.05, **P<0.001). **B)** El pramipexol a las dosis de 0.25 y 1 mg/Kg, disminuye la duración de la fase de balanceo en las extremidades posteriores (kruskal Wallis, H=23.47, gl=3, P<0.05, seguido de la prueba de Dunn, *P<0.05).

En la duración de la fase de balanceo de las extremidades anteriores, se obtuvo un decremento significativo con la administración de pramipexol con las dosis de 0.25 y 1 mg/Kg (kruskal Wallis, H=30.17, gl=4, P<0.001, seguido de la prueba de Dunn, $q_{0.25}$=3.15, q_1=5.15 *P<0.05, **P<0.001, respectivamente) en comparación con el grupo control (véase la Figura 42). El pramipexol con 0.25 o con 1 mg/Kg disminuye la duración de la fase de balanceo en las extremidades posteriores respecto del grupo control (kruskal Wallis, H=23.47, gl=3, P<0.05, seguido de la prueba de Dunn, $q_{0.25}$=3.53, q_1=3.46, *P<0.05; véase Figura 42). Con la dosis intermedia probada (0.5 mg/Kg) no se modificó este parámetro dinámico del patrón de la marcha tanto en las extremidades anteriores, como en las posteriores.

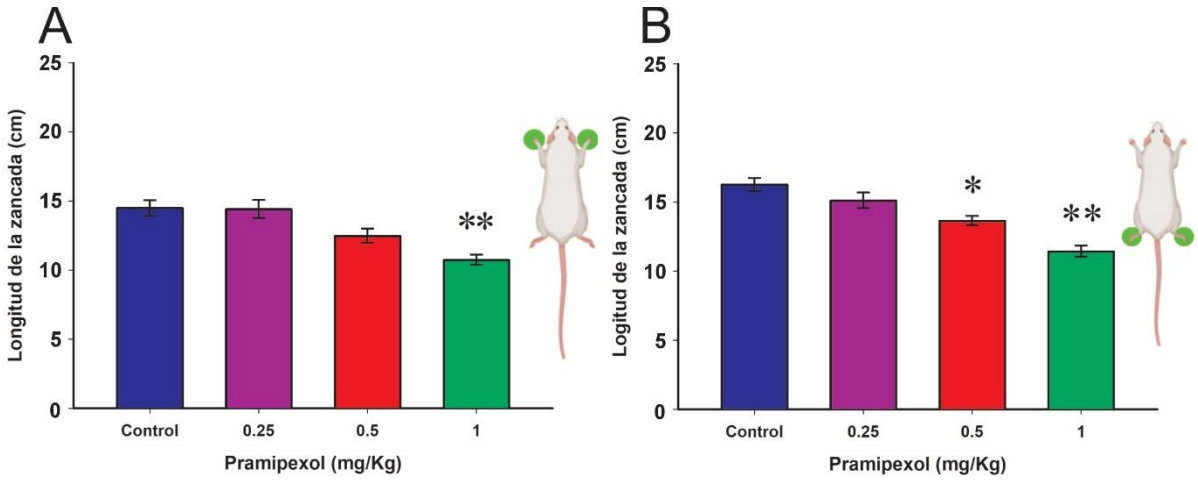
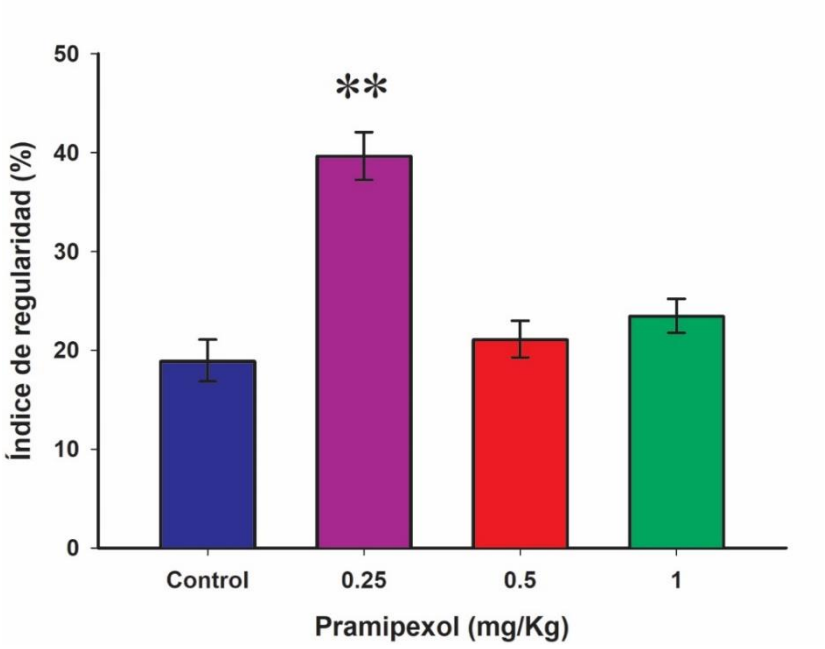


Figura 43. El pramipexol disminuye la distancia de desplazamiento del paso en la rata *taiep*. A) Con la dosis de 1mg/Kg de pramipexol, disminuye significativamente la longitud de la zancada en las extremidades anteriores (kruskal Wallis, P<0.05, H=31.75, gl=3, seguido de la prueba de Dunn, **P<0.001). **B)** La longitud de la zancada disminuye con la administración de pramipexol a las dosis de 0.5 y 1mg/Kg con respecto al grupo control (kruskal Wallis, H=55.7, gl=3, P<0.05, seguido de la prueba de Dunn, *P<0.05).

La distancia que recorre cada pata delantera durante el patrón de la marcha disminuyó significativamente cuando se administró el pramipexol a la dosis máxima (1 mg/Kg) con respecto al grupo control (kruskal Wallis, H=31.75, gl=4, P<0.001,



seguido de la prueba de Dunn, q=5.01 **P<0.001, respectivamente; véase Figura 43). La longitud de la zancada de las extremidades posteriores también disminuyó significativamente con el pramipexol a las dosis de 0.5 y 1 mg/Kg (kruskal Wallis, H=55.7, gl=3, P<0.001, seguido de la prueba de Dunn, $q_{0.5}$=3.58, q_1=7.21 *P<0.05, **P<0.001, respectivamente); sin embargo, con la dosis más baja (0.25 mg/Kg), no se modificó este parámetro estático del patrón de la marcha en las ratas *taiep* (véase Figura 43). Sin embargo, la dosis de 0.25 mg/Kg incrementó significativamente de la coordinación entre las extremidades de las ratas *taiep* macho adultas (kruskal Wallis, H=31.75, gl=4, P<0.001, seguido de la prueba de Dunn, q=5.69 **P<0.001; véase Figura 44).

Figura 44. El pramipexol aumenta la coordinación de la marcha en la rata *taiep*. El índice de regularidad aumenta significativamente tras la administración de pramipexol con la dosis de 0.25 mg/Kg en comparación con el grupo control (ANOVA, H= 33.4, gl=3, P<0.05, seguido de la prueba de Dunn, ** P<0.001).

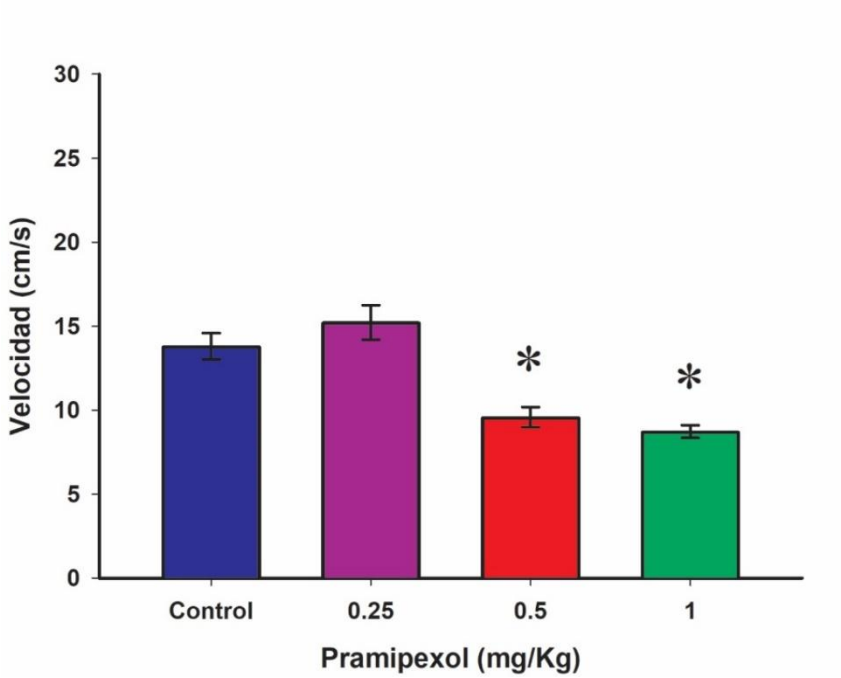


Figura 45. La rata *taiep* deambula a menor velocidad con la administración de pramipexol. Con las dosis de 0.5 y 1 mg/Kg de pramipexol, disminuye significativamente la velocidad del patrón de la marcha en la rata *taiep* (kruskal Wallis, H=33.34, gl=3, P<0.05, seguido de la prueba de Dunn, *P<0.05), en comparación al grupo control.

Las dosis empleadas de pramipexol a 0.5 y 1 mg/Kg indujeron un decremento significativo en la velocidad del patrón de marcha comparadas con el grupo tratado con solución salina hipotónica (kruskal Wallis, H=55.7, gl=3, P<0.001, seguido de la prueba de Dunn, $q_{0.5}$=3.49, q_1=4.24, *P<0.05; véase Figura 45). La cadencia del patrón de la marcha disminuyó con la administración de pramipexol con la dosis más baja de 0.25 mg/Kg (kruskal Wallis, H=8.67, gl=3, P<0.001, seguido de la prueba de Dunn, q=2.8, *P<0.05), pero no modificó la cadencia del patrón de la marcha con las dosis de 0.5 y 1 mg/Kg (véase Figura 46).

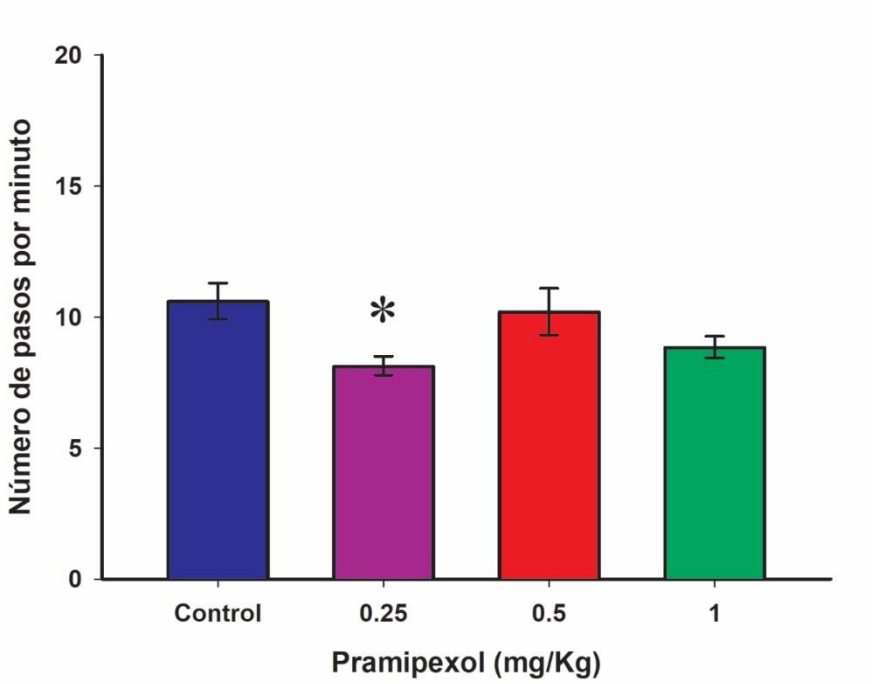


Figura 46. Las ratas *taiep* tratadas con pramipexol dan menos pasos por minuto durante la marcha. La cadencia del patrón de la marcha disminuye tras la administración de pramipexol con la dosis de 0.25 mg/Kg (kruskal Wallis, H=8.69, gl=3 P<0.05, seguido de la prueba de Dunn, *P<0.05) en comparación con el grupo control.

Efecto de la administración del agonista dopaminérgico D2, el quinpirol, en los parámetros estáticos y dinámicos de la marcha en la rata *taiep.*

La duración de la fase de soporte de las extremidades anteriores disminuyó significativamente tras la administración de quinpirol con la dosis de 0.25 mg/Kg en comparación con solución salina isotónica (kruskal Wallis, H=20.14, gl=3, P<0.001, seguido de la prueba de Dunn, q=3.9, **P<0.001). Por otra parte, con las dosis de 0.5 y 1 mg/Kg no se modificó este parámetro del patrón de la marcha (véase Figura 47). En contraste, con las dosis de 0.25 y 0.5 mg/Kg de quinpirol se aumentó la duración de la fase de soporte de las extremidades posteriores en comparación con el grupo control (kruskal Wallis, H=24.28, gl=3, P<0.001, seguido de la prueba de Dunn, $q_{0.25}$=2.93, $q_{0.5}$= 4.2, *P<0.05, ** P<0.001, respectivamente; véase Figura 47), pero no se obtuvieron cambios significativos con la dosis más alta (1 mg/Kg).

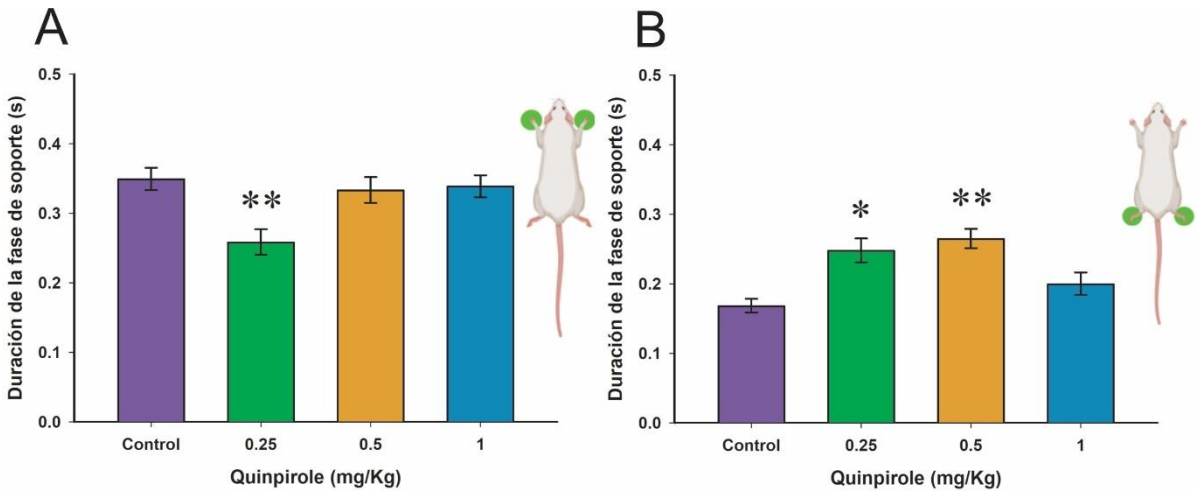


Figura 47. El quinpirol aumenta en la duración de la fase de soporte en las extremidades anteriores, y una disminución en la duración de las posteriores. **A)** La duración de la fase de soporte de las extremidades anteriores es menor tras la administración de quinpirol a la dosis de 0.25 mg/Kg en comparación con el grupo control (kruskal Wallis, $P<0.05$, seguido de la prueba de Dunn, $^{**}P<0.001$). **B)** La duración de la fase de soporte en las extremidades posteriores aumenta con la administración de quinpirol con las dosis de 0.25 y 0.5 mg/Kg (kruskal Wallis, $P<0.05$, seguido de la prueba de Dunn, $^{*}P<0.05$).

El tiempo que duran las patas anteriores para efectuar la fase de balanceo, disminuyó con el quinpirol con todas las dosis empleadas (kruskal Wallis, $H=33.8$, $gl=3$, $P<0.001$, seguido de la prueba de Dunn, $q_{0.25}=3.26$, $q_{0.5}=4.16$, $q_{1}=5.63$, $^{*}P<0.05$ $^{**}P<0.001$, respectivamente) en comparación con el grupo control (véase Figura 48). Con las dosis de 0.5 y 1 mg/Kg de quinpirol, se aumentó significativamente la duración de la fase de balanceo de las extremidades posteriores (kruskal Wallis, $H=25.84$, $gl=3$, $P<0.001$, seguido de la prueba de Dunn, $q_{0.5}=3.22$, $q_{1}=4.48$, $^{*}P<0.05$, $^{**}P<0.001$, respectivamente; véase Figura 48). El quinpirol no modificó la longitud de la zancada en las extremidades anteriores con ninguna de las dosis empleadas. Sin embargo, disminuyó significativamente la longitud de la zancada de las extremidades posteriores con el quinpirol a las dosis de 0.25 y 0.5 mg/Kg con respecto al grupo tratado con solución salina (kruskal Wallis, $H=19.03$, $gl=3$, $P<0.001$, seguido de la prueba de Dunn, $q_{0.25}=3.48$, $q_{0.5}=4.1$ $^{*}P<0.05$, $^{**}P<0.001$, respectivamente; véase Figura 49). Semejante a lo observado con el pramipexol, a la dosis más baja (0.25 mg/Kg) el quinpirol fue capaz de mejorar significativamente la coordinación de la marcha, en comparación con el grupo control (kruskal Wallis, $H=31.38$, $gl=3$, $P<0.001$, seguido de la prueba de Dunn, $q=5.24$, $^{*}P<0.05$; véase Figura 50).

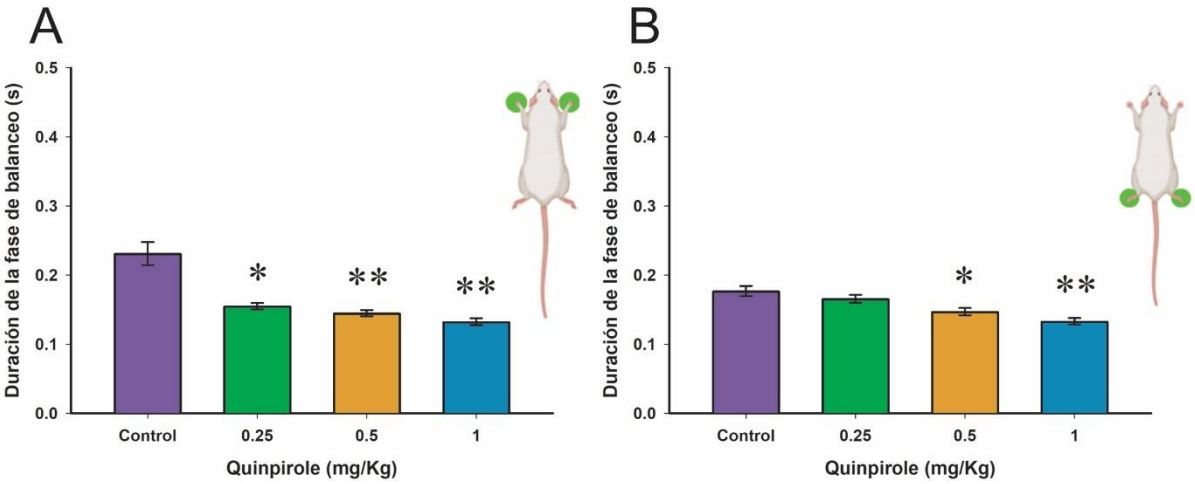


Figura 48. El quinpirol acelera la fase de balanceo en las ratas *taiep* machos de tres meses. **A)** La administración de quinpirol disminuye la duración de la fase de balanceo con todas las dosis empleadas en comparación al grupo control (kruskal Wallis, H=33.8, gl=3, P<0.05, seguido de la prueba de Dunn, *P<0.05, **P<0.001, respectivamente). **B)** La duración de la fase de balanceo disminuye significativamente tras la administración de quinpirol a las dosis de 0.5 y 1 mg/Kg en comparación del grupo tratado con solución salina isotónica (kruskal Wallis, H=25.84, gl=3, P<0.05, seguido de la prueba de Dunn, *P<0.05, **P<0.001, respectivamente).

Del mismo modo, a la dosis de 0.25 mg/Kg también incrementó significativamente la velocidad de la marcha al compararla con el grupo tratado con solución salina (kruskal Wallis, H=33.79, gl=3, P<0.001, seguido de la prueba de Dunn, q=3.12 *P<0.05; véase Figura 51). El número de pasos por minuto del patrón de la marcha disminuyó significativamente solo con la dosis de 0.5 mg/Kg de quinpirol (kruskal Wallis, H=12.34, gl=3, P<0.001, seguido de la prueba de Dunn, q=3.07 *P<0.05); mientras que las dosis baja y alta no modificaron este parámetro de la marcha con respecto a las ratas *taiep* tratadas con solución salina (véase Figura 52).

