

TRABAJO FIN DE GRADO

GRADO EN MEDICINA

EL PAPEL DE LA SEROTONINA VESICULAR PLAQUETARIA EN PACIENTES CON DIAGNÓSTICO DE TEMBLOR

AUTORA

Paula Martín Martín

TUTORA

María Mercedes Pueyo Morlans

COTUTORES

Pablo Manuel Montenegro

Carolina Hernández Javier

Departamento de Medicina Física y Farmacología Sección de
Medicina, Facultad de Ciencias de la Salud Universidad de La Laguna
Hospital Universitario de Canarias (HUC)

CURSO ACADÉMICO 2023-2024
CONVOCATORIA DE MAYO

ÍNDICE

RESUMEN

ABSTRACT

INTRODUCCIÓN

1. Concepto general temblor
2. Clasificación temblor
3. Temblor esencial: concepto, epidemiología, patogenia, síntomas, evaluación diferencial con Temblor Esencial Plus, diagnóstico y tratamiento.
4. Plaquetas como modelo neuronal

OBJETIVOS

MATERIAL Y MÉTODOS

1. Selección y obtención muestras
2. Aislamiento y mantenimiento de plaquetas
3. Experimentos de captación
4. Determinación de la concentración de serotonina y proteínas
5. Análisis y estadística de los resultados

RESULTADOS

DISCUSIÓN

CONCLUSIONES

¿QUÉ HE APRENDIDO EN ESTE TFG?

BIBLIOGRAFÍA

ANEXOS

RESUMEN

El Temblor Esencial (TE) es uno de los trastornos del movimiento más frecuentes en adultos, cuyo diagnóstico es principalmente clínico y de exclusión de otros Síndromes Tremóricos. Debido a la heterogeneidad de síntomas que aparecen en la enfermedad, surge un nuevo grupo denominado TE plus. Además de cumplir los criterios básicos de TE, los sujetos también presentan signos neurológicos leves de significado incierto, pero a su vez, no cumplen criterios de Enfermedad de Parkinson (EP). En la patogenia del TE están implicadas la vía GABAérgica y cerebelosa, a diferencia de la EP, en la que la alteración de la vía dopaminérgica se correlaciona con un déficit en la capacidad de captación, acumulación y liberación de 5-HT en las plaquetas. Ambas entidades comparten síntomas motores similares, sin embargo, las implicaciones terapéuticas y pronósticas son diferentes para cada enfermedad. Por lo tanto, procederemos a desarrollar herramientas de evaluación preclínicas como el denominado “test de serotonina” que nos permitan distinguirlos a nivel molecular.

El objetivo principal es correlacionar los resultados de dicho test de serotonina (5-HT) en plaquetas, que en resultados preliminares han mostrado valores alterados en pacientes con EP, con los de sujetos sanos, y a su vez, comparar estos descubrimientos con los de TE y TE plus. Como objetivos secundarios, analizaremos las características demográficas de nuestra muestra.

Se ha llevado a cabo un estudio de tipo observacional prospectivo con 36 pacientes: 20 fueron diagnosticados de Temblor Esencial Plus, 12 Temblor esencial Puro, 2 de Temblor Farmacológico, 1 de Temblor Funcional y 1 Temblor Ortostático. Los datos obtenidos serán comparados con 95 pacientes con Enfermedad de Parkinson y 128 controles sanos.

Podemos concluir que, en nuestro estudio, el conjunto de pacientes con Síndromes Tremóricos (TE - TE Plus), muestran una leve tendencia a la disminución en la captación total y específica de 5H-T, no significativa, en comparación con los controles sanos. Específicamente, sí se aprecia una mayor reducción en aquellos con TE plus, sugiriendo una posible superposición con la EP.

Palabras clave: Temblor esencial, TE plus, plaquetas, serotonina.

ABSTRACT

Essential Tremor (ET) is one of the most common movement disorders in adults, with a diagnosis that is primarily clinical and involves the exclusion of other Tremor Syndromes. Due to the heterogeneity of symptoms that appear in the disease, a new group called ET plus has emerged. In addition to meeting the basic criteria for ET, these individuals also present mild neurological signs of uncertain significance, but do not meet the criteria for Parkinson's Disease (PD). In the pathogenesis of ET, the GABAergic and cerebellar pathways are involved, unlike in PD, where the alteration of the dopaminergic pathway correlates with a deficit in the ability to uptake, accumulate, and release 5-HT in platelets. Both entities share similar motor symptoms; however, the therapeutic and prognostic implications are different for each disease. Therefore, we will develop preclinical evaluation tools, such as the so-called “serotonin test,” to distinguish them at the molecular level.

The main objective is to correlate the results of serotonin (5-HT) uptake, accumulation, and release capacity in platelets, which have shown altered values in patients with PD in preliminary findings, with those of healthy subjects, and simultaneously, to compare these findings with those of ET and ET plus. As secondary objectives, we will analyze the demographic characteristics of our sample.

A prospective observational study was conducted with 36 patients: 20 were diagnosed with Essential Tremor Plus, 12 with Pure Essential Tremor, 2 with Drug-Induced Tremor, 1 with Functional Tremor, and 1 with Orthostatic Tremor. The data obtained will be compared with 95 patients with Parkinson's Disease and 128 healthy controls.

We can conclude that patients with Tremor Syndromes (TE-TE Plus), in our study, show a slight, non-significant tendency towards reduced total and specific 5-HT uptake compared to healthy controls. Specifically, a greater reduction is observed in those with TE Plus, suggesting a possible overlap with PD.

Keywords: Essential Tremor, ET plus, platelets, serotonin.

INTRODUCCIÓN

1. Concepto.

El temblor se define como un movimiento, rítmico, oscilante, que involucra una o varias partes del cuerpo debido a una contracción alternante de los músculos agonistas y antagonistas. Gran parte de los temblores aparecen en las manos, aunque también pueden afectarse otras partes del cuerpo (brazos, cabeza, boca, cuerdas vocales, tronco o piernas).[1]

2. Clasificación Temblor

El grupo de trabajo sobre temblores de la Sociedad Internacional de Enfermedad de Parkinson y Trastornos del Movimiento (IPMDS) ha trabajado para desarrollar una clasificación de los temblores que refleje su fisiopatología subyacente, así como su marcada heterogeneidad etiológica. Esta nueva clasificación se basa en dos ejes; el 1º basado en las características clínicas, la historia del paciente y las características del temblor, mientras que el 2º se fundamenta en la etiología del temblor.[2]

Atendiendo al patrón de activación, podemos clasificar al temblor en las siguientes entidades:
[3]

Temblor de reposo: presente cuando una extremidad está en reposo, totalmente soportada contra la acción de la gravedad y no asociada con ningún movimiento voluntario.

