



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA

SECRETARIA DE SALUD  
INSTITUTO NACIONAL DE REHABILITACIÓN  
Luis Guillermo Ibarra Ibarra  
ESPECIALIDAD EN:  
**GENÉTICA MEDICA**

ANÁLISIS DE LONGITUD RELATIVA DEL TELÓMERO EN  
LEUCOCITOS DE PACIENTES MEXICANOS CON DIAGNÓSTICO DE  
ATAXIA ESPINOCEREBELOSA AUTOSÓMICO DOMINANTE

T E S I S  
PARA OBTENER EL GRADO DE  
MÉDICO ESPECIALISTA EN:  
**GENÉTICA MEDICA**

**P R E S E N T A:**  
Nykteja Dhamar Marin Rios

PROFESOR TITULAR  
Dra. en C. María de la Luz Arenas Sordo

ASESORES DE TESIS:  
Dr. Norberto Leyva García  
Dr. en C. Jonathan Javier Magaña Aguirre  
Dr. en C. Yessica Sarai Tapia Guerrero

Ciudad de México

Junio 2024





Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

**Análisis de longitud relativa del telómero en leucocitos de  
pacientes mexicanos con diagnóstico de ataxia  
espinocerebelosa autosómico dominante**



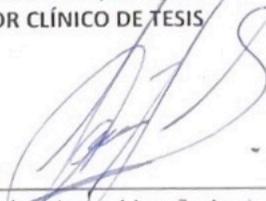
---

Dra. En C. María de la Luz Arenas Sordo  
**PROFESOR TITULAR**



---

Dr. Norberto Leyva García  
**ASESOR CLÍNICO DE TESIS**



---

Dr. en C. Jonathan Javier Magaña Aguirre  
**ASESOR METODOLÓGICO DE TESIS**



---

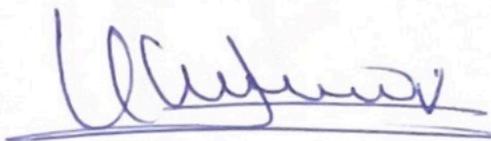
Dr. en C. Yessica Sarai Tapia Guerrero  
**ASESOR METODOLÓGICO DE TESIS**

Análisis de longitud relativa del telómero en leucocitos de pacientes mexicanos con diagnóstico de ataxia espinocerebelosa autosómico dominante.



---

DRA. LYDIA ESTELA ZERÓN GUTIÉRREZ  
ENCARGADA DE DESPACHO DE LA DIRECCIÓN  
DE EDUCACIÓN EN SALUD



---

DR. HUMBERTO VARGAS FLORES  
SUBDIRECCIÓN DE EDUCACIÓN MÉDICA



---

DR. ROGELIO SANDOVAL VEGA GIL  
JEFE DEL SERVICIO DE EDUCACIÓN MÉDICA DE POSGRADO

## **Dedicatoria**

A mi madre, cuyo amor, apoyo, esfuerzo y sacrificio me ha impulsado todos los días, a lo largo de este viaje académico. Gracias por ser un pilar de fortaleza y un ejemplo para mí.

A mi abuela, por ser siempre una fuente de inspiración.

Con todo mi amor y gratitud.

## **Agradecimientos**

Quiero agradecerme a mí misma por la dedicación, esfuerzo y perseverancia que he puesto en cada paso de este viaje académico. Agradezco mi capacidad para superar obstáculos y mantenerme enfocada en mis metas.

A mis profesores, por su valiosa orientación y enseñanzas, que han sido indispensables para mi crecimiento académico y profesional, dejando una huella imborrable en mi formación.

A mi familia, por su amor incondicional, apoyo constante y palabras de aliento en los momentos difíciles. Gracias por creer en mí y por ser mi mayor fuente de motivación.

A mis amigos, por su comprensión, paciencia y por estar siempre a mi lado, brindándome su apoyo y compañía. Gracias por los momentos de alegría y por ayudarme a mantener el equilibrio durante este viaje académico.

A mis compañeros por los momentos compartidos y el apoyo mutuo. Gracias por hacer de esta experiencia algo inolvidable y por estar siempre dispuestos a ayudar.

Índice	
Resumen	8
Introducción	10
Objetivos	13
Pregunta de investigación	14
Hipótesis	15
Marco teórico	16
• Ataxia	16
• Clasificación clínica y genética	17
• Epidemiología	20
• El cerebelo	28
• Manifestaciones clínicas	34
○ Ataxia espinocerebelosa tipo 2	34
○ Ataxia espinocerebelosa tipo 3	36
○ Ataxia espinocerebelosa tipo 7	38
• Bases moleculares	
○ Genes relacionados con ataxias espinocerebelosas autosómicas dominantes	42
▪ ATXN2	42
▪ ATXN3	43
▪ ATXN7	44
○ Tractos de poliglutamina	45

○ Expansión CAG	47
○ Anticipación	51
○ Agregación proteína	52
○ Disfunción celular	56
• Neurodegeneración y senescencia	59
• Acortamiento telomérico en enfermedades	66
Justificación	70
Planteamiento del problema	71
Identificación y operacionalización de variables	73
Material y métodos	74
• Diseño de estudio	74
• Población de estudio	74
• Tamaño muestral	76
• Metodología	77
• Consideraciones éticas	81
• Análisis y métodos estadísticos	82
Resultados	83
Discusión	98
Conclusión	104
Bibliografía	106
Anexos	118

## Resumen

Las ataxias espinocerebelosas (SCA) tipo 2, 3 y 7 forman un grupo de trastornos neurodegenerativos caracterizados por una notable heterogeneidad genética y una expresividad variable haciendo compleja su evaluación y seguimiento. La relación entre el acortamiento telomérico y la senescencia celular está estrechamente vinculada a la dinámica de la longitud de los telómeros, dicho evento se relaciona con el envejecimiento y pueden tener implicaciones en diversas enfermedades neurodegenerativas.

El estudio sobre la relación entre enfermedades neurodegenerativas y la variación en la longitud de los telómeros es limitado. Por ello, este protocolo se centró en comparar la longitud relativa de los telómeros (RTL) utilizando qPCR con el método de Cawthon en pacientes con diagnóstico de SCA2, SCA3 y SCA7 frente a individuos neurológicamente sanos en población mexicana. Además, se analizó la relación entre la RTL y el fenotipo de SCA2 y SCA7, donde se encontró un acortamiento telomérico con diferencia estadísticamente significativa, respectivamente. En contraste en la SCA3, reportamos un valor

mayor comparado con los controles, sugiriendo así un alargamiento telomérico.

De igual manera, se evaluó la correlación de la RTL con la edad del paciente, el número de repetidos CAG y la evolución de la enfermedad en pacientes con SCA donde no se observó una diferencia estadísticamente significativa.

Los resultados de este proyecto de investigación marcan un punto de referencia con respecto a la senescencia en enfermedades polyQ. Podría considerarse como biomarcador para progresión de la enfermedad, se requieren muestras poblacionales más grandes, así como estudios longitudinales. Dado que la RTL se asocia indirectamente a una respuesta inflamatoria y daño oxidativo, permitiría una mayor comprensión y mejor seguimiento clínico de los pacientes.

*Palabras clave:*

Ataxia espinocerebelosa, telomero, senescencia, longitud relativa de los telómeros (RTL), Poliglutamina.

## **Introducción**

La ataxia, cuyo origen etimológico alude "ausencia de orden", se manifiesta en los pacientes como un síndrome de incoordinación motora. Principalmente, engloba alteraciones en la marcha y el control del movimiento voluntario, siendo secundario a una disfunción del cerebelo y sus conexiones. Además, los pacientes afectados suelen presentar otros síntomas como alteraciones oculomotoras, disfagia, disartria o trastornos del sueño (Rosenthal, 2022). Su clasificación es conforme a la etiología, edad de inicio, modo de herencia y otras manifestaciones asociadas; según su etiología puede clasificarse como genéticas o adquiridas. De acuerdo a su clasificación anatómica, la más comúnmente relacionada a una etiología hereditaria son las ataxias espinocerebelosas (SCA), de estas las que presentan una herencia autosómica dominante comprenden más de 40 subtipos de SCA (Klockgether *et al.*, 2019).

Dentro de la población mexicana, las ataxias espinocerebelosas (SCA) más comunes son la SCA2, que se observa en el 43% del total de familias afectadas, seguida de la SCA3 con un 12%, y la SCA7 con un 7%. Se ha observado que la frecuencia de esta

última está relacionada con un efecto fundador local (Klockgether *et al.*, 2019, Alonso *et al.*, 2007). Estos tres tipos de ataxia se encuentran causadas por la expansión de repetidos del trinucleótido CAG el cual codifica para glutamina. Las SCAs por poliglutamina (polyQ) comprenden un grupo de trastornos neurodegenerativos en donde los tractos alargados de glutaminas adyacentes alteran la conformación de las proteínas nativas induciendo neurotoxicidad (Felício *et al.*, 2023).

El proceso del envejecimiento a nivel molecular, juega un papel crucial en el desarrollo de diversas enfermedades relacionadas con la edad, especialmente en el caso de las enfermedades neurodegenerativas, debido a la acumulación de senescencia celular. Aunque las causas de este proceso aún no se comprenden completamente, han surgido varias hipótesis, como el acortamiento de los telómeros, la activación de oncogenes, el daño del DNA, alteraciones en la cromatina y la exposición al estrés (Li *et al.*, 2021; Liu, 2022). El acortamiento telomérico es un proceso continuo que ocurre en las células de tejidos como la piel, los riñones, el hígado, los vasos sanguíneos y los leucocitos periféricos; se considera que este fenómeno es un indicador de la edad celular. Dado que los leucocitos son de mayor

accesibilidad, la medición de la longitud de los telómeros de los leucocitos (LTL) se ha utilizado en estudios sobre envejecimiento y neurodegeneración, puesto que las longitudes de los telómeros de diferentes tejidos en un mismo individuo se correlacionan estadísticamente (Scarabino *et al.*, 2022).

El enfoque principal del proyecto radica en el entendimiento de la etiopatología de las SCAs tipo 2, 3 y 7 debido a su alta prevalencia en la población mexicana. Se analizaron las implicaciones moleculares derivadas de la expansión de polyQ y la correlación con las variaciones en la longitud telomérica. Para ello, llevaremos a cabo un análisis de la longitud relativa del telómero en leucocitos de pacientes mexicanos con diagnóstico de SCA 2, 3 y 7 mediante el uso de qPCR. Dado que este podría actuar como un marcador indirecto de la respuesta inflamatoria y el estrés oxidativo relacionados con la progresión de la enfermedad, también podría desempeñar un papel como indicador en las etapas tempranas de la enfermedad y como objetivo terapéutico para intervenciones futuras utilizando técnicas como CRISPR/Cas9 y oligonucleótidos antisentido (ASO) (Scarabino *et al.*, 2022).

## **Objetivos:**

### ***Objetivo general:***

Analizar la longitud relativa del telómero en leucocitos de pacientes mexicanos con diagnóstico de ataxia espinocerebelosa tipo 2, 3 y 7 mediante el uso de qPCR.

### ***Objetivos específicos:***

- Realizar un análisis clínico molecular en una cohorte de pacientes que cuenten con el diagnóstico molecular previo.
- Análisis de longitud relativa del telómero en leucocitos y realizar comparación de RTL de los pacientes contra individuos sin expansión de repetidos CAG.
- Evaluar si existe una correlación entre la edad, el número de repetidos CAG, tiempo de evolución de la enfermedad de los pacientes con el valor de RTL.

### **Pregunta de investigación**

¿Existe una diferencia significativa en la longitud relativa de los telómeros en leucocitos entre pacientes diagnosticados con ataxia espinocerebelosa y controles neurológicamente sanos, al utilizar qPCR como método de análisis?

**Hipótesis:**

Al realizar el análisis de longitud relativa de los telómeros en leucocitos mediante la realización de qPCR se espera observar una diferencia en el valor de RTL en los pacientes con diagnóstico de ataxia espinocerebelosa en comparación con los controles neurológicamente sanos.

## **Marco Teórico**

### **Ataxia**

El origen de la palabra "ataxia" se remonta al griego, donde "a" significa "sin" y "taxia" se refiere a "orden", por lo que literalmente significa "falta de orden" describiendo así una falta de coordinación en los movimientos (Pilotto *et al.*, 2024).

Las ataxias constituyen un conjunto de enfermedades neurodegenerativas que ocasionan principalmente la degeneración de los circuitos relacionados tanto con el cerebelo como con áreas extracerebelosas. Este proceso provoca una deficiencia en la coordinación motora que altera diversos aspectos del movimiento de forma crónica y progresiva. Estos incluyen el equilibrio, la marcha, la coordinación de las extremidades, la destreza para movimientos finos, así como otras manifestaciones clínicas como disartria, disfagia, alteraciones oculomotoras, deterioro cognitivo, manifestaciones psiquiátricas, fatiga, problemas nutricionales, trastornos del sueño, entre otros (Pilotto *et al.*, 2024; Huebra *et al.*, 2019).

La variedad de síntomas que caracterizan a las ataxias tiene un impacto significativo en la calidad de vida de los pacientes, lo que

plantea diversos desafíos en su tratamiento y ofrece oportunidades para mejorar la atención médica que reciben.

### **Clasificación clínica y genética**

En cuanto a su clasificación existen distintas maneras de acuerdo a su etiología, se pueden dividir en genéticas y adquiridas. Cuando se realiza un abordaje diagnóstico siempre debe tenerse en cuenta las causas no genéticas como desordenes vasculares cuando hablamos de isquemia o hemorragia cerebral, medicamentos o toxinas como carbamazepina, metronidazol, alcohol, tolueno, pesticidas; infecciones víricas como Epstein-Barr, herpes, influenza A y B, bacterianas como por *Listeria monocytogenes*; deficiencia vitamínica u hormonal, etc (Coarelli *et al.*, 2023).

Otra manera de ser clasificadas es según la principal región anatómica afectada, en tres tipos: a. ataxia sensorial, que resulta de la neuropatía de fibras pequeñas o grandes en los pies; b. ataxia vestibular, provocada por cambios o disfunción en los canales semicirculares, órganos otolíticos o ambos; y c. ataxia cerebelosa, producida por cambios o disfunción del cerebelo. Sin

embargo, es común que los pacientes presenten signos y síntomas que corresponden a más de un tipo de ataxia, originando que llegue a ser difícil distinguir clínicamente entre ellas (Rosenthal, 2022).

Para su clasificación genética debido a la gran variedad de síntomas y diferencias de las ataxias hereditarias, su categorización se centra en el patrón de herencia, como las ataxias cerebelosas autosómicas dominantes (ADCA), comúnmente referidas como ataxia espinocerebelosa (SCA), las ataxias cerebelosas autosómicas recesivas (ARCA) y las ataxias ligadas al cromosoma X (Pilotto *et al.*, 2024).

En lo referente a la clasificación de las ataxias cerebelosas autosómicas dominantes en 1983, Anita Harding describió tres tipos fenotípicos: el tipo I de ADCA, que se caracteriza por una ataxia cerebelosa progresiva acompañada de signos y síntomas extracerebelosos, siendo la atrofia olivopontocerebelosa el principal hallazgo patológico; el tipo II de ADCA, caracterizada por ataxia cerebelosa y degeneración retiniana; y el tipo III de ADCA, que implica una ataxia cerebelosa relativamente aislada (Mattei *et al.*, 2023). Se han identificado más de 40 subtipos de

ADCA, cada subtipo se denomina SCA seguido de un número; los números son progresivos y representan el orden cronológico en el que se identificó el locus de la enfermedad o el gen causante del subtipo (Klockgether *et al.*, 2019).

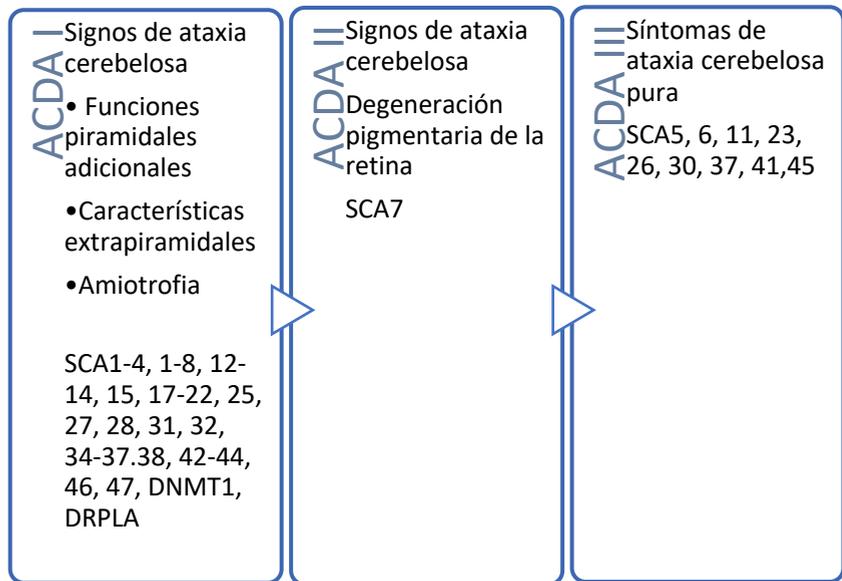


Figura 1. Clasificación de Harding de la ataxia espinocerebelosa, que detalla la clasificación de SCA según la presentación de los síntomas y las SCA asociadas con esa clasificación. Modificada de Sullivan R *et al.* 2019.

Por otro lado, las ataxias cerebelosas también se clasifican como enfermedades por tracto de poliglutamina (polyQ-SCA), siendo un conjunto de trastornos neuromusculares autosómicos

dominantes causados por la expansión de repetidos del trinucleótido CAG en la región codificante de distintos genes. Esta expansión anormal de los repetidos CAG provoca la síntesis de proteínas mutantes tóxicas que contienen un segmento de polyQ, donde el tamaño de la expansión juega un papel importante en determinar la edad de inicio, la severidad y la progresión clínica del trastorno (Gómez *et al.*, 2022; Santos *et al.*, 2023). Las enfermedades por tractos de poliglutamina son responsables de varios tipos de SCA, incluidas SCA1, SCA2, SCA3, SCA6, SCA7, SCA12, SCA17 y atrofia dentatorubral-palidoluisiana (DRPLA) (Linares *et al.*, 2023).