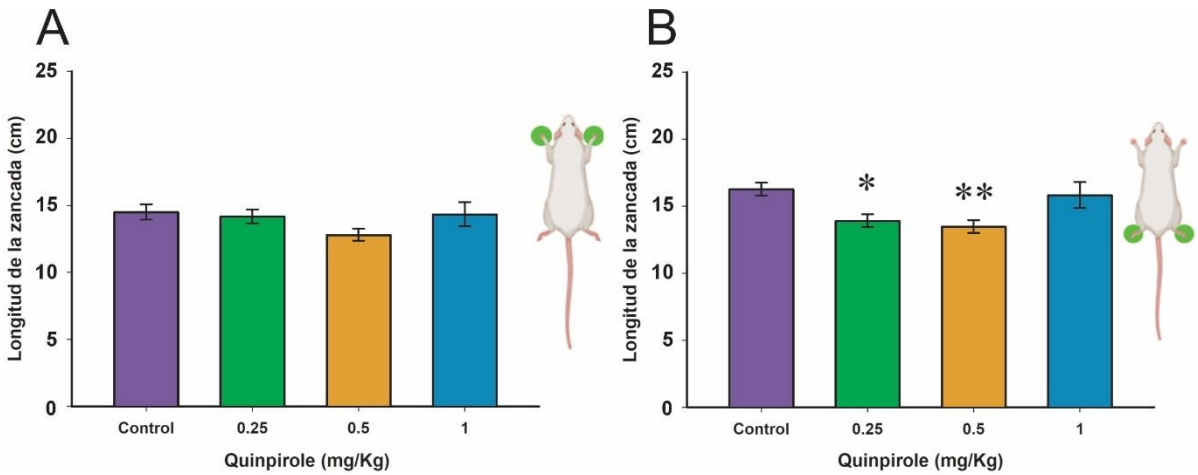


Figura 49. El quinpirol disminuye la longitud de zancada del tren inferior en la rata *taiep*. A) El quinpirol no modifica la longitud de la zancada en las extremidades anteriores con ninguna de las dosis empleadas. **B)** La longitud de la zancada es significativamente menor con las dosis de 0.25 y 0.5 mg/Kg de quinpirol en comparación con el grupo control (kruskal Wallis, H=19.03, gl=3, P<0.05, seguido de la prueba de Dunn, * P<0.05).

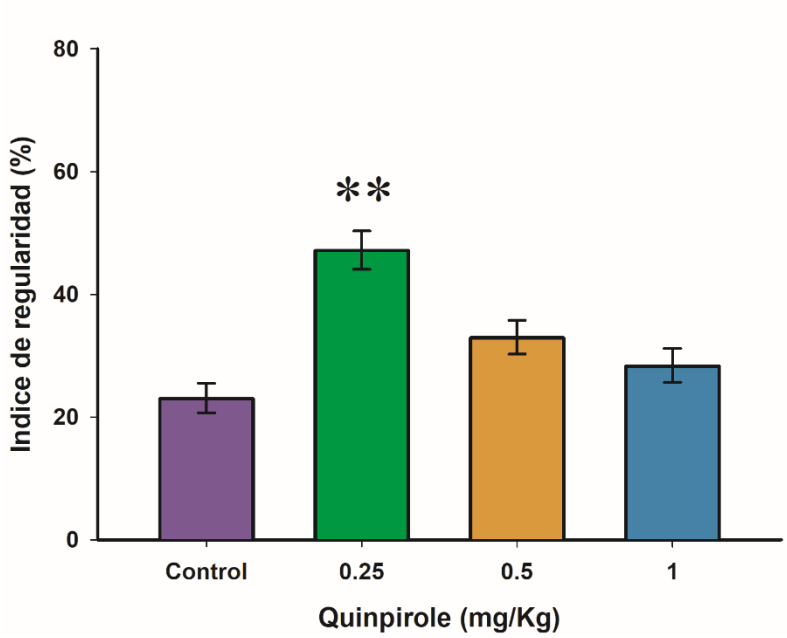


Figura 50. El quinpirol mejora la coordinación de la marcha en la rata *taiep*. A) El índice de regularidad en el patrón de la marcha de la rata *taiep* mejora con la administración del quinpirol a la dosis 0.25 mg/Kg en comparación con el grupo control (kruskal Wallis, P<0.05, seguido de la prueba de Dunn, ** P<0.001).

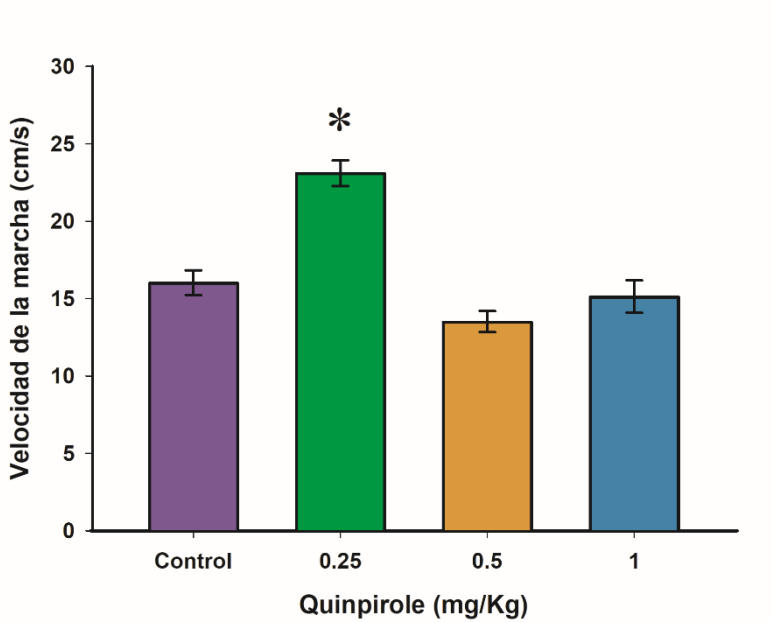


Figura 51. El quinpirol aumenta la velocidad de deambulación en la rata *taiep*. El quinpirol con la dosis de 0.25 mg/Kg aumenta la velocidad del patrón de la marcha en la rata *taiep* en comparación del grupo control (kruskal Wallis, P<0.05, seguido de la prueba de Dunn, *P<0.05).

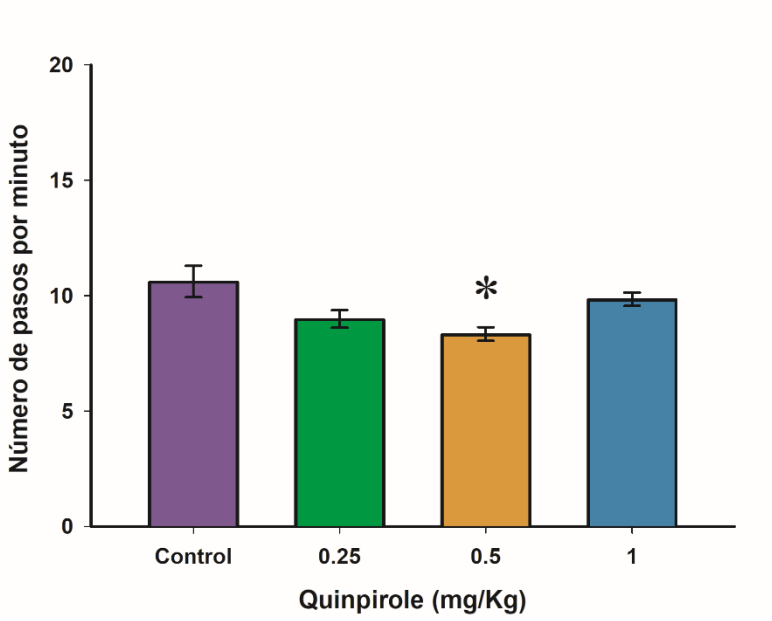


Figura 52. El quinpirol disminuye la cadencia de la marcha en la rata *taiep*. A) El número de pasos por minuto de la marcha disminuye tras la administración de quinpirol a la dosis de 0.5 mg/Kg en comparación con el grupo control (kruskal Wallis, P<0.05, seguido de la prueba de Dunn, *P<0.05). **B)** Ejemplo gráfico de la medición del número de pasos en un registro de la marcha mediante el sistema Catwalk™.

Resultados de los grupos administrados con acetato de leuprolida.

Todos los resultados experimentales que se reportan de las ratas tratadas con acetato de leuprolida son la media ± el error estándar de la media (E.E.M.) de cinco ratas *taiep* machos de tres meses de edad.

La duración de la fase de soporte de las extremidades anteriores de las ratas *taiep,* disminuyó con la dosis de acetato de leuprolida más baja (1.25 μg/Kg) en comparación con el grupo control (ANOVA, F =7.850, gl=4, P= 0.002, seguido de la prueba de Dunnet, q=2.74, *P=0.048, véase Figura 53 y Tabla 8). Sin embargo, alcanzó significancia estadística en el día tres de tratamiento con la dosis de acetato de leuprolida a 10 μg/Kg (ANOVA, $F_{(4,20)}$=1.67, gl=20, P=0.037, seguido de la prueba de Dunnet, q=2.99, *P=0.011), el mismo efecto se obtuvo con la dosis de 2.5 μg/Kg en el día seis de tratamiento (ANOVA, F=1.67, gl=80, P=0.037, seguido de la prueba de Dunnet, q=2.75 * P=0.021) y en el día siete de tratamiento (ANOVA MR, 1.67, gl=80, P= 0.037, seguido de la prueba de Dunnet, q=3.33, *P=0.004), y disminuyó con la dosis de 1.25 μg/Kg en el día doce de tratamiento (ANOVA, 1.67, gl=80, P=0.037, seguido de la prueba de Dunnet, q=2.95, *P=0.033) con respecto al grupo control (véase Figura 53).

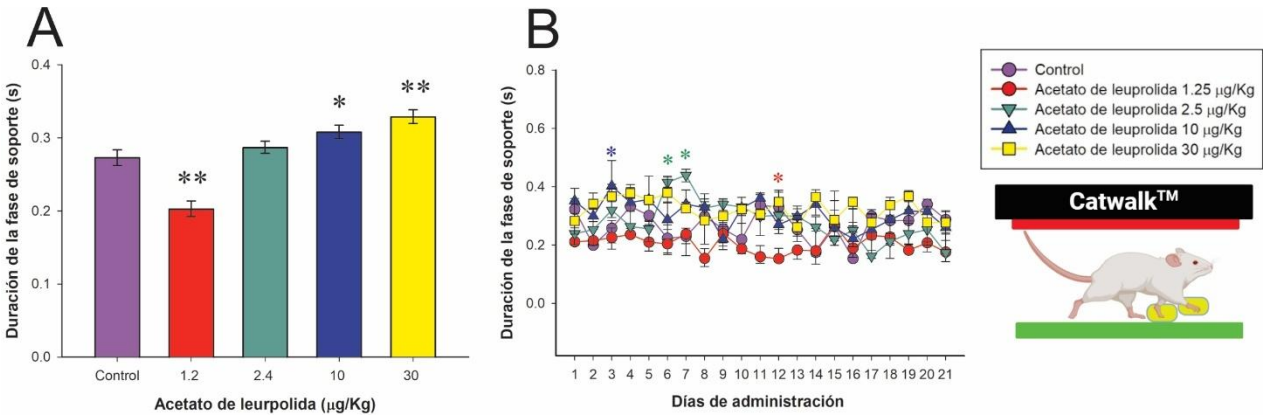


Figura 53. El acetato de leuprolida acelera la fase de soporte en las extremidades anteriores de la rata *taiep*. A) La duración de la fase de soporte de las extremidades anteriores se aumenta en el día tres con la administración de la dosis de 10 µg/Kg (ANOVA, P<0.05, seguido de la prueba de Dunnet, *P<0.05). **B)** Se muestran los dosis por día durante todo el tratamiento, la disminución de la duración de la fase de soporte en las extremidades posteriores se obtuvo en el día seis y siete con la dosis de 2.5 µg/Kg (ANOVA MR, P<0.05, seguido de la prueba de Dunnet, *P<0.05), pero disminuye en el día 12 con la dosis de 1.2 µg/Kg (ANOVA, P<0.05, seguido de la prueba de Dunnet, *P<0.05). A lo largo del tratamiento con acetato de leuprolida con la dosis 1.25 µg/Kg disminuye la duración de la fase de soporte en las extremidades anteriores (ANOVA, P<0.05, seguido de la prueba de Dunnet, *P<0.05).

Tabla 8. Análisis estadístico de la duración de la fase de soporte de las extremidades anteriores con la administración crónica de acetato de leuprolida en la rata *taiep.*

Prueba estadistica		Control	1.2 µg/Kg	2.4 µg/Kg	10 µg/Kg	30 µg/Kg
Estadística descriptiva	Media	0.273	0.203	0.287	0.308	0.329
	EEM	0.0107	0.0107	0.0083	0.00928	0.00928
ANOVA MR	Tratamiento	F= 21.968; P<0.001				
	Día	F=1.523; P=0.072				
	Tratamiento por día	F= 0.943; P=0.615				
pos hoc de Dunnett	Dif. Vs control	-	0.07	0.0558	0.0346	0.0138
	q'	-	4.614	3.932	2.441	1.018
	Valor de P	-	<0.001	<0.001	0.05	0.676

Se muestra la estadística descriptiva seguida del *pos hoc* de Dunnett para la duración de la fase de soporte de las extremidades anteriores de la rata *taiep* tratada con diferentes dosis de acetato de leuprolida por 21 días. EEM: error estándar de la media; ANOVA MR: análisis de varianza de medidas repetidas.

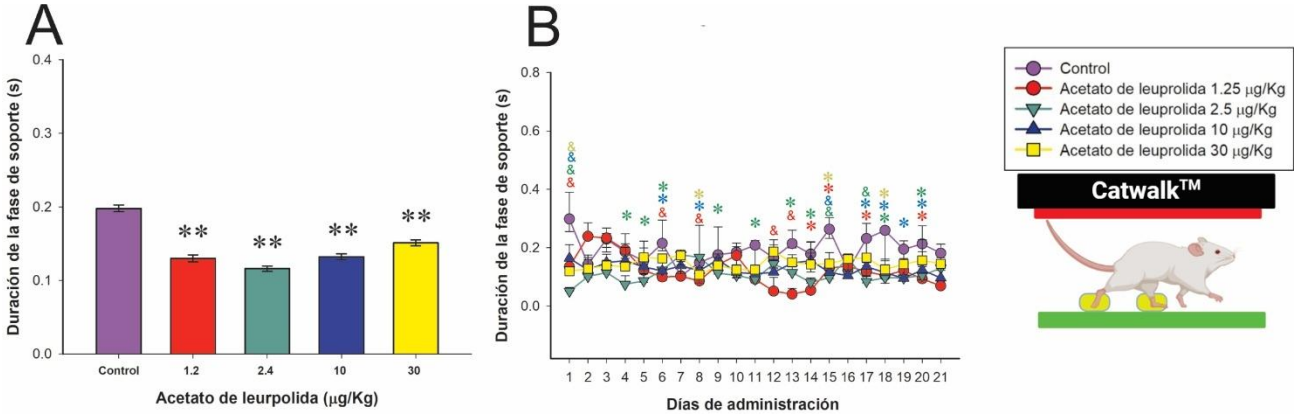


Figura 54. El acetato de leuprolida mejora la fase de soporte de las extremidades posteriores en la rata *taiep*. A) Se muestra el efecto del tratamiento, la duración de la fase de soporte de las extremidades posteriores disminuye con la administración de acetato de leuprolida en todas las dosis empleadas (ANOVA MR, P<0.05, seguido de la prueba de Dunnet, * P<0.05, & P<0.001, respectivamente) en comparación del grupo control. **B)** Se muestra el efecto por día de administración durante todo el tratamiento, note que desde el primer día de administración disminuye la duración de la fase de soporte de las extremidades posteriores.

Tabla 9. Análisis estadístico de la duración de la fase de soporte de las extremidades posteriores con la administración crónica de acetato de leuprolida en la rata *taiep.*

Prueba estadistica		Control	1.2 µg/Kg	2.4 µg/Kg	10 µg/Kg	30 µg/Kg
Estadística descriptiva	Media	0.198	0.13	0.116	0.132	0.151
	EEM	0.00468	0.00474	0.00363	0.00406	0.00403
ANOVA MR	Tratamiento	F= 53.630; P<0.001				
	Día	F=1.805; P=0.020				
	Tratamiento por día	F= 2.681; P<0.001				

***pos hoc* de Dunnett**	**Dif. Vs control**	-	0.0682	0.0826	0.0667	0.0474
	q'	-	10.211	13.917	10.763	7.65
	Valor de P	-	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

Se muestra la estadística descriptiva seguida del *pos hoc* de Dunnett para la duración de la fase de soporte de las extremidades posteriores de la rata *taiep* tratada con diferentes dosis de acetato de leuprolida por 21 días. EEM: error estándar de la media; ANOVA MR: análisis de varianza de medidas repetidas.

La duración de la fase de soporte de las extremidades posteriores disminuyó significativamente con la administración de acetato de leuprolida con todas las dosis empleadas (ANOVA, F=53.63, gl=4, P<0.001, seguido de la prueba de Dunnet, $q_{1.25}$=10.21, $q_{2.5}$=13.91, q_{10}=10.76, q_{30}=7.65, **P<0.001, véase Tabla 9) en comparación con el grupo control. Cuando se analizaron todas las dosis de acetato de leuprolida con respecto al grupo control durante cada día de tratamiento, en el día uno todas las dosis disminuyeron la duración de la fase de soporte (ANOVA, F=1.8, gl=80, P= 0.020, seguido de la prueba de Dunnet, $q_{1.25}$=4.46, $q_{2.5}$=8.24, q_{10}=4.19, q_{30}=6.48, *P<0.05, & P<0.001, respectivamente). En el segundo día se disminuyó con la dosis más baja (q=3.49, *P<0.05), también en el día tres (q=3.1, *P<0.05). En el día cuatro disminuyó con la dosis de 2.5 μg/Kg (q=2.82, *P<0.05) así como en el día 5 (q=2.58, *P<0.05). En el día seis de tratamiento disminuyó con las dosis de 1.25 (q=4.13, *P<0.05), 2.5 (q=3.67, *P<0.05) y 10 μg/Kg (q=3.27, *P<0.05), en el día ocho disminuyó significativamente con las dosis de 1.25 μg/Kg (q=3.46, *P<0.05), con 10 μg/Kg (q=2.54, *P<0.05) y 30 μg/Kg (q=3.23, *P<0.05). En el día nueve se disminuyó solo con la dosis de 2.5 μg/Kg (q=2.47, *P<0.05) así como en el día 11 (q=2.58, *P<0.05). En el día doce disminuyó significativamente con la dosis más baja de 1.25 μg/Kg (q=4.43, &P<0.001), en el día trece con las dosis de 1.2 μg/Kg (q=4.78, &P<0.001) y 2.5 μg/Kg (q=0.28, *P<0.05). En el día catorce también con las dosis de 1.2 (q=2.86, *P<0.05) y con 2.5 μg/Kg (q=2.92, *P<0.05); en el día quince con las dosis de 1.25 (q=3.17, *P<0.05), 2.5 (q=4.97, &P<0.001), 10 (q=4.54, &P<0.001) y 30 μg/Kg (q=3.12, *P<0.05); en el día diecisiete disminuyó con las dosis de 1.25 (q=3.32,

* P<0.05), 2.25 (q=4.05, & P<0.001) y 10 μg/Kg (q=2.89, *P<0.05); en el día dieciocho disminuyó con las dosis de 2.5 (q=3.38, *P<0.05) y 30 μg/Kg (q=2.51, *P<0.05); en el día diecinueve disminuyó sólo con la dosis de 10 μg/Kg (q=2.46, * P<0.05); en el día veinte se disminuyó con las dosis de 1.25 (q=3.57, *P<0.05), 2.5 (q=3.49, *P<0.05), 10 μg/Kg (q=3.14, *P<0.05) respecto del grupo control (véase Figura 54).

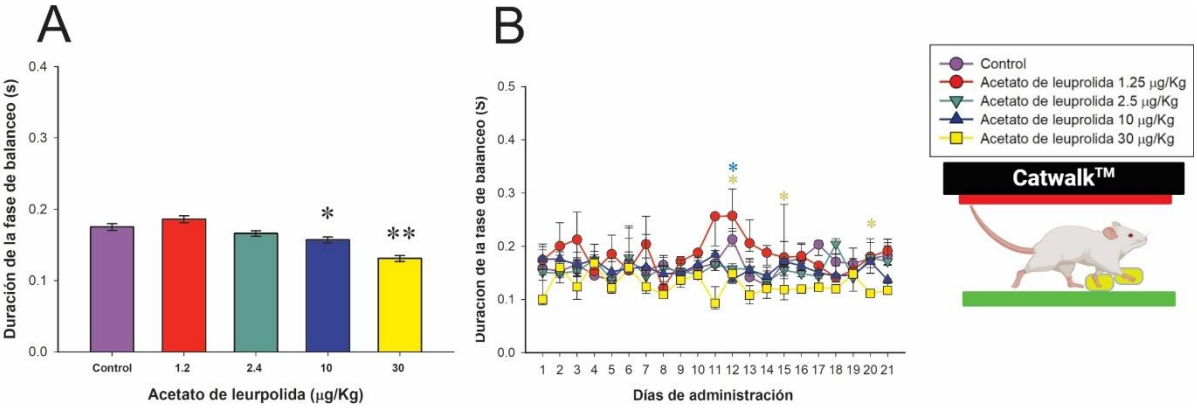


Figura 55. El acetato de leuprolida disminuye la fase de balanceo en las extremidades anteriores en la rata *taiep*. A) se muestra el efecto total del tratamiento, la duración de la fase de balanceo durante el patrón d la marcha disminuye con la administración de acetato de leuprolida a 10 μg/Kg (ANOVA, P<0.05, seguido de la prueba de Dunnet, *P<0.05) y a la dosis de 30 μg/Kg (ANOVA MR, P<0.05, seguido de la prueba de Dunnet, **P<0.001) en comparación del grupo control. **B)** Se muestra el tratamiento de la administración de acetato de leuprolida en la rata *taiep* macho de tres meses de edad.