Temblor de acción: ocurre durante cualquier movimiento voluntario de una parte del cuerpo. Los temblores de acción pueden o no cambiar en intensidad a medida que se alcanza un objetivo. Hay varias subcategorías dentro de este tipo de temblor:

- *Temblor postural:* temblor que aparece durante el mantenimiento voluntario de una postura en contra de la gravedad, al mantener los brazos extendidos, por ejemplo.
- *Temblor cinético:* temblor asociado a cualquier movimiento voluntario, por ejemplo alcanzar un objeto.
- *Temblor intencional:* se produce durante movimientos finos, precisos y voluntarios hacia un objetivo, por ejemplo apuntar con el dedo.

Con respecto a la etiología, la mayoría de los tipos de temblor no tienen un origen conocido, se dividen en categorías según la causa: genética, adquirida o idiopática. Y en relación con la

etiología subyacente encontramos; enfermedades neurodegenerativas, enfermedades infecciosas o inflamatorias, trastornos endocrinos y metabólicos, neuropatías y atrofas musculares espinales y multitud de toxinas y drogas. Además de causas vasculares, neoplasias, traumatismos, ansiedad y estrés.

3. Temblor esencial

Dentro de los temblores, el temblor esencial es una de las identidades más frecuentes, siendo a su vez uno de los trastornos del movimiento más frecuentes en adultos [4]. Se define como un temblor de acción aislado, que no se puede atribuir a otra causa subyacente, presente en las extremidades superiores bilaterales durante al menos tres años. Las extremidades superiores suelen estar afectadas simétricamente, pero con la progresión de la enfermedad podemos observar una asimetría leve o moderada. La cabeza y la voz también pueden verse comprometidas, y en menor frecuencia, las piernas, la mandíbula y el tronco. El temblor es característicamente postural aunque puede aumentar al realizar un movimiento dirigido hacia un objeto (temblor cinético).[5] Con el transcurso de la enfermedad, puede aparecer el temblor intencional o, asociado a una mayor gravedad del mismo, temblor de reposo.[6] Los síntomas suelen ser progresivos y potencialmente incapacitantes, afectando a las actividades diarias comunes como escribir, beber de un vaso o manipular utensilios para comer.

En cuanto a la epidemiología, los individuos con formas leves de temblor esencial no suelen solicitar atención médica, además de ser un síntoma que con frecuencia se asocia al envejecimiento por parte de los facultativos, no considerándolo subsidiario a tratamiento. Se estima que la proporción de casos no diagnosticados puede llegar a ser de hasta un 80%. Es más común entre adultos de mediana o avanzada edad, aunque puede ocurrir en cualquier etapa de la vida.. En general, la prevalencia del temblor aumenta con el envejecimiento situándose en torno a 2,3-14,3% (mediana: 6,3%) en mayores de 60 años. En sujetos mayores de 95 años se ha estimado una prevalencia de hasta el 21,7% y una tasa de incidencia de 616 por 100.000 anualmente. En cuanto al sexo, en un tercio de los estudios poblacionales se encuentra una mayor prevalencia entre los varones.[4]

La epidemiología analítica nos permite evaluar los factores de riesgo para desarrollar la enfermedad, sin embargo, la etiología exacta del temblor esencial se desconoce aún. El envejecimiento constituye el factor no modificable más importante para padecer temblor esencial. Destacan también posibles factores genéticos, ya que se encuentran antecedentes familiares hasta en un 50% de los casos.[7] Las β -carbolinas son aminos orgánicas, que se

comportan como neurotoxinas, dentro de este grupo encontramos los harmanos, que son altamente tremorígenos y se han encontrado elevados en sangre en paciente con temblor esencial.[8]El consumo de alcohol que reduce la gravedad del temblor esencial genera una pérdida de células de Purkinje y una disfunción cerebelosa que puede asociarse a un incremento del riesgo. Por otro lado, el consumo de cafeína podría ser un factor de riesgo para desarrollar temblor esencial debido al bloqueo del receptor de adenosina, neurotransmisor que se ha visto implicado en la reducción del temblor. Los plaguicidas o el plomo también se encuentran dentro de los factores de riesgo. [9]

Aunque su patogénesis no se comprende bien, los estudios clínicos y de imagen señalan una afectación del cerebelo y sugieren que el temblor esencial está mediado por un circuito neuronal que involucra las vías cerebelo-tálamo-corticales. Por consiguiente, varias hipótesis han sido propuestas para explicar los mecanismos subyacentes del temblor, siendo las más populares: la hipótesis neurodegenerativa; la hipótesis de la red oscilatoria central; y la hipótesis GABAérgica. [10]

Hipótesis Neurodegenerativa: El carácter progresivo de la enfermedad y su estrecha asociación con la edad son los principales argumentos que respaldan la hipótesis neurodegenerativa del trastorno. Entre los estudios que evalúan las imágenes con tensor de difusión DTI de estos pacientes, encontramos que muestran claramente cambios microestructurales en el cerebelo, alteraciones en la sustancia blanca cerebral, particularmente a nivel de los pedúnculos cerebelosos y los núcleos dentados.[11]

Hipótesis de la red oscilatoria central: Los harmanos,(familia de las β -carbolinas), tiene la capacidad de hiperpolarizar las neuronas de la oliva inferior e inducir potenciales de acción que se propagan hacia la corteza cerebelosa, siendo así capaz de provocar temblor.

Hipótesis GABAérgica: La degeneración de las células de Purkinje GABAérgicas en la corteza cerebelosa conduce a una inhibición reducida núcleos cerebelosos profundos que, a su vez, causan su hiperactividad. Como consecuencia provoca la activación rítmica de los núcleos talámicos y el aumento de la actividad de la vía tálamo-cortical. Originando así la aparición de temblores en la periferia.[12]

La clínica no se limita únicamente al temblor. A menudo se pueden observar síntomas como hipotonía muscular y, ocasionalmente, una leve disimetría. Sin embargo, el síntoma acompañante más común es el desequilibrio y la inestabilidad al caminar. Además de estos signos cerebelosos menores, también pueden aparecer síntomas de deterioro cognitivo, problemas de audición y cambios en la personalidad.[13] Por esta heterogeneidad dentro de la enfermedad, el grupo de trabajo sobre temblores de la Sociedad Internacional de Parkinson y Trastornos del Movimiento (IPMDS) propuso una nueva clasificación en 2019. Estos cambios tenían como objetivo ofrecer un método más preciso para diferenciar dos fenotipos de temblor esencial que parecen ser distintos entre sí. Como resultado, surgió una nueva definición denominada temblor esencial plus.[14] Diferenciamos el TE puro caracterizado por un temblor bilateral aislado de acción de las extremidades superiores, mientras que el TE plus incluye pacientes que, además de satisfacer los criterios básicos de TE, también tienen signos neurológicos leves de significado incierto como marcha en tándem alterada - ataxia, posturas distónicas, deterioro de la memoria, temblor de reposo o cualquier otro signo neurológico adicional que no se englobe en TE puro como la bradicinesia, rigidez o disimetría, pero tampoco cumpla criterios de Enfermedad de Parkinson (*Tabla 1*). Además, es obligatorio un historial de temblor de al menos 3 años para clasificarlo como TE o TE plus. [15] Según los nuevos criterios de consenso, una gran proporción de pacientes que anteriormente estaban etiquetados como TE ahora entrarían dentro de la categoría de TE plus.