### ***Epidemiología***

Obtener la prevalencia individual de cada subtipo de SCA es un desafío ya que existe un número limitado de estudios epidemiológicos poblacionales de manera global y al mismo tiempo por la heterogeneidad genética. En gran parte de los centros especializados en ataxia, las pruebas moleculares están enfocadas en las polyQ-SCA. Por esta razón, las disparidades en

la accesibilidad a métodos de detección diagnóstica podrían distorsionar los datos de la frecuencia (Klockgether *et al.*, 2019).

Epidemiológicamente, los subtipos de SCA presentan una frecuencia baja a nivel mundial con una prevalencia acumulada de 3 por 100.000 habitantes (Gómez *et al.*, 2022). Sobre los subtipos más frecuentes, la SCA3 es la forma más frecuente a nivel mundial, encontrándose presente en el 20-50% de las familias afectadas por SCA, en segundo lugar la SCA2 afecta al 13-18%, y la SCA6, afectando al 13-15%. La distribución relativa de los diversos subtipos de SCA exhibe una considerable variabilidad geográfica y étnica, esto debido a que en distintos casos se han descrito efectos fundadores (Klockgether *et al.*, 2019).

Hablando específicamente en población mexicana de las formas más frecuentes es la SCA2, que se observa en el 43% del total de familias afectadas, seguida de la SCA3 en un 12% y la SCA7 con un 7%. En esta última se ha observado que la frecuencia de esta se encuentra relacionada con un efecto fundador local (Alonso *et al.*, 2007; Klockgether *et al.*, 2019). Se han registrado efectos fundadores para la SCA2 en la provincia de Holguín en Cuba, en las Indias Occidentales francesas y en la India. En el caso de la

SCA7, se han reportado efectos fundadores en países escandinavos, Sudáfrica y México (Rodríguez-Labrada *et al.*, 2020; Coarelli *et al.*, 2023).

Se identificó una población al sureste de México con una alta prevalencia de SCA7, compuesta por cinco comunidades diferentes distribuidas geográficamente en una región de 1200 km<sup>2</sup>. De igual manera, se identificaron dos movimientos migratorios de personas con ascendencia vasca-francesa desde los Pirineos Orientales hacia México durante el siglo XVIII; originando la formación de asentamientos en la región central de Veracruz. Por su localización, esta área geográfica imposibilitaba la comunicación con otras poblaciones, limitando así la migración humana hacia la región. Esto habría favorecido la propagación de la mutación ancestral únicamente entre los descendientes de los colonos originales, promoviendo así el efecto fundador (Magaña *et al.*, 2013; Rodríguez-Labrada *et al.*, 2020).

En el 2022 se realizó un estudio en población mestiza mexicana donde se propone que los nativos americanos no tuvieron influencia en el origen de las SCAs más prevalentes en México,

reforzando la idea de que la introducción de los alelos patológicos podría estar relacionada con migración europea (Gómez *et al.*, 2022).

Según los hallazgos del proyecto europeo de registro de ataxias espinocerebelosas (EUROSCA), la SCA2 tiende a tener una prevalencia menor que la SCA3 y exhibe una frecuencia comparable a la SCA1 en diversos países europeos. No obstante, la prevalencia de estas entidades varía entre distintos países (De Mattei *et al.*, 2023).

La SCA3 se posiciona como la forma más frecuente de Europa, con una prevalencia relativa aproximada de 33%; teniendo mayor incidencia entre los residentes de las Islas Azores, Portugal. Se observó una prevalencia significativa en el valle del río Tajo, Portugal, donde se estima que la SCA3 afecta a 1 de cada 1,000 habitantes.

Estudios realizados en el 2010 y 2013, con una muestra amplia de 199 familias portuguesas con ADCA, confirmaron que la SCA3 es el subtipo más común de SCA en Portugal, con frecuencias relativas del 57.4% y 51.2%, respectivamente. En otros países europeos, la SCA3 tiene una frecuencia relativa de 42% en

Alemania, 28.2% en Países Bajos y en Francia del 30-35% de los pacientes con ADCA. En España, SCA2 y SCA3 tienen una frecuencia relativa similar de aproximadamente el 15% (De Mattei *et al.*, 2023).

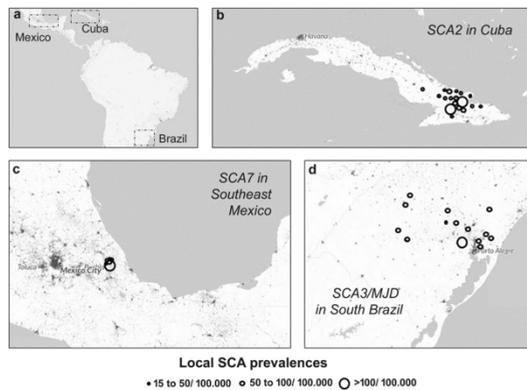


Figura 2. Tasas de prevalencia de grupos de ataxia espinocerebelosa en las Américas y el Caribe. A) Tres principales regiones de interés del continente americano y el Caribe. B) Ataxia espinocerebelosa tipo 2 (SCA2) en municipios cubanos. C) Ataxia espinocerebelosa tipo 7 (SCA7) en el sureste de México (provincia de Veracruz). D) Ataxia espinocerebelosa tipo 3/enfermedad de Machado-Joseph (SCA3/MJD) en el sur de Brasil. Modificada de Rodríguez, 2020.

Durante 2013, en la Ciudad de México, específicamente en el Instituto Nacional de Rehabilitación (INR), se llevaron a cabo estudios para investigar la frecuencia de las distintas SCAs en diversas regiones de México. A través de la implementación

previa de la técnica de PCR multiplex combinada con electroforesis capilar para el diagnóstico molecular de las ataxias espinocerebelosas tipo 1, 2, 3, 6 y 7, se identificó una incidencia notablemente alta de SCA7 en una región central del estado de Veracruz (Cerecedo, 2013, Magaña *et al.* 2014).

Al centrarse en cinco comunidades específicas, resalta que la comunidad de Tlaltetela presenta una prevalencia de 817.14 casos por cada 100,000 habitantes, mientras que Tuzamapan registra una prevalencia de 161.2 casos por cada 100,000 habitantes. Estas cifras sitúan a estas poblaciones como las de mayor incidencia de SCA7 a nivel global, lo que representa una de las series de casos más amplias reportadas mundialmente para este tipo de SCA (Cerecedo, 2013, Magaña *et al.* 2014).

**Tabla 1. Distribución de los pacientes con SCA y prevalencias en comunidades del estado de Veracruz.**

<i>Comunidad</i>	<i>Habitantes</i>	<i>Pacientes SCA2*</i>	<i>Prevalencia</i>	<i>Pacientes SCA7*</i>	<i>Prevalencia</i>
<i>Xalapa</i>	457,928	0	0	3	0.66
<i>Tlaltetela</i>	4,528	6	132.51	37	817.14
<i>Tuzamapa</i>	6,824	0	0	11	161.2
<i>Cosautlán</i>	4,429	0	0	4	90.31
<i>Xico</i>	35,188	3	8.53	0	0
<i>Total</i>	508,897	9	1.74	55	10.63

\* (Número de casos)/(100,000 habitantes)(Población total de todas las comunidades[2010-2012]) Modificada de Magaña, 2014.

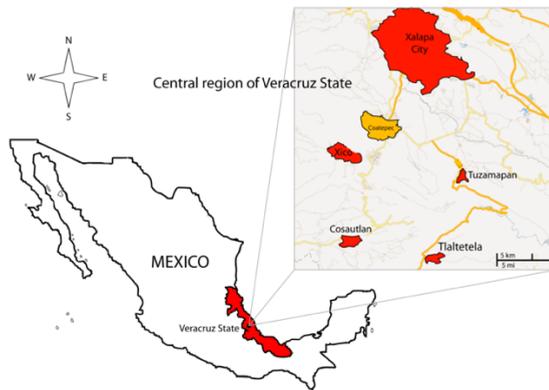


Figura 3. Localización geográfica de las comunidades del estado de Veracruz con casos de SCA7 en población mexicana (Magaña, 2014).

Por otra parte, en cuestión de número de repetidos se ha comprobado que las personas sanas poseen entre 14 y 31 repeticiones del triplete CAG en el gen *ATXN2*, usualmente con una o dos interrupciones de CAA entre estas repeticiones. Por otro lado, los pacientes presentan entre 32 y 200 repeticiones consecutivas de este triplete sin interrupciones (Magaña, 2008). El estudio de la distribución alélica de los repetidos CAG en la población mexicana reveló una frecuencia del 90.8% para el alelo con 22 repeticiones, similar a la observada en otras poblaciones, lo que sugiere una baja divergencia evolutiva de este locus entre diversos grupos poblacionales. Además, se ha encontrado una fuerte correlación entre la frecuencia de alelos normales largos

y la presencia de SCA3 en poblaciones de España, India y Japón (Magaña, 2008; Magaña, 2014).

Tabla 2. Comparación del número de repetidos CAG del gen de la ataxina-2 en diferentes poblaciones. Modificado de Magaña 2008.

Población	Mexicana	Europea	Africana	India
Promedio de repetidos	22.12	22.27	22.28	22.17
Varianza de repetidos	1.24	1.13	1.61	1.16
Rango	13-30	18-29	14-29	18-30
Tamaño de muestra	400	355	300	200

En relación con lo previamente mencionado, los alelos normales largos (LNA) podrían tener un papel relevante en la aparición de nuevos alelos expandidos en ciertos tipos de polyQ SCA. Estos LNA se caracterizan por su alta variabilidad en la secuencia de CAG, especialmente debido a la pérdida de interrupciones de anclaje CAA en el tracto de trinucleótidos bajo un determinado haplotipo. Además, muestran una notable inestabilidad en la línea germinal, lo que sugiere su posible implicación en la generación de alelos patológicos en poblaciones específicas. Este hallazgo es relevante para comprender la manifestación de la SCA en contextos genéticos y geográficos específicos (Rodríguez, 2020).

## El cerebelo

Un factor crucial para el control motor, las operaciones cognitivas y la regulación afectiva es el cerebelo. Además, ejecuta tareas complejas para asegurar la coordinación de nuestra percepción y la interacción con el entorno que nos rodea (Arleo *et al.*, 2024). El cerebelo está situado debajo de la corteza cerebral y a un lado del tronco del encéfalo, estableciendo conexiones extensas con ambas estructuras (Rosenthal, 2022). Contiene aproximadamente el 80.2% de todas las neuronas del cerebro humano, está caracterizado por una corteza, sustancia blanca central y núcleos profundos. La corteza histológicamente se compone de materia gris, que se divide en tres capas distintas: la capa molecular externa, donde se encuentran las células estrelladas externas y células en cesta interna; la capa media, que alberga células de Purkinje; y la capa granular interna, que contiene células granulares (Cundari *et al.*, 2023; Rosenthal, 2022).

El vermis cerebeloso y el núcleo fastigial, que establecen conexiones con los núcleos vestibulares y otros núcleos del tronco encefálico, tienen un papel crucial en el control motor, la

marcha y el equilibrio. Además, se conectan con los núcleos del tronco encefálico vinculados a regiones límbicas y paralímbicas corticales y subcorticales. La información proveniente de la corteza cerebelosa se transmite a través de los núcleos cerebelosos; como el núcleo dentado, los núcleos interpuestos y el núcleo fastigial, enviando señales excitadoras a numerosas regiones del cerebro (Cundari *et al.*, 2023; Rosenthal, 2022)

Un grupo de neuronas en estos núcleos se conecta directamente con el núcleo rojo, el cual a su vez envía señales a otros núcleos encargados del control muscular. Además, estudios recientes han revelado la presencia de neuronas en los núcleos cerebelosos que proyectan hacia las células de Purkinje, formando así la vía núcleo-cortical del cerebelo (Cundari *et al.* 2023). De manera particular, en la corteza cerebral se crean conexiones sinápticas con neuronas en los núcleos pontinos, estas conexiones se extienden hacia células granulares, emitiendo axones en forma de fibras paralelas que se ramifican en estructuras en forma de T, a su vez generando sinapsis con células de Purkinje (Rosenthal, 2022).

Las células de Purkinje reciben entradas de múltiples fibras paralelas, siendo influenciadas por interneuronas en la capa molecular, modulando su actividad. Estas inhiben los núcleos cerebelosos profundos, que a su vez reciben estímulos excitatorios de otras fibras, controlando la actividad excitatoria de los núcleos cerebelosos profundos (Rosenthal, 2022).

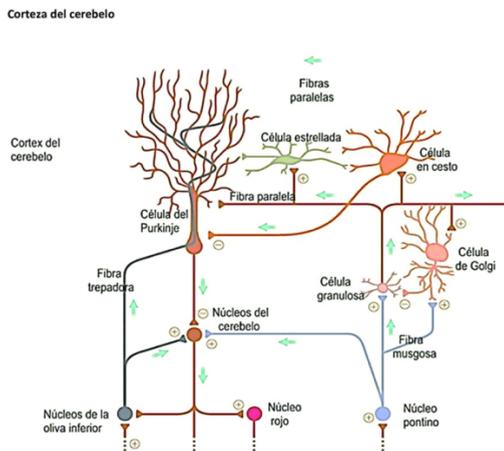


Figura 4. Citoarquitectura del cerebelo y su interrelación con otras estructuras. Se muestra la estrecha retroalimentación de los núcleos profundos (ND) del cerebelo con la oliva inferior, los núcleos pontinos y la fibra de Purkinje que a su vez se retroalimenta de las células granulosas. Modificado de Adserá *et al.* (2021).

El daño a este nivel hace que los movimientos sean, lentos, irregulares y descoordinados, observado en los pacientes con

diagnóstico de ataxia. Así mismo, estudios en ratones demostraron que la alteración de la homeostasis iónica en las neuronas cerebelosas evoca alteraciones motoras. Si existe una disfunción en CP, el cerebelo no puede ejecutar una adecuada regulación a las áreas específicas de la corteza cerebral, lo cual es crucial para llevar a cabo funciones de manera efectiva (Olivito *et al.* 2018).

Los síntomas no motores, como el deterioro cognitivo y los trastornos del estado de ánimo, frecuentemente ocurren en paralelo, sin embargo, a menudo pasan desapercibidos. Incluyen deficiencias en uno o más de los siguientes dominios: funciones ejecutivas, cognición visuoespacial, procesamiento lingüístico y regulación afectiva (Benussi *et al.*, 2023).

En la SCA2 se observa un patrón de atrofia olivopontocerebelosa (OPCA) con pérdida de neuronas en varios núcleos del tronco encefálico y del cerebelo, así como en la corteza cerebelosa, junto con un daño difuso en la sustancia blanca del cerebelo y del tronco encefálico. La enfermedad afecta regiones supratentoriales como la corteza orbitofrontal y temporomesial derecha, así como la corteza sensoriomotora primaria de forma

bilateral. En etapas avanzadas de la enfermedad, se nota una atrofia cortical cerebral (Olivito *et al.* 2018).

En el caso de la SCA3, destaca el aumento del tamaño del cuarto ventrículo, resultado de la atrofia neuronal en el puente basilar y los núcleos cerebelosos profundos, acompañado de la disminución de las fibras pontocerebelosas y los tractos espinocerebelosos. Los análisis postmortem han evidenciado una degeneración de las neuronas dopaminérgicas en la sustancia negra y los núcleos vestibulares. Asimismo, se ha observado la degeneración de las neuronas motoras en los núcleos de los nervios craneales, el núcleo rojo, el núcleo subtalámico, el globo pálido y ciertos núcleos talámicos. En la médula espinal, se pueden identificar áreas de atrofia, como el asta anterior, los ganglios de la raíz dorsal y los núcleos dorsales. En contraste con la mayoría de los otros tipos de SCA, los núcleos olivares y la corteza cerebelosa, incluyendo las células de Purkinje, muestran una conservación relativamente mayor en la SCA3 (McLoughlin *et al.* 2020). Además, contrario a la SCA1 y SCA2, la corteza cerebelosa está relativamente intacta, sin embargo, produce degeneración en los núcleos cerebelosos profundos, en particular el núcleo dentado (Pilotto *et al.* 2024).

De hecho, algunas SCAs provocan una pérdida de más del 75% de la población total de células de Purkinje, como en en la SCA2, mientras que en SCA3 la reducción de células es sólo del 25% (Scarabino *et al.* 2022).

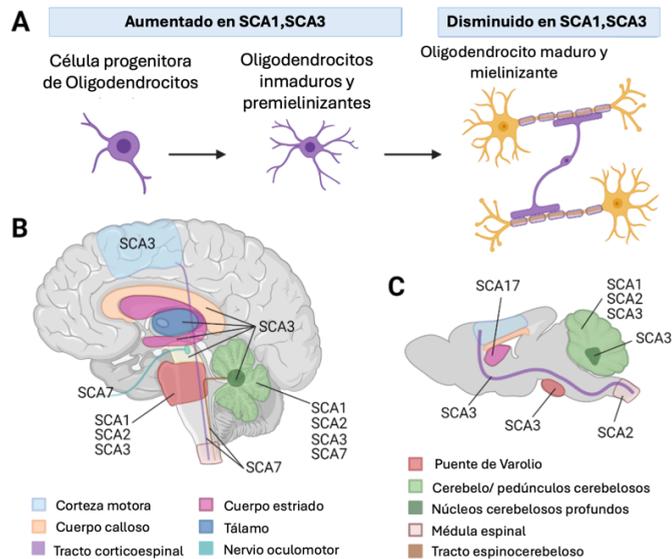


Figura 5. Anomalías de la sustancia blanca y los oligodendrocitos en la literatura sobre PolyQ SCA. Existe evidencia directa de una alteración en la maduración de oligodendrocitos en SCA1 y 3, con un aumento de células progenitoras de oligodendrocitos (OPC)/oligodendrocitos inmaduros y una disminución de oligodendrocitos mielinizantes maduros en la enfermedad. (B) Los estudios de espectroscopia de resonancia magnética y de imágenes con tensor de difusión demuestran alteraciones en distintos tractos de materia blanca en pacientes con SCA1, 2, 3 y 6. (C) Los modelos de ratón de SCA1, 2, 3 y 17 también respaldan alteraciones regionales de la materia blanca o participación de oligodendrocitos en estas enfermedades. (Modificado de Putka *et al.* 2023)

Por otra parte en SCA7, se evidencia una extensa degeneración retiniana, una marcada atrofia del cerebelo y del tronco encefálico, junto con la neurodegeneración en áreas como la corteza cerebral, los ganglios basales, el tálamo y el mesencéfalo (Buijsen *et al.* 2019).