Tabla 10. Análisis estadístico de la duración de la fase de balanceo de las extremidades anteriores con la administración crónica de acetato de leuprolida en la rata *taiep.*

Prueba estadistica		Control	1.2 μg/Kg	2.4 μg/Kg	10 μg/Kg	30 μg/Kg
Estadística descriptiva	Media	0.175	0.186	0.166	0.157	0.131
	EEM	0.0048	0.0048	0.00372	0.00416	0.00418
ANOVA MR	Tratamiento	F= 22.882; P<0.001				
	Día	F=1.279; P=0.192				
	Tratamiento por día	F= 1.80; P=0.321				

***pos hoc* de Dunnett**	**Dif. Vs control**	-	0.0114	0.0093	0.0178	0.0441
	q'	-	1.675	1.529	2.81	6.951
	Valor de P	-	0.299	0.369	0.043	<0.001

Se muestra la estadística descriptiva seguida del *pos hoc* de Dunnett para la duración de la fase de balanceo de las extremidades anteriores de la rata *taiep* tratada con diferentes dosis de acetato de leuprolida por 21 días. EEM: error estándar de la media; ANOVA MR: análisis de varianza de medidas repetidas.

La fase de balanceo de las extremidades anteriores disminuyó con la administración de acetato de leuprolida a las dosis de 10 y 30 μg/Kg (ANOVA MR, F=22.88, gl=4, P<0.001, seguido de la prueba de Dunnet, q_{10}=10.76, q_{30}=7.65, *P<0.05, **P<0.001, respectivamente) respecto al grupo control. Cuando se analizaron todas las dosis de acetato de leuprolida con respecto al grupo control durante cada día de tratamiento, la duración de la fase de balanceo de las extremidades anteriores disminuyó en día doce con las dosis de 10 μg/Kg (ANOVA MR, F=1.27, gl=80, P= 0.020, seguido de la prueba de Dunnet, q=2.62, *P<0.05) y con 30 μg/Kg (q=2.6, *P<0.05), en el día 15 también disminuyó, pero solo con la dosis de 30 μg/Kg (q=3.41, *P<0.05); en el día 20 también disminuyó con la dosis de 30 μg/Kg (q=2.48, *P<0.05) en comparación con el grupo control (véase Figura 55 y tabla 10).

La duración de la fase de balanceo de las extremidades posteriores de las ratas *taiep* macho*,* aumentó con la administración de acetato de leuprolida con la dosis de 1.25 μg/Kg empleadas (ANOVA MR, F=16.77, gl=4, P=0.004, seguido de la prueba de Dunnet, q =4.11, *P<0.05; véase Tabla 11) en comparación con el grupo control. Cuando se analizó la administración de acetato de leuprolida en cada día del tratamiento, el análisis estadístico mostró que en el día dos, la dosis de 1.25 μg/Kg aumentó la duración de la fase de balanceo de las extremidades posteriores (ANOVA MR, F=1.53, gl=80, P= 0.006, seguido de la prueba de Dunnet, q=2.93, *P<0.05); en el día tres aumentó con la dosis de 30 μg/Kg (q=2.45, *P<0.05); en el día ocho aumentó con la dosis de 1.25 μg/Kg (q=2.67, *P<0.05); en el día nueve también

aumentó pero con la dosis más alta (30 μg/Kg; q=2.79, *P<0.05), al igual que en el día 12 (q=2.44, *P<0.05) y en el día 12 la duración de este parámetro dinámico del patrón de la marcha también se incrementó, pero con la dosis más baja (1.25 μg/Kg; q=2.53, *P<0.05), con las demás dosis probadas no se obtuvieron resultados significativos durante los 21 días de tratamiento con respecto a las ratas del grupo control (véase Figura 56).

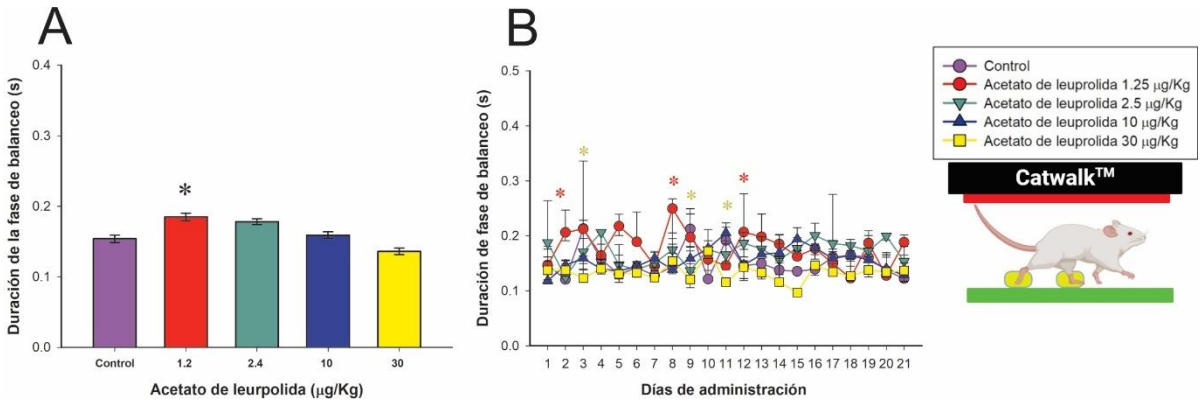


Figura 56. El acetato de leuprolida aumenta la duración de la fase de balanceo en las extremidades posteriores de la rata *taiep*. A) Se muestra el efecto total del tratamiento, la administración de acetato de leuprolida aumenta significativamente la duración de la fase de balanceo con la dosis de 1.25 μg/Kg en comparación con el grupo control (ANOVA, P<0.05, seguido de la prueba de Dunnet, *P<0.05). **B)** Se muestra el efecto del tratamiento de acetato de leuprolida en cada día de tratamiento, la dosis de 1.25 μg/Kg aumenta la duración de la fase de balanceo los días 3 (q=2.7, *P<0.05), 8 (q=2.67, *P<0.05) y 12 (q=2.44, *P<0.05) con respecto al grupo control.

Tabla 11. Análisis estadístico de la duración de la fase de balanceo de las extremidades posteriores con la administración crónica de acetato de leuprolida en la rata *taiep*.

Prueba estadistica		Control	1.2 mg/Kg	2.4 mg/Kg	10 mg/Kg	30 mg/Kg
Estadística descriptiva	Media	0.154	0.185	0.178	0.159	0.136
	EEM	0.00536	0.00536	0.00415	0.00464	0.00424
ANOVA MR	Tratamiento	F= 16.774; P<0.001				
	Día	F=0.89; P=0.601				

	Tratamiento por día	F= 1.538; P=0.006				
***pos hoc* de Dunnett**	**Dif. Vs control**	-	0.0313	0.024	0.00483	0.0177
	q'	-	4.11	3.539	0.682	2.498
	Valor de P	-	0.004	0.011	0.076	0.885

Se muestra la estadística descriptiva seguida del *pos hoc* de Dunnett para la duración de la fase de balanceo de las extremidades posteriores de la rata *taiep* tratada con diferentes dosis de acetato de leuprolida por 21 días. EEM: error estándar de la media; ANOVA MR: análisis de varianza de medidas repetidas.

La longitud de la zancada de las extremidades anteriores no se modificó con ninguna de las dosis empleadas de acetato de leuprolida (véase Figura 57). Sin embargo, la longitud de la zancada de las extremidades posteriores aumentó con la administración sistémica de acetato de leuprolida con todas las dosis empleadas (ANOVA, F=11.58, gl=4, P<0.001, seguido de la prueba de Dunnet, $q_{1.25}$=3.37, $q_{2.5}$=4.99, q_{10}=4.63, q_{30}=6.6, * P<0.05 &P<0.001, respectivamente; véase Tabla 12). Cuando se analizaron las dosis de acetato de leuprolida en cada día del tratamiento, el estudio estadístico mostró un incremento significativo en la longitud de la zancada de las patas traseras, desde el primer día con la dosis de 2.5 μg/Kg (ANOVA MR, F=1.48, gl=80, P= 0.024, seguido de la prueba de Dunnet, q=2.55, *P<0.05); en el segundo día decrementó la duración de la fase de balanceo con la dosis de 1.25 μg/Kg (q=3.16, *P<0.05); en el tercer día también aumentó, pero con las dosis de 10 μg/Kg (q=2.7, *P<0.05) y 30 μg/Kg (q=2.98, *P<0.05); en el décimo día se obtuvo un aumento con la dosis de 30 μg/Kg (q=3.02, *P<0.05); en el día 14 aumentó también con la dosis de 30 μg/Kg (q=3.67, &P<0.001), así como en el día 16 de tratamiento con el agonista de larga duración para los receptores para la gonadotropina (q=2.65, *P<0.05) así como en el día 21 se mostró un aumento con la dosis de 2.5 μg/Kg (q=5.07, &P<0.001); El resto de días de la prueba en el patrón de la marcha, no se modificó significativamente con la administración sistémica del acetato de leuprolida (véase Figura 58).

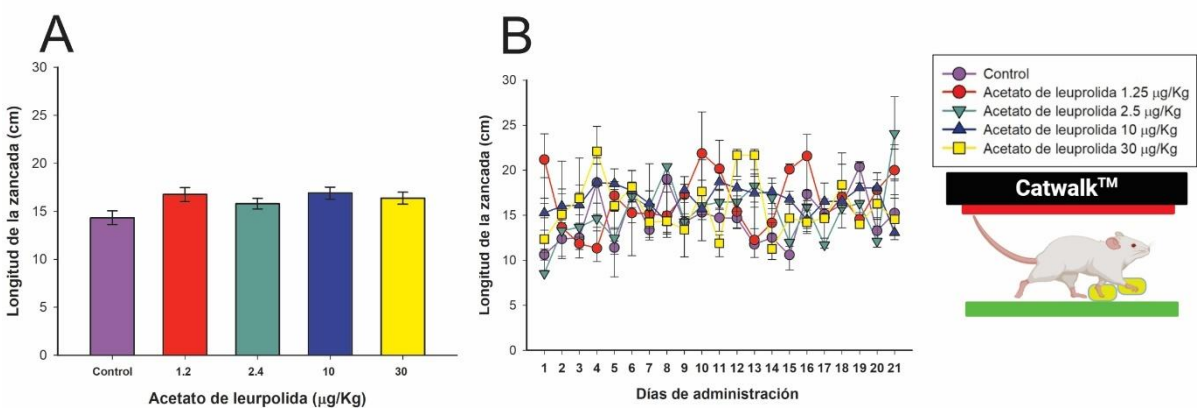


Figura 57. El acetato de leuprolida no modifica la distancia del paso de las patas delanteras en la rata *taiep*. La longitud de la zancada en las extremidades anteriores no se modifica con la administración de leuprolida con ninguna de las dosis.

Tabla 12. Análisis estadístico de la longitud de la zancada de las extremidades anteriores con la administración crónica de acetato de leuprolida en la rata *taiep*.

Prueba estadistica		Control	1.2 µg/Kg	2.4 µg/Kg	10 µg/Kg	30 µg/Kg
Estadística descriptiva	Media	1.433	1.675	1.58	1.69	1.637
	EEM	0.0721	0.0721	0.0558	0.0668	0.0624
ANOVA MR	Tratamiento	F= 2.238; P=0.117				
	Día	F=1.384; P=0.129				
	Tratamiento por día	F= 1.569; P=0.004				
pos hoc de Dunnett	Dif. Vs control	-	0.242	0.147	0.257	0.204
	q'	-	2.365	1.609	2.697	2.135
	Valor de P	-	0.096	0.329	0.053	0.143

Se muestra la estadística descriptiva seguida del *pos hoc* de Dunnett para la longitud de la zancada de las extremidades anteriores de la rata *taiep* tratada con diferentes dosis de acetato de leuprolida por 21 días. EEM: error estándar de la media; ANOVA MR: análisis de varianza de medidas repetidas.

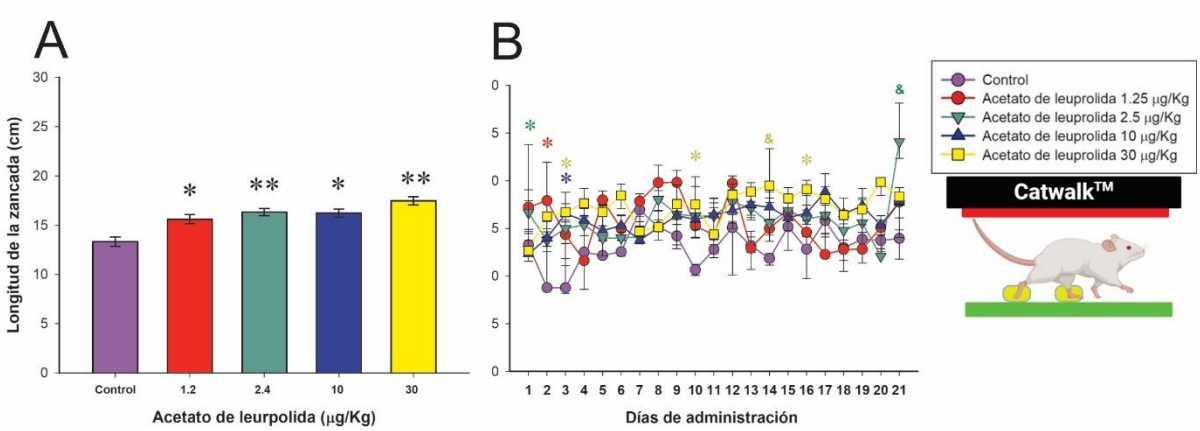


Figura 58. El acetato de leuprolida aumenta la distancia de cada paso en las patas traseras de la rata *taiep*. A) La longitud de la zancada de las extremidades posteriores aumenta con la todas las dosis de acetato de leuprolida durante el tratamiento de 21 días en comparación al grupo control (ANOVA, P<0.05, seguido de la prueba de Dunnet, *P<0.05, **P<0.001, respectivamente). **B)** Evolución de la longitud de la zancada a lo largo de 21 días de tratamiento. La gráfica de líneas evidencia una tendencia dosis-dependiente a lo largo del tiempo, siendo notable el efecto a partir del día 7. La interacción entre dosis y tiempo no fue estadísticamente significativa (F=1.48, P=0.086).

Tabla 13. Análisis estadístico de la longitud de la zancada de las extremidades posteriores con la administración crónica de acetato de leuprolida en la rata *taiep*.

Prueba estadistica		Control	1.2 µg/Kg	2.4 µg/Kg	10 µg/Kg	30 µg/Kg
Estadística descriptiva	Media	1.332	1.56	1.632	1.623	1.747
	EEM	0.0474	0.0474	0.0367	0.0411	0.0411
ANOVA MR	Tratamiento	F= 11.587; P<0.001				
	Día	F=1.485; P=0.086				
	Tratamiento por día	F= 1.405; P=0.024				
pos hoc de Dunnett	Dif. Vs control	-	0.227	0.3	0.29	0.414
	q'	-	3.375	4.99	4.631	6.604
	Valor de P	-	0.015	<0.001	0.001	<0.001

Se muestra la estadística descriptiva seguida del *pos hoc* de Dunnett para la longitud de la zancada de las extremidades posteriores de la rata *taiep* tratada con diferentes dosis de acetato de leuprolida durante 21 días. EEM: error estándar de la media; ANOVA MR: análisis de varianza de medidas repetidas.

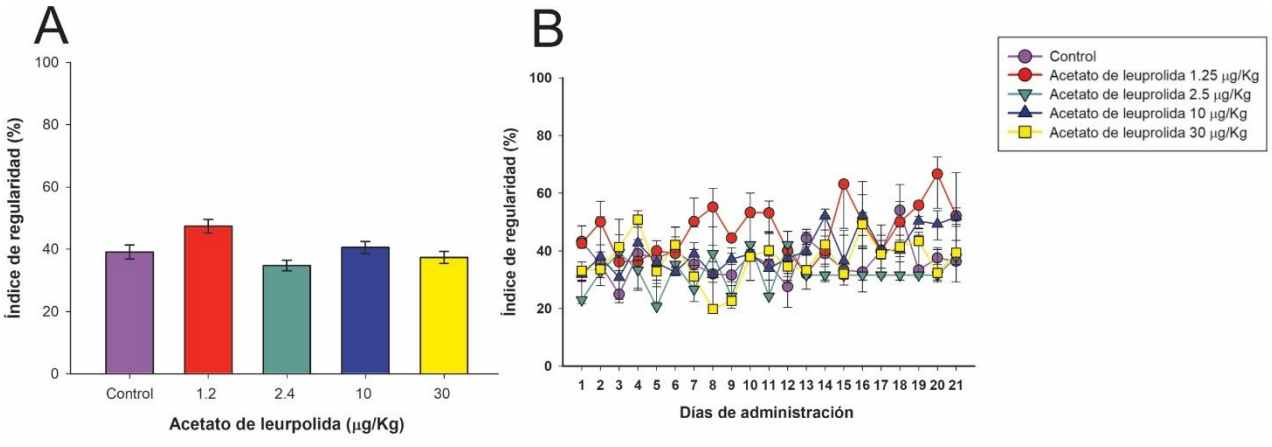


Figura 59. El acetato de leuprolida no modifica la coordinación de la marcha en la rata *taiep*. El índice de regularidad no se modifica con la administración de todas las dosis de acetato de leuprolida, un agonista de larga duración de los receptores de la hormona liberadora de gonadotropinas.

Tabla 14. Análisis estadístico de la coordinación en el patrón de la marcha con la administración crónica de acetato de leuprolida en la rata *taiep.*

Prueba estadistica		Control	1.2 µg/Kg	2.4 µg/Kg	10 µg/Kg	30 µg/Kg
Estadística descriptiva	Media	39.106	47.39	34.776	40.558	37.344
	EEM	2.233	2.233	1.729	1.934	1.934
ANOVA MR	Tratamiento	F= 5.354; P=0.008				
	Día	F=2.091; P=0.005				
	Tratamiento por día	F= 1.0.61; P=0.358				
pos hoc de Dunnett	Dif. Vs control	-	8.284	4.33	1.452	1.762
	q'	-	2.613	1.531	0.492	0.597
	Valor de P	-	0.061	0.368	0.923	0.959

Se muestra la estadística descriptiva seguida del *pos hoc* de Dunnett para la coordinación del patrón de la marcha en la rata *taiep* macho adulta, tratada con diferentes dosis de acetato de leuprolida durante 21 días. EEM: error estándar de la media; ANOVA MR: análisis de varianza de medidas repetidas.

La coordinación del patrón de la marcha no se modificó con la administración de acetado de leuprolida con ninguna de las dosis probadas a lo largo del tratamiento de 21 días (véase Figura 59). Sin embargo, la administración de acetato de leuprolida con las dosis de 1.25 y de 10 μg/Kg fueron capaces de aumentar la velocidad del patrón de la marcha (ANOVA, F=25.2, gl=4, P<0.001, seguido de la prueba de Dunnet, $q_{1.25}$=4.97, q_{10}=3.15, *P<0.05, &P<0.001, respectivamente; Véase Tabla 13) con respecto al grupo control. Cuando se analizaron las dosis de acetato de leuprolida en cada día del tratamiento, se obtuvo un aumento en la velocidad del patrón de la marcha con la dosis de 1.5 μg/Kg en el día 12 de tratamiento (ANOVA, F=1.3, gl=80, P=0.04, seguido de la prueba de Dunnet, q=2.83, *P<0.05); en el día 17 también incrementó, pero con la dosis de 10 μg/Kg (q=3.14, *P<0.05), de igual manera en día 18 de tratamiento (q=2.41, * P<0.05); en el día 19 se obtuvo un incremento con las dosis de 1.25 μg/Kg (q=2.62, *P<0.05) y 10 μg/Kg (q=2.71, *P<0.05) y en el día veinte se reportó un aumento con la dosis de 10 μg/Kg (q=2.6, *P<0.05). Los demás días del tratamiento no se obtuvieron cambios con la administración de acetato de leuprolida (véase Figura 60).

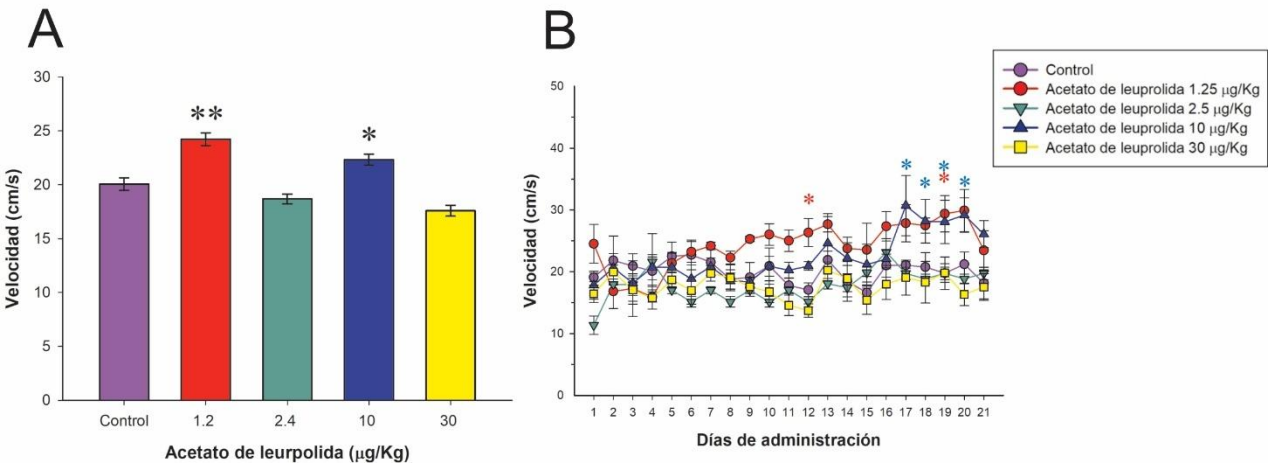


Figura 60. El acetato de leuprolida aumenta la velocidad del patrón de la marcha en la rata *taiep*. A) La velocidad del patrón de la marcha aumenta con la administración de acetato de leuprolida con las dosis de 1.25 μg/Kg y 10 μg/Kg (ANOVA, P<0.05, seguido de la prueba de Dunnet, &P<0.001) y 10 μg/Kg (ANOVA MR, P<0.05, seguido de la prueba de Dunnet, *P<0.05) en comparación del grupo control. **B)** Gráfico de líneas que muestra la evolución temporal de la velocidad (cm/s) durante 21 días de tratamiento en los mismos grupos de dosis (Control, 1.25, 2.5, 10 y 30 μg/Kg). Se evidencia una tendencia dosis-dependiente a lo largo del tiempo; en particular, el grupo tratado con 1.25 μg/Kg presenta los valores más altos en los primeros días (F=1.29, P=0.064).