TABLA 1. Diagnóstico diferencial basado en la clínica entre TE y TE plus según la Sociedad Internacional de Parkinson y Trastornos del Movimiento (IPMDS)		
	Temblor esencial	Temblor esencial plus
Temblor de acción bilateral en miembros superiores	X	X
Al menos 3 años de evolución	X	X
Con o sin temblor en otras localizaciones	X	X
Ausencia de distonía, ataxia, parkinsonismo	X	X
Alteración de la marcha en tándem		X
Temblor de reposo		X
Problemas de memoria		X
Posturas distónicas		X
Signos cerebelosos dudosos		X

El diagnóstico del temblor esencial es clínico (*Tabla 2*). Siendo fundamental una anamnesis completa y una exploración física neurológica. Se puede considerar realizar una resonancia magnética cerebral para descartar una posible causa secundaria del temblor, especialmente cuando existen síntomas neurológicos adicionales. La resonancia magnética generalmente no muestra anomalías significativas en pacientes con temblor esencial. Sin embargo, los estudios de Morfometría basada en vóxeles (VBM), que evalúan la difusión del agua mediante imágenes ponderadas por difusión (DWI) o imágenes con tensor de difusión (DTI), pueden identificar y cuantificar cambios sutiles en la materia blanca y gris, lo que podría indicar alteraciones estructurales. En el caso del TE se observarían cambios generalizados en la reducción de volumen de materia blanca y gris en áreas cerebelosas y cerebrales. [16]

El DATSCAN, estudio funcional del sistema dopaminérgico puede ser una herramienta de evaluación complementaria para diferenciar el temblor esencial de un temblor debido a enfermedad de Parkinson (EP) u otros parkinsonismos.[17]

Realizar un electromiograma proporciona análisis del temblor con información objetiva y reproducible, pudiendo apoyar el diagnóstico clínico. En el temblor esencial es común encontrar una frecuencia del temblor de a 4 Hz a 12 Hz con descargas sincrónicas en los músculos agonistas-antagonistas, ausencia del temblor de reposo o inferior al temblor postural y ausencia de latencia de aparición del temblor postural.

Los análisis de sangre son útiles para valorar la función tiroidea, dado que su alteración puede dar lugar a la aparición de temblor, casi siempre asociado a hipertiroidismo.

Tabla 2. Resumen de los criterios diagnósticos para el TE y TE plus según lo sugerido por el grupo de trabajo sobre temblor de la Sociedad Internacional de Parkinson y Trastornos del Movimiento (IPMDS).
Temblor Esencial
Parte del cuerpo afectada: miembros superiores (otras partes como la cabeza, la voz y los miembros inferiores pueden verse afectados) Lateralidad: bilateral Tipo de temblor: temblor de acción aislado Duración: >3 años Ausencia de otros signos neurológicos, como distonía, ataxia o parkinsonismo.
Temblor Esencial Plus
Características: deben cumplir con los criterios para el temblor esencial descritos anteriormente Características adicionales: distonía sutil o cuestionable, deterioro de la marcha en tándem y deterioro de la memoria Otros: temblor esencial con temblor en reposo
No clasificado como TE ni TE plus
Temblor focal aislado (cabeza y voz) Temblor específico para tarea y posición

En cuanto al tratamiento del temblor, el gold standard y terapia inicial es el tratamiento farmacológico con el uso de fármacos betabloqueantes. El propranolol es considerado el medicamento de referencia, dada su alta efectividad. Sin embargo, debido a que no es selectivo en la acción sobre los receptores beta-adrenérgicos, puede causar efectos secundarios en las vías respiratorias. Por tanto, no es un fármaco de elección en aquellos pacientes con antecedentes de asma o rinitis alérgica.. En su lugar, se pueden prescribir betabloqueantes selectivos beta 1 como el atenolol Otro de los fármacos de primera línea que han demostrado efectividad en pacientes con temblor esencial es la primidona. Se trata de un fármaco anticonvulsivo, evidencia IA. Para aquellos que no responden adecuadamente a los betabloqueantes o la primidona, se pueden considerar como opciones de segunda línea; el topiramato, la gabapentina, las benzodiacepinas y la olanzapina, evidencia IIA. [18]

La toxina botulínica puede ser una alternativa para casos de temblor cefálico y laríngeo que no responden a otros tratamientos. Sin embargo, su uso no está respaldado por un sólido nivel de evidencia y generalmente se reserva para casos refractarios. [13]

A pesar de recibir tratamiento médico, alrededor del 50% de los pacientes no experimentan mejoría o sufren efectos secundarios no deseados, lo que hace necesario recurrir a terapias más avanzadas. Estas pueden incluir enfoques quirúrgicos o procedimientos no invasivos:

La estimulación cerebral profunda (ECP) es una opción para aquellos pacientes que no responden al tratamiento farmacológico. Este procedimiento implica la implantación de electrodos en áreas específicas del cerebro, siendo la más utilizada el núcleo intermedio ventral talámico, para modular la actividad neuronal y reducir el temblor.[17]

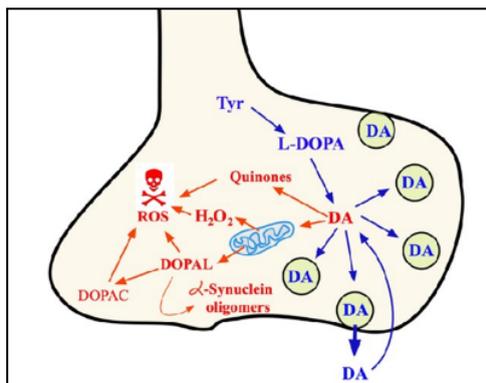
Recientemente, se ha instaurado la terapia con ultrasonidos focalizados de alta intensidad (HIFU) como alternativa no invasiva. Esta tecnología utiliza ondas de ultrasonido para calentar y destruir el tejido objetivo de manera precisa, sin necesidad de incisiones. Se combina con imágenes de resonancia magnética (RM) para localizar con precisión el área del cerebro responsable del temblor y dirigir la energía ultrasónica hacia esa región para producir una lesión controlada.