### **Manifestaciones clínicas**

Según la prevalencia reportada en nuestro país, los subtipos 2, 3 y 7 de SCAs son los más predominantes. A pesar de presentar cuadros clínicos similares, es crucial detallar algunas de las características específicas de los signos y síntomas en cada subtipo para lograr una diferenciación precisa.

### **Ataxia espinocerebelosa tipo 2**

Las personas diagnosticadas con SCA2 OMIM # 183090 (veáse tabla 3) experimentan una variedad de síntomas que abarcan desde ataxia cerebelosa hasta problemas oculomotores y parkinsonismo. Esto se debe a la degeneración de las neuronas dopaminérgicas en la sustancia negra (Pilotto *et al.*, 2024).

Asimismo, esta entidad se caracteriza por observar en los pacientes ataxia y disartria que progresan gradualmente,

acompañadas de hallazgos oculares como nistagmo, movimientos oculares sacádicos lentos y en algunos casos, oftalmoparesia. Los reflejos tendinosos suelen estar aumentados durante los primeros años de vida, pero desaparecen con el tiempo. En estudios previos se ha descrito que generalmente la edad promedio de inicio de la enfermedad es en la cuarta década de la vida y la duración típica de la enfermedad es de diez a quince años. La progresión de la enfermedad tiende a ser más rápida cuando comienza antes de los 20 años (Pulst, 2019).

Recientemente, se ha reportado de manera constante una disfunción en la conectividad internodal, la cual se observa entre áreas cerebelosas posteriores y regiones corticales asociadas con funciones cognitivas y el procesamiento emocional (Olivito *et al.* 2018).

La presencia de alteraciones en la marcha como el primer síntoma motor, se relaciona con un inicio más tardío de la enfermedad en SCA2. Los pacientes a menudo experimentan temblores posturales y de acción en las extremidades superiores, lo que puede ocasionar un deterioro funcional significativo. Es plausible que aquellos pacientes con SCA2 cuyos síntomas

iniciales involucren temblores en las extremidades superiores enfrenten una mayor discapacidad en sus actividades diarias en comparación con aquellos cuyos síntomas iniciales son dificultades para caminar (Luo *et al.*, 2017). Además de lo mencionado anteriormente, se ha observado un nivel de deterioro cognitivo en pacientes con este tipo de SCA, relacionado con trastornos del sueño, así como con neuropatía periférica clínica o subclínica (Pilotto *et al.*, 2024).

Se han descrito déficits en la atención, funciones ejecutivas, habilidades visoconstructivas, memoria visual y verbal, así como en la velocidad de procesamiento. Sin embargo, se ha observado una afectación predominante en las habilidades ejecutivas y visuoespaciales, lo que sugiere una disfunción en las regiones frontoparietales (Olivito *et al.*, 2018).

### **Ataxia espinocerebelosa tipo 3**

También llamada enfermedad de Machado Joseph, su número OMIM 109150 (veáse tabla 3). El comienzo de esta enfermedad puede manifestarse desde la infancia hasta la edad adulta, lo que

sugiere diversos patrones de progresión de la enfermedad (Pilotto *et al.*, 2024).

De la misma manera, es acompañada de diversas manifestaciones que pueden incluir signos piramidales, síndrome extrapiramidal rígido-distónico, notable amiotrofia periférica y arreflexia, así como oftalmoplejía externa progresiva, protrusión ocular, fasciculaciones faciales y linguales desencadenadas por movimientos (Paulson *et al.*, 2020).

En consecuencia, la SCA3 puede ser categorizada en cuatro subtipos según las manifestaciones clínicas observadas.

- A. Tipo I: aparición temprana entre los 10 y 30 años de edad y se caracteriza por ataxia nominal con signos piramidales y extrapiramidales.
- B. Tipo II: el más común, aparece entre la segunda y la quinta década de la vida y los pacientes desarrollan ataxia progresiva acompañada de signos piramidales.
- C. Tipo III aparece más tarde en la vida e implica principalmente neuropatía periférica que conduce a atrofia muscular.

- D. Tipo IV se presenta en diferentes edades y los pacientes experimentan un fuerte componente de parkinsonismo.

### **Ataxia espinocerebelosa tipo 7**

La ataxia espinocerebelosa tipo 7 (SCA7), identificada bajo el número OMIM 164500 (veáse tabla 3), fue descrita por primera vez en 1937. Esta enfermedad se caracteriza por la presencia de ataxia cerebelosa, disartria y espasticidad. Además de estos síntomas motores principales, los pacientes también pueden experimentar degeneración retinal, lo que añade una capa adicional de complejidad clínica a la enfermedad (Borbolla *et al.*, 2022; Pilotto *et al.*, 2024).

Además de los síntomas mencionados, los pacientes con SCA7 pueden manifestar una variedad de síntomas adicionales, como disimetría, disfagia, disdiadococinesia, hiperreflexia y movimientos sacádicos lentos de los ojos. En algunos casos menos comunes, también se han observado alteraciones sensoriales, demencia e hipoacusia. Una característica peculiar de SCA7 es la degeneración de la retina, que eventualmente conduce a la ceguera. Un pequeño porcentaje de pacientes

manifiesta deterioro cognitivo y psicosis (Borbolla *et al.*, 2022; Pilotto *et al.*, 2024).

Esta amplia gama de manifestaciones clínicas destaca la importancia de la SCA7 debido a sus efectos significativos en la función motora y la calidad de vida de los pacientes (Borbolla *et al.*, 2022; Pilotto *et al.*, 2024).

De acuerdo con la edad de inicio de la patología podemos clasificarla en dos fenotipos:

- 1) *De inicio tardío o de edad adulta*: fenotipo más común de la enfermedad, suele manifestarse con la aparición inicial de síntomas en la tercera década de la vida. Estos síntomas incluyen ataxia cerebelosa, seguida de disimetría, disartria, disfagia, hiperreflexia y disdiadococinesia, acompañados de otros signos tanto piramidales como extrapiramidales.

Después de los síntomas motores, los pacientes pueden experimentar problemas en la distinción de colores, seguidos de pérdida de agudeza visual, fotofobia, cambios pigmentarios, oftalmoplejía y degeneración progresiva de los conos y bastones, lo que finalmente

puede resultar en ceguera. Además, se han documentado casos aislados de psicosis, alucinaciones auditivas, demencia y cambios en el comportamiento en pacientes afectados por esta enfermedad (Borbolla *et al.*, 2022; Pilotto *et al.*, 2024).

- 2) *De inicio temprano (infantil o juvenil)*: Suele manifestarse en las dos primeras décadas de la vida, se presenta mayormente al nacer o durante los primeros meses. Es provocada por expansiones extremadamente largas de hasta 460 repeticiones, lo que conlleva a malformaciones congénitas y fallos multiorgánicos. El curso de la enfermedad es rápido, con una duración de pocos meses o años. Además de los signos clásicos de ataxia, los pacientes experimentan pérdida visual desde el inicio de la enfermedad, desnutrición debido a la disfagia severa, hipotonía marcada, temblores en las extremidades y dificultad respiratoria. Además, se han registrado complicaciones adicionales como cardiopatía, hepatomegalia, hemangioma múltiple, retraso del desarrollo, regresión motora y cognitiva, disfunción

renal, taquipnea, microcefalia e insomnio (Borbolla *et al.*, 2022; Pilotto *et al.*, 2024).

Tabla 3. Se muestra las principales características clínicas y neuropatológicas de las polyQ SCAs. Modificada de Borbilla-Jiménez *et al.* 2021.

<b>Entidad</b>	<b>Gen</b>	<b>Mutación (Localización)</b>	<b>Alelos penetrancia completa</b>	<b>OMIM</b>	<b>Manifestaciones clínicas</b>	<b>Hallazgos neuropatológicos</b>
SCA2	ATXN2	(CAG) <sub>n</sub> Exón 1 12q23-24.12	>34	183090	Ataxia, movimientos sacádicos lentos, disminución de reflejos, polineuropatía, neuropatía motora, variante infantil	Atrofia del cerebelo, protuberancia, lóbulo frontal, bulbo raquídeo, nervios craneales, así como palidez de la sustancia negra del mesencéfalo. Inclusiones citoplasmáticas.
SCA3	ATXN3	(CAG) <sub>n</sub> Exón 10 14q32.1	>52	109150	Ataxia, parkinsonismo y espasticidad severa	Pérdida de neuronas y gliosis en la sustancia negra, núcleos pontinos, núcleos de los nervios vestibular y craneal, columnas de Clarke y astas anteriores. Cerebelo está relativamente preservado, la médula espinal con pérdida de fibras mielinizadas en los tractos espinocerebelosos y los funículos posteriores. Inclusiones intranucleares y citoplasmáticas.
SCA7	ATXN7	(CAG) <sub>n</sub> Exón 3 3p12-21.1	>47	164500	Ataxia, degeneración retinal	Inclusiones intranucleares neuronales en múltiples áreas cerebrales, más frecuentes en el complejo olivar inferior, cuerpo geniculado lateral, sustancia negra y corteza cerebral. Atrofia olivopontocerebelosa y adelgazamiento de la médula espinal. Degeneración de la retina.

## **Genes relacionados con fenotipos de ataxias hereditarias**

### ***ATXN2***

En 1996 se identificó que la SCA2 es causada por una mutación que genera una expansión anormal del trinucleótido CAG en el exón 1 del gen *ATXN2* (veáse tabla 3), localizado en la región cromosómica 12q23-24. Este gen consta de 25 exones y cubre 4500 pares de bases, codificando la proteína ataxina-2, que tiene un peso de 140 kDa y está formada por 1312 aminoácidos. La proteína presenta una región con una longitud variable de glutamina en el extremo terminal del aminoácido, codificada por tripletes CAG. Además se relaciona con la enfermedad de Parkinson de inicio tardío, así como Esclerosis Lateral Amiotrófica. Sus vías relacionadas incluyen la señalización Akt y la regulación de PAK-2p34 activado mediante degradación mediada por proteasoma. Un parálogo importante de este gen es *ATXN2L*. Además, el empalme alternativo produce múltiples variantes de transcripción (Magaña, 2013; Genecards, 2024).

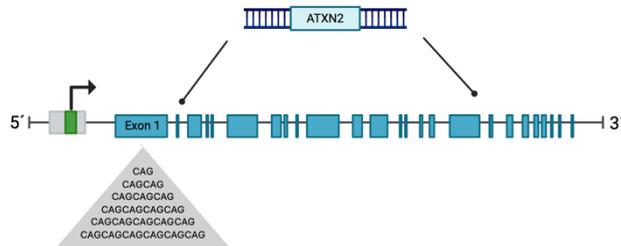


Figura 6. Estructura del gen ATXN2 localizado en el cromosoma 12 humano. Los cuadros anchos y estrechos representan los 25 exones que codifican la proteína ataxina-2. La flecha indica el sitio de inicio de la transcripción. Un número >31 repeticiones CAG en el exón 1 del gen produce las manifestaciones clínicas de SCA2. Modificada de Magaña, 2013.

### ATXN3

En la sangre se han identificado 56 variantes generadas por el proceso alternativo de corte y empalme de exones e intrones del gen *ATXN3* (veáse tabla 3), de las cuales 20 pueden producir una proteína funcional. Hasta ahora, solo dos isoformas que difieren en su región C-terminal han sido estudiadas exhaustivamente. La isoforma más común en el cerebro, con 11 exones, produce una proteína de 361 aminoácidos. Este gen está relacionado con la unión a proteínas y la actividad de desubiquitinasa de tipo cisteína, aunado a esto tiene un parálogo importante llamado *ATXN3L*. Codifica a una proteína llamada ataxina-3, la cual consta de un peso molecular de 42 kDa, varía según el tamaño de la

repetición polyQ y la isoforma. La repetición CAG en el penúltimo exón se traduce en una secuencia polyQ en el extremo C de la proteína (Evers *et al.*, 2014; GeneCards, 2024).

### **ATXN7**

En 1995, tres equipos de investigación independientes llevaron a cabo el mapeo del gen responsable de la SCA7, identificando el gen *ATXN7* ubicado en el cromosoma 3p21.1-p12 (veáse tabla 3). Posteriormente, se identificó la región asociada con repeticiones inestables de CAG. Este gen está compuesto por 13 exones que abarcan 140 kb de DNA genómico y codifica la proteína ataxina 7, la cual contiene una secuencia polimórfica de polyQ en su extremo amino. El análisis genotípico reveló que los alelos normales de *ATXN7* poseen entre 4 y 35 repeticiones de CAG, y que del 70 al 80% de estos alelos presentan 10 repeticiones de CAG. *ATXN7* es un componente esencial del complejo de histona acetiltransferasa SAGA, implicado en la regulación de la expresión génica mediante la modificación de la cromatina. La expansión de las repeticiones de poliglutamina altera la actividad de la histona acetiltransferasa SAGA, llevando a una acetilación anormal de la cromatina y a cambios significativos en la

expresión genética (Klockgether et. al, 2019; Goswami et. al, 2022; Niewiadomska-Cimicka & Trottier, 2019).

### **Tractos de poliglutamina**

En lo que respecta a las polyQ SCAs, se originan por una expansión del repetido CAG anormal en una región codificante del DNA, originando una repetición expandida de aminoácidos de glutamina (Qs) en las proteínas ataxina. La expansión resulta en la inserción directa de un tracto polyQ prolongado en las proteínas codificadas, ocasionando cambios en su estructura tridimensional otorgando una ganancia de función tóxica adicional. Sin embargo, lo que se observa a menudo (excepto SCA2) es que estas proteínas polyQ tóxicas conducen a su acumulación nuclear en la neurona. Además, las proteínas polyQ SCA se trasladan de manera anormal desde sus ubicaciones originales, como el citoplasma o la membrana citoplasmática, al núcleo tras mutaciones genéticas (Buijsen *et al.*, 2019; McIntosh *et al.*, 2021; Lee *et al.*, 2020).

Aunado a esto, las proteínas nucleares polyQ SCA secuestran otras proteínas nucleares, incluidos principalmente factores de

transcripción (TF), interrumpiendo así la transcripción génica. Esta alteración provoca una modificación de la homeostasis intracelular y eventualmente conduce a una variedad de fenotipos neuropáticos y muerte de células neuronales (Lee *et al.*, 2020).

Aunque la existencia de los tractos polyQ no expandidos no conllevan directamente a cambios fenotípicos, se ha descrito previamente un probable umbral variable en cada gen, cuya superación desencadena la enfermedad. En términos generales, existe una relación inversa entre la longitud del segmento polyQ expandido y la edad en la que aparecen los síntomas. A medida que la expansión es más extensa, la edad de inicio de la enfermedad tiende a ser más temprana y el fenotipo se vuelve más severo. Además, estas enfermedades suelen presentar un fenómeno llamado "anticipación", en el cual la expansión puede aumentar en tamaño con cada generación sucesiva. A pesar de que aún no se comprende completamente el mecanismo patogénico exacto de cada polyQ SCA (Buijsen *et al.*, 2019, McIntosh *et al.*, 2021).

La proteína adquiere una ganancia de función tóxica transmitida por el tracto de polyQ expandido que a su vez altera varios procesos celulares comunes que favorecen a la fisiopatología. Dentro de las alteraciones se encuentran: la desregulación transcripcional, la toxicidad del RNA, la toxicidad causada por repetidos no asociados a ATG (RAN), la desregulación del sistema proteosoma de ubiquitina y la autofagia (Buijsen *et al.*, 2019). Actualmente, los trastornos de expansión causados por microsatélites expandidos e inestables constituyen más de 40 enfermedades genéticas distintas, la mayoría de las cuales se manifiestan como patologías neurológicas (McIntosh *et al.*, 2021).

### **Expansión CAG**

Por lo que se refiere a, el número de repetidos CAG en individuos sin enfermedad, este es altamente polimórfico y hay un número específico de repetidos CAG para cada tipo SCA que representa el umbral entre el estado normal y un estado patológico (Borbilla-Jiménez *et al.*, 2021).

Las polyQ SCA son causadas por la expansión de repetidos de trinucleótidos CAG (TNR), también llamada inestabilidad de

repetición. Aunque los TNR (CTG, CGG, GAA y CAG) son la repetición asociada a enfermedad más común, existen otras formas de mutaciones de inestabilidad repetida, como los pentanucleótidos (expansión repetida ATTCT, SCA10) o hexanucleótidos (expansión repetida G4 C2, esclerosis lateral amiotrófica) (Lee *et al.*, 2020).

Las enfermedades causadas por la expansión de trinucleótidos son las más frecuentes, siendo las expansiones CAG localizadas en regiones codificantes las más prevalentes de todas. Estas secuencias repetidas tienen una alta predisposición a la expansión debido a una estructura secundaria inusual. Estas estructuras secundarias obstaculizan los procesos normales de replicación celular, recombinación y reparación del DNA, lo que conduce a la incorporación de un número variable de secuencias repetidas de trinucleótidos. Uno de los mecanismos descritos en las enfermedades de expansión de polyQ, es la disociación transitoria de las cadenas de DNA durante la replicación, seguida por un alineación incorrecta de las hebras que conlleva a un deslizamiento incorrecto de la DNA polimerasa (McIntosh *et al.*, 2021).