Tabla 15. Análisis estadístico de la velocidad en el patrón de la marcha con la administración crónica de acetato de leuprolida en la rata *taiep.*

Prueba estadistica		Control	1.2 μg/Kg	2.4 μg/Kg	10 μg/Kg	30 μg/Kg
Estadística descriptiva	Media	20.06	24.23	18.68	22.33	17.6
	EEM	0.59	0.059	0.457	0.535	0.511
ANOVA MR	Tratamiento	F= 25.202; P<0.001				
	Día	F=3.872; P<0.001				
	Tratamiento por día	F= 1.299; P=0.064				
pos hoc de Dunnett	Dif. Vs control	-	0.417	0.139	0.227	0.246
	q'	-	4.973	1.857	2.905	3.152
	Valor de P	-	<0.001	0.226	0.036	0.022

Se muestra la estadística descriptiva seguida del *pos hoc* de Dunnett para la velocidad del patrón de la marcha en la rata *taiep* macho adulta, tratada con diferentes dosis de acetato de leuprolida durante 21 días. EEM: error estándar de la media; ANOVA MR: análisis de varianza de medidas repetidas.

El número de pasos por minuto del patrón de la marcha de la rata *taiep* macho adulta, incrementó significativamente al cuando se administró acetato de leuprolida a la dosis más baja (1.5 μg/Kg) y con la más alta (30 μg/Kg) en comparación con el grupo control (ANOVA, F=9.24, gl=4, P<0.001, seguido de la prueba de Dunnet, $q_{1.25}$=4.9, q_{30}=4.37, *P<0.05, &P<0.001, respectivamente; véase Tabla 14). La administración de acetato de leuprolida a la dosis de 1.25 μg/Kg incrementó la cadencia del patrón de la marcha en el día diez (ANOVA, F=1.79, gl=80, P<0.001, seguido de la prueba de Dunnet, q=2.53,

*P<0.05; véase Tabla 15); en el día 11 se incrementó con las dosis de 1.25 μg/Kg (q=3.9, *P<0.05) y 30 μg/Kg (q=3.6, *P<0.05); en el día 14 también incrementó con la dosis de 1.25 μg/Kg (q=2.87, *P<0.05), así como en el día 17 del tratamiento (q=3.44, *P<0.05); en el día 19 incrementó con las dosis de 1.25 (q=3.01, *P<0.05) y 30 μg/Kg (q=2.47, *P<0.05), así como en el último día de tratamiento se obtuvo un aumento del número de pasos por minuto con la dosis de 1.25 μg/Kg (q=2.503, *P<0.05) en comparación con el grupo control (véase Figura 61).

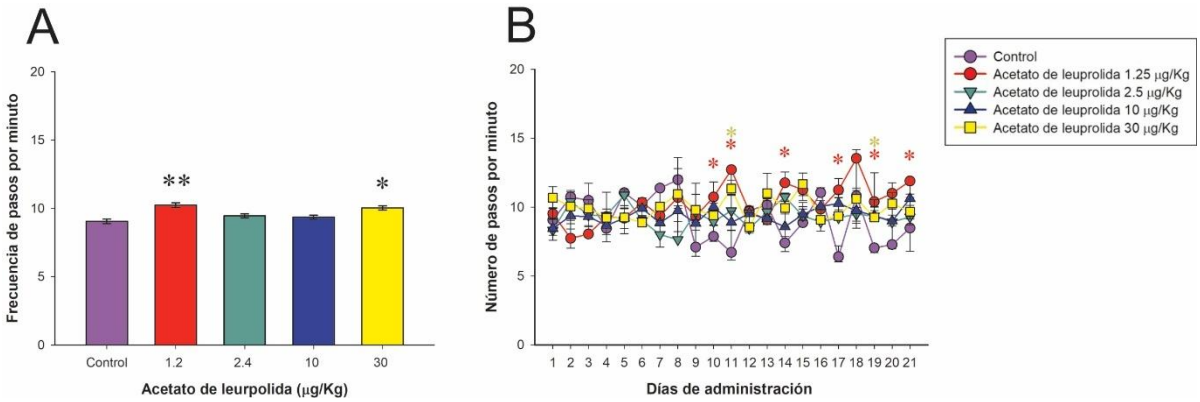


Figura 61. El acetato de leuprolida aumenta la cadencia del patrón de la marcha en la rata *taiep*. A) El número de pasos por minuto aumenta con la administración de acetato de leuprolida con las dosis de 1.25 μg/Kg (ANOVA MR, P<0.05, seguido de la prueba de Dunnet, &P<0.001) y 30 μg/Kg (ANOVA MR, P<0.05, seguido de la prueba de Dunnet, *P<0.05) en comparación del grupo control. **B)** Gráfico de líneas que ilustra la evolución temporal del número de pasos por minuto a lo largo de 21 días de tratamiento, en el grupo control y en aquellos tratados con 1.25, 2.5, 10 y 30 μg/Kg de acetato de leuprolida. El análisis de medidas repetidas demostró una interacción dosis-tiempo significativa ($F(80, 440) = 2.12$, $p = 0.002$). En particular, el grupo tratado con 1.25 μg/Kg mostró valores significativamente mayores en días específicos (por ejemplo, días 7, 14 y 21) en comparación con el control (*$p < 0.05$, **$p < 0.01$).

Tabla 16. Análisis estadístico de la cadencia en el patrón de la marcha con la administración crónica de acetato de leuprolida en la rata *taiep.*

Prueba estadistica		Control	1.2 μg/Kg	2.4 μg/Kg	10 μg/Kg	30 μg/Kg
	Media	39.106	47.39	34.776	40.558	37.344

Estadística descriptiva	**EEM**	2.233	2.233	1.729	1.934	1.934
ANOVA MR	**Tratamiento**	F= 5.354; P=0.008				
	Día	F=2.091; P=0.005				
	Tratamiento por día	F= 1.0.61; P=0.358				
***pos hoc* de Dunnett**	**Dif. Vs control**	-	8.284	4.33	1.452	1.762
	q'	-	2.613	1.531	0.492	0.597
	Valor de P	-	0.061	0.368	0.923	0.959

Se muestra la estadística descriptiva seguida del *pos hoc* de Dunnett para la cadencia del patrón de la marcha en la rata *taiep* macho adulta, tratada con diferentes dosis de acetato de leuprolida durante 21 días. EEM: error estándar de la media; ANOVA MR: análisis de varianza de medidas repetidas

Discusión.

Los hallazgos en los últimos años empleando estudios por imágenes cerebrales empleando resonancia magnética, han mostrado que la tubulinopatía denominada TUBB4A presenta un espectro fenotípico que va desde la hipomielinización aislada, hasta una hipomielinización con atrofia de los ganglios basales y el cerebelo (H-ABC, de sus siglas en inglés; van der Knaap y cols., 2017). Con las nuevas técnicas de secuenciación del exoma y del genoma, se ha reportado que la variante p.Asp249Asn es la responsable del mayor número de casos de la leucodistrofia H-ABC (Simons y cols., 2016). Un estudio de cohorte retrospectivo caracterizó a 54 individuos con confirmación clínica y molecular relacionada con una mutación en el gen TUBB4A, trece de ellos con la variante p.Asp249Asn, la cual se caracteriza por un inicio tardío en la infancia, con adquisición de hitos tempranos seguidos de una regresión neurológica progresiva (Gavazzi y cols., 2021). Dentro de los hallazgos neurológicos progresivos más comunes se encuentran: la disfonía, la espasticidad, la distonía, la presencia de crisis oculógiras, la discinesia, la ataxia, el temblor, la dismetría (Norah y cols., 2016). Sin embargo, todos los pacientes expresan al menos un trastorno del movimiento que, al ser progresivo, afecta de manera directa sus conductas motoras, que son fundamentales para la realización de las actividades de la vida diaria, entre las que destacan se encuentra la disfunción en la marcha (Norah y cols., 2016; van der Knaap y cols., 2019).

Recientemente, con experimentos *in vitro* que involucran a la variante ligada a la leucodistrofia H-ABC (p.Asp249Asn) mostraron las modificaciones en la morfología tanto de las células neuronales, como de los oligodendrocitos destacando las alteraciones en la estructura de las células de Purkinje, la disminución del número de neuronas dentro del cuerpo estriado, una reducción en la población de oligodendrocitos, y la astrocitosis reactiva en estudios de neuropatología en sujetos con H-ABC (Curiel y cols., 2017). Por otro lado, se ha reportado que todas las mutaciones que exhiben un fenotipo hipomielinizante (que abarca la leucodistrofia H-ABC), hasta una hipomielinización simple, presentan una alteración en la dinámica

de los microtúbulos (Simons y cols., 2016). En cuanto a las variantes más recientes p.Asp249Asn y p.Asn414Lys, se ha reportado una elevación en la tasa de polimerización, que puede llevar a una acumulación de microtúbulos dentro de oligodendrocitos (Curiel y cols., 2017). Adicionalmente, hallazgos concurrentes de autopsias de cerebros humanos que tienen la variante p.Asn414Lys, aumentan la presencia de una acumulación de microtúbulos en los oligodendrogliomas (Duncan y cols., 2017). Si bien la función específica de la tubulina β 4a en el proceso de mielinización aún está por dilucidarse, en este manuscrito de tesis se expuso que los microtúbulos son de importancia crítica para el transporte efectivo de las proteínas de la mielina como lo es la proteína proteolipídica (PLP) y la proteína básica de la mielina (PBM), las cuales son vitales para el desarrollo y el mantenimiento de la mielina (Smith y cols., 2013).

Recientemente, nuestro equipo de investigación reportó que la rata *taiep* tiene una mutación en el exón 4B del gen tubb4a puntual de guanina (G) que cambia adenina (A), lo que codifica para la proteína beta-tubulina 4a clase IVa. A nivel de aminoácidos, existe una sustitución de una alanina por una treonina en la posición 302 (Ala302Thr; Garduno-Robles y cols., 2020). Adicionalmente, mediante estudios empleando imagen por resonancia magnética mostraron que la rata *taiep* tiene las mismas características a las observadas en la enfermedad H-ABC humana, esto incluye la hipomielinización en diversos tractos como el cuerpo calloso y la comisura anterior, ventriculomegalia, y atrofia tanto del cerebelo como del putamen (Garduno-Robles y cols., 2020; Lopez-Juarez y cols., 2021).

Adicionalmente a estos hallazgos, los estudios neuropatológicos a nivel ultraestructural muestran una acumulación significativa de microtúbulos en el soma y los procesos de los oligodendrocitos, modificando con ello el transporte de las proteínas esenciales para la síntesis y el mantenimiento de la mielina, como son la proteína proteolipídica (PLP) y la proteína básica de la mielina (PBM) las cuales pueden explicar la hipomielinización inicial y el proceso de desmielinización progresiva (Song y cols., 1999; Eguibar y cols., 2010). Adicionalmente, la 2′,3′-nucleótido cíclica 3'-fosfodiesterasa (CNP), una enzima asociada a la mielina que se

expresa en los oligodendrocitos desciende con la edad en la rata *taiep* (Möller y cols., 1997) así como los lípidos de la mielina (Eguibar y cols., 2012).

En cultivos de oligodendrocitos de ratas *taiep* se ha mostrado que la PLP marcada no sigue una proporción hacia adelante, sino que puede tener regresiones y progresiones al igual que los gránulos de ADN de las proteínas trasportadoras como las dineínas y las quinesinas (véase Figura 62; Song y cols., 2003).

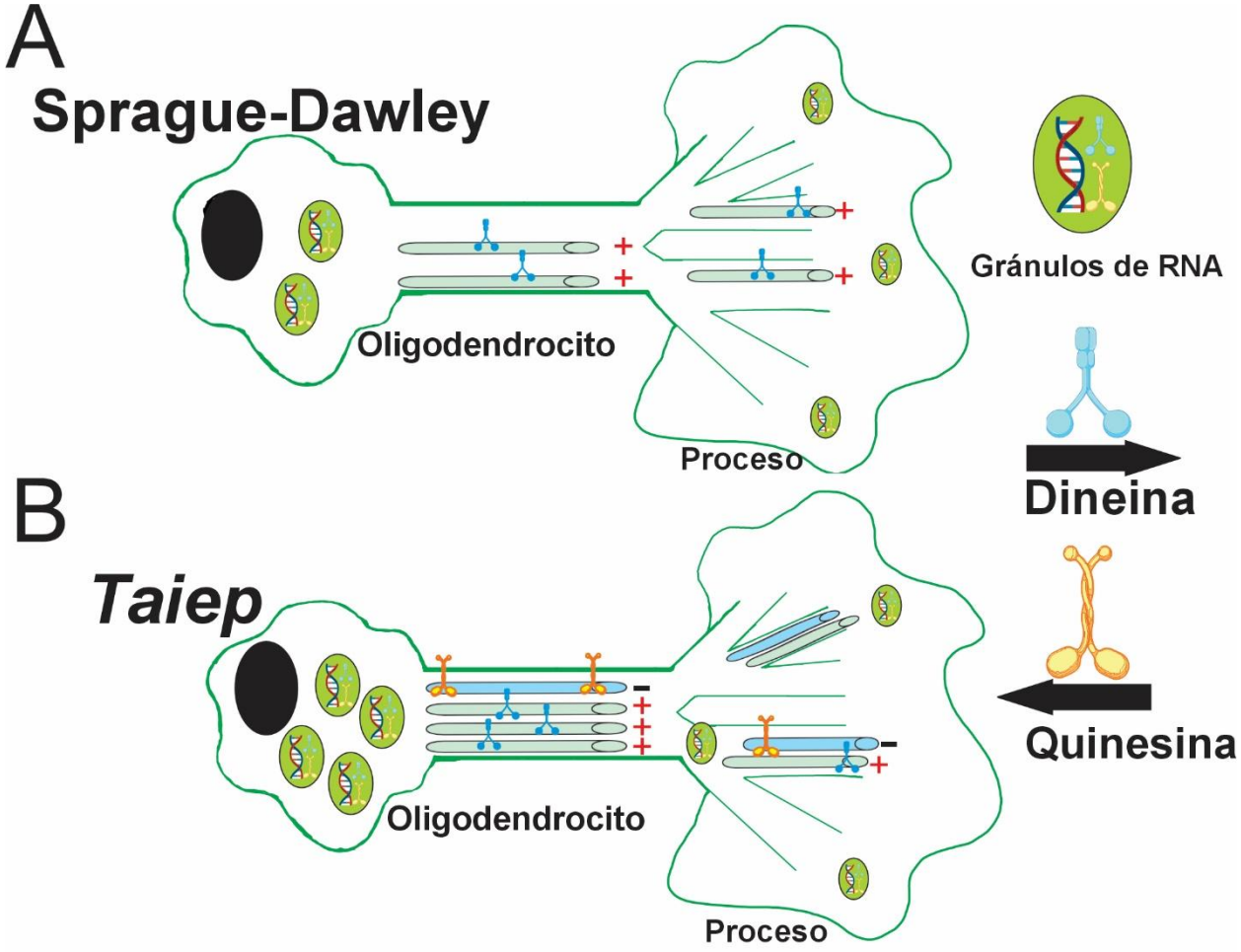


Figura 62. Diagrama de la dirección en el transporte de proteínas en los microtúbulos de los oligodendrocitos de la rata Sprague-Dawley y la rata *taiep*.
A) En los oligodendrocitos de las ratas Sprague-Dawley las dineínas transportan los gránulos de ARN hacia el extremo + terminal, en dirección a la membrana. **B)** En las rata *taiep* el incremento en la densidad de microtúbulos cambia la polaridad y aumenta la actividad de las quinesinas favoreciendo el transporte hacia adelante, peor también hacia atrás. Este efecto produce que las proteínas y los

organelos transportados por las quinesinas regresen al cuerpo celular. Modificado de Song y cols., (2003).

En conjunto con las investigaciones de imagenología, genética y molecular, las ratas *taiep* exhiben manifestaciones motoras como son la ataxia y el temblor de intención, las cuales tienen un impacto directo en su patrón de la marcha. Nuestro equipo de investigación ha realizado un análisis exhaustivo de las características de marcha de la rata *taiep*, revelando que la velocidad del patrón de marcha se reduce significativamente en comparación con las ratas Sprague-Dawley, con una duración extendida tanto de las fases de soporte como de balanceo, particularmente evidente en las extremidades posteriores, junto a una pronunciada alteración en la coordinación entre las extremidades durante la ambulación (Alata y cols., 2021; Eguibar y cols., 2021).

Notablemente, la velocidad se ve reducida desde los primeros días de vida; pero la coordinación y la duración de ambas fases del patrón de la marcha son normales en los registros locomotores. Sin embargo, las alteraciones en el patrón de la marcha de manera que, son equivalentes a las características clínicas reportadas en pacientes con H-ABC (Gavazzi y cols., 2021). Adicionalmente, la rata *taiep* disminuye la velocidad y la coordinación del patrón de la marcha con la edad, estos datos se complementan al analizar la duración total de los registros y el número de ciclos del patrón de la marcha completos (véase Figuras 32 y 33).

Recientemente se evaluaron mediante electrofisiología los potenciales provocados somatosensoriales y motores en la rata *taiep* macho, y se mostró que la velocidad de conducción neuronal es menor en nuestro modelo, por lo cual se puede emplear como una herramienta para determinar el grado de progresión de la leucodistrofia como la H-ABC (Eguibar y cols., 2024). Esto posiciona a la rata *taiep* como el modelo animal más confiable para la investigación de esta patología debido a que su sobrevida es normal entre 18 y 24 meses, así como para la evaluación de intervenciones farmacológicas dirigidas a mejorar los signos motores que se presentan en esta leucodistrofia, como se mostró con los potenciales provocados

somatosensoriales tras la administración de 4-aminopiridina (Eguibar y cols., 2024). Nuestro grupo de trabajo ha reportado el primer caso de un paciente mexicano de la leucodistrofia H-ABC, con todos los datos de imagenología y mutación en la tubulina β 4a más reciente (Garduno-Robles y cols., 2020). En este paciente se han evaluado distintas modalidades de potenciales provocados sensoriales como son los auditivos y los somatosensoriales (Lopez-Juarez y cols., 2021; Eguibar y cols., 2024). De manera relevante la paciente carece de los componentes centrales en ambos potenciales provocados, que son similares a los mostrados con la rata *taiep* macho adulta somatosensoriales (Lopez-Juarez y cols., 2021; Eguibar y cols., 2024). Recientemente, se ha producido un modelo de la leucodistrofia H-ABC mediante la tecnología CRISPR-Cas9 insertando la mutación c.745G > A (p.Asp249Asn) en el exón 4 del gen Tubb4a del ratón. El ratón knock-in denominado Tubb4a$^{D249N/D249N}$, muestra signos como el temblor, la distonía y la ataxia, así como una degeneración en las neuronas granulares del cerebelo y una ligera degeneración en las neuronas del cuerpo estriado. Si bien, presenta algunos signos semejantes a la enfermedad H-ABC humana, no tiene una marcada alteración en la dinámica de los microtúbulos, su longevidad de 40 días es muy limitada, las evaluaciones en la conducta motora carecen de especificidad para describir su patrón de la marcha y no hay estudios de imagenología como la resonancia magnética, para demostrar ser un modelo confiable para el estudio de la leucodistrofia H-ABC (Sase y cols., 2020). Por lo tanto, la rata *taiep* es el único modelo de rata de la leucodistrofia H-ABC, ya que tiene más similitud en los sistemas biológicos (Hahn y cols., 2021). Adicionalmente, la similitud en la dinámica de los microtúbulos en los oligodendrocitos, la hipomielinización y la atrofia de los ganglios basales y el cerebelo confirmada mediante IRM, la similitud de los signos motores con la enfermedad H-ABC humana y la alta tasa de longevidad previamente descritas en esta tesis, demuestran que la rata *taiep* es el único modelo confiable para el estudio de esta leucodistrofia.