4. Plaquetas como modelo neuronal

Las plaquetas son el principal depósito de serotonina (5-HT) en la sangre (>99%). Estas células carecen de metabolismo propio y son meros fragmentos celulares, por lo que no

pueden sintetizar este neurotransmisor, sino que lo captan del plasma a través del transportador SERT. Las plaquetas contienen principalmente tres tipos de gránulos: alfa, delta y lisosomas. Los gránulos alfa son los más abundantes y contienen una variedad de proteínas de membrana y cargas solubles, liberadas en respuesta a diversos estímulos mediante proteínas de la familia SNARE. Los gránulos delta son los menos comunes (aproximadamente 3-8 por plaqueta) y contienen altas concentraciones de cationes, polifosfatos, adenina, histamina y 5-HT, que desempeñan un papel crucial en la hemostasia y la trombosis. Ambos tipos de gránulos permanecen en la plaqueta en circulación hasta que éstas se activan, lo cual desencadena la exocitosis de sus contenidos al espacio intersticial. La captación de aminas biógenas desde el citosol hacia el interior de los gránulos delta ocurre a través del transportador VMAT (Transportador de Monoaminas Vesiculares). Además, hay otro sistema presente en los gránulos llamado VNUT (Transportador Vesicular de Nucleótidos), que se encarga de acumular ATP en el interior vesicular, lo que contribuye a mantener la estructura de la vesícula para la alta concentración de solutos. [19]

FIG. 01. Metabolismo de la dopamina en la neurona



La dopamina (DA) se almacena en las vesículas secretoras (VS) en altas concentraciones. La DA será liberada en la sinapsis neuronal y parcialmente recaptada por el transportador de dopamina (DAT) al citosol. DA se degrada a DOPAC por acción de la monoamino oxidasa (MAO) situada en la mitocondria. Como metabolito intermedio se produce DOPAL y H₂O₂, que se descompone parcialmente en quinonas, al igual que la DA. Tanto las quinonas como los metabolitos y el H₂O₂ derivan en especies reactivas del oxígeno (ROS). El DOPAL interfiere además en el plegamiento proteico de la α -sinucleína, derivando en la formación de los oligómeros descritos como cuerpos de Lewy. Imagen cedida por el Dr. Ricardo Borges.

La teoría aminérgica plantea que la enfermedad de Parkinson (EP) se origina debido a la neurotoxicidad causada por la dopamina (DA) y sus metabolitos. Normalmente, estas sustancias se almacenan en vesículas secretoras (VS) para evitar su degradación en el citosol, lo que previene la formación de especies reactivas de oxígeno. Sin embargo, en la EP, el estrés oxidativo y la acumulación de estas neurotoxinas en el citosol resultan en muerte celular y en la degeneración neuronal de la sustancia nigra.

Los mecanismos de captación, acumulación y liberación de compuestos solubles en los gránulos delta de plaquetas son análogos a los que se observan en cultivos neuroendocrinos,

como las neuronas dopaminérgicas. Por lo tanto, nuestra principal hipótesis es que cualquier disfunción en las plaquetas probablemente refleje los eventos ocurridos en estas neuronas.

Dado que las plaquetas pueden obtenerse fácilmente mediante una simple extracción de sangre, estas células podrían ser un modelo neuronal potencial y útiles biomarcadores para el diagnóstico de diversas patologías como la enfermedad de Parkinson (EP) u otros parkinsonismos. En los estudios presentes de nuestro laboratorio, se ha encontrado una disminución drástica en el contenido de serotonina y la captación por parte de las ahora denominadas vesículas secretoras (VS) plaquetarias, así como una disminución de la liberación inducida por trombina por parte de estas células de los pacientes con EP. [20]

Por lo tanto, una vez conocidas estas alteraciones de la vía dopaminérgica en la EP, y considerando que el Temblor esencial (TE) no sigue esta vía, sino que entre sus hipótesis se encuentra la vía GABAérgica o cerebelosa, procederemos a desarrollar herramientas de evaluación preclínicas que nos permitan distinguirlos a nivel molecular. Esto se realizará teniendo en cuenta los niveles de serotonina en plaquetas, ya establecidos en el laboratorio mediante el test de serotonina, para así posiblemente distinguir el TE en cuanto a un sujeto normal y estos respecto a la EP.

HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

En la patogenia del TE están implicadas la vía GABAérgica y cerebelosa, a diferencia de la EP, en la cual la alteración es de la vía dopaminérgica. Según estudios preliminares, en la EP, la alteración dopaminérgica se correlaciona con un déficit en la capacidad de captación, acumulación y liberación de serotonina (5-HT) en las plaquetas. Basándonos en la diferente fisiopatología a nivel de neurotransmisores del TE y la EP, hemos elegido el “test de serotonina” en plaquetas para compararlos, ya que en evaluaciones previas han mostrado valores alterados en pacientes con EP.

El objetivo principal del presente proyecto es el estudio de los mecanismos vesiculares de serotonina en plaquetas humanas aisladas de pacientes con TE y TE plus y comparar sus resultados con voluntarios clínicamente sanos y a su vez con sujetos con Enfermedad de Parkinson (EP). Se observará si existen diferencias significativas en los valores de captación y acumulación de serotonina entre los diferentes grupos. Para ello nuestro primer propósito ha de ser seleccionar los pacientes con diagnóstico de Temblor de la consulta de Neurología del HUC y usar la nueva clasificación de la Sociedad Internacional de Enfermedad de Parkinson y Trastornos del Movimiento (IPMDS) para distinguir entre TE y TE Plus.

Nuestra hipótesis es que el comportamiento de 5- HT en las plaquetas, puede ser diferente en los pacientes con Síndromes Tremóricos (TE-TE-Plus), en comparación con controles sanos y con la EP. También esperamos encontrar diferencias significativas entre los pacientes con diagnóstico de TE puro y TE plus.

Como objetivos secundarios, analizaremos las características demográficas de nuestra muestra, así como los antecedentes personales y familiares y la presencia o no de síntomas no motores en nuestros pacientes.

A largo plazo se pretende determinar mediante otros estudios, si los síntomas adicionales en pacientes con TE de larga duración o TE plus, como la aparición de temblor en reposo, bradicinesia, rigidez e inestabilidad postural, son manifestaciones de TE plus o los inicios de la EP. Si esto se confirma podría permitirnos distinguir estas entidades a nivel molecular y ser de inestimable ayuda en el manejo de estos pacientes.