**Tabla 4. Genética de las ataxias por poliglutamina.**

<i>Enfermedad</i>	<i>Gen</i>	<i>Función normal del gen</i>	<i>Localización PolyQ</i>	<i>Rango de repetidos normales</i>	<i>Rango de repetidos Pre-mutación</i>	<i>Rango de repetidos Patogénicos</i>
<b>SCA2</b>	ATXN2	Represión transcripcional y metabolismo del RNA	Exon 1	17-29	30-36	37-100+
<b>SCA3</b>	ATXN3	Desubiquitinación y degradación de proteínas proteasómicas.	Exon 10	7-44	45-54	55-89
<b>SCA7</b>	ATXN7	Media la interacción entre el complejo CRX y STAGA.	Exon 3	7-19	20-35	36-400+

**Modificada de McIntosh *et al.* 2021.**

Una característica particular de las expansiones de repetidos es su comportamiento dinámico. Los alelos expandidos surgen de repeticiones polimórficas en la población general y a menudo cambian de tamaño dentro o entre los tejidos de los individuos afectados. Además, es más probable que aumenten las expansiones y los alelos normales más largos que los alelos normales más cortos (Fourier *et al.*, 2022).

Es posible identificar diferentes configuraciones de DNA en función de las secuencias repetidas presentes, incluidos DNA triplex, G-quadruplex u horquillas, lo que facilita la aparición de

expansiones a gran escala. Además de los factores genéticos, también se exploró el papel de agentes exógenos (por ejemplo, diferentes compuestos químicos). Paralelamente a la inestabilidad somática, la inestabilidad de la línea germinal también se describe como un mecanismo importante de ampliación de las expansiones a través de generaciones. Existen sesgos de expansión o contracción paterna y materna, lo que lleva a una mayor proporción de transmisión de enfermedades paternas o maternas a la descendencia en algunas enfermedades de expansión de repetidos (Fourier *et al.* 2022).

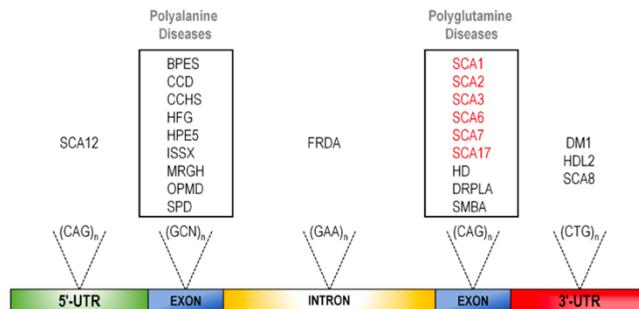


Figura 7. Ubicaciones relativas del pre-RNA de expansiones de trinucleótidos. Los tipos de trinucleótidos expandidos encontrados en las respectivas ubicaciones se muestran encima de la transcripción: BPES = blefarofimosis, ptosis y epicanto inverso; CCD = displasia cleidocraneal; CCHS = hipoventilación central congénita; HFG = síndrome mano-pie-genital; HPE5 = holoprosencefalia 5; ISSX = síndrome infantil ligado al cromosoma X; MRGH = retraso mental con deficiencia aislada de hormona del crecimiento; OPMD = distrofia muscular oculofaríngea; SPD = sinplidactilia. Intrón: repetición GAA: FRDA = ataxia de Friedreich; SCA1, 2, 3, 6, 7, 17; HD = enfermedad de Huntington; DRPLA; SMBA = atrofia muscular espinal y bulbar; DM1; HDL2 = similar a la enfermedad de Huntington 2; Las ataxias por poliglutamina están en rojo. Modificada de McIntosh *et al.* 2021.

## **Anticipación**

En este tipo de ataxias espinocerebelosas, se manifiesta un fenómeno llamado anticipación, caracterizado por la aparición de la enfermedad a una edad más temprana en las generaciones sucesivas de los individuos afectados, junto con una exacerbación de los síntomas. Se cree que esto se debe al deslizamiento de la DNA polimerasa, lo que resulta en una expansión de los repetidos CAG durante la replicación del DNA.

De manera notable, se observa que la transmisión de la enfermedad por vía paterna tiende a estar asociada con expansiones más extensas que cuando la transmisión es materna. Las expansiones de trinucleótidos son menos estables en los hombres, lo que significa que la herencia paterna puede dar lugar a repeticiones más grandes y a una enfermedad más grave. Esta alta inestabilidad en los hombres puede deberse a que la meiosis ocurre continuamente durante toda la vida, mientras que en las mujeres la meiosis se detiene en las etapa fetal y en la meiosis II ocurre más tarde con la ovulación (Borbilla-Jiménez *et al.* 2021; Goswami *et al.*, 2022).

## **Agregación proteica**

Aunque estas entidades presentan una patología clínica similar, las proteínas responsables no muestran homología en la secuencia de aminoácidos, ni comparten estructuras secundarias o terciarias, ni tampoco funciones biológicas comunes. Motivo por el cual un mecanismo molecular central en todas las ataxias espinocerebelosas (SCA) asociadas con polyQ es el plegamiento inadecuado de las proteínas que contienen repetidos de glutamina (polyQ), conduciendo a la formación de agregados o inclusiones intracelulares en áreas específicas del cerebro, lo que finalmente desencadena la muerte celular y el desarrollo de la enfermedad (Borbilla-Jiménez *et al.*, 2021; McIntosh *et al.*, 2021). La agregación proteica desempeña un papel tóxico, ya que secuestran proteínas no expandidas y contribuyen al colapso proteostático observado en las ataxias. Sin embargo, aún no se tiene dilucidado si es la causa, la consecuencia o un epifenómeno de enfermedades neurodegenerativas (McIntosh *et al.*, 2021).

A pesar de su complejidad, la creación de modelos transgénicos que expresan expansiones de polyQ con síntomas fenotípicos

que imitan la condición humana sugiere que la agregación de proteínas podría no ser simplemente un epifenómeno. Es más probable que sea una combinación de causa y efecto, donde la agregación podría ser una consecuencia de los cambios conformacionales observados en la expansión, y el posterior secuestro de otras proteínas no expandidas podría contribuir a la fisiopatología de la enfermedad (McIntosh *et al.*, 2021).

De igual manera, los modelos celulares y de ratones transgénicos de polyQ SCA, indican que uno de los mecanismos principales de la patogénesis es la ganancia de función de las proteínas mutantes que contienen polyQ. Es importante mencionar que los agregados existen como un grupo heterogéneo de proteínas, en donde se combinan proteínas mal plegadas, desplegadas y plegadas intermedias (Borbilla-Jiménez *et al.*, 2021; McIntosh *et al.*, 2021).

Por el contrario, cuando en una célula no existen expansiones, las proteínas mal plegadas se degradan o se pliegan correctamente. Sin embargo, cuando ocurre una expansión en un gen específico, se presume que las moléculas chaperonas y los proteosomas son incapaces de lidiar con la gran cantidad de

proteínas mal plegadas, lo que finalmente resulta en su agregación insoluble (McIntosh *et al.*, 2021).

### **Desregulación génica**

Curiosamente, un mecanismo fundamental perturbado en la mayoría de las SCAs asociadas con repeticiones de polyQ es la regulación de la transcripción. Los agregados nucleares secuestran tanto a los factores de transcripción como a las proteínas polyQ, lo que produce una alteración en su función normal como represores o activadores de la transcripción (Borbilla-Jiménez *et al.*, 2021; Evers *et al.*, 2014).

Las ataxinas tienen la capacidad de interactuar con factores de transcripción para regular la expresión génica. Previamente distintos protocolos de estudio han confirmado que las ataxinas (ATXNs) 1, 2, 3 y 7, junto con la proteína de unión a la caja TATA (TBP) y la Atrofina-1 (ATN1), desempeñan un papel directo en la transcripción al funcionar como componentes de complejos reguladores de la transcripción. En otro escenario, la unión de las ataxinas a la cromatina podría provocar cambios en los complejos de cromatina presentes en las regiones promotoras (ATXN7/Spt-Ada-Gcn5 acetiltransferasa (SAGA) y ATXN3/Histona

desacetilasa 3 (HDAC3)/Mediador silenciador del ácido retinoico y el receptor de hormona tiroidea (SMRT)/ correpresor del receptor nuclear (NCOR)); facilitar el ensamblaje de complejos de transcripción de preiniciación (PIC; TBP/TFIID) para desubicultinar sustratos (ATXN3 y ATXN7/SAGA); o participar en el metabolismo del RNA (ATXN1 y ATXN2) (Borbilla-Jiménez *et al.*, 2021).

Se observó que la transcripción de genes relacionados con procesos inflamatorios, señalización celular y proteínas de la superficie celular estaba perturbada en modelos de células y ratones, lo que indica una disfunción en la regulación de la transcripción (Evers *et al.*, 2014). Por otro lado, recientemente se ha propuesto la contribución de las agrupaciones de RNA nuclear, que están compuestas por transcripciones de RNA mutantes y proteínas de unión a RNA, a la disfunción celular y al fenotipo de la enfermedad. Sumado a esto existe una desregulación del transcriptoma, secundario a cambios en la expresión de microARN (miRNA) y RNA no codificantes (Borgonio-Cuadra *et al.*, 2019, Borbilla-Jiménez *et al.*, 2021).

Particularmente, la interacción anormal entre ataxinas o sus transcripciones de RNA con los factores del proceso alternativo de corte y empalme de exones e intrones sugiere que este proceso podría ser una nueva disfunción hasta ahora no identificada en las PolyQ SCAs (Borbolla-Jiménez *et al.*, 2021).

### **Disfunción celular**

Otro mecanismo descrito en la fisiopatología es el aumento del estrés oxidativo y la incapacidad para proteger contra los radicales libres con la edad podría provocar disfunción mitocondrial y daño celular (Evers *et al.* 2014).

Esta interacción anormal de las ataxinas mutadas perjudica múltiples funciones celulares, incluida la autofagia, la degradación de la ubiquitina-proteosoma, la homeostasis del calcio, la producción de energía mitocondrial, la activación de rutas proapoptóticas y la neurotransmisión sináptica (Borbolla-Jiménez *et al.*, 2021). La autofagia, como un componente fundamental en la eliminación de los agregados proteicos, podría estar vinculada a la neurodegeneración si su funcionamiento se ve comprometido (Borbolla, 2022).

Mientras que en SCA7, los agregados predominan en el núcleo, son principalmente citoplasmáticos en SCA2 , y están presentes en ambas ubicaciones subcelulares en SCA3. Esto sugiere que la regulación positiva de la autofagia daría como resultado la degradación únicamente de los complejos de proteínas polyQ citosólicas (Cortes *et al.* 2015).

Esta acumulación de proteínas polyQ en el núcleo también afecta a los orgánulos satélites, como el complejo de Golgi, el cual proporciona a las dendritas la membrana plasmática necesaria para su funcionamiento local. Las neuronas dependen de una serie de procesos complejos, muchos de los cuales están vinculados a la adecuada regulación del RNA (Lee *et al.*, 2020). Además, existe un desajuste entre la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS) y los sistemas antioxidantes de defensa, lo que indica que el incremento del estrés oxidativo en las células de las SCAs desempeña un papel significativo en el desarrollo neurodegenerativo de la enfermedad (Scarabino *et al.* 2022; Torres-Ramos *et al.*, 2018).

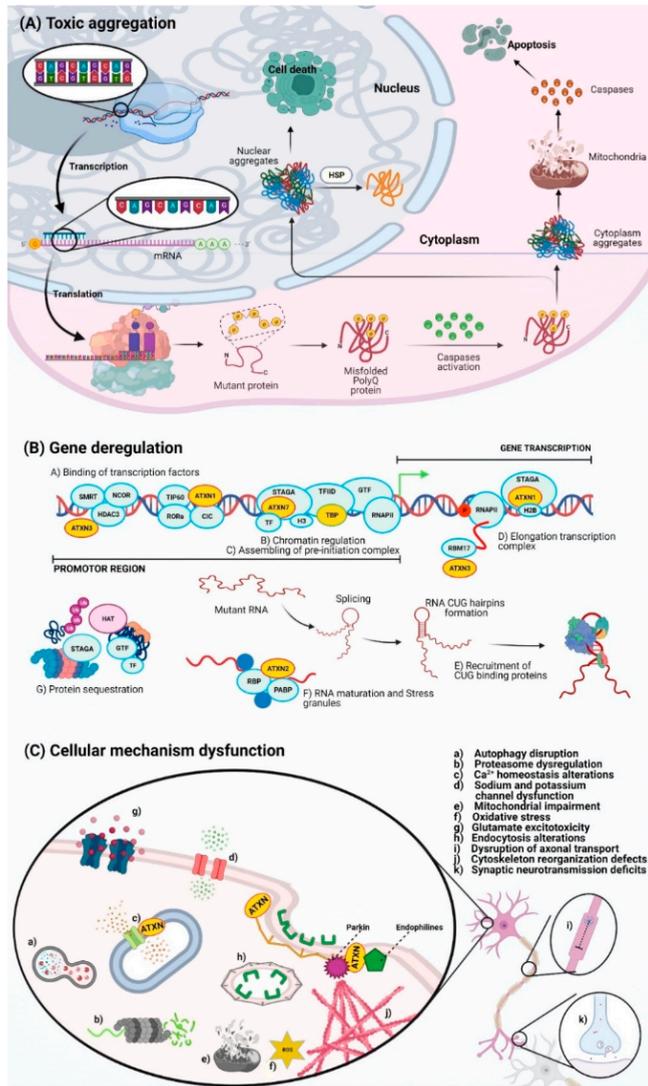


Figura 8. Los agregados de proteínas PolyQ alteran diferentes procesos celulares. (A) Destino intracelular y agregación aberrante de proteínas polyQ. (B) Papel de las proteínas mutantes y sus correspondientes transcripciones de ARN en la expresión génica. (C) Vías celulares alteradas que desencadenan la neurodegeneración en las polyQ SCAs. Modificada de Borbilla-Jiménez *et al.* 2021.

## **Neurodegeneración y senescencia**

La neuroinflamación es frecuente en numerosas enfermedades neurodegenerativas y suele surgir como consecuencia del estrés oxidativo. Además, la propia inflamación disminuye la capacidad antioxidante de las células, lo que genera un ciclo patológico continuo (McIntosh *et al.* 2021).

De manera interesante, en estudios previos mencionan que en SCA3, existe un mayor número de células microgliales activadas, así como de astrocitos reactivos. La activación de los astrocitos y la microglía, a su vez, promueve una respuesta inflamatoria con sobreproducción de numerosas especies reactivas de oxígeno y nitrógeno y citocinas inflamatorias, lo que podría conducir a la neurodegeneración (Scarabino *et al.* 2022). Esta respuesta inflamatoria, que es una característica común en la fisiopatología, desencadena la producción y liberación de citocinas inflamatorias y especies reactivas de oxígeno (ROS), lo que conducen al estrés oxidativo. Aunado a las alteraciones previamente mencionadas, se menciona una pérdida de la actividad de la telomerasa y disfunción mitocondrial. Existe evidencia que respalda el papel de la senescencia celular en el

envejecimiento y cómo las células senescentes contribuyen a la neuropatofisiología (Liu *et al.* 2022).

Las células senescentes muestran tres características principales: pérdida de capacidad de proliferación o regeneración, alteración de las funciones metabólicas y resistencia a la apoptosis, y secreción de una serie de moléculas patogénicamente activas, denominada fenotipo de secreción asociado a la senescencia (SASP) (Liu *et al.* 2022).

Recientemente, se han descrito dos principales vías que conducen a la senescencia celular, desencadenadas por estímulos internos, externos y daños en el DNA, que activan las rutas de p53 y/o p16INK. Las proteínas p53 y p21, en la fase inicial de senescencia, detienen la división celular mientras mantienen la actividad metabólica. La función de p53 en esta fase depende de su concentración, modificaciones postraduccionales y el microambiente (Kudlova, De Sanctis, & Hajduch, 2022).

Se describe, p21 como una característica distintiva de la senescencia celular y el deterioro funcional en el músculo esquelético induciendo propiedades centrales de senescencia

como daño del DNA, disfunción mitocondrial y SASP, generando con la sobreexpresión del mismo una fibrosis tisular, niveles bajos de masa muscular y una función física disminuida (Englund et al., 2023) La expresión de p21, aumenta significativamente al principio pero disminuye a medida que la senescencia progresa, ayudando a detener el ciclo celular en las fases G1/S y G2/M. Cuando la senescencia se vuelve irreversible, las células entran en la fase de mantenimiento, regulada por p16INK4a/pRb (Kudlova, De Sanctis, & Hajduch, 2022).

Para realizar la identificación de células senescentes se requiere de combinaciones de marcadores y técnicas analíticas debido a la falta de un marcador único y específico (tabla 5). Entre los métodos empleados se encuentran la microscopía óptica y la citometría de flujo para observar las características morfológicas típicas de las células senescentes, que suelen ser grandes y planas. Además, se utilizan técnicas como la inmunofluorescencia, inmunohistoquímica, transferencia Western, ensayos de indicadores, tinción enzimática, PCR, FISH y ELISA. La elección del método de detección depende de los objetivos específicos del estudio y del modelo de senescencia utilizado (Kudlova, De Sanctis, & Hajduch, 2022).

**Tabla 5. Marcadores destacados de senescencia y métodos utilizados para su detección.**

<b>Característica de las células senescentes</b>	<b>Biomarcador</b>	<b>Niveles del marcador</b>	<b>Tipo de senescencia</b>	<b>Método de detección</b>
Cambios morfológicos	Morfología y tamaño	Ancha y aplanada	General	Citometría de flujo, microscopía óptica
Actividad lisosomal	SA- $\beta$ -galactosidasa SA- $\alpha$ -fucosidasa lipofuscina	Aumentado	General	Tinción enzimática Sudán Negro B (SBB), GL13
Daño al DNA, Respuesta al daño del DNA (DDR)	VH2AX Mre11 Rad50 NSB1 ATM ATR 53BP1 MDC1 Rad17 TIF	Aumentado	General/ inducida por daño	Inmunofluorescencia
Síntesis de DNA baja o nula	BrdU EdU	Disminuido	General	Incorporación de tinción, inmunofluorescencia
Falta de proliferación	Ki67	Disminuido	General	Inmunohistoquímica, inmunofluorescencia
Vía de p16/pRB	p16INK4a pRB phospho-pRB	Aumentado	General	Western blot (WB), Inmunohistoquímica, inmunofluorescencia
Vía de p53/p21	p53 p21 phospho- p21 DEC1 PPP1A	Aumentado	General/ inducida por daño	Western blot (WB), Inmunohistoquímica, inmunofluorescencia,
ROS	ROS	Aumentado	General/ inducida por estrés oxidativo	Fluorimetría, Citometría de flujo
Longitud telomérica	Telomero	Disminuido	inducida por replicación	qPCR, FISH
Membrana nuclear	Lamina B1	Disminuido	General	qPCR, WB, inmunofluorescencia
Secreción de citocinas	SASPs	Aumentado	inducido por daño/oncogén	WB, ELISA, análisis SASPs

**Modificada de Kudlova *et al.*, 2022**

Dado que el acortamiento telomérico es uno de los principales factores vinculados con la senescencia, la medición de la longitud de los telómeros de los leucocitos (LTL) se ha convertido en un enfoque ampliamente utilizado en estudios sobre el envejecimiento y la neurodegeneración.