Las enfermedades neurodegenerativas, incluyendo las leucodistrofias, pueden producir muerte progresiva en las neuronas, que dependiendo el área donde se produzca tendrá un efecto neurodegenerativo, que puede reflejarse en una alteración del control del movimiento (Peralta y cols., 2017). Por ejemplo, las ataxias

cerebelosas son un grupo de trastornos de la marcha que se caracterizan porque los pacientes muestran alteraciones en su patrón de la marcha debido a una disfunción en el cerebelo, por lo que la marcha es uno de los signos motores más comunes de las enfermedades neurodegenerativas, teniendo una prevalencia de diez casos por cada 100,000 individuos a nivel mundial (Salman y cols., 2018). En los humanos la ataxia cerebelosa se caracteriza por una alteración en los parámetros estáticos y dinámicos del patrón de la marcha; principalmente por una disminución en la velocidad, una disminución en la longitud del paso, un aumento en la base de soporte, una marcada alteración en la coordinación y un aumento en las fases de apoyo y de balanceo (Buckley y cols., 2018; Palliyath y cols., 1998).

El patrón de la marcha es una modalidad conductual visible y puede ser bien caracterizada y cuantificada, por lo que es factible emplearse como una herramienta de evaluación en diferentes patologías neurodegenerativas (Hermez y cols., 2023). Cabe mencionar que, en el humano, el movimiento coordinado entre las extremidades con flexión y extensión se denomina caminar, mientras que el patrón de la marcha se puede definir como un patrón locomotor que puede ser gatear, caminar o correr en combinación con un cambio de la postura (Sethi et al., 2022). Históricamente, la marcha ha sido objeto de estudio desde Aristóteles con las primeras teorías del movimiento, seguido del primer estudio biomecánico por Giovani Borreli en 1680 (citado en Baker y cols., 2007; Clarac y cols., 2008). No obstante, el inicio del análisis cualitativo y cuantitativo en el patrón de la marcha fue mediante la implementación de un método de fotografía automatizada por Eadweard Muybridge en 1872, este sistema permitió un análisis más detallado de cada parámetro del patrón de la marcha (Muybridge, 1898).

En la actualidad, se han empleado diferentes estrategias para el análisis del patrón de la marcha en modelos animales con el fin caracterizar y comparar los cambios derivados de diferentes patologías neurodegenerativas como la marcha atáxica, la enfermedad de Parkinson, la esclerosis múltiple, la lesión de la médula espinal y las leucodistrofias (Vinueza Veloz y cols., 2015; Machado y cols., 2015; Hamers y cols.,

2001; Hamers y cols., 2003). El primer algoritmo para el análisis detallado del patrón de la marcha en roedores fue propuesto por De Medinaceli en 1982, para cuantificar el grado de recuperación funcional después de la lesión del nervio ciático, por tal motivo fue denominado índice funcional ciático (SFI, de sus siglas en inglés; citado por Basso y cols., 1995). No obstante, fue hasta 1996 que Hamers desarrolló un sistema automatizado para el análisis del patrón de la marcha denominado CatWalk™; el cual fue validado para estudiar la recuperación funcional en modelos de roedores con lesión de la médula espinal, poniendo énfasis en la coordinación entre las extremidades, como el principal marcador en la recuperación funcional (Hamers y cols., 2001; Hamers y cols., 2003). Adicionalmente, un estudio realizado por Kappos (2017), comparó todos los estudios realizados hasta 2017 mediante el sistema de registro CatWalk™ (Noldus Technologies, Países Bajos); siendo la duración de la fase de balanceo, y el índice de regularidad los parámetros más confiables para determinar los cambios en el patrón de la marcha en diferentes modelos en patologías que afectan tanto el sistema nervioso central, como el periférico (Kappos y cols., 2017). Recientemente, Heizel y cols., (2020), reportaron que el sistema de registro CatWalk™ es el más utilizado en la comunidad científica en comparación de otros sistemas automatizados como el DigiGait™, el TreadScan™ y el GaitScan™; por lo que se ha considerado como una herramienta confiable para las pruebas conductuales motoras en roedores (Heinzel y cols., 2020).

Efecto de los agonistas D2 en el patrón de la marcha en la rata *taiep*.

Desde la década inicial del siglo pasado, la regulación neuronal de las funciones locomotoras ha sido un importante foco de investigación, para soportar la teoría refleja propuesta por Sir. Charles Scott Sherrington. Sin embargo, fue Graham Brown el pionero en sugerir un conjunto de redes neuronales espinales responsables de los movimientos rítmicos y alternantes inherentes a la actividad locomotora, referidos como generadores centrales de patrones (GCPs; citado en Stuart y cols., 2008). Durante la década de los 60’s del siglo pasado y sobre la base del trabajo de Graham Brown, se realizaron experimentos para determinar el papel catecolaminérgico en las

redes espinales, demostrando que la administración sistémica de L- 3,4 dihidroxifenilalanina (L-DOPA) era capaz de promover la actividad locomotora en el gato espinalizado (Jankowska y cols., 1967); posteriormente se demostró el efecto de la L-DOPA en la médula espinal aislada del ratón neonato (McCrea y cols., 1997) y en la lamprea (Pierre y cols., 1997).

La dopamina actúa a través de dos familias de receptores, la familia D1 a través de los receptores D1 y D5, y los de la familia D2 a través de los receptores D2, D3 y D4, que se distribuyen ampliamente en médula espinal lumbar del ratón (Zhu y cols., 2007). Generalmente, la activación de la familia de receptores D1 produce efectos excitatorios a través de una proteína Gs al aumentar los niveles de adenosín monofosfato cíclico (AMC; Missale y cols., 1998). De forma inversa, la activación de los receptores de la familia D2 producen una hiperpolarización de la membrana a través de una proteína Gi (Missae y cols., 1998). Por otro lado, los receptores dopaminérgicos en primates no humanos tienen una distribución diferente, ya que los receptores D1 no se expresan en la médula espinal lumbar, pero si lo receptores D2, D3 y D5 (Barraud y cols., 2010). Por lo que se ha propuesto que la actividad moduladora de los receptores D2 se encuentra más conservada en los mamíferos (Barraud y cols., 2010)

Por otro lado, Shik y Orvovsky (1969) mostraron que en el mesencéfalo existe un área que puede iniciar la conducta locomotora y que dependiente del estímulo eléctrico o químico, puede acelerarla o detenerla, esa área se denominó como la región locomotora mesencefálica (RLM; Shik y cols., 1969). Anatómicamente la RLM está compuesta por el núcleo pedúnculo pontino (PPN, de sus siglas en inglés) que expresa neuronas colinérgicas, GABAérgicas y glutamatérgicas; así como por el núcleo cuneiforme (CnF) compuesto principalmente por neuronas GABAérgicas y glutamatérgicas (Caggiano y cols., 2018). Sin embargo, se ha reportado que existen proyecciones desde la sustancia negra parte compacta (SNc) a la RLM, ya que, al estimular química o eléctricamente a la SNc, se produce un aumento de las concentraciones extracelulares de dopamina en la RLM (Martinez-Gonzalez y cols., 2011). Estos datos sugieren que la modulación dopaminérgica de la marcha se debe tanto en núcleos superiores como a nivel espinal (Noga y cols., 2022).

En trabajos previos en nuestro laboratorio se ha descrito que las ratas *taiep* en comparación con las ratas Sprague-Dawley, presentan una alteración en la que se aumenta las fases de soporte y de balanceo en el patrón de la marcha, una disminución en la longitud de la zancada de las extremidades anteriores y de las posteriores, una disminución en la coordinación entre las extremidades, una disminución de la velocidad del patrón de la marcha y también en la cadencia (Alata y cols., 2022). Los parámetros estáticos y dinámicos del patrón de marcha en la rata *taiep,* probablemente están influenciados por la hipomielinización que presenta y por la atrofia del cerebelo, seguida por un proceso de desmielinización progresiva que puede impactar en los tractos neurales implicados en el patrón de marcha, incluyendo el corticoespinal y el retículo-espinal (Couve y cols., 1997; Duncan y cols., 1992).

La modulación de la actividad locomotora mediante la administración de estos agonistas dopaminérgicos también puede explicarse a partir de la integración concurrente de la vía directa y la vía indirecta de los ganglios basales. Estudios recientes evidencian que, en lugar de funcionar de forma estrictamente opuesta, ambas vías se activan concomitantemente para afinar el control motor (Carrillo-Reid y cols., 2011). Por otro lado, la vía indirecta, activada principalmente por la estimulación de receptores D2 acoplados a proteínas Gi, disminuye los niveles de AMPc y, a su vez, regula cascadas como la de PI3K/AKT y MAPK, ajustando la fuerza y la sincronización de la respuesta motora mediante efectos inhibitorios refinados. Sin embargo, también se ha reportado un efecto inhibitorio independiente del AMPc, principalmente mediado por la corriente de Ca^{++} tipo L y asociado a la actividad de las encefalinas, esta interacción es vital para adaptar adecuadamente los movimientos en situaciones en las que se requieren ajustes finos o la supresión de respuestas motoras indebidas como el temblor (Hernández-López y cols., 2000). Estos hallazgos ofrecen un sustrato neurofisiológico que puede explicar el efecto bifásico observado tras la aplicación de agonistas dopaminérgicos, por ejemplo, dosis bajas que podrían favorecer la modulación de la vía indirecta posiblemente mediante la activación preferencial de receptores D3 en algunos contextos (Gunzler y cols., 2007). .

En el contexto del temblor con la conducta locomotora, donde la coordinación y la estabilidad de la marcha se ven comprometidas, la modulación simultánea de estas dos vías representa un mecanismo crucial para restaurar la función motora. Agonistas como la apomorfina, el pramipexol y el quinpirol actúan, en función de la dosis, sobre estos receptores dopaminérgicos para reequilibrar la salida de ambas rutas: dosis intermedias favorecerían la activación coordinada de las cascadas de señalización, probablemente al mejorar la fase de balanceo y la precisión del movimiento, mientras que dosis bajas, al incidir preferentemente en receptores D3 o modulando de forma menos selectiva la vía indirecta, pueden prolongar la fase de soporte y ralentizar la marcha (De Almeida y cols., 2014). Recientes análisis transcriptómicos y estudios de biología molecular han revelado que la convergencia de estas cascadas, incluyendo la fosforilación de DARPP-32 y la activación de factores de transcripción como CREB, que resulta esencial para la plasticidad sináptica y la correcta integración de las señales motoras en el cuerpo estriado (Bateup y cols., 2011).

Por otro lado, se ha reportado que los ganglios basales tienen un efecto directo en la actividad locomotora gracias a sus proyecciones dopaminérgicas a la RLM (Noga y cols., 2022); la atrofia del núcleo caudado reportada en la rata *taiep* puede tener un impacto en los circuitos locomotores descendentes y afectar los parámetros estáticos y dinámicos del patrón de la marcha (Garduno-Robles y cols., 2020; Alata y cols., 2022). Esta hipótesis puede ser respaldada por lo reportado en estudios realizados en pacientes con enfermedad de Huntington los cuales presentan una atrofia predominante en el núcleo caudado (Rao y cols., 2008), así como en sujetos de edad avanzada con atrofia en el núcleo caudado confirmado mediante imagen por resonancia magnética (Dumurgier y cols., 2012).

La administración sistémica de apomorfina produce una disminución de la fase de soporte de las extremidades anteriores y un efecto bifásico, aumentando con la dosis baja (0.25 mg/Kg) y disminuyendo con la dosis media (0.5 mg/Kg) en la fase de soporte en las extremidades posteriores de la rata *taiep* (véase Figura 34). Además, este agente dopaminérgico disminuyó la duración de la fase de balanceo tanto en las extremidades anteriores, como en las posteriores en la rata *taiep* (véase Figura 35).

Se ha reportado que las dosis bajas de apomorfina pueden disminuir la actividad locomotora en roedores (Gunzler y cols., 2007), este efecto puede deberse a que a las dosis baja de este agonista dopaminérgico puede estar activando preferencialmente los receptores D3, disminuyendo la actividad locomotora y aumentado la fase de soporte. Sin embargo, con la dosis intermedia podría estar activando más receptores dopaminérgicos D2 y mejorando la fase de balanceo del patrón de la marcha en la rata *taiep*. Este efecto bifásico de la apomorfina también se ha reportado en otros modelos como es pez cebra (Irons y cols., 2012).

Por otro lado, al administrar el pramipexol un agonista más específico de los receptores de la familia D2, alrededor de 200000 veces más que a los receptores D1, aumentó la duración de la fase de soporte en las extremidades posteriores de la rata *taiep* (véase Figura 40), disminuyó la duración de la fase de balanceo tanto en las extremidades anteriores, como en las extremidades posteriores (véase Figura 41). De forma semejante, el quinpirol otro agonista más específico de la familia D2, 7000 veces mayor en comparación con los receptores D1, disminuye la fase de soporte de las extremidades anteriores, pero la aumenta en las extremidades posteriores de la rata *taiep* (véase Figura 46). La duración de la fase de balanceo disminuye tanto en las extremidades anteriores como en las posteriores de la rata *taiep,* datos consistentes con lo obtenido con pramipexol en esta tesis (véase Figura 48). En estudios previos, se ha reportado que el pramipexol aumenta el tiempo de inmovilidad en la prueba de campo abierto (De Almeida y cols., 2014) y que la hiperexcitabilidad del sistema dopaminérgico producida por agonistas como la L-DOPA y el pramipexol, puede desencadenar una reducción de los reflejos flexores, pero no de los extensores (Paulus y cols., 2006). Es probable que el quinpirol al ser un agonista selectivo de la familia D2, como lo es también el pramipexol, producen un efecto similar en la duración la fase de soporte y la fase de balanceo del patrón de la marcha en la rata *taiep*.

Por otro lado, se ha reportado que el uso de la apomorfina en sujetos con enfermedad de Parkinson también tiene la capacidad de mejorar su coordinación del patrón de la marcha (Grasso y cols., 1998) y con dosis más altas puede aumentar la velocidad de la marcha (Ondo y cols., 1999). Este efecto es semejante a lo obtenido

con nuestros resultados ya que con la dosis más alta (1 mg/Kg) de apomorfina administrada en la rata *taiep* aumenta la velocidad del patrón de la marcha (véase Figuras 37 y 39). Por otro lado, el pramipexol a las dosis de entre 0.25 a 2 mg/Kg pueden mejorar la actividad locomotora en ratas intactas (Chang y cols., 2011), y en ratas con lesión de la médula espinal (Liu y cols., 2023). Nuestros resultados muestran que la administración aguda de pramipexol y de quinpirol, mejoran significativamente la coordinación del patrón de la marcha en la rata *taiep* (véase Figuras 42 y 49). Recientemente, se ha mostrado que el uso de pramipexol en ratas con lesión de la médula espinal promueve una disminución de la respuesta inflamatoria, así como de los procesos apoptóticos y un aumento en la expresión de los receptores D2 en la médula espinal torácica (Liu y cols., 2023). Otro estudio en un modelo de lesión cerebral en ratas mostró que el quinpirol disminuye la expresión de proteínas proapoptóticas como lo es el regulador de la apoptosis BAX que es un regulador central de la vía intrínseca de la apoptosis, también de citocinas proinflamatorias como la interleucina 1β y el factor de necrosis tumoral alfa (TNF-α, de sus siglas en inglés) en la corteza cerebral y el cuerpo estriado; así como restaura la expresión de los receptores D2 después de la lesión cerebral causada por una herida punzo cortante (Alam y cols., 2021). Si bien, aún no se han descrito los mecanismos específicos del efecto neuroprotector, es probable que este agonista D2 tenga un impacto sobre la astrocitosis reactiva y el desbalance entre los receptores D1/D2 reportados en la rata *taiep* (Leon-Chavez y cols., 2006; Flores y cols., 2002), lo que podría reflejarse en una mejora del patrón de la marcha en este modelo de leucodistrofia. Por otro lado, se ha reportado que los receptores D2 se expresan en las interneuronas V3 glutamatérgicas en la médula espinal lumbar de roedores, este tipo de neuronas comisurales están implicadas en la alternancia izquierda/derecha del patrón de la marcha (Chopek y cols., 2018), lo que sugiere que los agonistas D2 modulan la coordinación del patrón de la marcha mejorando el desempeño de la rata *taiep* a lo largo de la pasarela (Sharples y cols., 2020).

Como se ha descrito previamente, la disminución de la longitud de la zancada es un signo común en la marcha atáxica y el vector resultante del trayecto de cada paso, es inconsistente en comparación con sujetos sin alteraciones (Palliyath y cols., 1998).

Nuestros resultados muestran que tanto el pramipexol, como el quinpirol disminuyen la longitud de la zancada (véase Figuras 42 y 49); pero no se ve relacionado directamente con la cadencia del patrón de la marcha (véase Figuras 45 y 50). Estos datos indican que la rata *taiep* avanza menos distancia en cada paso, pero no aumenta el número de pasos durante la misma distancia a lo largo de la pasarela. Una posible explicación es que las zancadas de los animales tratados con pramipexol y con quinpirol mantienen un vector resultante en dirección frontal más consistente que las ratas *taiep* del grupo control, ya que probablemente se desplazan más hacia los extremos al momento de realizar cada paso. Sin embargo, la rata *taiep* realiza múltiples contactos en el piso de cristal durante cada fase de soporte derivado del temblor y de la ataxia que presenta, de tal manera que este modelo del sistema de registro CatWalk™ presenta una limitante para determinar los ángulos del vector resultante de la dirección de la zancada en la marcha atáxica. Sin embargo, esta hipótesis es basada en la observación de las pruebas realizadas en la presente tesis y deberá tomarse con discreción y corroborar con otro abordaje experimental (véase Figura 63). Por lo que es necesario realizar un estudio complementario para determinar si los ángulos de desplazamiento se modifican con el uso de los agonistas D2 en la rata *taiep*.

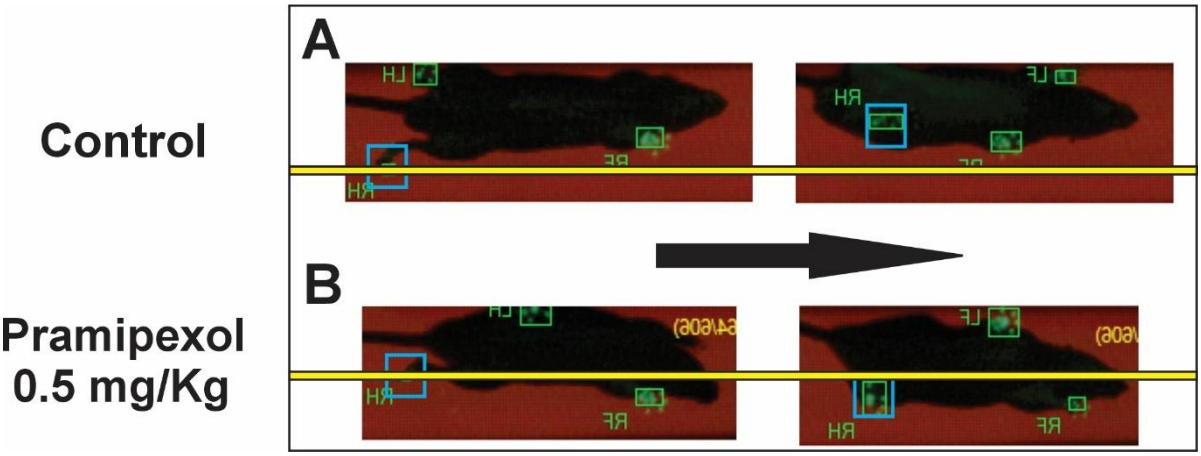


Figura 63. Desplazamiento del paso de la extremidad posterior derecha en el patrón de la marcha de la rata *taiep*. Los recuadros azules indican la posición de la pata posterior derecha durante las fases de soporte inicial y subsecuente de un paso, las líneas amarillas

indican la posición de la fase de soporte inicial del paso. **A)** Se ilustra la zancada de una rata *taiep* control; durante la fase de soporte subsecuente, la pata posterior derecha no contacta la línea de la posición inicial. **B)** Se ilustra la zancada de una rata *taiep* tratada con pramipexol a una dosis de 0.5 mg/Kg. Note que durante la segunda fase de soporte la pata posterior derecha está cerca de la posición de la fase de soporte inicial del paso.

En estudios previos se ha reportado que la dopamina en dosis bajas de menos de 30 μM, disminuye la locomoción espontánea en la médula espinal asilada de ratón neonato, esto por el efecto hiperpolarizante de los receptores D2 en las motoneuronas del asta ventral (Clemens y cols., 2012; Sharples y cols., 2014, 2020). Estos resultados son consistentes con lo obtenido en esta tesis, pero con animales *in vivo*, ya que la velocidad de la marcha en las ratas *taiep* disminuyó tras la administración sistémica del pramipexol (véase Figura 42). Adicionalmente, se ha reportado que los receptores D2 se expresan en interneuronas inhibitorias pertenecientes al grupo V1, al menos un 33 por ciento presentó una hiperpolarización de la membrana de las motoneuronas debido a la aplicación de la sulpirida, un antagonista de los receptores D2, produciendo un aumento en la excitabilidad indirecta sobre las motoneuronas, al disminuir la actividad de interneuronas inhibitorias (Sharples y cols., 2020). En el mismo estudio se reportó que el efecto excitatorio del receptor D2, puede deberse también a la formación de heterómeros de receptores D1 y D2, esto se sugirió al administrar el SKF81297, un agonista selectivo de los receptores D1 en conjunto con el quinpirol, produciendo una respuesta más robusta en los registros de motoneuronas L3-L5 de la médula espinal de ratón neonato que con la aplicación de SKF81297 (Sharples y cols., 2020). Estos resultados podrían explicar el aumento de la velocidad en el patrón de la marcha solo con una de las dosis empleadas de quinpirol (véase Figura 50).