MATERIAL Y MÉTODOS

1. Selección y obtención de muestras

Inicialmente se seleccionaron 83 pacientes con diagnóstico de Temblor en las consultas de Neurología del Hospital Universitario de Canarias, abarcando el periodo desde el 2020 a 2023. De este grupo se excluyeron aquellos que habían sido dados de alta por parte del servicio y/o habían perdido el seguimiento. Tampoco continuaron en el estudio los pacientes que presentaban problemas de movilidad, exitus o aquellos que no quisieron participar. Obteniéndose finalmente una muestra de 36 pacientes, 20 fueron diagnosticados de Temblor Esencial Plus, 12 Temblor esencial Puro, 2 de Temblor Farmacológico, 1 de Temblor Funcional y 1 Temblor Ortostático.

Así mismo, los datos obtenidos serán comparados con 95 pacientes de enfermedad de Parkinson (EP) y 128 controles, sujetos clínicamente sanos, tomados en el rango temporal de cuando se han citado los voluntarios de temblor. Los controles, a su vez, han sido generalmente voluntarios familiares y acompañantes en el momento de la consulta de los casos de estudio.

Es necesario obtener una muestra de sangre de cada paciente para realizar el test de plaquetas. Antes de realizar la extracción, se ha entregado y explicado al voluntario el consentimiento informado necesario para la participación en el estudio. Se completó mediante una ficha clínica, los antecedentes de enfermedades conocidas del paciente destacando patología tiroidea, neurológica, articular, hematológica y cardiovascular. Resulta de especial interés el contacto con tóxicos como herbicidas o pesticidas utilizados en agricultura, además de alcohol o tabaco. Por otro lado, los fármacos prescritos que ingieren habitualmente, con especial atención a fármacos parkinsonizantes con potencial tremórico como los antidepresivos y antivertiginosos. A su vez, se recogieron los antecedentes familiares de interés como Parkinson o TE familiar, demencia, enfermedades tiroideas o cardiovasculares. Por último, se indagaba en la presencia de algunos síntomas no-motores como la depresión, alteraciones del sueño, problemas de olfato, estreñimiento y trastornos de la memoria o la atención que nos ayudarán a diferenciarlo de la EP.

2. Aislamiento y mantenimiento de plaquetas

Se implementó una variante del protocolo estándar de aislamiento de plaquetas, basado en metodologías previamente establecidas (Abcam®, Cambridge, Reino Unido), bajo la dirección del Dr. Pablo Montenegro. El proceso se llevó a cabo de la siguiente manera:

1. Primero se extrajeron dos tubos de 9 mL de sangre de cada participante mediante venopunción en la consulta. Estos tubos (BD-Vacutainer® provistos de K2-EDTA 18mg: Plymouth, Reino Unido), fueron invertidos dos veces y luego reposaron en posición horizontal durante 10-15 minutos a temperatura ambiente.

2. A continuación, se centrifugaron a 200xg durante 20 minutos, resultando en tres capas: plasma rico en plaquetas (PRP), leucocitos y hematíes.

3. Seguidamente se recolectó 2/3 de la primera fracción del sobrenadante correspondiente al plasma rico en plaquetas, evitando la captación de leucocitos y hematíes, utilizando una pipeta Pasteur de plástico (4 mL/tubo). Este material se trasladó a un tubo estéril de polipropileno de 15 mL (JetBiofil®, Guangdong, China).

4. A continuación, el sobrenadante se mezcló en una proporción 1:1 con una solución tamponadora, el HEP Buffer (NaCl 140 mM, KCl 2,7mM, EGTA 5 mM, HEPES 3,8 mM, penicilina 100 u/mL, gentamicina 40 µg/mL, pH 7,4 NaOH) suplementado con prostaglandina E1 para prevenir la activación plaquetaria, logrando una concentración final de 1 µM.

5. Se procedió a una segunda centrifugación a 100xg durante 15 minutos, seguida por la recolección del sobrenadante en un nuevo tubo estéril de 15 mL. Posteriormente, se centrifugó por tercera vez a 800xg durante 20 minutos.

6. Se descartó el sobrenadante, resultando en un pellet de plaquetas que se lavó dos veces con 1 mL de un buffer de citrato (NaCl 150 mM, EDTA 1 mM, D-glucosa 50 mM, citrato-Na⁺ 10 mM, penicilina 100 u/mL, gentamicina 40 µg/mL pH 7,4 NaOH). Durante este proceso, se evitó la resuspensión del pellet.

7. Finalmente, se resuspendió el pellet en la solución SSP++ (NaCl 69,3 mM, KCl 5 mM, MgCl₂ 1,5 mM, Na₂HPO₄/NaH₂PO₄ 28,2 mM, citrato-Na⁺ 10,8 mM, Acetato-Na⁺ 32,5 mM, D-glucosa 5 mM, Ascórbico 10 µM, prostaglandina E1 1 µM, penicilina 100 u/mL,



gentamicina 40 µg/mL, pH 7,4 NaOH) al mismo volumen que el PRP, buscando alcanzar un promedio de 100,000 plaquetas/µL de solución.

Todas las centrifugaciones se llevaron a cabo a temperatura ambiente y sin frenado. Durante el periodo experimental, las plaquetas se mantuvieron en un tubo biorreactor (TubeSpin, TPP®, Trasadingen, Suiza) a temperatura ambiente, en un incubador humidificado y en rotación continua a 30° (Movil-Rod, J.P Selecta, Abrera, Barcelona, España). Este protocolo garantizó la viabilidad de las plaquetas durante un periodo de 7 días.

3. Experimentos de captación

Los ensayos de captación, tanto específica como total, de serotonina (5-HT) en las plaquetas se llevaron a cabo en placas de 96 pocillos con fondo cónico y superficie hidrofóbica (fabricadas por Sarstedt, ubicada en Nümbrecht, Alemania).

Para los ensayos de captación específica y total, se agregaron 100 µL de una solución SSP+ (similar a la SSP++ pero sin prostaglandina E1 ni antibióticos) en presencia o ausencia de reserpina 2,25 µM respectivamente. Las plaquetas se sembraron a una densidad de 10^7 por pocillo (100 µL) y se incubaron durante 30 minutos a temperatura ambiente, en la oscuridad y con agitación continua.

Después de esta incubación, se añadieron 25 µL de una solución SSP+ suplementada con ácido ascórbico a 225 µM y 5-HT en diferentes concentraciones (desde 0 hasta 33 µM, concentración final), y se incubaron durante otras 2 horas. Luego, las placas se enfriaron a 4°C y se centrifugaron a 3.200xg durante 10 minutos para iniciar la cadena de frío. Se eliminó el sobrenadante, se lavó el pellet de plaquetas con 200 µL de SSP+ y se centrifugó nuevamente a 3.200xg durante 5 minutos. Después, el pellet se resuspendió en 50 µL de agua desionizada y se añadieron 175 µL de una solución de HPLC-A (conteniendo PCA 0,05625N, L-cisteína 337,5 µM, EDTA 337,5 µM, e Isoproterenol 225 nM como estándar interno). Finalmente, las placas se congelaron a -80°C durante al menos 24h.