Esto se debe a que las longitudes de los telómeros de diferentes tejidos dentro de un mismo individuo están estadísticamente correlacionadas, lo que permite inferir el estado telomérico del organismo a partir del análisis de muestras sanguíneas. Diversas investigaciones epidemiológicas y poblacionales han proporcionado evidencia que sugiere una asociación entre el acortamiento de los telómeros en leucocitos y el proceso de envejecimiento, así como con enfermedades crónicas vinculadas a la edad. Entre las enfermedades neurodegenerativas más estudiadas en relación con este posible marcador se encuentran el Alzheimer (AD), el Parkinson (PD), la enfermedad de Huntington (HD) y la ataxia de Friedreich (FRDA) (Scarabino *et al.*, 2022).

Como se mencionó previamente, la actividad de las mitocondrias en las neuronas puede ser impactada por la acumulación de

polyQ, lo que potencialmente incrementa la producción de ROS. De manera alternativa o concurrente, en el caso de SCA3/MJD, el aumento de las ROS puede derivar de una disfunción directa de las enzimas antioxidantes. La relación entre el mantenimiento de los telómeros y la función mitocondrial es estrecha, constituyendo un circuito de retroalimentación bidireccional. El deterioro de los telómeros provoca la disfunción y reprogramación de la biosíntesis mitocondrial, activando el gen represor tumoral p53 (Assis *et al.* 2017; Scarabino *et al.* 2022).

La participación del sistema inmunológico periférico puede promover la división de leucocitos y el acortamiento de los telómeros, y la tasa general de reducción de LTL dependería de la importancia del componente inflamatorio en la patogénesis de la enfermedad, junto con la proporción de daño oxidativo y su importancia en las diferentes etapas de la enfermedad (Scarabino *et al.* 2022).

La investigación en busca de posibles biomarcadores de neurodegeneración se ha enfocado en la disfunción mitocondrial, desencadenante de estrés oxidativo, un factor asociado al daño neuronal y la muerte. Este estrés puede

provocar roturas simples y dobles en las cadenas de DNA a lo largo de todo el genoma. Los extremos de los cromosomas lineales están protegidos de esta degradación gracias a los telómeros, formados por repeticiones en tándem del hexanucleótido TTAGGG. Los telómeros funcionales adoptan una estructura conocida como bucle en T (PerezGrovas-Saltijeral *et al.* 2023).

Durante el ciclo celular, una replicación incompleta del DNA conduce a la pérdida de una parte del telómero, generando inestabilidad cromosómica. Este acortamiento telomérico ocasiona una detención permanente del ciclo celular, conocida como senescencia replicativa. Con cada ciclo de replicación del DNA, aproximadamente entre 50 y 100 pares de bases del telómero se acortan debido al fenómeno denominado problema de replicación final. Cuando los telómeros alcanzan una longitud crítica, la formación del bucle en T se ve comprometida, afectando su función. Los telómeros cortos y disfuncionales pueden inducir inestabilidad genómica y, eventualmente, muerte celular. Además, el daño ocasionado por el estrés oxidativo puede provocar roturas no reparadas del DNA en los telómeros, lo que acelera su acortamiento. Por consiguiente, el

acortamiento telomérico se ha propuesto como un posible marcador temprano en diversas enfermedades neurodegenerativas (PerezGrovas-Saltijeral *et al.* 2023; Liu *et al.* 2022).

Dado que el análisis de la longitud de los telómeros (LTL) podría servir como un biomarcador valioso para detectar la conversión de la enfermedad en individuos presintomáticos, la evaluación de LTL podría ser también beneficiosa para monitorizar la progresión de la enfermedad. Esto podría reflejar tanto el componente inflamatorio como el estrés oxidativo en diferentes enfermedades o etapas de su desarrollo, en este protocolo de estudio el enfoque serían las ataxias espinocerebelosas de mayor prevalencia en población mexicana.

### **Acortamiento telomérico en enfermedades neurodegenerativas**

Por otro lado, en cuanto al estudio de senescencia en diferentes entidades se han reportado distintas observaciones. En un estudio reciente sobre la longitud de los telómeros de leucocitos (LTL) en pacientes con SCA1 reveló una marcada reducción en comparación con los controles. Esta disminución podría relacionarse con inflamación periférica, secundario a la

neuroinflamación, lo cual es un fenómeno observado en otras enfermedades neurodegenerativas como la enfermedad de Alzheimer y la enfermedad de Huntington. Estos hallazgos sugieren que, además de los efectos en las neuronas, la activación de la microglía y la neuroinflamación podrían desempeñar un papel crucial en la patogénesis de SCA1. En el caso de la SCA3, se observó una disminución significativa en los valores de la longitud de los telómeros en comparación con los controles, de manera similar a la SCA1 pero en menor medida. Asimismo, se encontró que esta reducción está influenciada tanto por la edad de los pacientes como por la duración de la enfermedad, lo cual sugiere un posible mecanismo diferente al observado en la SCA1 (Scarabino *et al*, 2022).

Kota *et al*, 2015 observaron una disminución en la relación T/S en tres enfermedades neurodegenerativas: enfermedad de Huntington, ataxia telangiectasia y demencia; describen que la longitud reducida de los telómeros podría ser indicativo de vías biológicas compartidas que contribuyen a la senescencia celular. Aunado a esto el estrés oxidativo, las alteraciones en la homeostasis mitocondrial, mecanismos deficientes de reparación del DNA y la disminución del estado de metilación del

DNA observado en la demencia podrían ser la causa de esta reducción en la relación T/S relativa (Kota *et al.*, 2015)

A pesar de tratarse de enfermedades por tractos de poliglutamina, se ha observado un comportamiento dinámico en relación con la longitud telomérica, el cual difiere de la reducción esperada. En protocolos anteriores se reporta para SCA2 que los pacientes tienen una longitud telomérica significativamente mayor en comparación con los controles, independientemente del número de repeticiones CAG y evolución de la enfermedad. Siendo una observación inusual en trastornos neurodegenerativos (Scarabino *et al.*, 2022).

Por otro lado, en algunos tipos de cáncer familiar, ocasionados por variantes patogénicas en línea germinal del gen TERT, se observa de igual manera un alargamiento telomérico, razón por la cual se conocen como "síndromes de telómeros largos". Las mutaciones somáticas en el promotor TERT se observan en el 70% de los tumores sólidos, lo que sugiere que la presencia abundante de telomerasa es crucial para el inicio y la progresión del cáncer. Otras enfermedades neurodegenerativas, en donde se han observado telómeros más largos de leucocitos, son en la

enfermedad de Parkinson en pacientes que desarrollan demencia y en la esclerosis lateral amiotrófica (Scarabino *et al.*, 2022).

En el caso de SCA7, no se ha reportado previamente en la literatura el análisis del LTL relacionado a senescencia. Sin embargo, se han realizado estudios previos en pacientes con este tipo de ataxia, donde se ha observado una mayor expresión de los marcadores de senescencia (p16Ink4a y p21Cip1) y una actividad incrementada de SA- $\beta$ gal en el riñón y en la capa de Purkinje del cerebelo en modelos murinos. Esto sugiere una acumulación de células senescentes en estos tejidos, lo cual se relaciona con la progresión de la enfermedad. Sin embargo, se requieren más experimentos para entender la causa específica de la senescencia celular y su papel en la progresión de la SCA7. Por esta razón, es crucial analizar otros tipos de marcadores de senescencia (Miller *et al.*, 2022).

**Justificación:**

Al realizar el estudio en población mexicana con diagnóstico de ataxia espinocerebelosa se puede establecer una correlación con el valor de RTL con las distintas variables previamente mencionadas, siendo un marcador indirecto coadyuvaría a un seguimiento temprano y adecuado, así como el correcto asesoramiento genético sobre la progresión de la enfermedad, implicaciones para su descendencia; así como modificaciones en estilo de vida individualizadas que mejoren el pronóstico.

Estas entidades causan manifestaciones clínicas irreversibles y a pesar de ser considerada una enfermedad poco frecuente, su incidencia en nuestro país es elevada y afecta poblaciones vulnerables. La evolución de estas hace imperativo la necesidad de identificar marcadores para un mejor seguimiento y el posterior desarrollo de estrategias terapéuticas. Si se demuestra un cambio en el valor de RTL de los pacientes, podría ser un marcador de senescencia, área que no se ha estudiado y la cual podría ser una posible diana terapéutica en el futuro; impactando en la prevención, diagnóstico y tratamiento de esta patología, así como en los familiares y cuidadores primarios.

Esto, a su vez, contribuiría de manera sustancial a la salud pública en diversas dimensiones, disminuyendo costos en la atención médica, especialmente en los recursos destinados a la rehabilitación física.

### **Planteamiento del problema:**

En la actualidad, el grupo de las ataxias espinocerebelosas SCA1, SCA2, SCA3/MJD, SCA6, SCA7, SCA17 y DRPLA son las formas genéticas de SCA más comunes; teniendo una prevalencia acumulada de 5.6/100,000 habitantes. En México es un grupo de enfermedades subdiagnosticadas, sin embargo, en algunas zonas del país la SCA2 y SCA7 tienen una presencia muy alta.

Clínicamente estas enfermedades son ampliamente heterogéneas abarcando desde pacientes asintomáticos hasta fenotipos infantiles severos.

En el contexto de estas ataxias, se ha demostrado un desequilibrio entre la generación de especies reactivas de oxígeno y la capacidad antioxidante, indicando que un incremento en el estrés oxidativo celular desempeña un papel

fundamental en el desarrollo del proceso neurodegenerativo. Siendo así que la longitud relativa de los telómeros (RTL) se asocia a una respuesta inflamatoria y daño oxidativo, podría considerarse como un marcador indirecto en ambas entidades permitiendo realizar un monitoreo estandarizado y objetivo.

Los reportes moleculares en pacientes mexicanos con SCA son limitados, y existe una escasez de proyectos que busquen correlacionar el valor de RTL en enfermedades neurodegenerativas. Por lo tanto, este proyecto es crucial para la comprensión de la fisiopatogenia, así como para identificar posibles marcadores objetivos que faciliten el seguimiento y la evaluación de la gravedad de la patología en población mexicana. En el futuro, estos marcadores podrían ser considerados como posibles objetivos terapéuticos.

## Identificación y/o Operacionalización de variables:

Variable	Tipo de variable	Escala	Unidad de medida	Concepto	Estadística
Tipo de SCA	Cualitativa	Categórica	Tipos 2, 3 o 7	Tipo de SCA	Descriptiva
SCA2	Cuantitativa	Númerica	Número de tripletes CAG repetidos	>34 repetidos CAG	Discreta
SCA3	Cuantitativa	Númerica	Número de tripletes CAG repetidos	>52 repetidos CAG	Discreta
SCA7	Cuantitativa	Númerica	Número de tripletes CAG repetidos	>47 repetidos CAG	Discreta
RTL	Cuantitativa	Númerica	Relación T/S ecuación	Longitud relativa del teloméro	Continua
Edad	Cuantitativa	Númerica	Años	Años cumplidos en la toma de muestra	Continua
Sexo	Cualitativa	Categorica	Femenino o masculino	Categoría biológica	Nominal
Evolución	Cuantitativa	Númerica	Años	Años transcurridos desde la edad de inicio	Continua

## **Material y Métodos:**

El laboratorio de medicina genómica del Instituto Nacional de Rehabilitación es centro de referencia nacional para el diagnóstico de las ataxias, siendo así que para realizar este proyecto de investigación se utilizó el registro de los pacientes con prueba molecular positiva para SCA2, SCA3 y SCA7 mediante el protocolo de “Estandarización de un Diagnóstico Molecular eficaz y su correlación con la edad de inicio, transmisión y génesis de las Ataxias Espinocerebelosas tipo 1, 2, 3, 6 y 7 en la población mexicana”

- a. Diseño de estudio: Se realizó un estudio observacional, retrospectivo de casos y controles.
- b. Población del estudio: Pacientes con ataxia espinocerebelosa con diagnóstico molecular positivo a SCA2, SCA3 y SCA7.

### *-Criterios de inclusión:*

Se incluyeron muestras de DNA de hombres y mujeres mexicanas, diagnosticados previamente con SCA2 (n=39), SCA3

(n=28) y SCA7 (n=26) que se encuentren en un rango de edad de 14 a 74 años.

Muestras que presenten una pureza de DNA igual o mayor a 1.8 (en la razón de absorbancia 260/280).

Para los sujetos control, se incluyeron muestras de DNA de individuos aparentemente sanos, hombres y mujeres, sin antecedentes familiares de ataxia y negativos para SCA2, SCA3 y SCA7, que cumplan con el rango de edad de los casos.

*- Criterios de exclusión:*

Muestras de pacientes mayores a 75 años.

Muestras de pacientes con diagnóstico molecular diferente a SCA2, SCA3 o SCA7.

Muestras que presenten una pureza de DNA menor a 1.8 (en la razón de absorbancia 260/280).

*- Criterios de eliminación:*

Muestras de DNA insuficiente para realizar las pruebas moleculares establecidas. Muestras en las que no se logró realizar la medición de RTL.

c. Tamaño muestral

El tamaño de muestra se calculó para la comparación de medianas considerando los promedios de la longitud de telómeros analizados en SCA2, SCA3 de un estudio previo realizado por Scarbino y colaboradores en 2022. Se utilizó el programa STATA 15.0 con los siguientes parámetros: nivel de significancia  $\alpha = 0.0100$  y potencia de la prueba = 0.9000 para las ataxias espinocerebelosas tipo 2 (SCA2) y tipo 3 (SCA3), estimando el tamaño de muestra necesario para cada una.

N	<b>SCA2</b>	<b>SCA3</b>
Total	44	36
Casos	22	18
Controles	22	18

De acuerdo al tamaño de muestra obtenido se decidió realizar un muestreo no probabilístico de casos y controles consecutivos ajustados por edad.

Ya que se alcanzó un tamaño de muestra mayor al estimado, lo cual incrementa el poder estadístico del análisis. Dado que no existen estudios previos sobre el acortamiento telomérico en

SCA7, se consideró un tamaño de muestra similar a los de SCA2 y SCA3, ya que las tres entidades presentan una baja prevalencia en nuestra población.

d. Metodología: qPCR para medir RTL

1.- En muestras de pacientes con diagnóstico molecular de ataxia espinocerebelosa, se extrajo el DNA de los leucocitos utilizando protocolos estándar (PureGene Qiagen).

2.- Posteriormente se cuantificó el DNA mediante el espectrofotómetro NanoDrop 2000, así como para verificar la pureza de la muestra mediante la razón de la absorbancia de la luz UV a 260/280 nm. Se prepararon diluciones de 100 ng/μl en solución TE (10 mM Tris-HCl, 0.1 mM EDTA, pH 7.5) y posteriormente a 10 ng/μl en agua pura libre de nucleasas.

3.- Para el RTL se midió siguiendo el método de Cawthon (Cawthon, 2009) modificado por PerezGrovas-Saltijeral y colaboradores, en 2023. El ensayo cuantitativo de reacción en cadena de la polimerasa (qPCR) de la longitud de los telómeros mide las señales de los telómeros (T) en muestras de DNA experimentales.

4.- Se usaron oligonucleótidos los cuales se alinean con las repeticiones canónicas del telómero (TTAGGG) para producir un fragmento de tamaño fijo. (figura 9)

Secuencia de los oligonucleótidos de telómero:

Tel G 5'-acactaagggttggggttggggttggggttggggttagtgt-3'

Tel C 5'-tgtaggtatccctatccctatccctatccctatccctaaca-3'

Secuencia de los oligonucleótidos de albumina:

Albu5'-cggcggcgggcggcggcgggctgggcggaatgctgcacagaatccttg-3'

Albd 5'-gcccgcccgcccgcccgcccgteccgcccggaaaagcatggtcgcctgtt-3'

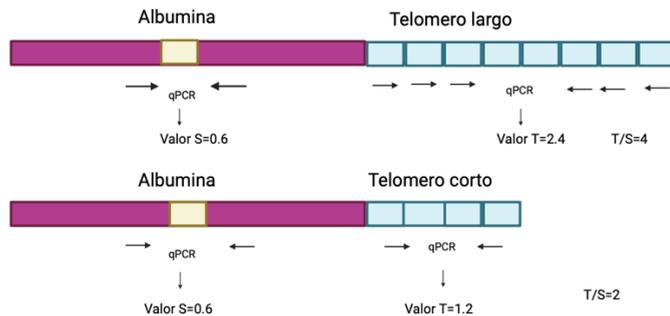


Figura 9. El método qPCR proporciona una longitud relativa de los telómeros (T) en comparación con un gen de copia única (S) en este caso la albumina y los resultados se expresan como una relación T/S como se muestra. Modificado de Lai et al., 2018.

5. Se obtiene una medida relativa de la longitud del telómero a través de la relación entre las repeticiones teloméricas (T) y un gen de copia única (S), la relación T/S. Todas las reacciones se realizaron por triplicado, para T y S. En este caso el gen de copia única fue la albumina (PerezGrovas-Saltijeral *et al.* 2023).

6.- Se utilizó como calibrador un DNA de referencia de un individuo sano. DNA reciente con valores de 260/280 superior a 1.8.