Aún se conoce poco de la modulación dopaminérgica de la conducta locomotora mediada por los receptores D2 a nivel espinal, pero los reportados en diferentes estudios y lo que hemos obtenido en el presente trabajo, soporta que los receptores D2 pueden tener un efecto dependiente de estado. Sin embargo, es necesario realizar estudios de electrofisiología, inmunohistoquímica para determinar el papel fisiológico modulador de estos receptores en la rata *taiep*.

Efecto del acetato de leuprolida en el patrón de la marcha de la rata *taiep.*

La hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH, de sus siglas en inglés) es un decapéptido que se aisló por primera vez del hipotálamo de oveja y se ha reportado como el iniciador principal de la cascada hormonal reproductiva, su sitio de acción es el receptor a GnRH (GnRH-R, de sus siglas en inglés) e induce la síntesis y liberación de la hormona luteinizante (LH, de sus siglas en inglés) y de la hormona estimulante del folículo (FSH, de sus siglas en inglés; Schally et al., 1971). Si bien ya se han descrito sus efectos hipofisiarios, también se ha reportado que tanto GnRH como GnRH-R se expresan en otros sitios del sistema nervioso central como en el hipotálamo, la amígdala, el subículo, la corteza entorrinal y la médula espinal (Bard y cols., 1987), así como en la corteza cerebral de ratas (Quintanar y cols., 2007).

El acetato de leuprolida es un análogo sintético de GnRH, pero con ciertas ventajas en comparación a la molécula natural, una de estas es que tiene una vida media mayor de aproximadamente tres horas, dado que es menos susceptible a la proteólisis, y la otra es que tiene mayor afinidad a los receptores para GnRH, lo que conlleva a una mayor potencia de hasta diez veces en su actividad biológica (Periti y cols., 2002). Tanto la GnRH como sus análogos sintéticos se han empleado como medida de tratamiento en diferentes trastornos reproductivos y en diferentes patologías relacionadas con las hormonas sexuales (véase Tabla 7). Dentro de los efectos extrahipofisarios se ha reportado que tanto GnRH como el acetato de leuprolida tienen propiedades neurotróficas, evaluado a través del incremento en la densidad de espinas dendríticas en el hipocampo (Prange-Kiel y cols., 2008). Por otra parte, en neuronas corticales de rata aumenta el crecimiento, el número de neuritas y la expresión de neurofilamentos (Quintanar y cols., 2008), aumenta el diámetro axonal en la médula espinal y mejora en los signos clínicos de ratas con encefalitis autoinmune experimental, un modelo de esclerosis múltiple (Guzman-Soto y cols., 2012); mejora además en la actividad locomotora y la función vesical en ratas con lesión en la médula espinal (Calderón-Vallejo y cols., 2012). También se ha

reportado un efecto antiinflamatorio al disminuir la expresión de interleucina 1 β (IL-1β) y factor de necrosis tumoral alfa (TNF-α) en un modelo de encefalopatía isquémica en la rata (Pedroza-García y cols., 2023).

Se ha reportado previamente que la GnRH a dosis de 60 μg/Kg mejora los signos motores en animales con lesión de la médula espinal, esto se obtuvo empleando una escala de afectación de los signos que va del 0 al 5, donde 0 es normal y 5 es una parálisis total más incontinencia urinaria (Quintanar y cols., 2011). En otro estudio, se ha reportado que el acetato de leuprolida a dosis de 1.2 μg/Kg (calculada como equivalente en potencia a la dosis de 60 μg/Kg de GnRH) mejoraba la puntuación clínica de la encefalitis autoinmune experimental en una escala basada en lo propuesto por Becher y sus cols., (2001). Sin embargo, la escala empleada parece centrarse más en los signos motores basales como son el tono muscular y el control de las extremidades, en comparación con otras de mayor validez como la propuesta por Basso, Beattie y Bresnaham (BBB; Basso y cols., 1995), por lo que se carece de un análisis más robusto para el estudio de la conducta locomotora en ratas con lesión espinal.

El acetado de leuprolida en la rata *taiep* disminuyó la duración de la fase de soporte de las extremidades anteriores (véase Figura 51), y de las extremidades posteriores (véase Figura 54). Estos resultados son semejantes a lo reportado por Díaz-Galindo y cols. (2015), los cuales mostraron una disminución de la fase de soporte y de balanceo de las extremidades posteriores tras la administración crónica de leuprolida con una dosis de 10 μg/Kg por cinco semanas, esto en un modelo de lesión de la médula espinal por compresión a nivel del cuerpo vertebral T12. En las ratas *taiep* se disminuyó la fase de balanceo de las extremidades anteriores (véase Figura 55) y de las posteriores (véase Figura 56) tras la administración de acetato de leuprolida. Al igual que lo reportado por Díaz-Galindo, la dosis de 10 μg/Kg fue capaz de disminuir ambas fases de la marcha; sin embargo, en nuestros resultados fue más eficaz la dosis más baja (1.2 μg/Kg).

Por otro lado, el acetado de leuprolida no modificó la longitud de la zancada en las extremidades anteriores (véase Figura 56), pero incrementó en las extremidades

posteriores (véase Figura 57). Estos resultados también son consistentes con lo reportado por Díaz-Galindo y cols. (2015). Adicionalmente, el acetato de leuprolida no produjo cambios en la coordinación del patrón de la marcha en la *rata* taiep (véase Figura 58), pero si aumenta la velocidad del patrón de la marcha (véase Figura59). Estudios previos han reportado que el receptor GnRH-R se expresa en las motoneuronas del asta ventral lumbar en ratas neonatas y adultas (Quintanar y cols., 2009). Estos resultados podrían explicar la mejora en las fases de soporte y de balanceo del patrón de la marcha, así como la longitud de la zancada en la rata *taiep*, ya que estos parámetros de la marcha dependen de interneuronas inhibitorias V1 y V2b, así como de las interneuronas excitatorias V2 ipsilaterales del GCPs espinal que modulan la actividad de las motoneuronas flexoras y extensoras (Grillner y cols., 2021). En estudios previos, se ha reportado que el receptor GnRH-R aumenta el Ca^{++} intracelular en neuronas preganglionares de la rana toro (Ford y cols., 2003), es probable que se produzca un efecto similar en las motoneuronas del asta ventral en la rata *taiep,* ya que en modelos de encefalitis autoinmune experimental y en la lesión de la médula espinal en rata, pudiese conllevar a un estado de hiperexcitabilidad lo que disminuye la latencia de activación de las motoneuronas flexoras y de las extensoras. Sin embargo, es necesario realizar más estudios para dilucidar el papel de los GnRH-R de las motoneuronas de los roedores normales y con diversas patologías.

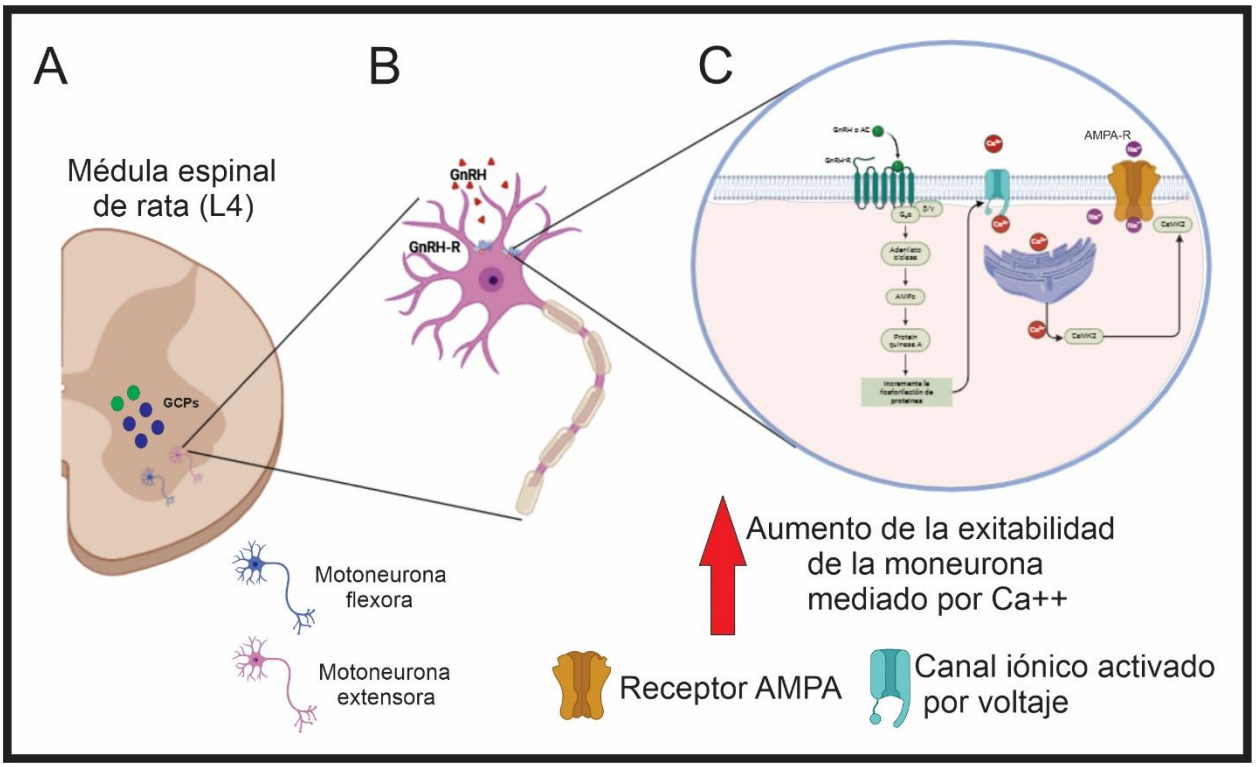


Figura 64. Esquema del posible efecto de los receptores de la hormona liberadora de gonadotropinas en las motoneuronas lumbares en la rata. **A)** Corte transversal de la médula espinal de rata en la porción L4, note las interneuronas conformadas por de generadores centrales de patrones y las motoneuronas flexoras y extensoras (Grillner y cols., 2020). **B)** Las motoneuronas de las ratas expresan receptores de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH-R), tanto las flexoras como las extensoras (Quintanar y cols., 2009). **C)** Esquema de la señalización intracelular de la GnRH. La hormona liberadora de gonadotropina (GnRH) o el acetato de leuprolida se unen a GnRH-R e interactúa adicionalmente con la proteína Gs, que se asocia con la adenilato ciclasa, lo que incita a una rápida síntesis de monofosfato de adenosina cíclico (cAMP), que a su vez activa la proteína quinasa A (PKA). Posteriormente, PKA fosforila a los canales iónicos activados por voltaje permitiendo la entrada de Ca^{++}, produciendo un aumento indirecto de la actividad de los receptores AMPA, lo que resulta en un aumento de la excitabilidad de la motoneurona (Yang y cols., 1999; Quintanar y cols., 2009).

Por otro lado, los autores de los estudios en modelos de lesión de la médula espinal y de la encefalitis autoinmune experimental, proponen que la recuperación locomotora derivada de la administración de acetato de leuprolida se debe a sus mecanismos neurotróficos lo que favorece un proceso de remielinización (Guzman-Soto y cols., 2012), ya que se ha mostrado un aumento de neurofilamentos y de las

neuritas (Calderon-Vallejo y cols., 2012) así como de una disminución concomitante de las citocinas proinflamatorias presentes en la neuroinflamación. Dado que la neuroinflamación es común en diversas patologías como la lesión de la médula espinal, la encefalitis autoinmune experimental, la esclerosis múltiple y las leucodistrofias, es probable que la disminución de un proceso neuroinflamatorio disminuya los signos motores de estas patologías (Diaz y cols., 2016; Guzmán-Soto y cols., 2016; Norah y cols., 2016). Por otro lado, el hecho de que la coordinación entre las extremidades no se modifica con el uso de acetato de leuprolida, podría estar más relacionado a su efecto directo en las motoneuronas, que a una reorganización de los circuitos propioespinales. Adicionalmente, el aumento en la concentración de la dosis de acetato de leuprolida no modifica en gran medida los parámetros del patrón de la marcha, y este efecto es consistente con lo reportado en estudios previos donde al aumentar la concentración de GnRH a 1, 10, 100 y 100 nM, la dosis más baja produjo efectos significativos en el crecimiento de neuritas de neuronas corticales cerebrales de rata, pero las dosis más altas no modificaron el efecto neurotrófico obtenido con la dosis más baja de esta hormona (Quintanar y cols., 2004). Los resultados obtenidos en el presente trabajo, así como los datos reportados en trabajos previos, sugiere una posible saturación de los receptores a GnRH en las motoneuronas. Sin embargo, se requieren de diferentes estudios para entender el efecto de la GnRH y su receptor GnRH-R, en el control espinal del patrón de la marcha en las ratas normales adultas.

Conclusiones.

.

- La administración sistémica apomorfina mejora la duración de la fase de soporte, la duración de la fase de balanceo y la coordinación de la marcha en las ratas *taiep* macho de tres meses de edad.
- La administración sistémica de pramipexol mejora la duración de la fase de balanceo y la coordinación del patrón de la marcha en ratas *taiep* macho adultas.
- El quinpirol mejora la duración de la fase de soporte, la duración de la fase de balanceo, la velocidad y la coordinación del patrón de la marcha en ratas *taiep* macho de tres meses de edad.
- El receptor a dopamina D2 juega un rol importante en el control de la marcha en un modelo de leucodistrofia asociado a la tubulinopatía H-ABC, sin embargo, es necesario determinar si el efecto se da a nivel de los núcleos superiores en la región locomotora mesencefálica o en los generadores centrales de patrones de la médula espinal. Por lo que, el uso de agentes dopaminérgicos pueden ser una terapia prometedora para mejorar el patrón de la marcha en los pacientes con leucodistrofia H-ABC y otras patologías desmielinizantes en el sistema nervioso central.
- La administración sistémica crónica por 21 días de acetato de leuprolida en ratas *taiep* macho adultas, mejora: la duración de la fase de soporte, la duración de la fase de balanceo, la longitud de la zancada, la velocidad del patrón de la marcha, la cadencia del patrón de la marcha.

- El uso de este agonista GnRH puede ser un tratamiento ideal para la enfermedad H-ABC y otras leucodistrofias en humanos; sin embargo, es necesario realizar más pruebas experimentales para determinar el papel del acetato de leuprolida y de la GnRH tanto en las motoneuronas como en los efectos adversos al emplear este agonista sintético de larga duración.

Referencias

Adang, L. 2022. Leukodystrophies. Continuum: Lifelong Learning in Neurology, 28:4, 1194-1216.

Aiken, J., Buscaglia, G., Aiken, A. S., Moore, J. K., Bates, E.A., 2018. Tubulin mutations in brain development disorders: why haploinsufficiency does not explain TUBA1A tubulinopathies. Cytoskeleton 77, 40–54.

Akhisaroglu, M., Kurtuncu, M., Manev, H., Uz, T., 2005. Diurnal rhythms in quinpirol-induced locomotor behaviors and striatal D2/D3 receptor levels in mice. Pharmacology biochemistry and behavior 80, 371–377.

Alam, S.I., Jo, M.G., Park, T.J., Ullah, R., Ahmad, S., Rehman, S.U., Kim, M.O., 2021. Quinpirol-mediated regulation of dopamine d2 receptors inhibits glial cell-induced neuroinflammation in cortex and striatum after brain injury. Biomedicines 9, 1–17.

Alata, M., González-Vega, A., Piazza, V., Kleinert-Altamirano, A., Cortes, C., Ahumada-Juárez, J.C., Eguibar, J.R., López-Juárez, A., Hernandez, V.H., 2021. Longitudinal evaluation of cerebellar signs of H-ABC tubulinopathy in a patient and in the taiep model. Frontiers in Neurology 12, 702039.

Altamira-Camacho, M., Medina-Aguiñaga, D., Cruz, Y., Calderón-Vallejo, D., Kovacs, K., Rotondo, F., Quintanar, J.L., 2020. Leuprolide Acetate, a GnRH agonist, improves the neurogenic bowel in ovariectomized rats with spinal cord injury. Digestive Diseases and Sciences 65, 423–430.

Arshavsky, Y.I., Berkinblit, M.B., Fukson, O.I., Gelfand, I.M., Orlovsky, G.N., 1972. Origin of modulation in neurons of the ventral spinocerebellar tract during locomotion. Brain Research 43, 276–279.

Atcherley, C.W., Wood, K.M., Parent, K.L., Hashemi, P., Heien, M.L., 2015. The coaction of tonic and phasic dopamine dynamics. Chemical Communications 51, 2235–2238.

Attard, T.J., Welburn, J.P.I., Marsh, J.A., 2022. Understanding molecular mechanisms and predicting phenotypic effects of pathogenic tubulin mutations. Plos Computational Biology 18, 1-24.

Auffret, M., Drapier, S., Vérin, M., 2018. The many faces of apomorphine: lessons from the past and challenges for the future. Drugs in R and D 18, 91-107.

Olive, D. L., & Pritts, E. A. 2001. Treatment of endometriosis. New England Journal of Medicine, 345:4, 266-275.

Bahi-Buisson, N., & Maillard, C. 2021. Tubulinopathies overview. GeneReviews 1, 1–17.

Baker, R. (2007). The history of gait analysis before the advent of modern computers. In Gait and Posture, 26, 331–342.

Barkovich, A.J., Guerrini, R., Kuzniecky, R.I., Jackson, G.D., Dobyns, W.B., 2012. A developmental and genetic classification for malformations of cortical development: Update 2012. Brain.

Bastian, A.J., Martin, T.A., Keating, J.G., Thach, W.T., 1996. Cerebellar ataxia: abnormal control of interaction torques across multiple joints. Journal of Neuropathology Experimental Neurology 76, 492–509.

Bateup, H. S., Santini, E., Shen, W., Birnbaum, S., Valjent, E., Surmeier, D. J., Fisone, G., Nestler, E. J., Greengard, P. 2010. Distinct subclasses of medium spiny neurons differentially regulate striatal motor behaviors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *107*:33, 14845–14850.

Barraud, Q., Obeid, I., Aubert, I., Barrière, G., Contamin, H., McGuire, S., Ravenscroft, P., Porras, G., Tison, F., Bezard, E., Ghorayeb, I. 2010. Neuroanatomical study of the A11 diencephalospinal pathway in the non-human primate. PLoS ONE, 5. 10.

Beffert, U., Weeber, E.J., Morfini, G., Ko, J., Brady, S.T., Tsai, L., Sweatt, J.D., Herz, J., 2004. Reelin and cyclin-dependent kinase 5-dependent signals cooperate in regulating neuronal migration and synaptic transmission. The Journal of Neuroscience 24, 1897–1906.

Bican O, Minagar A, Pruitt AA. The spinal cord: a review of functional neuroanatomy. Neurolgic Clinics 31,1-18.

Björklund, A., Dunnett, S.B., 2007. Dopamine neuron systems in the brain: an update. Trends in Neurosciences 5, 194 - 20.

Bonkowsky, J.L., Nelson, C., Kingston, J.L., Filloux, F.M., Mundorff, M.B., Srivastava, M.R., 2010. The burden of inherited leukodystrophies in children. Neurology 75:7,18–725.

Brangwynne, C.P., Mackintosh, F.C., Weitz, D.A., 2007. Force fluctuations and polymerization dynamics of intracellular microtubules. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 104, 16128–16133.

Buckley, E., Mazzà, C., McNeill, A. (2018). A systematic review of the gait characteristics associated with Cerebellar Ataxia. In Gait and Posture, 60, 154–163.

Caggiano, V., Leiras, R., Goñi-Erro, H., Masini, D., Bellardita, C., Bouvier, J., Caldeira, V., Fisone, G., Kiehn, O., 2018. Midbrain circuits that set locomotor speed and gait selection. Nature 553, 455–460.

Calabresi, P., Mercuri, N., Stanzione, P. and Bernardi, G. 1987. Intracellular studies on the dopamine-induced firing inhibition of neostriatal neurons in vitro: evidence for D1 receptor involvement. Neuroscience, 20, 757–771.

Calabresi, P., Picconi, B., Tozzi, A., Ghiglieri, V., & Di Filippo, M. 2014. Direct and indirect pathways of basal ganglia: a critical reappraisal. Nature neuroscience, 17: 8, 1022-1030.

Carlsson, A., Lindqvist, M., Magnusson, T., Waldeck, B. 1958. On the presence of 3-hydroxytyramine in brain. Science 127: 3296, 471-471.

Cazalets, J.R., Grillner, P., Menard, I., Cremieux, J., Clarac, F., 1990. Two types of motor rhythm induced by NMDA and amines in an in vitro spinal cord preparation of neonatal rat. Neuroscience Letters 111, 116–121.

Chang, W. L., Breier, M. R., Yang, A., & Swerdlow, N. R. 2011. Disparate effects of pramipexole on locomotor activity and sensorimotor gating in Sprague–Dawley rats. Pharmacology Biochemistry and Behavior 99: 4, 634-638.

Chávez, A.E., Roncagliolo, M., Kuhrt, H., Reichenbach, A., Palacios, A.G., 2003. The retinal anatomy and function of the myelin mutant taiep rat. Brain Research 964, 144–152.

Chen, J. J., & Swope, D. M. 2007. Pharmacotherapy for Parkinson's disease. Pharmacotherapy: The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy, 27: 12, 161-173.

Chew, S., Balasubramanian, R., Chan, W., Kang, P.B., Andrews, C., Webb, B.D., Mackinnon, S.E., Oystreck, D.T., Rankin, J., Crawford, T.O., Geraghty, M., Pomeroy, S.L., Jr, W.F.C., Jabs, E.W., Hunter, D.G., Grant, P.E., 2013. A novel syndrome caused by the E410K amino acid substitution in the neuronal b -tubulin isotype 3. Brain 136, 522–535.