4. Determinación de la concentración de serotonina y proteínas

En el día designado para medir la cantidad de 5-HT, las placas se descongelaron a una temperatura de 4°C y luego se sometieron a una centrifugación a 3200xg durante 10 minutos,

manteniendo la cadena de frío intacta como se ha mencionado previamente. Después, se tomaron 150 μL del líquido sobrenadante de la muestra para analizar la cantidad de 5-HT, mientras que el pellet de proteínas se utilizó para medir la cantidad de proteínas presentes. La medición de la 5-HT se realizó a través de UPLC-ED (cromatografía líquida de ultra alta resolución con detección electroquímica) bajo la supervisión del Dr. Ricardo Borges y el Dr. Pablo Montenegro.

Para la determinación de 5-HT mediante UPLC-ED, se ajustó el detector electroquímico a 700 mV respecto al electrodo de referencia, y se empleó una columna reversa de C18 mantenida a una temperatura de 46°C. Además, la fase móvil consistió en un tampón fosfato con un pH de 3,5 (ajustado con H_3PO_4): H_2NaPO_4 9,66 g/L, EDTA 3,2 mg/L, y metanol (8-12% v/v). Esta solución fue filtrada mediante un poro de 0,22 μm (Millipore) y luego desgasificada mediante burbujeo con helio. Las muestras (25 μL) se inyectaron mediante un autoinyector (SIL-40CX3, Shimadzu) enfriado a 5°C, mientras que los cromatogramas se registraron en un ordenador a una frecuencia de adquisición de 1Hz utilizando un programa LabView 11 desarrollado por el Dr. Yézer González. El estándar externo utilizado fue 200 nM de 5-HT, 200nM de Isoproterenol en medio PCA 0,05N, L-cisteína 300 μM , EDTA 300 μM .

Además, con el propósito de normalizar las muestras utilizadas en los experimentos de captación y liberación, se cuantificaron las plaquetas mediante la determinación de la cantidad total de proteínas plaquetarias. Para esto, se empleó la técnica del ácido bicinconínico (BCA), una modificación del método de Lowry para la determinación de la cantidad de proteínas, que involucra una reacción colorimétrica con complejos de $\text{Cu}^{2+}/\text{Cu}^+$ -BCA. En primer lugar, el sedimento de proteínas se resuspendió en una solución de lisis (SDS 5% m/v, NaOH 0,1M) a razón de 35 μL por pocillo. Luego, se colocaron 25 μL de muestra por pocillo en la placa de análisis de proteínas, junto con 25 μL de una solución de albúmina de suero bovino como línea de calibración (0-2 mg/mL en solución de lisis). Posteriormente, se mezcló el BCA con la solución de cobre (CuSO_4 4% m/v), añadiendo 200 μL por pocillo en cada muestra, y se incubaron a 37°C en oscuridad durante aproximadamente 30 minutos. Por último, se determinó la concentración de proteínas utilizando un lector de placas (iMark microplate reader, Biotek instruments Inc, Winooski, USA) a una longitud de onda de 540-590 nm. Los resultados de 5-HT se expresan en nmoles/mg de proteína.

5. Análisis y estadística de los resultados

Para el procesamiento de los datos obtenidos mediante UPLC-ED, se empleó el software IGOR-Pro (Wavemetrics, Lake Oswego, OR, USA) utilizando una macro creada por el Dr. Miguel A. Brioso. La cantidad de 5-HT en las muestras se ajustaría más tarde de acuerdo con la concentración de proteínas presentes. Todos los gráficos y análisis estadísticos se llevaron a cabo utilizando el software Prism 5 (GraphPad) (California, USA). Los resultados se expresaron como medias \pm error estándar, y los análisis estadísticos, que incluyeron ANOVA, pruebas T de Student u otros tests no paramétricos, se establecieron con un nivel de significación de $p < 0,05$, $p < 0,01$, $p < 0,005$ (representados con 1, 2 o 3 asteriscos respectivamente).

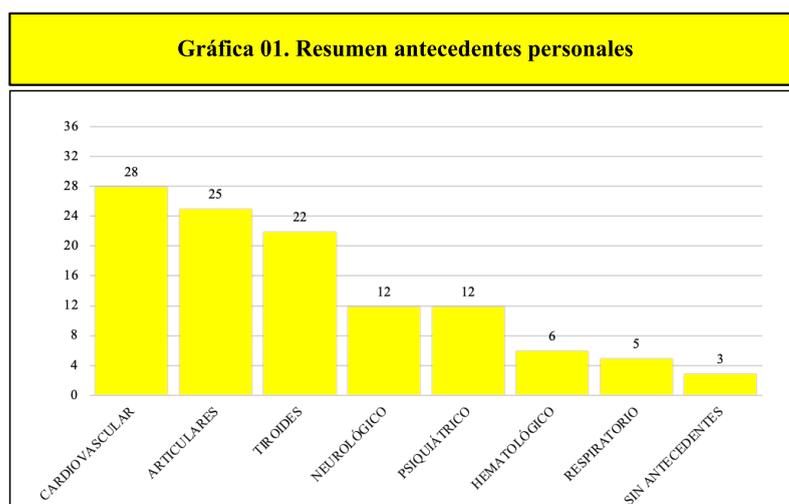
Para el análisis de las variantes demográficas se usó el SPSS. El procesamiento estadístico de los datos se realizó mediante pruebas T de Student, Chi cuadrado, estadístico de prueba Z u otros tests no paramétricos para lo que se establecieron un nivel de significación de $p < 0,05$, $p < 0,01$, $p < 0,005$.

RESULTADOS

1. ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA DE NUESTRA MUESTRA

En nuestro estudio obtuvimos una muestra final de 36 pacientes que clasificaremos dentro de 5 grupos; 20 son Temblor Esencial Plus, 12 Temblor Esencial, 2 Temblores farmacológicos, 1 Temblor funcional y 1 Temblor ortostático. La media de edad es 65 años, con una edad mínima de 19 años y una máxima de 90 años. Del total de sujetos, 14 son mujeres y 22 son hombres, con edades medias de 61 y 72 años respectivamente.