7.- La PCR cuantitativa se realizó utilizando un sistema de PCR en tiempo real StepOnePlus (Thermo Scientific).

8.- Cada reacción por amplicón incluyó 0.5  $\mu$ M del cebador FW y RV, 1 $\times$  Maxima SYBR Green/Rox qPCR Master Mix (Thermo Scientific) y 20 ng de DNA, en un volumen final de 10  $\mu$ l de reacción de qPCR.

9.- Las reacciones se llevaron a cabo por separado para telómero y el gen de copia única.

10.- Se obtuvo un valor de umbral de ciclo medio (Ct) por muestra. Estableciendo una relación entre el Ct del amplicón con repeticiones teloméricas y el gen de referencia, utilizando una

curva estándar para cada uno de los amplicones (PerezGrovas-Saltijeral *et al.* 2023). En la figura 10, observamos un ejemplo de una placa de análisis, con las curvas de amplificación para telomero y las de albumina.

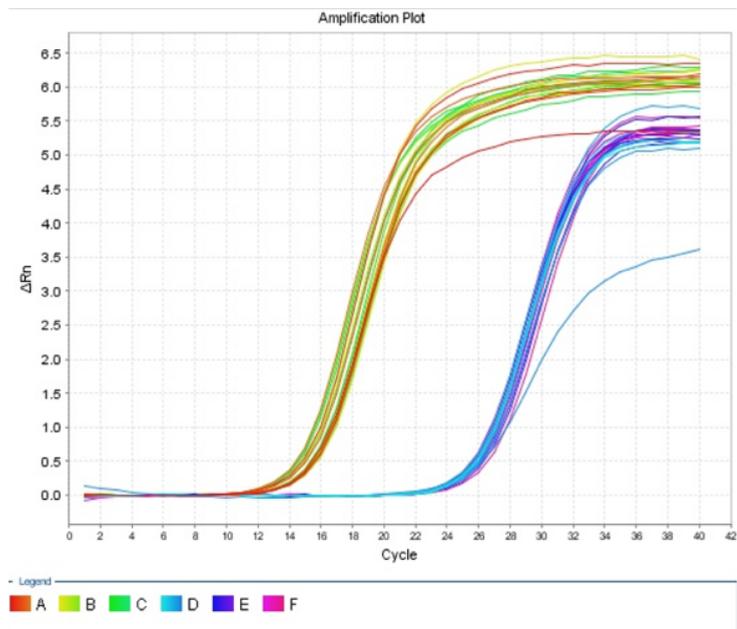


Figura 10. Curvas de amplificación para calcular el RTL. No se observó amplificación en los pozos de NTC

11.- Fórmulas utilizadas:

- $\Delta CT$  muestra: CT telómero – CT albumina.
- $\Delta CT$  calibrador: CT telómero – CT albumina.
- $\Delta\Delta CT$ :  $\Delta CT$  muestra -  $\Delta CT$  calibrador

12.- El RTL se obtuvo utilizando la ecuación  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  ( $\Delta\Delta Ct$  = relación T/S de la muestra de interés – relación T/S del calibrador).

e. Consideraciones éticas:

El protocolo de investigación fue aprobado por el comité de ética institucional del INR. Los pacientes o sus tutores legales en el caso de los menores de edad proporcionaron la firma de un consentimiento informado. Los grupos fueron ajustados en función de la edad en la que se obtuvo la muestra.

### Análisis y métodos estadísticos de los datos:

- I. Los datos del valor de RTL se calcularon mediante la fórmula de  $2^{-\Delta\Delta Ct}$
- II. Los valores de RTL fueron evaluados para ver si tenían una distribución normal, mediante la prueba Shapiro-Wilk.
- III. Para evaluar las diferencias en variables cuantitativas no paramétricas entre grupos, se realizó la prueba U de Mann-Whitney.
- IV. Se calculó el coeficiente de correlación de Spearman para el análisis de covariables y el valor de RTL de los pacientes. El nivel estadístico de significancia se estableció a  $P < 0.005$ .
- V. Se utilizó el software Prism 10 for macOS version 10.2.3 (347) y el programa estadístico IBM SPSS para realizar los análisis propuestos.

## Resultados

### 1. Análisis demográfico

Datos demográficos, genéticos y clínicos del universo de estudio, los controles se eligieron en el mismo rango de edad. En la tabla 6 a continuación se pueden observar los datos.

Tabla 6. Datos demográficos, genéticos y clínicos del universo de estudio.

	SCA2		SCA3		SCA7	
	Pacientes	Controles	Pacientes	Controles	Pacientes	Controles
	N=39	N=30	N=29	N=30	N=26	N=26
Edad toma de muestra	38.51 +/- 11.61	37.333+/- 13.85	39.034+/- 15.0511	37.333+/- 13.85	40.6+/- 15.9	39.8+/- 15.65
Sexo H:M	18:21	16:14	16:13	16:14	15:11	15:11
Repetidos CAG	41.1875 +/- 3.43	NA	74.793 +/- 4.2374	NA	46.88+/- 7.9	NA
Edad de inicio	36 +/- 12.89	NA	34 +/-16.36	NA	33.23 +/- 15.8	NA
Evolución	6 +/- 3.3406	NA	9+/- 6.75	NA	6.95 +/- 4.08	NA

Los datos se muestran con promedio  $\pm$  desviación estándar; NA: no aplicable.

Como primer paso se realizó la prueba de Shapiro Wilk, para determinar si la variable de edad tenía una distribución normal. De acuerdo con lo anterior, para la variable de la edad se realizó la prueba t de Student no pareada, la cual indica que no hay una diferencia significativa en las edades entre los pacientes con SCA3 y los controles ( $p = 0.6531$ ), para SCA2 y controles ( $p:0.7019$ ), así como para pacientes con SCA7 y controles ( $p:0.8545$ ). Por lo tanto, se muestra que la edad no influye

significativamente entre los grupos de pacientes y controles en este estudio.

Posteriormente, se utilizó la prueba de Chi cuadrada en cada ataxia espinocerebelosa, para analizar la variable de sexo debido al tamaño reducido de las muestras. Los resultados arrojaron para SCA2 un valor de p de 0.9662, para SCA3 un valor de p: 0.20 y para SCA7 un valor de p: >0.99, indicando que no se encontró una asociación significativa.

## **2. Análisis de RTL**

### **2.1 SCA2**

En el análisis de los datos se inició con una prueba de Shapiro Wilk para la determinación de la normalidad, la cual resulto negativa. Con base en eso, se realizaron pruebas estadísticas no paramétricas, para determinar la diferencia entre la RTL, medida en 39 pacientes con SCA2 y 30 controles, se mostró que era significativamente más corta la mediana de la RTL del grupo de los pacientes con SCA2 en comparación con los controles, valor de p = 0.0385, con diferencia estadísticamente significativa (ver Figura 11).

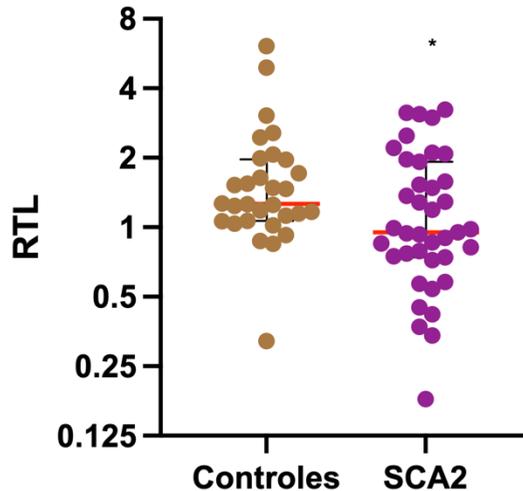


Figura 11. Distribución de la RTL en controles y pacientes con SCA2. Se muestra la distribución de RTL expresada como una relación T/S en la comparación entre sujetos control (puntos cafés),  $n = 30$  y pacientes con SCA 2 (puntos morados),  $n = 39$ . Las barras centrales muestran la mediana, así como el rango intercuartílico. Se realizó la prueba de U de Mann Whitney obteniendo un valor significativo (\*  $p 0.0385$ ).

En cuanto a la correlación de la RTL con la edad en el momento de la toma de la muestra para pacientes con SCA2, se realizó una correlación de Spearman (ver figura 12). Se obtuvo un coeficiente de correlación  $r=-0.4019$ , un intervalo de confianza de  $-0.6424$  a  $-0.08936$ , y un valor de  $p=0.01$ , indicando una correlación negativa moderada. En el caso de los controles se obtuvo un valor de  $r=-0.4216$ , un intervalo de confianza de

-0.6787 a -0.0722, y un valor de  $p=0.02$ ; lo que indica una correlación negativa moderada entre la RTL y la edad.

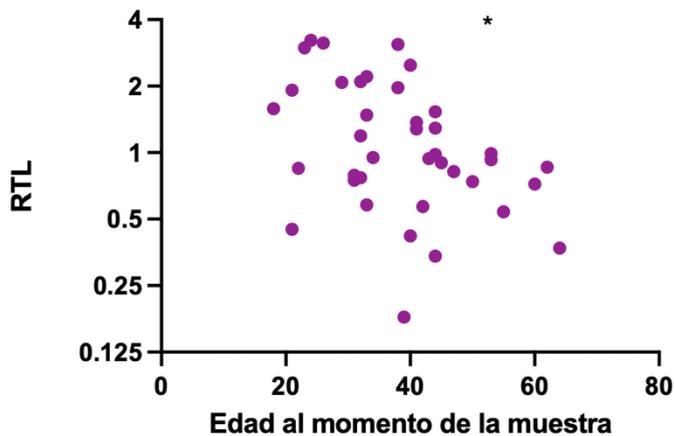


Figura 12. Correlación de RTL con la edad al momento de la muestra en pacientes con diagnóstico de SCA2. En la correlación no paramétrica de Spearman, se obtuvo un coeficiente de correlación  $r=-0.4019$ , un intervalo de confianza de  $-0.6424$  a  $-0.08936$ , y un valor de  $p=0.01$ , correlación negativa moderada entre la RTL y la edad.

Para la correlación entre la longitud relativa de los telómeros (RTL) y el número de repetidos de CAG (ver figura 13), evaluada mediante la correlación de Spearman, se obtuvo un coeficiente de correlación  $r=0.05192$ , un valor  $p=0.7536$  y un intervalo de confianza de  $-0.2769$  a  $0.3699$ .

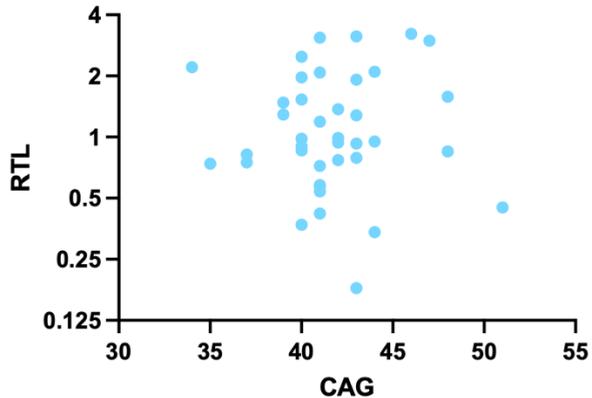


Figura 13. Correlación de la RTL con el número de repetidos CAG. En la correlación de Spearman, se obtuvo un coeficiente de correlación  $r=0.05192$ , un valor  $p=0.7536$  y un intervalo de confianza de  $-0.2769$  a  $0.3699$ ; lo que indica que la relación no es estadísticamente significativa. Estos resultados sugieren una correlación con tendencia a ser positiva, pero no significativa.

Posteriormente, se utilizó el registro de los pacientes con prueba molecular positiva para SCA2, en donde se obtuvieron los datos de 16 pacientes para la variable de evolución. Para obtener esta información exacta, se calculó la diferencia entre la edad en la que se tomó la muestra y la edad en la que comenzaron las manifestaciones clínicas.

Según lo anterior, al realizar la correlación de Spearman entre la RTL y los años de evolución, se obtuvo un coeficiente de correlación de  $r = 0.285$ ,  $p=0.2835$ , correlación positiva baja, lo

que podría orientar a una correlación débil entre la RTL y los años de evolución de los pacientes. Cabe señalar que este análisis solo se pudo realizar en 16 pacientes, que si contaban con dicha información (figura 14)

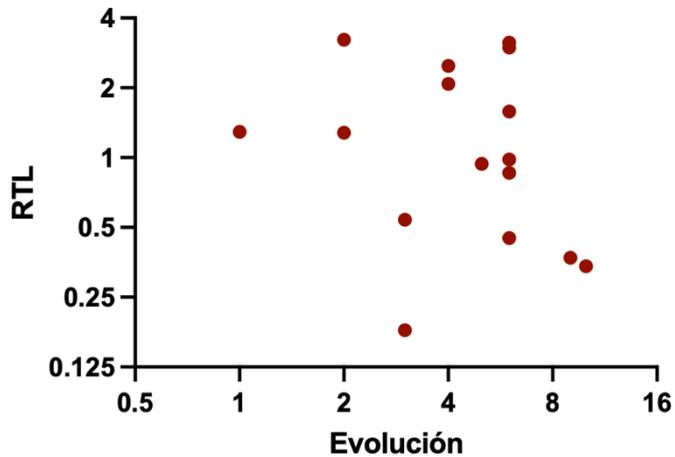


Figura 14. Dispersión simple de la longitud relativa de los telómeros (RTL) por los años de evolución en 16 pacientes con SCA2, observando una correlación de Spearman con coeficiente de correlación de  $r = 0.285$ , sin relación estadística significativa.

## 2.2 SCA3

Se realizó el análisis de la longitud relativa del telómero en leucocitos de pacientes con diagnóstico de SCA3 en 29 pacientes

y en 30 controles, de acuerdo a la relación T/S. Entre estos grupos se observó una diferencia estadísticamente significativa en la distribución de RTL entre controles y pacientes con SCA3. Realizando la prueba de U de Mann Whitney, se obtuvo un valor significativo de  $p = 0.0002$ , sugiriendo un alargamiento telomérico. (figura 15)

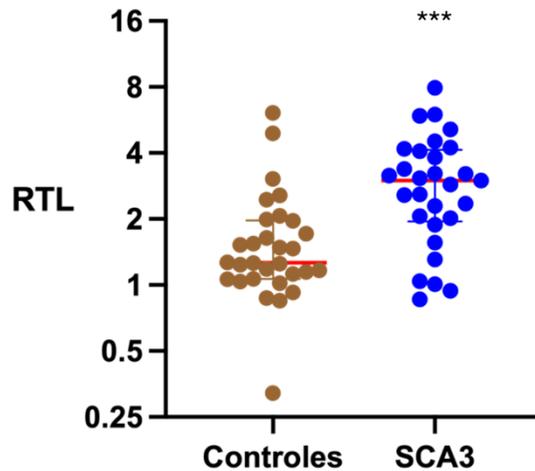


Figura 15. Distribución de la RTL en controles y pacientes con SCA3. Diagrama de puntos que muestra la distribución de RTL, relación T/S, comparando sujetos control (puntos cafés),  $n = 30$  y pacientes con SCA 3 (puntos azules),  $n = 29$ . Se muestran barras centrales que indican la mediana, así como el rango intercuartílico. Se realizó la prueba de U de Mann Whitney obteniendo un valor significativo (\*\*\*)  $p = 0.0002$ .

Se observó una correlación negativa moderada, entre la variable RTL y la edad a la toma de muestra de pacientes con diagnóstico

de SCA3, la correlación de spearman indicó un valor de  $r$ : 0.04859, intervalo de confianza: -0.4173 a 0.3338 y  $p$ : 0.8024; por otro lado, para los controles  $r$ : -0.4495, intervalo de confianza -0.7026 a -0.09546 y  $p$ : 0.0127. (Figura 16 y 17)

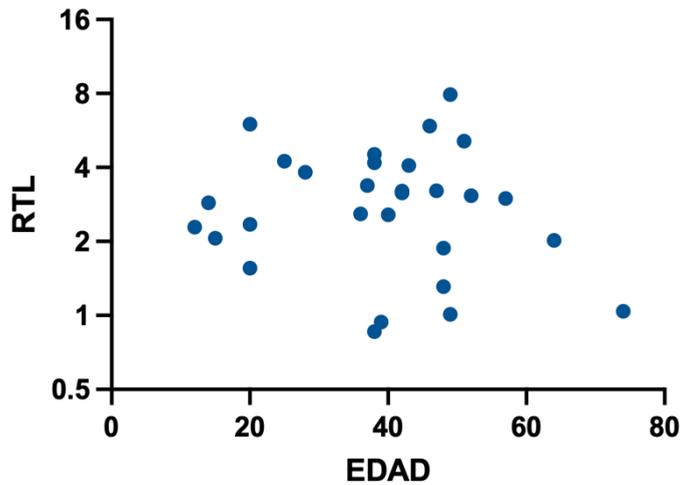


Figura 16. Dispersión agrupada de RTL por edad a la toma de la muestra para pacientes con SCA3. Se aplicó una correlación de Spearman, obteniéndose un coeficiente de correlación  $r = 0.0485$ , indicando una correlación positiva muy baja.

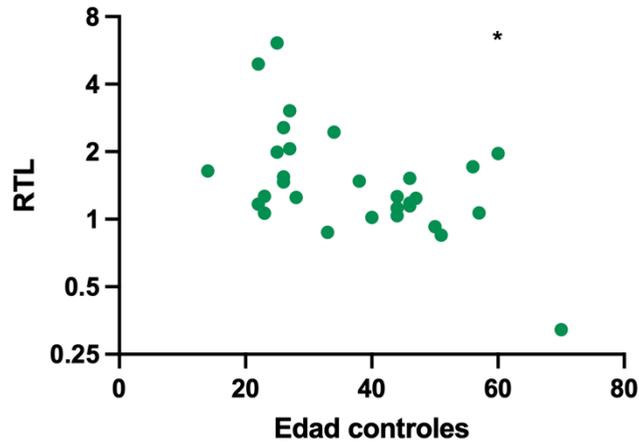


Figura 17. Correlación de RTL por edad a la toma de la muestra para controles. Se aplicó una correlación de Spearman, obteniéndose un coeficiente de correlación  $r = 0.4495$ , intervalo de confianza  $-0.7026$  a  $-0.09546$  y  $*p: 0.0127$ ; indicando significancia estadística.