Chopek, J. W., Nascimento, F., Beato, M., Brownstone, R. M., & Zhang, Y. (2018). Sub-populations of Spinal V3 Interneurons Form Focal Modules of Layered Pre-motor Microcircuits. Cell Reports, 25, 146-156

Clarac, F. 2008. Some historical reflections on the neural control of locomotion. Brain research reviews 57, 13-21.

Cleary, J. M., & Hancock, W. O. 2021. Molecular mechanisms underlying microtubule growth dynamics. Current Biology 31: 10, R560-R573.

Clemens, S., Belin-Rauscent, A., Simmers, J., Combes, D., 2012. Opposing modulatory effects of D1-and D2-like receptor activation on a spinal central pattern generator. Journal of Neurophysiology 107, 2250–2259.

Conn, Ph. D, P. M., & Crowley Jr, MD, W. F. 1994. Gonadotropin-releasing hormone and its analogs. Annual review of medicine 45, 391-405.

Contin, M., Lopane, G., Mohamed, S., Calandra-Buonaura, G., Capellari, S., De Massis, P., Nassetti, S., Perrone, A., Riva, R., Sambati, L., Scaglione, C., Cortelli, P., 2019. Clinical pharmacokinetics of pramipexole, ropinirole and rotigotine in patients with Parkinson's disease. Parkinsonism and Related Disorders 61, 111-117.

Cortés, M.D.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.

Committee for the Update of the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals, Institute for Laboratory Animal Research, Division on Earth and Life Studies, National Research Council. 2010. Guide for the care and use of laboratory animals, 8th. National Academies Press.

Couve, E., Cabello, J.F., Krsulovic, J., Roncagliolo, M., 1997. Binding of microtubules to transitional elements in oligodendrocytes of the myelin mutant taiep rat. Journal of Neuroscience Research 47, 573–581.

Cucarián, J.D., León, L.A., Luna, G.A., Torres, M.R., Corredor, K., Cardenas P., F., 2017. Caracterización temporo-espacial del patrón de marcha en roedores como modelo animal de lesión cerebral cerebrovascular. Acta Biológica 22, 307–321.

Curiel, J., Bey, G.R., Takanohashi, A., Bugiani, M., Fu, X., Wolf, N.I., Nmezi, B., Schiffmann, R., Bugaighis, M., Pierson, T., Helman, G., Simons, C., van der Knaap, M.S., Liu, J., Padiath, Q., Vanderver, A., 2017. TUBB4A mutations result in specific neuronal and oligodendrocytic defects that closely match clinically distinct phenotypes. Human Molecular Genetics 26, 4506–4518.

Cushion, T.D., Dobyns, W.B., Mullins, J.G.L., Stoodley, N., Chung, S., Fry, A.E., Hehr, U., Gunny, R., Aylsworth, A.S., Rankin, J., Rees, M.I., Pilz, D.T., Prabhakar, P., 2013. Overlapping cortical malformations and mutations in TUBB2B and TUBA1A. Brain 136, 536–548.

De Almeida, W.A.O., Esteves, A.M., de Almeida, C.L., Lee, K.S., Frank, M.K., Mariano, M.O., Frussa-Filho, R., Tufik, S., de Mello, M.T., 2014. The effects of long-term dopaminergic treatment on locomotor behavior in rats. Sleep Science 7, 203–208.

Deleu, D., Hanssens, Y., Northway, M. G. 2004. Subcutaneous apomorphine: an evidence-based review of its use in Parkinson's disease. Drugs and aging 21, 687-709.

Diaz, E., Morales, H. 2016. Spinal cord anatomy and clinical syndromes. In Seminars in Ultrasound, CT and MRI 37:5, 360-371.

Dierschke, D. J., Bhattacharya, A. N., Atkinson, L. E., Knobil, E. 1970. Circhoral oscillations of plasma LH levels in the ovariectomized rhesus monkey. Endocrinology 87:5, 850-853.

Dlugi, A. M., Miller, J. D., Knittle, J., & Lupron Study Group. 1990. Lupron depot (leuprolide acetate for depot suspension) in the treatment of endometriosis: a randomized, placebo-controlled, double-blind study. Fertility and sterility, 54:3, 419-427.

Dreyer, J.K., Herrik, K.F., Berg, R.W., Hounsgaard, J.D., 2010. Influence of phasic and tonic dopamine release on receptor activation. Journal of Neuroscience 30, 14273–14283.

Duchen, L. W., Eicher, E. M., Jacobs, J. M., Scaravilli, F., Teixeira, Fernand, A. 1980. Hereditary leucodystrophy in the mouse: the new mutant twitcher. Brain: a journal of neurology 103:3, 695-710.

Dujardin, F., Tobenas-Dujardin, A. C., Weber, J. 2009. Anatomía y fisiología de la marcha, de la posición sentada y de la bipedestación. EMC-Aparato locomotor, 42:3, 1-20.

Duncan, I. D., Lunn, K. F., Holmgren, B., Urba-Holmgren, R., Brignolo-Holmes, L. (1992). The taiep rat: a myelin mutant with an associated oligodendrocyte microtubular defect. In Journal of Neurocytology, 21, 870-884.

Duncan, I. D., Bugiani, M., Radcliff, A. B., Moran, J. J., Lopez-Anido, C., Duong, P., Svaren, J. (2017). A mutation in the Tubb4a gene leads to microtubule accumulation with hypomyelination and demyelination. Annals of neurology, 81: 5, 690-702.

Dumurgier, J., Crivello, F., Mazoyer, B., Ahmed, I., Tavernier, B., Grabli, D., François, C., Tzourio-Mazoyer, N., Tzourio, C., & Elbaz, A. (2012). MRI atrophy of the caudate nucleus and slower walking speed in the elderly. NeuroImage, 60: 2, 871–878.

Eguibar, J. R., Cortes, C., Ahumada-Juárez, J. C., Piazza, V., Gonzalez, V. H. H. 2021. The myelin mutant taiep rat as a model for developmental brain disorders. In Diagnosis, Management and Modeling of Neurodevelopmental Disorders, 557-566.

Eguibar, J. R., Cortes, C., 2010. The myelin mutant taiep as a model for absence crisis. Gaceta medica de Mexico, 146, 11-18

Eguibar, J. R., del Carmen Cortés, M. 2010. Modelos de crisis de ausencia en roedores. Gaceta Médica de México 146:5, 312-338.

Eguibar, J. R., Cortes, C., Hernandez, V. H., Lopez-Juarez, A., Piazza, V., Carmona, D., Roncagliolo, M. 2024. 4-aminopyridine improves evoked potentials and ambulation in the taiep rat: A model of hypomyelination with atrophy of basal ganglia and cerebellum. Plos one, 19: 3, e0298208

Eichler, F., Duncan, C., Musolino, P.L., Orchard, P.J., De Oliveira, S., Thrasher, A.J., Armant, M., Dansereau, C., Lund, T.C., Miller, W.P., Raymond, G. V., Sankar, R., Shah, A.J., Sevin, C., Gaspar, H.B., Gissen, P., Amartino, H., Bratkovic, D., Smith, N.J.C., Paker, A.M., Shamir, E., O'Meara, T., Davidson, D., Aubourg, P., Williams, D.A., 2017. Hematopoietic Stem-Cell Gene Therapy for Cerebral Adrenoleukodystrophy. New England Journal of Medicine 377, 1630–1638.

Eilam, D., Szechtman, H. 1989. Biphasic effect of D-2 agonist quinpirol on locomotion and movements. European journal of pharmacology 161:2-3, 151-157.

Farache, D., Emorine, L., Haren, L., Merdes, A. 2018. Assembly and regulation of γ-tubulin complexes. Open biology 8: 3, 1-8.

Finkel, R.S., Chiriboga, C.A., Vajsar, J., Day, J.W., Montes, J., De Vivo, D.C., Bishop, K.M., Foster, R., Liu, Y., Ramirez-Schrempp, D., Schneider, E., Bennett, C.F., Wong, J., Farwell, W., 2021. Treatment of infantile-onset spinal muscular atrophy with

nusinersen: final report of a phase 2, open-label, multicentre, dose-escalation study. Lancet Child Adolescent Health, 5, 491–500.

Fletcher, 2010. Cell mechanisms and cytoskeleton. Nature 463, 485–492.

Flores, G., Flores, J., Mena, R., Valencia, J. 2002. Mutant taiep rats exhibit an increase in D1 binding in basal ganglia. In Brain Research, 956, 24-29.

Foote, A. K., Blakemore, W. F. 2005. Repopulation of oligodendrocyte progenitor cell depleted tissue in a model of chronic demyelination. Neuropathology and applied neurobiology, 31: 2, 105-114.

Frampton, J.E., 2014. Pramipexole extended-release: A review of its use in patients with Parkinson's disease. Drugs, 74, 2175–2190.

Gancher, S. T., Woodward, W. R., Boucher, B., Nutt, J. G. 1989. Peripheral pharmacokinetics of apomorphine in humans. Annals of Neurology: Official Journal of the American Neurological Association and the Child Neurology Society 26: 2, 232-238.

Garduno-Robles, A., Alata, M., Piazza, V., Cortes, C., Eguibar, J. R., Pantano, S., Hernandez, V. H. 2020. MRI features in a rat model of H-ABC tubulinopathy. Frontiers in neuroscience 14, 555.

Gatto, G., Goulding, M. 2018. Locomotion control: brainstem circuits satisfy the need for speed. Current biology, 28:6, 256-259.

Gavazzi, F., Charsar, B. A., Williams, C., Shults, J., Alves, C. A., Adang, L., Vanderver, A. 2021. Acquisition of developmental milestones in hypomyelination with atrophy of the basal ganglia and cerebellum and other TUBB4A-related leukoencephalopathy. Journal of Child Neurology, 36: 10, 805–811.

Grasso, R., Peppe, A., Stratta, F., Angelini, D., Zago, M., Stanzione, P. Lacquaniti, F. 1999. Basal ganglia and gait control: apomorphine administration and internal pallidum stimulation in Parkinson's disease. Experimental brain research, 126, 139-148.

Grillner, S., Kozlov, A. 2021. The CPGs for limbed locomotion–facts and fiction. International Journal of Molecular Sciences, 22: 11, 5882.

Gay, V. L., Sheth, N. A. 1972. Evidence for a periodic release of LH in castrated male and female rats. Endocrinology, 90, 158-162.

Gieselman, V., 2010. Metachromatic Leukodystrophy – An Update. Neuropediatrics 40, 1–6.

Gonçalves, F.G., Freddi, T. de A.L., Taranath, A., Lakshmanan, R., Goetti, R., Feltrin, F.S., Mankad, K., Teixeira, S.R., Hanagandi, P.B., Arrigoni, F., 2018. Tubulinopathies. Topics in Magnetic Resonance Imaging 27, 395–408.

Grünblatt, E., Mandel, S., Gassen, M., Youdim, M. B. H. 1999. Potent neuroprotective and antioxidant activity of apomorphine in MPTP and 6-hydroxydopamine induced neurotoxicity. Advances in Research on Neurodegeneration 6, 57-70.

Guertin, P. A. 2009. The mammalian central pattern generator for locomotion. Brain research reviews 62, 45-56.

Guzik, B. W., Goldstein, L. S. 2004. Microtubule-dependent transport in neurons: steps towards an understanding of regulation, function and dysfunction. Current opinion in cell biology, 16: 4, 443-450.

Guzmán-Soto, I., Salinas, E., Quintanar, J.L., 2016. Leuprolide acetate inhibits spinal cord inflammatory response in experimental autoimmune encephalomyelitis by suppressing NF-κB activation. Neuroimmunomodulation, 23, 33–40.

Hahn, J. D., Swanson, L. W., Bowman, I., Foster, N. N., Zingg, B., Bienkowski, M. S., Dong, H. W. 2021. An open access mouse brain flatmap and upgraded rat and human brain flatmaps based on current reference atlases. Journal of Comparative Neurology, 529: 3, 576-594.

Hamers, F.P.T., 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, 187–210.

Hamilton, E.M., Polder, E., Vanderver, A., Naidu, S., Schiffmann, R., Blumkin, L., Van, C.G.M., Fisher, K., Raguz, A.B., Waisfisz, Q., Simons, C., Taft, R.J., Abbink, T.E.M.,

Wolf, N.I., 2014. Hypomyelination with atrophy of the basal ganglia and cerebellum: further delineation of the phenotype and genotype – phenotype correlation. Brain, 137, 1921–1930.

Heim, P., Claussen, M., Hoffmann, B., Conzelmann, E., Gärtner, J., Harzer, K., Kohlschütter, A. 1997. Leukodystrophy incidence in Germany. American journal of medical genetics, 71: 4, 475-478.

Hernández-Jasso, I., Domínguez-del-Toro, E., Delgado-García, J.M., Quintanar, J.L., 2020. Recovery of sciatic nerve with complete transection in rats treated with leuprolide acetate: A gonadotropin-releasing hormone agonist. Neuroscience Letters, 739, 1-7.

Hernández-López, S., Bargas, J., Surmeier, D.J., Reyes, A. and Galarraga, E. 1997. DA receptor activation enhances evoked discharge in neostriatal medium spiny neurons by modulating an L-type Ca^{2+} conductance. Journal of Neuroscience, 17:9, 3334–3342.

Hernández-López, S., Tkatch, T., Perez-Garci, E., Galarraga, E., Bargas, J., Hamm, H. and Surmeier, D.J. 2000. D2 dopamine receptors in striatal medium spiny neurons reduce L-type Ca^{++} currents and excitability via a novel PLCβ1-IP_3-Calcineurin-signaling cascade. Journal of Neuroscience, 20:24, 8987–8995.

Hermez, L., Halimi, A., Houmani, N., Garcia-Salicetti, S., Galarraga, O., Vigneron, V. 2023. Clinical Gait Analysis: Characterizing Normal Gait and Pathological Deviations Due to Neurological Diseases. Sensors, 23: 14, 65-66.

Hochman, S., 2007. Spinal cord, Current Biology 17:22, 950-955.

Hoff, K. J., Neumann, A. J., Moore, J. K. 2022. The molecular biology of tubulinopathies: understanding the impact of variants on tubulin structure and microtubule regulation. Frontiers in cellular neuroscience, 16, 1-23.

Hohmann, T., Dehghani, F. 2019. The cytoskeleton—a complex interacting meshwork. Cells, 8: 4, 362.

Holmgren, B., Urbá-Holmgren, R., Riboni, L., Vega-Saenz de Miera, E. C. 1989. Sprague Dawley rat mutant with tremor, ataxia, tonic immobility episodes, epilepsy and paralysis. Laboratory animal science, 39: 3, 226-228.

Hrabovszky, E., Liposits, Z. 2013. Afferent neuronal control of type-I gonadotropin releasing hormone neurons in the human. Frontiers in endocrinology, 4, 130.

Hurd, Y. L., Suzuki, M., Sedvall, G. C. 2001. D1 and D2 dopamine receptor mRNA expression in whole hemisphere sections of the human brain. Journal of chemical neuroanatomy, 22, 127-137.

Ikram, H., Ahmad, S., Haleem, D. J. 2011. Effects of apomorphine on locomotive activity and monoamine metabolism: a dose related study. Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences, 24:3, 315-321.

Irons, T.D., Kelly, P.E., Hunter, D.L., MacPhail, R.C., Padilla, S., 2013. Acute administration of dopaminergic drugs has differential effects on locomotion in larval zebrafish. Pharmacology Biochemistry and Behavior, 103, 792–813.

Iversen, S. D., Iversen, L. L. 2007. Dopamine: 50 years in perspective. Trends in neurosciences, 30:5, 188-193.

Jordan, L. M. 1998. Initiation of locomotion in mammals. Annals of the New York Academy of Sciences, 860, 83-93.

Jose, E. R., del Carmen, C. M., Araceli, U., Alicia, L. C. 2014. The myelin mutant rat taiep as a model of neuroimmunological disease. Advances in Neuroimmune Biology, 5, 9-17.

Joyal, K.M., Michaud, J., Knaap, M.S. Van Der, Bugiani, M., Venkateswaran, S., 2019. Severe TUBB4A- related hypomyelination with atrophy of the basal ganglia and cerebellum: novel neuropathological findings. Journal in Neuropathology Experimental Neurology, 78, 3–9.

Kaeser, P. S., Regehr, W. G. 2014. Molecular mechanisms for synchronous, asynchronous, and spontaneous neurotransmitter release. Annual review of physiology, 76, 333-363.

Kahnamouyi, S., Nouri, M., Farzadi, L., Darabi, M., Hosseini, V., Mehdizadeh, A. 2018. The role of mitogen-activated protein kinase–extracellular receptor kinase pathway in female fertility outcomes: A focus on pituitary gonadotropins regulation. Therapeutic advances in endocrinology and metabolism, 9: 7, 209-215.

Kakar, S. S., Musgrove, L. C., Devor, D. C., Sellers, J. C., Neill, J. D. 1992. Cloning, sequencing, and expression of human gonadotropin releasing hormone (GnRH) receptor. Biochemical and biophysical research communications, 189, 289-295.

Kebabian, J. W., Petzold, G. L., Greengard, P. 1972. Dopamine-sensitive adenylate cyclase in caudate nucleus of rat brain, and its similarity to the “dopamine receptor.” Proceedings of the National Academy of Sciences, 69: 8, 2145-2149.

Van der Knaap, M. S., Bugiani, M. 2017. Leukodystrophies: a proposed classification system based on pathological changes and pathogenetic mechanisms. Acta neuropathologica, 134, 351-382.

Kumar, R.A., Pilz, D.T., Babatz, T.D., Cushion, T.D., Harvey, K., Topf, M., Yates, L., Robb, S., Mancini, G.M.S., Rees, M.I., Harvey, R.J., Dobyns, W.B., 2010. TUBA1A mutations cause wide spectrum lissencephaly (smooth brain) and suggest that multiple neuronal migration pathways converge on alpha tubulins. Human Molecular Genetics, 19, 2817–2827.

Leiras, R., Cregg, J. M., Kiehn, O. 2022. Brainstem circuits for locomotion. Annual review of neuroscience, 45, 63-85.

Leone, P., Shera, D., McPhee, S. W., Francis, J. S., Kolodny, E. H., Bilaniuk, L. T., Janson, C. G. 2012. Long-term follow-up after gene therapy for canavan disease. Science translational medicine, 4, 163-165.

Lescheid, D. W., Terasawa, E. I., Abler, L. A., Urbanski, H. F., Warby, C. M., Millar, R. P., Sherwood, N. M. 1997. A second form of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) with characteristics of chicken GnRH-II is present in the primate brain. Endocrinology, 138: 12, 5618-5629.

Levin, E.D., Bowman, R.E. 1986. Effects of the Dopamine D-2 Receptor Agonist, LY 171555, on Radial Arm Maze Performance in Rats. Pharmacology Biochemistry and Behavior, 25: 5, 1117-1119

Levine, J. E., Pau, K. Y. F., Ramirez, V. D., Jackson, G. L. 1982. Simultaneous measurement of luteinizing hormone-releasing hormone and luteinizing hormone release in unanesthetized, ovariectomized sheep. Endocrinology, 111: 5, 1449-1455.

Li, P. C., Yeh, C. K., & Wang, S. W. 2002. Time-intensity-based volumetric flow measurements: an in vitro study. Ultrasound in medicine & biology, 28: 3, 349-358.

Liang, P., Zhang, X., Chen, Y., Huang, J., 2017. Developmental history and application of CRISPR in human disease. Journal of Gene Medicine, 19, e2963.

Liu, X., Wang, C., Peng, Q., Peng, B., Zhu, L. 2023. Pramipexole has a neuroprotective effect in spinal cord injury and upregulates D2 receptor expression in the injured spinal cord tissue in rats. PeerJ 11, e16039

Liu, H., Yen, S. 1984. The use of gonadotropin-releasing hormone for the induction of ovulation. Clinical Obstetrics and Gynecology 27, 975-982.

Lopez-Juarez, A., Gonzalez-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. Journal of Comparative Neurology, 529, 957–968.

Lunn, K F, Baas, P.W., Duncan, I.D., 1997. Microtubule organization and stability in the oligodendrocyte. Journal of Neuroscience, 17, 4921–4932.

Lunn, Katharine F, Baas, P.W., Duncan, I.D., 1997. Microtubule Organization and Stability in the Oligodendrocyte. In Oligodendroglia, 1, 1-46.

Maeda, K.I., Ohkura, S., Uenoyama, Y., Wakabayashi, Y., Oka, Y., Tsukamura, H., Okamura, H., 2010. Neurobiological mechanisms underlying GnRH pulse generation by the hypothalamus. Brain Research, 1364, 103-15.

Maggi, R., Cariboni, A.M., Marelli, M.M., Moretti, R.M., Andrè, V., Marzagalli, M., Limonta, P., 2016. GnRH and GnRH receptors in the pathophysiology of the human female reproductive system. Human Reproductive Update, 22, 358–381.

Mahmood, A., Raymond, G. V, Dubey, P., Peters, C., Moser, H.W., 2007. Survival analysis of hematopoietic cell transplantation for childhood cerebral X-linked adrenoleukodystrophy: a comparison study. Lancet Neurology, 8, 687-92.

Maillard, C., Roux, C.J., Charbit-Henrion, F., Steffann, J., Laquerriere, A., Quazza, F., Buisson, N.B., 2023. Tubulin mutations in human neurodevelopmental disorders. Seminars in Cell and Developmental Biology, 139, 87-95.