● ANTECEDENTES PERSONALES



Entre los antecedentes personales del total de los 36 participantes del estudio se evidencia que 78% presentan enfermedades cardiovasculares (22 HTA, 4 arritmias, 2 IAM). Las enfermedades articulares también resultaron prevalentes en nuestra muestra, con hasta un 69% pacientes afectados (15 artrosis, 7 hernias discales, 3 osteoporosis). Las alteraciones tiroideas se reflejaron en 61% pacientes (12 hipotiroidismo subclínico, de estos, 5 también presentaban DM, 1 hipertiroidismo subclínico, 3 nódulos y otros 6 DM). El 34% presentó otras patologías neurológicas a parte del Temblor (4 microangiopatías, 2 quistes aracnoideos, 1 meningitis, 1 ictus, 1 migrañas, 1 espina bífida, 1 epilepsia, 1 polineuropatía). Entre los trastornos psiquiátricos un total de 34% presentaban comorbilidad de trastorno ansioso-depresivo. El 17% de la muestra presentó algún tipo alteración hematológica (3

plaquetopenia leve, 1 enf. Waldenstrom, 1 Talasemia, 1 Mieloma). Patología respiratoria en el 14% (3 asma, 2 SAOS). Y por último, 3 pacientes sin ningún antecedente.

● **TEMBLOR INDUCIDO POR FÁRMACOS**

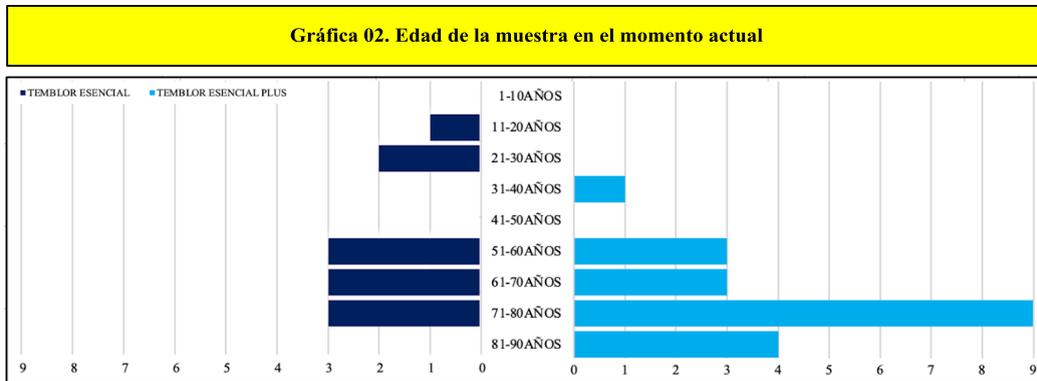
Otro de los ítems que valoramos en nuestro cuestionario consistía en conocer si presentaban historial de consumo de algún fármaco potencialmente tremórico debido a un posible efecto adverso. Del conjunto de pacientes, un 36% han sido expuestos a alguno de estos fármacos. Concretamente, $8/36 \approx 22\%$ han estado en tratamiento con antidepresivos (mirtazapina o sertralina) durante un período prolongado. La betahistina, fármaco antivertiginoso, es otro de los potencialmente tremóricos, y podemos ver que fue usado por $5/36 \approx 14\%$ pacientes. Con respecto a los 2 pacientes con diagnóstico de Temblor farmacológico confirmado, uno de ellos se asoció a Lenalidomida para el tratamiento de su Mieloma y el otro de ellos al Tacrolimus para la inmunosupresión por trasplante hepático.

● **SÍNTOMAS NO-MOTORES**

Otro de los apartados de nuestro cuestionario consistía en la identificación de síntomas no-motores reconocidos en la Enfermedad de Parkinson. Algunos de ellos son: estreñimiento, alteraciones del olfato, depresión, trastornos del sueño como insomnio o alteraciones de la conducta durante el sueño REM (movimientos, somniloquios, pesadillas), cambios en la voz, disfagia y/o trastornos cognitivos leves como problemas de memoria o atención. Del total de individuos de la muestra, un 50% presentaron alguno de los anteriores mencionados (13 trastornos del sueño, 12 depresión, 6 estreñimiento, 1 alteración de olfato, 1 disfagia, 1 problemas de memoria de fijación y 1 disfonía). De manera específica $11/36 \approx 31\%$ presentaban 2 o + alteraciones. De estos 11, 10 se corresponden con TE plus y sólo 1 de ellos TE.

2. VARIABLES DEMOGRÁFICAS DE LOS PRINCIPALES GRUPOS DE INTERÉS (TEMBLOR ESENCIAL Y TEMBLOR ESENCIAL PLUS)

● EDAD

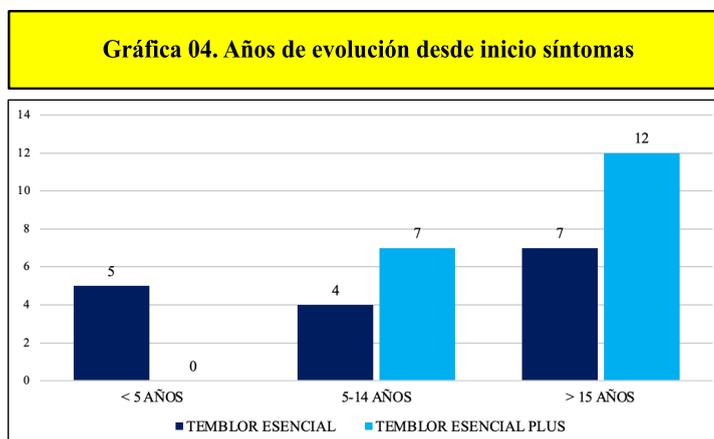


Centrándonos en los 2 principales grupos de interés del estudio, obtenemos que la media de edad de los sujetos diagnosticados de TE plus es de 70 años \pm 13 años y para los sujetos con TE una edad media 56 \pm 20.7. Calculamos el valor t Student para muestras independientes y se obtiene $t=3.42$ y valor $p<0,001$. Este valor en el contexto estudiado refleja que el grupo TE plus tiende a tener edades más altas en comparación con el grupo TE.



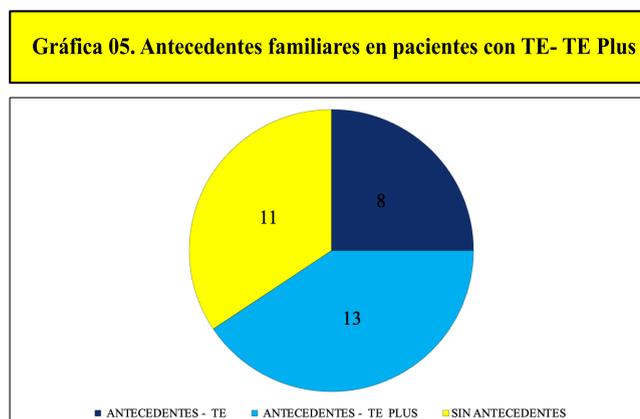
Resulta de especial interés estudiar la edad media de comienzo de síntomas en ambos, concluyendo que el TE plus presenta edad media de inicio 54 \pm 17, y para TE 42 \pm 20,4. Repetimos el cálculo t Student para variables cuantitativas independientes y obtenemos $t= 1.762$, este valor no es suficiente como para ser considerado estadísticamente significativo a un nivel de confianza típico del 95%. Esto significa que no podemos concluir que haya una diferencia significativa entre la diferencia de edad media de inicio entre los grupos de nuestro estudio.