Se empleó una correlación de Spearman para evaluar la relación del valor de RTL con el número de repeticiones CAG en los pacientes con SCA3, se obtuvo un valor de rho:  $0.1671$ ,  $p: 0.3863$  una correlación positiva muy baja, siendo no estadísticamente significativa. (figura 18)

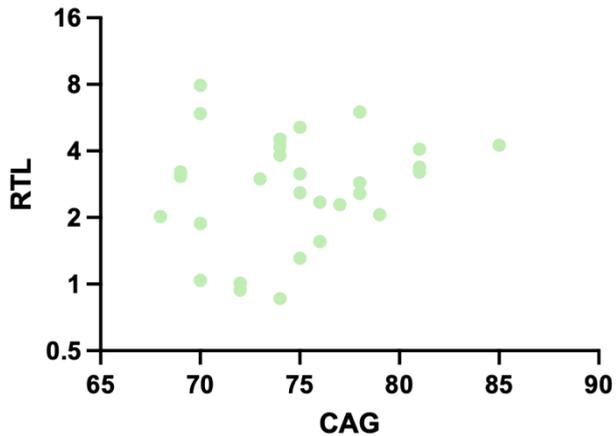


Figura 18. Correlación entre el valor de la RTL por el número de repetidos CAG. Presenta un coeficiente de correlación  $r = 0.1671$ ,  $p = 0.3863$ , correlación positiva muy baja.

Posteriormente, con base a los registros obtenidos de 7 pacientes con SCA3 en los cuales se contaba con la edad de inicio se realizo una sustracción a la edad de la toma de muestra, para obtener los años de evolución de la enfermedad. Se realizo esta correlación, donde observamos un valor de  $r = -0.6847$  y de  $p = 0.1016$ , siendo no significativa esta correlación (ver figura 19).

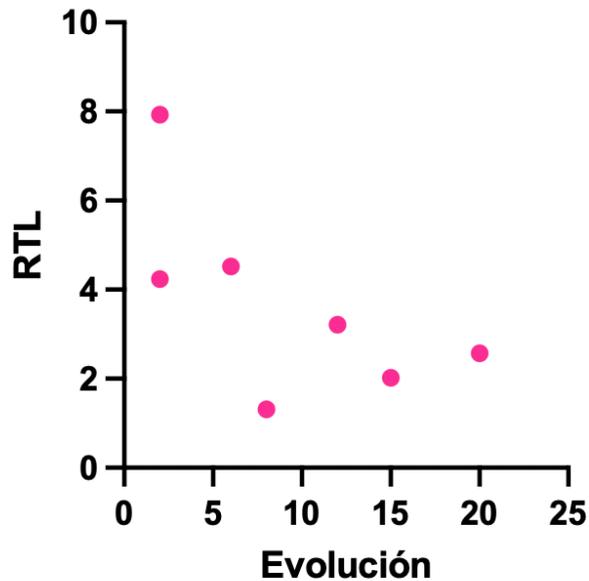


Figura 19. Correlación entre el valor de la RTL con los años de evolución de 7 pacientes con SCA3. Presenta un coeficiente de correlación  $r: -0.6847$  y de  $p: 0.1016$ , siendo no significativa esta correlación.

### 2.3 SCA7

Para el análisis en la entidad de ataxia espinocerebelosa tipo 7, el universo de estudio fueron 26 pacientes con estudio molecular positivo y 26 controles sanos. Comenzamos con una prueba de Shapiro Wilk para la identificación de la distribución de normalidad, con base en eso para los datos no paramétricos

utilizamos la prueba de U de Mann Whitney obteniendo una \* p: 0.0187, estadísticamente significativa; destacando un acortamiento en los telómeros de los pacientes en comparación con los controles (ver figura 20).

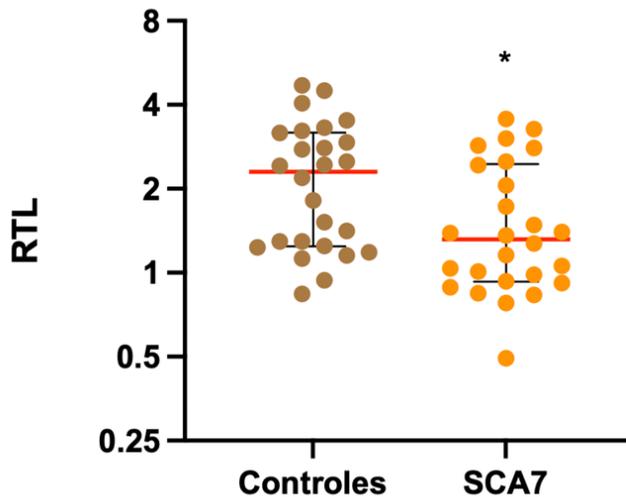


Figura 20. Distribución de la RTL en pacientes con SCA7 y controles. Se muestra la distribución de RTL expresada como una relación T/S en la comparación entre sujetos control (puntos cafés), n = 26 y pacientes con SCA7 (puntos naranjas), n = 26. Las barras centrales muestran la mediana, así como el rango intercuartílico. Se realizó la prueba de U de Mann Whitney obteniendo un valor significativo (\* p 0.0187).

Seguido de esto, se realizó una correlación con la variable de edad a la toma de la muestra con el valor del RTL, tanto a pacientes con SCA7 como a los controles. En la correlación de

spearman en los datos de los pacientes se encontró un valor de  $r$ : -0.1279, intervalo de confianza de -0.5001 a 0.2841 y  $p$ : 0.5334. Indicando una correlación negativa muy baja (ver figura 21).

Para los 26 controles de igual manera se realizó una correlación obteniendo  $r$ : -0.1370, intervalo de confianza de -0.4979 a 0.2644 y  $p$ : 0.50; siendo una correlación negativa muy baja y estadísticamente no significativa (ver figura 22).

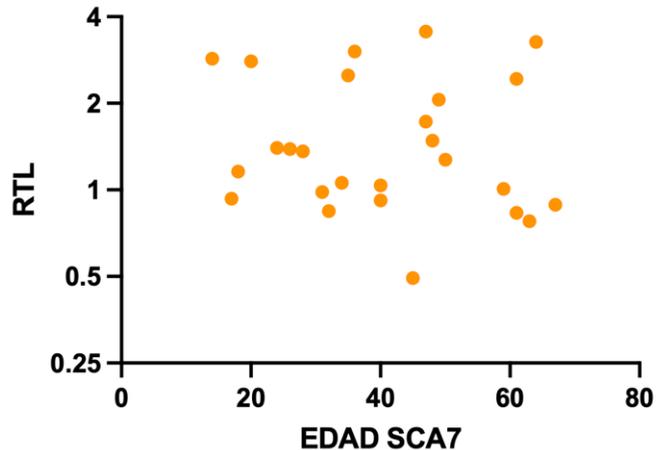


Figura 21. Correlación de la RTL con la edad a la toma de la muestra de los pacientes con SCA3. Se aplicó una correlación de spearman, obteniéndose un coeficiente de correlación  $r$ : -0.1279, intervalo de confianza de -0.5001 a 0.2841 y  $p$ : 0.5334, siendo estadísticamente no significativa.

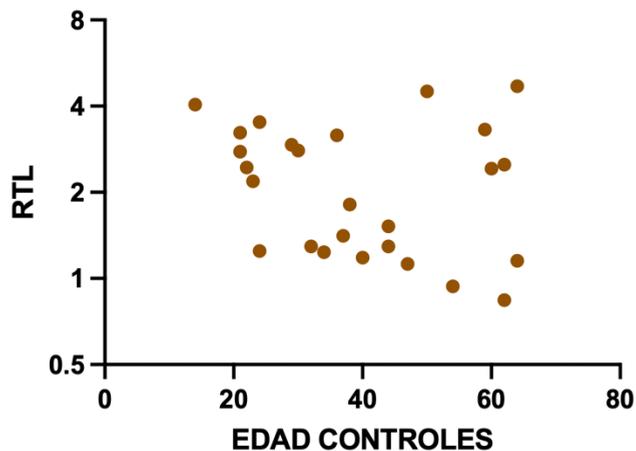


Figura 22. Distribución de la correlación de la RTL con la edad a la toma de la muestra de los controles. Se aplicó una correlación de Spearman, obteniéndose un coeficiente de correlación  $r: -0.1370$ , intervalo de confianza de  $-0.4979$  a  $0.2644$  y  $p: 0.504$ ; siendo estadísticamente no significativa.

En los pacientes con SCA7, dentro del análisis se incluyó la correlación de Spearman del valor de la RTL con el número de repetidos CAG (ver Figura 23), se demostró un valor de  $r: 0.1134$ , intervalo de confianza de  $-0.2976$  a  $0.4889$ ,  $p: 0.5814$ , siendo una correlación positiva muy baja, estadísticamente no significativa.

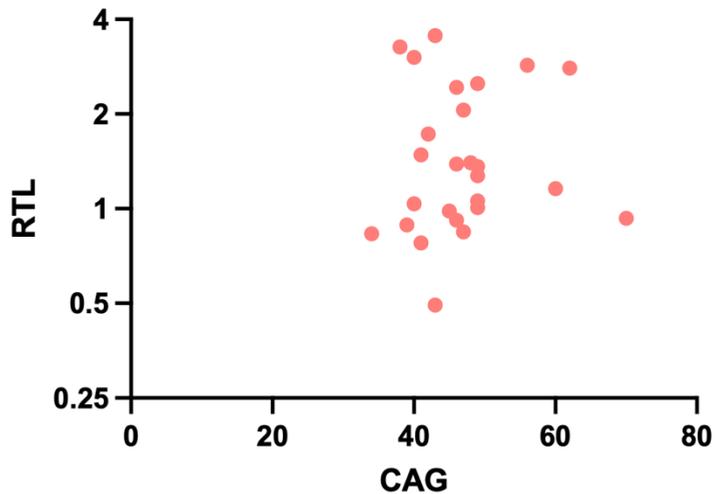


Figura 23. Correlación entre el número de repetidos CAG con el valor obtenido de RTL en paciente con diagnóstico de SCA7. Se aplicó una correlación de Spearman, obteniéndose un coeficiente de correlación  $r: 0.1134$ , intervalo de confianza de  $-0.2976$  a  $0.4889$ ,  $p: 0.5814$ , no significativo; siendo estadísticamente no significativa.

Por último, en pacientes con SCA7 se encontró una correlación de Spearman entre los años de evolución con el valor RTL con un valor de  $r: 0.1215$ , intervalo de confianza de  $-0.3163$  a  $0.5167$ ,  $p: 0.5901$ ; indicando una correlación positiva muy baja (ver figura 24).

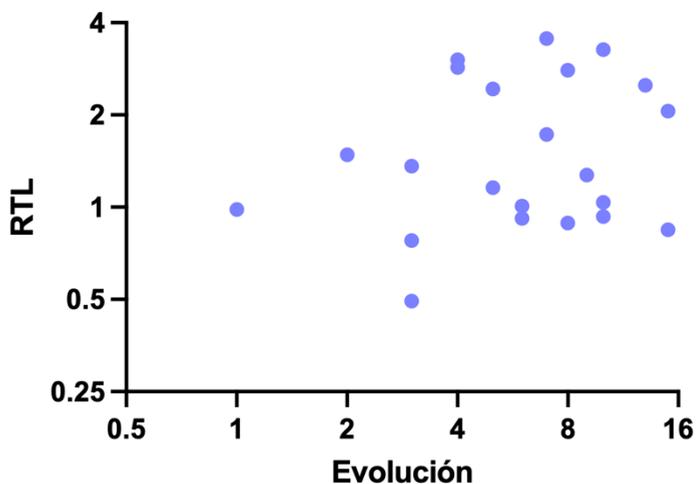


Figura 24. Correlación del valor de la RTL con los años de evolución de 22 pacientes con diagnóstico de SCA7. Se obtuvo una prueba de Spearman con un valor de  $r: 0.1215$ , intervalo de confianza de  $-0.3163$  a  $0.5167$ ,  $p: 0.5901$ , indicando una correlación positiva muy baja.

### Discusión:

Los telómeros tienden a acortarse con la edad y su acortamiento acelerado es un indicador de diversas enfermedades relacionadas con el envejecimiento. Recientemente, se ha descrito la posibilidad de usar la longitud relativa del telómero como un biomarcador de senescencia por su relevancia en el proceso de envejecimiento celular.

## **SCA2**

En nuestra investigación los resultados sobre la longitud relativa del telómero en 39 pacientes con diagnóstico previo de SCA2, y 30 controles, mostró ser significativamente más corta en los pacientes en comparación con los controles. Aunado a esto se observó una correlación negativa moderada entre la RTL y la edad a la toma de muestra en ambos grupos. A medida que las personas envejecen, la longitud de los telómeros tienden a disminuir, tanto en pacientes como en individuos sanos. La correlación entre la RTL con el número de repetidos CAG y los años de evolución de la enfermedad, no presentaron una correlación estadísticamente significativa y no se logra afirmar que el número de repetidos de CAG tenga un impacto directo en la RTL.

Contrario a nuestro reporte, Scarabino y colaboradores reportan un alargamiento de telómeros en pacientes con SCA2, con una diferencia estadísticamente significativa entre la distribución RTL de pacientes con SCA2 y controles. Sin embargo, el valor de la RTL se comporta independiente al número de repetidos CAG y

los años de evolución de la enfermedad; al igual que en este estudio (Scarabino *et al.*, 2022).

Las diferencias entre nuestros datos y los previamente mencionados pueden deberse a distintas causas entre las que destacan las diferencias entre la metodología empleada, el tamaño de la muestra o incluso características específicas de la población estudiada. En este protocolo al ser retrospectivo, las muestras analizadas contaban con al menos 10 años de antigüedad, pese a que la relación 260/280 indicaban que eran correctos; queda en duda la integridad de los telómeros. Sin embargo, la longitud de los telómeros individual aparenta ser muy dinámica, reflejando cambios que frecuentemente son temporales y no están directamente relacionados con el proceso de envejecimiento en sí. Aún no se cuenta con la información necesaria para determinar si los cambios en la longitud de los telómeros son una causa o un efecto del envejecimiento. (Vaiserman & Krasnienkov, 2021)

### **SCA3**

En contraste, de acuerdo a nuestros resultados en los 29 pacientes con SCA3 y 30 controles, se obtuvo un valor mayor en

la mediana de la RTL de los pacientes con SCA3 en comparación con los controles, siendo así estadísticamente significativa, sugiriendo un alargamiento telomérico.

Cuando se habla de patologías relacionadas con envejecimiento, se asocia un mecanismo de acortamiento telomérico, lo cual sugiere lo contrario, que un alargamiento brinda longevidad. No obstante, en distintas publicaciones se habla de la relación que existe mecanismos que confieren telómeros más largos con mayor riesgo de cáncer, como los síndromes de cáncer familiar o “síndromes de telómeros largos” (Stanley *et al.*, 2015). Lo anterior, nos orienta a que es posible que en este tipo de ataxia la neurodegeneración genere una mayor expresión de la telomerasa como uno de los mecanismos descritos para enfermedad de Parkinson (Degerman *et al.*, 2014)

En el estudio de Scarabino y colaboradores, 2022, reportan que los valores de RTL de los pacientes con SCA3 se redujeron significativamente en comparación con los controles, así como una correlación entre la longitud de los telómeros de los pacientes, la edad y de la evolución de la enfermedad.

Otra variable a considerar para estas diferencias en nuestros resultados en comparación con los reportados en la literatura es que la longitud de los telómeros (LTL) está considerablemente influenciada por la composición de leucocitos en la muestra de sangre. Por lo tanto, la integridad del sistema inmunológico del universo de estudio cobra relevancia. Además, aún se tienen cuestionamientos sobre si la RTL pudiera considerarse un marcador sustituto confiable para los cambios observados en la longitud de los telómeros en otros tejidos corporales, sobre todo como en el caso de nuestro protocolo, que son células con una baja actividad proliferativa como el sistema nervioso central (Vaiserman & Krasnienkov, 2021).

Concretamente no se observó ninguna correlación entre la longitud relativa de los telómeros (RTL), el número de repeticiones CAG y la duración de la enfermedad. Esto sugiere que la longitud de los telómeros se mantiene estable a lo largo de toda la enfermedad.

### **SCA7**

Para el caso del análisis de la ataxia espinocerebelosa tipo 7, se estudiaron 26 pacientes con el diagnóstico y 26 controles, donde

se observó un acortamiento telomérico con un valor de p estadísticamente significativo. Además, no se demostró una relación entre el valor de la RTL con el número de repetidos o los años de evolución, la correlación es muy débil y no es estadísticamente significativa, no se cuenta con suficiente evidencia para afirmar que existe una relación real entre estas variables en la población estudiada. Sin embargo, lo anterior es de suma relevancia ya que hasta la fecha no hay estudios previos en esta entidad sobre la longitud del telómero. Sería recomendable aumentar la muestra poblacional para contar con mayor poder estadístico.

Previamente, se reporta mayor expresión de marcadores relacionados a senescencia como p16Ink4a y p21Cip1 y una actividad incrementada de SA-βgal en el riñón y en la capa de Purkinje del cerebelo en modelos murinos. (Miller *et al.*, 2022). Además, se debe considerar que la longitud del telómero también esta influenciada por factores ambientales, genéticos y de comportamiento. La inflamación crónica y el estrés oxidativo pueden acelerar el acortamiento de los telómeros. Anteriormente, se ha reportado una conexión entre la disminución de la longitud del mismo con una mayor presencia

de daño en el DNA y marcadores de oxidación de proteínas (Chi et al.,2023). Además, Kota y colaboradores observaron una disminución en la relación T/S en tres enfermedades neurodegenerativas: enfermedad de Huntington, ataxia telangiectasia y demencia; describen que la longitud reducida de los telómeros podría ser indicativo de vías biológicas compartidas que contribuyen a la senescencia celular. Relacionado con esto también se encuentra el estrés oxidativo y las alteraciones en la homeostasis mitocondrial (Kota *et al*, 2015)

De igual manera, sería recomendado emplear otras metodologías para evaluación de la senescencia en estos pacientes.