Martinez-Gonzalez, C., Bolam, J. P., Mena-Segovia, J. 2011. Topographical organization of the pedunculopontine nucleus. Frontiers in neuroanatomy, 5, 22. Missale, C., Nash, S. R., Robinson, S. W., Jaber, M., & Caron, M. G. (1998). Dopamine receptors: from structure to function. Physiological reviews, 7, 189-225.

McCrea, D.A., Rybak, I.A., 2008. Organization of mammalian locomotor rhythm and pattern generation. Brain Research Reviews 57, 134–146.

Mckean, P.G., Vaughan, S., Gull, K., 2001. The extended tubulin superfamily. Journal of Cell Science, 114, 2723–2733.

Mena-Segovia, J., Bolam, J.P., 2017. Rethinking the pedunculopontine nucleus: from cellular organization to function. Neuron, 5, 7-18.

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. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 303, 791–804.

Milner, R.J., Lai, C., Ogata, L.J., 1985. Nucleotide sequences of two mRNAs for rat brain myelin proteolipid protein. Cell, 42, 931–939.

Missale, C., Nash, S.R., Robinson, S.W., Jaber, M., Caron, M.G., 1998. Dopamine Receptors: From Structure to Function, Physiological Reviews, 1, 189-225.

Mitchison, T., Kirschner, M. 1984. Dynamic instability of microtubule growth. Nature, 31, 237-242.

Moirand, R., Galvao, F., Dondé, C. 2019. Pramipexole and Selegiline Combination Therapy in a Case of Treatment-Resistant Depression. Journal of clinical psychopharmacology 39: 6 684–685.

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, 69:2 773–779.

Moon, Y., Sung, J.H., An, R., Hernandez, M.E., Sosnoff, J.J., 2016. Gait variability in people with neurological disorders: A systematic review and meta-analysis. Human movement science, 47, 197–208.

Morell P. 1984. A correlative synopsis of the leukodystrophies. Neuropediatrics, 15, 62–65

Neef, C., van Laar, T. 1999. Pharmacokinetic-pharmacodynamic relationships of apomorphine in patients with Parkinson's disease. Clinical pharmacokinetics, 37:3, 257–271.

Nilsson, J., Thorstensson, A., Halbertsma, J. 1985. Changes in leg movements and muscle activity with speed of locomotion and mode of progression in humans. Acta physiologica Scandinavica, 123: 4, 457–475.

Noga, B.R., Kriellaars, D.J., Brownstone, R.M., Jordan, L.M., 2003. Mechanism for activation of locomotor centers in the spinal cord by stimulation of the mesencephalic locomotor region. Journal of Neurophysiology, 90, 1464–1478.

Noga, B. R., Whelan, P. J. 2022. The mesencephalic locomotor region: beyond locomotor control. Frontiers in neural circuits, 16, 884785.

Nogales, E., 2000. structural insights into microtubule function. Annual Review of Biochemistry, 69, 277–302.

Nahhas, N., Conant, A., Hamilton, E., Curiel, J., Simons, C., van der Knaap, M., Vanderver, A. 2016. TUBB4A-Related Leukodystrophy. In M. P. Adam, Gene Reviews. University of Washington, Seattle.

O’Connor, L.T., Goetz, B.D., Couve, E., Song, J., Duncan, I.D., 2000. Intracellular distribution of myelin protein gene products is altered in oligodendrocytes of the taiep rat. Molecular and Cellular Neuroscience, 16, 396–407.

Okubo, K., & Nagahama, Y. 2008. Structural and functional evolution of gonadotropin-releasing hormone in vertebrates. Acta physiologica, 193, 3–15.

Olvera-Sandoval, C., Betanzos-Cabrera, G., Casillas-Peñuelas, R., Quintanar, J.L., 2018. Changes in body composition and mRNA expression of ghrelin and lipoprotein lipase in rats treated with leuprolide acetate, a GnRH agonist. Experimental and therapeutic medicine, 15, 592–598.

Ondo, W., Hunter, C., Almaguer, M., Gancher, S., Jankovic, J. (1999). Efficacy and tolerability of a novel sublingual apomorphine preparation in patients with fluctuating Parkinson's disease. Clinical neuropharmacology, 22, 1-4.

Palliyath, S., Hallett, M., Thomas, S. L., Lebiedowska, M. K. 1998. Gait in patients with cerebellar ataxia. Movement disorders: official journal of the Movement Disorder Society, 13:6, 958-964.

Park, K., Hoff, K. J., Wethekam, L., Stence, N., Saenz, M., Moore, J. K. 2021. Kinetically Stabilizing Mutations in Beta Tubulins Create Isotype-Specific Brain Malformations. Frontiers in cell and developmental biology, 9, 765992.

Parker, A. J., Clarke, K. A. 1990. Gait topography in rat locomotion. Physiology and behavior, 48, 41–47.

Pérez-Fernández, J., Stephenson-Jones, M., Suryanarayana, S.M., Robertson, B., Grillner, S., 2014. Evolutionarily conserved organization of the dopaminergic system in lamprey: SNc/VTA afferent and efferent connectivity and D2 receptor expression. Journal of Comparative Neurology, 522, 3775–3794.

Perrett, R. M., McArdle, C. A. 2013. Molecular mechanisms of gonadotropin-releasing hormone signaling: integrating cyclic nucleotides into the network. Frontiers in endocrinology, 4:180, 1-15.

Quintanar, J. L., Díaz-Galindo, C., Calderón-Vallejo, D., Hernández-Jasso, I., Rojas, F., Medina-Aguiñaga, D., Olvera-Sandoval, C. 2018. Neurological improvement in patients with chronic spinal cord injury treated with leuprolide acetate, an agonist of GnRH. Acta neurobiologiae experimentalis, 78: 4, 352–357

Raymond, G. V., Moser, A. B., Fatemi, A. 1999. X-Linked Adrenoleukodystrophy. In M. P. Adam., Gene Reviews. University of Washington, Seattle.

Rao, A. K., Muratori, L., Louis, E. D., Moskowitz, C. B., Marder, K. S. 2008. Spectrum of gait impairments in presymptomatic and symptomatic Huntington's disease. Movement Disorders, 23: 8, 1100–1107.

Ribarič S. 2012. The pharmacological properties and therapeutic use of apomorphine. Molecules, 17: 5, 5289–5309.

Rolland, A.S., Tandé, D., Herrero, M.T., Luquin, M.R., Vazquez-Claverie, M., Karachi, C., Hirsch, E.C., François, C., 2009. Evidence for a dopaminergic innervation of the pedunculopontine nucleus in monkeys, and its drastic reduction after MPTP intoxication. Journal of Neurochemistry, 110, 1321–1329.

Romero, D. M., Bahi-Buisson, N., and Francis, F. 2018. Genetics and mechanisms leading to human cortical malformations. Seminars in cell and developmental biology, 76, 33–75.

Roncagliolo, M., Benítez, J., Eguibar, J. R. 2000. Progressive deterioration of central components of auditory brainstem responses during postnatal development of the myelin mutant taiep rat. Audiology and neuro-otology, 5, 267–275.

Roseberry, T.K., Lee, A.M., Lalive, A.L., Wilbrecht, L., Bonci, A., Kreitzer, A.C., 2016. Cell type specific control of brainstem locomotor circuits by basal ganglia. Cell, 164, 526–537.

Rubenstein, J.L.R., 2003. Cell migration in the forebrain. Annual Review in Neuroscience, 26, 441–483.

Rybak, I. A., Shevtsova, N. A., Lafreniere-Roula, M., McCrea, D. A. 2006. Modelling spinal circuitry involved in locomotor pattern generation: insights from deletions during fictive locomotion. The Journal of physiology, 577, 617–639.

Ryczko, D., Cone, J. J., Alpert, M. H., Goetz, L., Auclair, F., Dubé, C., Parent, M., Roitman, M. F., Alford, S., Dubuc, R. 2016. A descending dopamine pathway conserved from basal vertebrates to mammals. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 113: 17, 2440–2449

Ryczko, D., Grätsch, S., Alpert, M.H., Cone, J.J., Kasemir, J., Ruthe, A., Beauséjour, P.A., Auclair, F., Roitman, M.F., Alford, S., Dubuc, R., 2020. Descending dopaminergic inputs to reticulospinal neurons promote locomotor movements. Journal of Neuroscience, 40, 8478–8490.

Salman, M. S. 2018. Epidemiology of cerebellar diseases and therapeutic approaches. The Cerebellum, 17, 4-11.

Sase, S., Almad, A. A., Boecker, C. A., Guedes-Dias, P., Li, J. J., Takanohashi, A., Vanderver, A. 2020. TUBB4A mutations result in both glial and neuronal degeneration in an H-ABC leukodystrophy mouse model. Elife, 9, e52986.

Sethi, D., Bharti, S., Prakash, C. (2022). A comprehensive survey on gait analysis: History, parameters, approaches, pose estimation, and future work. Artificial Intelligence in Medicine, 129, 102314.

Schally, A. V., Arimura, A., Baba, Y., Nair, R. M., Matsuo, H., Redding, T. W., Debeljuk, L. 1971. Isolation and properties of the FSH and LH-releasing hormone. Biochemical and biophysical research communications 43, 393–399.

Schally, A. V., Comaru-Schally, A. M., Plonowski, A., Nagy, A., Halmos, G., Rekasi, Z. 2000. Peptide analogs in the therapy of prostate cancer. The Prostate 45, 158–166.

Schmidt, J. L., Pizzino, A., Nicholl, J., Foley, A., Wang, Y., Rosenfeld, J. A., Mighion, L., Bean, L., da Silva, C., Cho, M. T., Truty, R., Garcia, J., Speare, V., Blanco, K., Powis, Z., Hobson, G. M., Kirwin, S., Krock, B., Lee, H., Deignan, J. L., Vanderver, A. 2020. Estimating the relative frequency of leukodystrophies and recommendations for carrier

screening in the era of next-generation sequencing. American journal of medical genetics 182: 8, 1906–1912.

Sharples, S.A., Burma, N.E., Borowska-Fielding, J., Kwok, C.H.T., Eaton, S.E.A., Baker, G.B., Jean-Xavier, C., Zhang, Y., Trang, T., Whelan, P.J., 2020. A dynamic role for dopamine receptors in the control of mammalian spinal networks. Sciences Report 10, 1-23.

Sibley DR, Monsma FJ Jr., 1992 .Molecular biology of dopamine receptors. Trends Pharmacological Science, 13:2, 61-9

Simons, M., & Nave, K. A. 2016. Oligodendrocytes: myelination and axonal support. Cold Spring Harbor perspectives in biology, 8, 020479.

Smith, C. M., Cooksey, E., Duncan, I. D. 2013. Myelin loss does not lead to axonal degeneration in a long-lived model of chronic demyelination. Journal of Neuroscience, 33: 6, 2718–2727.

Song, J., O'Connor, L.T., Yu, W., Baas, P.W., Duncan, I.D., 1999. Microtubule alterations in cultured taiep rat oligodendrocytes lead to deficits in myelin membrane formation. Journal of Neurocytology, 28, 671–684.

Stamatiades, G. A., Kaiser, U. B. 2018. Gonadotropin regulation by pulsatile GnRH: signaling and gene expression. Molecular and cellular endocrinology 463, 131–141.

Steeves, J. D., Jordan, L. M. 1980. Localization of a descending pathway in the spinal cord which is necessary for controlled treadmill locomotion. Neuroscience letters, 20: 3 283-288.

Stuart, D. G., Hultborn, H. 2008. Thomas Graham Brown 1882-1965, Anders Lundberg 1920 and the neural control of stepping. In Brain Research Reviews, 59, 74–95.

Surmeier, D. J., Bargas, J., Hemmings, H. C., Jr, Nairn, A. C., Greengard, P. 1995. Modulation of calcium currents by a D1 dopaminergic protein kinase/phosphatase cascade in rat neostriatal neurons. *Neuron*, *14*:2, 385–397

Suzuki, Kunihiko, Suzuki, Kinuko, 1995. The twitcher mouse: a model for Krabbe disease and for experimental therapies. Brain Pathology, 5, 249–258.

Takakusaki, K. 2013. Neurophysiology of gait: from the spinal cord to the frontal lobe. Movement Disorders 28: 11, 1483-1491.

Terada, N., Kidd, G.J., Kinter, M., Bjartmar, C., Moran-Jones, K., Trapp, B.D., 2005. βIV tubulin is selectively expressed by oligodendrocytes in the central nervous system. Glia 50, 212–222.

Tischfield, A., B.N., 2010. Human TUBB3 mutations perturb microtubule dynamics, kinesin interactions, and axon guidance. Cell 140, 74–87.

Tischfield, M. A., Engle, E. C. 2010. Distinct α-and β-tubulin isotypes are required for the positioning, differentiation and survival of neurons: new support for the 'multi-tubulin'hypothesis. Bioscience reports, 30:5, 319-330.

Tovey, C. A., Conduit, P. T. 2018. Microtubule nucleation by γ-tubulin complexes and beyond. Essays in biochemistry 62: 6, 765-780.

Uchimura, N., Higashi, H., Nishi, S. 1986. Hyperpolarizing and depolarizing actions of dopamine via D-1 and D-2 receptors on nucleus accumbens neurons. *Brain research*, *375*:2, 368–372

van der Knaap, M. S., Bugiani, M. 2017. Leukodystrophies: a proposed classification system based on pathological changes and pathogenetic mechanisms. Acta neuropathologica, 134: 3, 351–382.

van der Knaap, M. S., Schiffmann, R., Mochel, F., & Wolf, N. I. 2019. Diagnosis, prognosis, and treatment of leukodystrophies. The Lancet. Neurology, 18: 10, 962–972.

Vanderver, A., Prust, M., Tonduti, D., Mochel, F., Hussey, H. M., Helman, G., Garbern, J., Eichler, F., Labauge, P., Aubourg, P., Rodriguez, D., Patterson, M. C., Van Hove, J. L., Schmidt, J., Wolf, N. I., Boespflug-Tanguy, O., Schiffmann, R., van der Knaap, M. S., GLIA Consortium 2015. Case definition and classification of leukodystrophies and leukoencephalopathies. Molecular genetics and metabolism, 114: 4, 494-500.

Vinueza Veloz, M. F., Zhou, K., Bosman, L. W. J., Potters, J. W., Negrello, M., Seepers, R. M., Strydis, C., Koekkoek, S. K. E., De Zeeuw, C. I. 2015. Cerebellar control of gait and interlimb coordination. Brain Structure and Function, 220: 6, 3513–3536

Weiner, D. M., Levey, A. I., Sunahara, R. K., Niznik, H. B., O'Dowd, B. F., Seeman, P., Brann, M. R. 1991. D1 and D2 dopamine receptor mRNA in rat brain. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 88: 5, 1859–1863.

Wenger, D. A., Rafi, M. A., Luzi, P., Datto, J., Costantino-Ceccarini, E. 2000. Krabbe disease: genetic aspects and progress toward therapy. Molecular genetics and metabolism, 70, 1–9.

Werkman, T. R., Glennon, J. C., Wadman, W. J., McCreary, A. C. 2006. Dopamine receptor pharmacology: interactions with serotonin receptors and significance for the etiology and treatment of schizophrenia. CNS and neurological disorders drug targets 5: 1, 3–23.

Wiche, G., 1998. Role of plectin in cytoskeleton organization and dynamics. Journal of Cell Science, 111, 2477–2486.

Wickstead, B., Gull, K. 2011. The evolution of the cytoskeleton. The Journal of cell biology, 194: 4, 513–525

Wilson, A.C., Meethal, S.V., Bowen, R.L., Atwood, C.S., 2007. Leuprolide acetate: A drug of diverse clinical applications. Expert opinion on investigational drugs, 16, 1851–1863.

Wilson, C. J., Kawaguchi, Y. 1996. The origins of two-state spontaneous membrane potential fluctuations of neostriatal spiny neurons. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, *16*:7, 2397–2410.

Wiese, C., Zheng, Y. 2000. A new function for the γ-tubulin ring complex as a microtubule minus-end cap. Nature cell biology, 2:6, 358-364.

Wolf, N. I., Ffrench-Constant, C., van der Knaap, M. S. 2021. Hypomyelinating leukodystrophies - unravelling myelin biology. Nature reviews. Neurology 17, 88–103.

Yan, W., Cheng, L., Wang, W., Wu, C., Yang, X., Du, X., Ma, L., Qi, S., Wei, Y., Lu, Z., Yang, S., Shao, Z. 2020. Structure of the human gonadotropin-releasing hormone receptor GnRH1R reveals an unusual ligand binding mode. Nature communications, 11, 52-87.

Yang, S. N., Lu, F., Wu, J. N., Liu, D. D., Hsieh, W. Y.1999. Activation of gonadotropin-releasing hormone receptors induces a long-term enhancement of excitatory postsynaptic currents mediated by ionotropic glutamate receptors in the rat hippocampus. Neuroscience letters, 260, 33-36.

Yen, S. S., Tsai, C. C. 1971. The biphasic pattern in the feedback action of ethinyl estradiol on the release of pituitary FSH and LH. The Journal of clinical endocrinology and metabolism, 33: 6, 882–887.

Zhu, H., Clemens, S., Sawchuk, M., Hochman, S., 2007. Expression and distribution of all dopamine receptor subtypes (D1-D5) in the mouse lumbar spinal cord: A real-time polymerase chain reaction and non-autoradiographic in situ hybridization study. Neuroscience, 149, 885–897.

Anexo

ESTANCIAS DE INVESTIGACIÓN:

2023-05-08 - 2023-05-17

Universidad de Guanajuato Académica

Estancia de Doctorado en Ciencias Fisiológicas

- Capacitación para la realización de las actividades de laboratorio:
    - Técnicas de disección para diferentes áreas del SNC
    - Capacitación en el uso y manejo de equipos para anestesia inhalada en roedores
    - Técnica de administración de fármacos en el SNC mediante el uso de micropipetas de borosilicato
    - Inmunofluorescencia en diferentes áreas del SNC de rata

CURSOS Y CERTIFICACIONES

- Gestión de referencias electrónicas en Elsevier Mendeley – Curso · 2024 – UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA / UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE TLAXCALA
- Nutrición Materna: Su influencia en las futuras generaciones – Curso · 2020

PRODUCCIÓN CIENTÍFICA Y HUMANISTA

ARTÍCULOS

"LONGITUDINAL EVALUATION OF CEREBELLAR SIGNS OF H-ABC TUBULINOPATHY IN A PATIENT AND IN THE TAIEP MODEL"

- Revista: FRONTIERS IN NEUROLOGY
- Año: 2021
- Objetivo: Investigación

- Estado: Publicado
- Rol de participación: Co-autor(a)
- ISSN electrónico: 16642295
- DOI: 10.3389/fneur.2021.702039
- Autores: Milvia Iris Alata Tejedo, Arturo Gonzalez Vega, Valeria Piazza, Anke Paula Ingrid Kleinert Altamirano, Carmen Cortes, Juan C Ahumada Juarez, Jose Ramon Eguibar, Alejandra Lopez Juarez, Victor H Hernandez

CAPÍTULO
"THE MYELIN MUTANT TAIEP RAT AS A MODEL FOR DEVELOPMENTAL BRAIN DISORDERS"

- Editorial: ELSEVIER
- Año: 2021
- Objetivo: Investigación
- Título del capítulo: The myelin mutant taiep rat as a model for developmental brain disorders
- Número del capítulo: 49
- Estado: Publicado
- Rol de participación: Co-autor(a)
- DOI: 10.1016/B978-0-12-817988-8.00049-X
- ISBN: 978-012817988-8
- Autores: Jose Ramon Eguibar, Carmen Cortes, Juan Carlos Ahumada Juarez, Valeria Piazza, Victor Hugo Hernandez Gonzalez

PARTICIPACIÓN EN CONGRESOS

- **LXIII CONGRESO NACIONAL DE LA SOCIEDAD MEXICANA DE CIENCIAS FISIOLÓGICAS**
  "Efecto de la quipacina en el patrón de la marcha de la rata taiep: un modelo de tubulinopatía."
  Fecha: 2020-11-13, México.

- **LXV CONGRESO NACIONAL DE LA SOCIEDAD MEXICANA DE CIENCIAS FISIOLÓGICAS**
  "Effects of leuprolide acetate in a model with H-ABC leukodystrophy, the taiep rat."
  Fecha: 2022-10-07, México.

- **NEUROSCIENCE ANNUAL MEETING 2022**
  "Effects of leuprolide on the gait pattern in a tubulinopathy model: the taiep rat."
  Fecha: 2022-11-6, Estados Unidos de América.

- **LXVI CONGRESO NACIONAL DE LA SOCIEDAD MEXICANA DE CIENCIAS FISIOLÓGICAS**
  "Efecto de la -(-) quinpirole en el patrón de la marcha de un modelo de tubulinopatía: la rata taiep."
  Fecha: 2023-11-17, México.

- **NEUROSCIENCE ANNUAL MEETING 2023**
  "Effects of leuprolide acetate on gait parameters in a model of H-ABC disease: the taiep rat."
  Fecha: 2023-11-13, Estados Unidos de América.

- **XLIX REUNIÓN DE LA ACADEMIA DE INVESTIGACIÓN EN BIOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN**
  "Dimorfismo sexual de la actividad locomotora en un modelo de tubulinopatía TUBB4A: la rata *taiep*."
  Fecha: 2024-07-21, México.

- **LXVII CONGRESO NACIONAL DE LA SOCIEDAD MEXICANA DE CIENCIAS FISIOLÓGICAS**
  "Efecto de la apomorfina en el patrón de la marcha en un modelo de tubulinopatía: la rata taiep."
  Fecha: 2024-09-04, México.