### **Conclusión**

Con este estudio, se observaron variaciones en el valor de RTL en los pacientes con diagnóstico de cada una de las ataxias estudiadas en comparación con los controles sanos, comprobando así la hipótesis planteada.

Los resultados del presente trabajo nos permitieron obtener información relevante sobre la asociación entre el cambio en el valor de la RTL con la edad de los pacientes, el número de repetidos CAG, tiempo de evolución de la enfermedad, su contraste con series similares de otros países, y determinar que es posible considerar el valor de RTL como un marcador indirecto.

Esta técnica ayudo a determinar el valor relativo de la RTL, no obstante, es crucial realizar otras pruebas cuantitativas para concluir sobre el efecto en la longitud de los telómeros en pacientes con enfermedades neurodegenerativas como lo son las ataxias. En ese caso específicamente, sería de mayor poder estadístico aumentar el universo de estudio, así como más investigación sobre este mecanismo y dilucidar si se trata de una causa o un efecto de la senescencia.

En cuanto a perspectivas a futuro, nuestra investigación, es un hito para el estudio de la senescencia en enfermedades por tractos de poliglutamina ya que permitirá continuar explorando la longitud relativa del telómero como un posible biomarcador de la progresión de la enfermedad. Una manera de evaluar estos

resultados sería realizando un análisis de la curva de característica operativa del receptor (ROC) para determinar si existe cierta sensibilidad y especificidad, especialmente en la SCA7.

Con lo anterior, se podrían establecer estrategias de salud pública para efectuar intervenciones médicas oportunas que disminuyan o retrasen la progresión de la enfermedad, tener un seguimiento más estrecho y a su vez reducir las repercusiones a nivel de discapacidad del paciente.

#### **Referencias:**

(S/f-b). Genecards.org. Recuperado el 9 de junio de 2024, de <https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=ATXN3&keywords=ATXN3>

(S/f). Genecards.org. Recuperado el 9 de junio de 2024, de <https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=ATXN2>

Alonso, E., Martínez-Ruano, L., De Biase, I., Mader, C., Ochoa, A., Yescas, P., ... & Rasmussen, A. (2007). Distinct distribution of autosomal dominant spinocerebellar ataxia in the Mexican population. *Movement disorders*, 22(7), 1050-1053.

Arleo, A., Bareš, M., Bernard, J. A., Bogoian, H. R., Bruchhage, M. M., Bryant, P., ... & Manto, M. (2024). Consensus paper: Cerebellum and ageing. *The Cerebellum*, 23(2), 802-832.

Borgonio-Cuadra, V. M., Valdez-Vargas, C., Romero-Córdoba, S., Hidalgo-Miranda, A., Tapia-Guerrero, Y., Cerecedo-Zapata, C. M., ... & Magaña, J. J. (2019). Wide profiling of circulating MicroRNAs in spinocerebellar ataxia type 7. *Molecular neurobiology*, 56, 6106-6120.

Cawthon, R. M. (2002). Telomere measurement by quantitative PCR. *Nucleic acids research*, 30(10), e47-e47.

Chi, Z., Bai, X., & Zhang, Z. (2023). Risk relationship between leukocyte telomere length and constipation: a Mendelian randomization study. *Frontiers in Medicine*, 10, 1177785.

Coarelli, G., Coutelier, M., & Durr, A. (2023). Autosomal dominant cerebellar ataxias: new genes and progress towards treatments. *The Lancet Neurology*, 22(8), 735-749.

Coarelli, G., Wirth, T., Tranchant, C., Koenig, M., Durr, A., & Anheim, M. (2023). The inherited cerebellar ataxias: an update. *Journal of neurology*, 270(1), 208-222.

Cundari, M., Vestberg, S., Gustafsson, P., Gorcenco, S., & Rasmussen, A. (2023). Neurocognitive and cerebellar function in ADHD, autism and spinocerebellar ataxia. *Frontiers in Systems Neuroscience*, *17*, 1168666.

De Mattei, F., Ferrandes, F., Gallone, S., Canosa, A., Calvo, A., Chiò, A., & Vasta, R. (2023). Epidemiology of Spinocerebellar Ataxias in Europe. *The Cerebellum*, 1-8.

Degerman, S., Domellöf, M., Landfors, M., Linder, J., Lundin, M., Haraldsson, S., ... & Forsgren, L. (2014). Long leukocyte telomere length at diagnosis is a risk factor for dementia progression in idiopathic parkinsonism. *PloS one*, *9*(12), e113387.

Englund, D. A., Jolliffe, A., Aversa, Z., Zhang, X., Sturmlechner, I., Sakamoto, A. E., ... & LeBrasseur, N. K. (2023). p21 induces a senescence program and skeletal muscle dysfunction. *Molecular metabolism*, *67*, 101652.

Evers, M. M., Toonen, L. J., & van Roon-Mom, W. M. (2014). Ataxin-3 protein and RNA toxicity in spinocerebellar ataxia type 3: current insights and emerging therapeutic strategies. *Molecular neurobiology*, *49*, 1513-1531.

Felício, D., du Mérac, T. R., Amorim, A., & Martins, S. (2023). Functional implications of paralog genes in polyglutamine spinocerebellar ataxias. *Human Genetics*, 142(12), 1651-1676.

Gómez, R., Tapia-Guerrero, Y. S., Cisneros, B., Orozco, L., Cerecedo-Zapata, C., Mendoza-Caamal, E., ... & Magaña, J. J. (2022). Genetic distribution of five spinocerebellar ataxia microsatellite loci in mexican native american populations and its impact on contemporary mestizo populations. *Genes*, 13(1), 157.

Goswami, R., Bello, A. I., Bean, J., Costanzo, K. M., Omer, B., Cornelio-Parra, D., ... & Mohan, R. D. (2022). The molecular basis of spinocerebellar ataxia type 7. *Frontiers in neuroscience*, 16, 818757.

Huebra, L., Coelho, F. M., Filho, F. M. R., Barsottini, O. G., & Pedroso, J. L. (2019). Sleep disorders in hereditary ataxias. *Current neurology and neuroscience reports*, 19, 1-10.

Klockgether, T., Mariotti, C., & Paulson, H. L. (2019). Spinocerebellar ataxia. *Nature reviews Disease primers*, 5(1), 24.

Kota, L. N., Bharath, S., Purushottam, M., Moily, N. S., Sivakumar, P. T., Varghese, M., ... & Jain, S. (2015). Reduced telomere length in neurodegenerative disorders may suggest shared biology. *The Journal of neuropsychiatry and clinical neurosciences*, 27(2), e92-e96.

Kudlova, N., De Sanctis, J. B., & Hajduch, M. (2022). Cellular senescence: molecular targets, biomarkers, and senolytic drugs. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(8), 4168.

Lai, T. P., Wright, W. E., & Shay, J. W. (2018). Comparison of telomere length measurement methods. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 373(1741), 20160451.

Lee, D., Lee, Y. I., Lee, Y. S., & Lee, S. B. (2020). The mechanisms of nuclear proteotoxicity in polyglutamine spinocerebellar ataxias. *Frontiers in Neuroscience*, 14, 537161.

Li, Z., Zhang, Z., Ren, Y., Wang, Y., Fang, J., Yue, H., ... & Guan, F. (2021). Aging and age-related diseases: from mechanisms to therapeutic strategies. *Biogerontology*, 22(2), 165-187.

Linares, A. J., & Fogel, B. L. (2023). Late-onset hereditary ataxias with dementia. *Current Opinion in Neurology*, 36(4), 324-334.

Liu, R. M. (2022). Aging, cellular senescence, and Alzheimer's disease. *International journal of molecular sciences*, 23(4), 1989.

Magaña, J. J., Tapia-Guerrero, Y. S., Velázquez-Pérez, L., Cerecedo-Zapata, C. M., Maldonado-Rodríguez, M., Jano-Ito, J. S., ... & Cisneros, B. (2014). Analysis of CAG repeats in five SCA loci in Mexican population: epidemiological evidence of a SCA7 founder effect. *Clinical genetics*, 85(2), 159-165.

Magaña, J. J., Vergara, M. D., Sierra-Martínez, M., García-Jiménez, E., Rodríguez-Antonio, F., & del Rocío Gómez, M. (2008). Análisis molecular de los repetidos CAG en pacientes mexicanos con ataxia espinocerebelosa tipo 2. *Gaceta médica de México*, 144(5), 413-418.

Miller, W., Pruett, C. L. H., Stone, W., Eide, C., Riddle, M., Popp, C., ... & Tolar, J. (2022). Accumulation of senescence observed in spinocerebellar ataxia type 7 mouse model. *Plos one*, 17(10), e0275580.

Niewiadomska-Cimicka, A., & Trottier, Y. (2019). Molecular targets and therapeutic strategies in spinocerebellar ataxia type 7. *Neurotherapeutics*, 16(4), 1074-1096.

Paulson, H., & Shakkottai, V. (2020). Spinocerebellar Ataxia Type 3. University of Washington, Seattle.

PerezGrovas-Saltijeral, A., Ochoa-Morales, A., Jara-Prado, A., Velázquez-Cruz, R., Rivera-Paredes, B., Dávila-OrtizdeMontellano, D., ... & Hidalgo-Bravo, A. (2023). Unraveling the role of relative telomere length and CAG expansion on initial symptoms of juvenile Huntington disease. *European Journal of Neurology*, 30(3), 612-621.

Pilotto, F., Del Bondio, A., & Puccio, H. (2024). Hereditary Ataxias: From Bench to Clinic, Where Do We Stand?. *Cells*, 13(4), 319.

Pulst, S. M. (2019). Spinocerebellar Ataxia Type 2. University of Washington, Seattle.

Putka, A. F., Mato, J. P., & McLoughlin, H. S. (2023). Myelinating Glia: Potential Therapeutic Targets in Polyglutamine Spinocerebellar Ataxias. *Cells*, 12(4), 601.

Rodríguez-Labrada, R., Martins, A. C., Magaña, J. J., Vazquez-Mojena, Y., Medrano-Montero, J., Fernandez-Ruíz, J., ... & PanAmerican Hereditary Ataxia Network. (2020). Founder effects of spinocerebellar ataxias in the American continents and the Caribbean. *The Cerebellum*, 19, 446-458.

Rosenthal, L. S. (2022). Neurodegenerative cerebellar ataxia. *CONTINUUM: Lifelong Learning in Neurology*, 28(5), 1409-1434.

Santos, C., Malheiro, S., Correia, M., & Damásio, J. (2023). Gene Suppression Therapies in Hereditary Cerebellar Ataxias: A Systematic Review of Animal Studies. *Cells*, 12(7), 1037.

Scarabino, D., Veneziano, L., Fiore, A., Nethisinghe, S., Mantuano, E., Garcia-Moreno, H., ... & Giunti, P. (2022). Leukocyte telomere length Variability as a potential Biomarker in patients with PolyQ diseases. *Antioxidants*, 11(8), 1436.

Stanley, S. E., & Armanios, M. (2015). The short and long telomere syndromes: paired paradigms for molecular medicine. *Current opinion in genetics & development*, 33, 1-9.

Sullivan, R., Yau, W. Y., O'Connor, E., & Houlden, H. (2019). Spinocerebellar ataxia: an update. *Journal of neurology*, 266, 533-544

Torres-Ramos, Y., Montoya-Estrada, A., Cisneros, B., Tercero-Pérez, K., León-Reyes, G., Leyva-García, N., ... & Magaña, J. J. (2018). Oxidative stress in spinocerebellar ataxia type 7 is associated with disease severity. *The Cerebellum*, 17, 601-609.

Vaiserman, A., & Krasnienkov, D. (2021). Telomere length as a marker of biological age: state-of-the-art, open issues, and future perspectives. *Frontiers in Genetics*, 11, 630186.

## **Lista de Tablas**

Tabla 1. Distribución de los pacientes con SCA y prevalencias en comunidades del estado de Veracruz. Modificada de Magaña, 2014.

Tabla 2. Comparación del número de repetidos CAG del gen de la ataxina-2 en diferentes poblaciones. Modificado de Magaña 2008.

Tabla 3. Se muestra las principales características clínicas y neuropatológicas de las SCA polyQ. Modificada de Borbilla-Jiménez et al.2021.

Tabla 4. Genética de las ataxias por poliglutamina. Modificada de McIntosh et al. 2021.

Tabla 5. Marcadores destacados de senescencia y métodos utilizados para su detección. Modificada de Kudlova et al., 2022

Tabla 6. Datos demográficos, genéticos y clínicos del universo de estudio.

## **Lista de Figuras**

Figura 1. Clasificación de Harding de la ataxia espinocerebelosa, que detalla la clasificación de SCA según la presentación de los síntomas y las SCA asociadas con esa clasificación. Modificada de Sullivan R et al. 2019.

Figura 2. Tasas de prevalencia de grupos de ataxia espinocerebelosa en las Américas y el Caribe. Modificada de Rodríguez, 2020.

Figura 3. Localización geográfica de las comunidades del estado de Veracruz con casos de SCA7 en población mexicana. (Magaña, 2014)

Figura 4. Citoarquitectura del cerebelo y su interrelación con otras estructuras. Modificado de Adserá et al. (2021).

Figura 5. Anomalías de la sustancia blanca y los oligodendrocitos en la literatura sobre PolyQ SCA. (Modificado de Putka et al. 2023)

Figura 6. Estructura del gen ATXN2 localizado en el cromosoma 12 humano. Modificada de Magaña, 2013.

Figura 7. Ubicaciones relativas del pre-RNA de expansiones de trinucleótidos.

Figura 8. Los agregados de proteínas PolyQ alteran diferentes procesos celulares.

Figura 9. El método qPCR proporciona una longitud relativa de los telómeros (T) en comparación con un gen de copia única (S). Modificado de Lai et al., 2018.

Figura 10. Curvas de amplificación para calcular el RTL.

Figura 11. Distribución de la RTL en controles y pacientes con SCA2.

Figura 12. Correlación de RTL con la edad al momento de la muestra en pacientes con diagnóstico de SCA2.

Figura 13. Correlación de la RTL con el número de repetidos CAG.

Figura 14. Dispersión simple de la longitud relativa de los telómeros (RTL) por los años de evolución en 16 pacientes con SCA2.

Figura 15. Distribución de la RTL en controles y pacientes con SCA3.

Figura 16. Dispersión agrupada de RTL por edad a la toma de la muestra para pacientes con SCA3.

Figura 17. Correlación de RTL por edad a la toma de la muestra para controles.

Figura 18. Correlación entre el valor de la RTL por el número de repetidos CAG.

Figura 19. Correlación entre el valor de la RTL con los años de evolución de 7 pacientes con SCA3.

Figura 20. Distribución de la RTL en pacientes con SCA7 y controles.

Figura 21. Correlación de la RTL con la edad a la toma de la muestra de los pacientes con SCA3.

Figura 22. Distribución de la correlación de la RTL con la edad a la toma de la muestra de los controles

Figura 23. Correlación entre el número de repetidos CAG con el valor obtenido de RTL en paciente con diagnóstico de SCA7.

Figura 24. Correlación del valor de la RTL con los años de evolución de 22 pacientes con diagnóstico de SCA7.

## Anexos

Se usó el programa STATA 15.0 con los parámetros siguientes para ataxia espinocerebelosa tipo 2, para un tamaño de muestra estimado para SCA2: N por grupo = 22

alpha = 0.0100
power = 0.9000
delta = 0.0800
m1 = 0.9800
m2 = 1.0600
sd1 = 0.0700
sd2 = 0.0600

Los parámetros para SCA3, para un tamaño de muestra estimado para SCA3: N por grupo = 18.

alpha = 0.0100
power = 0.9000
delta = -0.0700
m1 = 0.9700
m2 = 0.9000
sd1 = 0.0400
sd2 = 0.0600



**CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO**

Ciudad \_\_\_\_\_ a \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 2023

A Quién Corresponda:

Por medio de la presente hago de su conocimiento que he dado mi consentimiento en forma libre y voluntaria para participar en el proyecto de investigación **'Estandarización de un Diagnóstico Molecular eficaz y su correlación con la edad de inicio, transmisión y génesis de las Ataxias Espinocerebelosas tipo 1, 2, 3, 6 y 7 en la población mexicana'** a cargo del Dr. en C. JONATHAN JAVIER MAGAÑA AGUIRRE, que se realizará en el servicio de Genética y Medicina Genómica del Instituto Nacional de Rehabilitación, con registro definitivo 15/12.

He sido informado que la finalidad del estudio consiste en la búsqueda de un mayor entendimiento de los factores que provocan esta enfermedad. Se realizará tomando una muestra de sangre de la vena del brazo con la finalidad de purificar mi material hereditario, existiendo una mínima posibilidad de que se forme un moretón.

Tengo el entendimiento que de este estudio se obtendrá como beneficio un mayor conocimiento de la enfermedad y que conforme a los resultados obtenidos, posiblemente, en un futuro, se puedan originar estrategias que coadyuven en el tratamiento de mi enfermedad. Es de mi conocimiento que este estudio no tiene ningún costo para mí. También se me explicó que es posible que se guarde una parte del material hereditario que se obtenga de la sangre (DNA y RNA) ya que posteriormente se podrán estudiar otros factores que provocan mi enfermedad y que la información obtenida será confidencial. Así mismo, se me ha explicado que puedo solicitar información adicional acerca de los riesgos y beneficios de mi participación y que estoy en libertad de negarme a participar en el estudio, sin que esto modifique la calidad de atención médica que reciba.

NOMBRE DEL PACIENTE: \_\_\_\_\_ Edad \_\_\_\_\_

Fecha de nacimiento: \_\_\_\_\_ Refiere : \_\_\_\_\_

FIRMA DEL PACIENTE, PADRE O TUTOR: \_\_\_\_\_

**JEFE DEL SERVICIO:**

**RESPONSABLE DEL PROYECTO:**

**DR. NORBERTO LEYVA GARCÍA  
AGUIRRE**

**D. EN C. JONATHAN JAVIER MAGAÑA**