- **TIEMPO EVOLUCIÓN ENFERMEDAD**



En el gráfico podemos observar los años de evolución desde el inicio de la enfermedad entre nuestros 2 grupos de referencia. Entre los casos con una evolución menor a 5 años, se identificaron 2 casos de TE y 0 casos de TE plus. En el rango de evolución de 5 a 14 años, se registran 7 casos de TE plus y 4 de TE. Por otro lado, en pacientes con una evolución superior a 15 años, se observan 7 casos de TE y 12 de TE plus. A partir de estos datos, podríamos deducir que existe una asociación significativa entre el tiempo de evolución y el tipo de temblor esencial. En nuestra muestra de pacientes se observa como con menor tiempo de evolución de la enfermedad sólo aparecen casos de TE y con mayor tiempo de evolución cambia la tendencia y se observan más pacientes con TE plus.

- **ANTECEDENTES FAMILIARES**

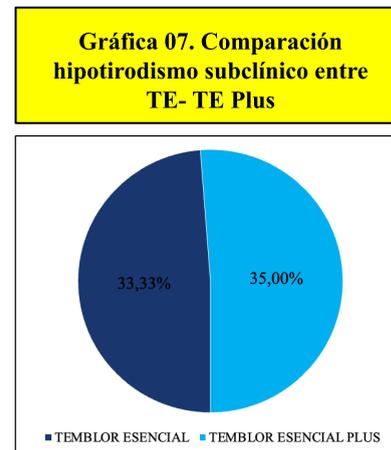


Considerando únicamente a los 32 pacientes del estudio con TE o TE plus, 21 tienen antecedentes familiares de temblor. Al calcular la proporción de pacientes con antecedentes

familiares, se obtiene aproximadamente 65.6% de la muestra. Específicamente, TE plus 13/20 \approx 65% y TE 8/12 \approx 67%, sin diferencias significativas entre ambos grupos y con un valor similar al de la media.

Debemos destacar que los 2 pacientes con temblor farmacológico no presentan antecedentes familiares de temblor.

- **ALTERACIONES TIROIDEAS**



En relación con nuestro estudio, de los 32 pacientes diagnosticados con Temblor Esencial o Temblor Esencial Plus, un 11/32 \approx 34% muestran elevaciones de TSH con T4 normal, indicativo de hipotiroidismo subclínico. No se hallaron diferencias significativas entre sexos (5 mujeres - 6 hombres) ni entre los 2 principales grupos de interés.

Para calcular si la prevalencia de hipotiroidismo subclínico en nuestra muestra de pacientes es estadísticamente mayor que en la población general, asumiendo que es del 15%; utilizamos una prueba de proporciones que calculamos con el estadístico de prueba Z. El valor $Z \approx 2.83$ y el valor p asociado es aproximadamente 0.0023, mucho menor que el nivel de significancia de 0.05. Por lo tanto, rechazamos la hipótesis nula y concluimos que la prevalencia de hipotiroidismo subclínico en la muestra es estadísticamente mayor que en la población general.

3. RESULTADOS TEST SEROTONINA

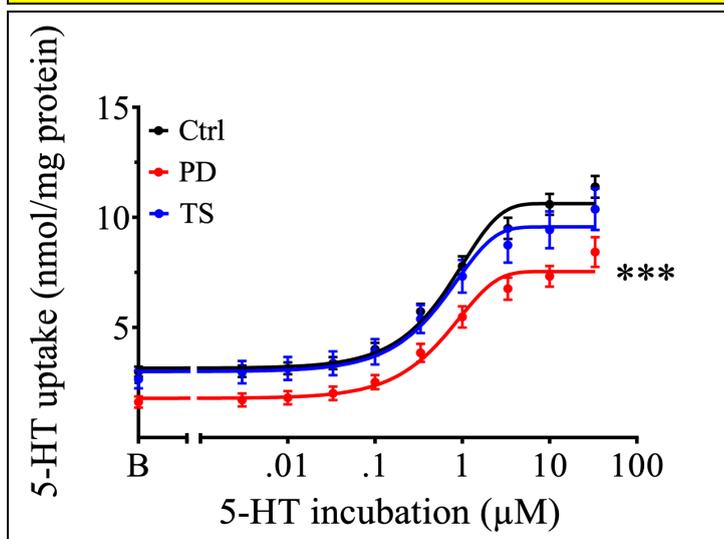
Este estudio está englobado dentro de un proyecto mayor que conlleva 395 voluntarios actualmente (202 controles, 128 pacientes con enfermedad de Parkinson y 65 parkinsonismos entre los que se encuentran los 36 síndromes tremóricos del presente trabajo). En dicho proyecto se han establecido unos umbrales (*Tabla 3*) para distinguir entre comportamientos "normales" o "patológicos" en relación los niveles de serotonina (5-HT) en plaquetas, en los parámetros de contenido nativo (Basal) así como en la captación total (Utpk) y específica (Utpk spc) de 5-HT por parte de estas células tras la incubación con esta amina biógena. Estos umbrales arbitrarios ya han sido definidos previamente en otros estudios como la diferencia entre la media y la desviación estándar de los valores control (Media - SD) [20]. Por lo tanto, aquellos valores por debajo de 1,73 nmol/mg proteína en Basal, a 7,59 nmol/mg proteína en Utpk e inferiores a 5,97 nmol/mg en Utpk spc serían considerados patológicos.

Tabla 3. Umbrales basales, de captación total y específica de serotonina 2019- 2024			
	Mean	SD	Umbral
Ctrl basal	3,07	1,34	1,73
Ctrl Utpk	10,99	3,4	7,59
Ctrl Utpk spc	7,95	1,98	5,97

Se muestran la media (Mean) y su correspondiente desviación estándar (SD), expresados en nmol/mg proteína para voluntarios clínicamente sanos (Ctrl). Basal: contenido nativo de serotonina (5-HT); Utpk: captación total de 5-HT; Utpk spc: captación específica de 5-HT

- **Análisis de la captación total de serotonina en plaquetas**

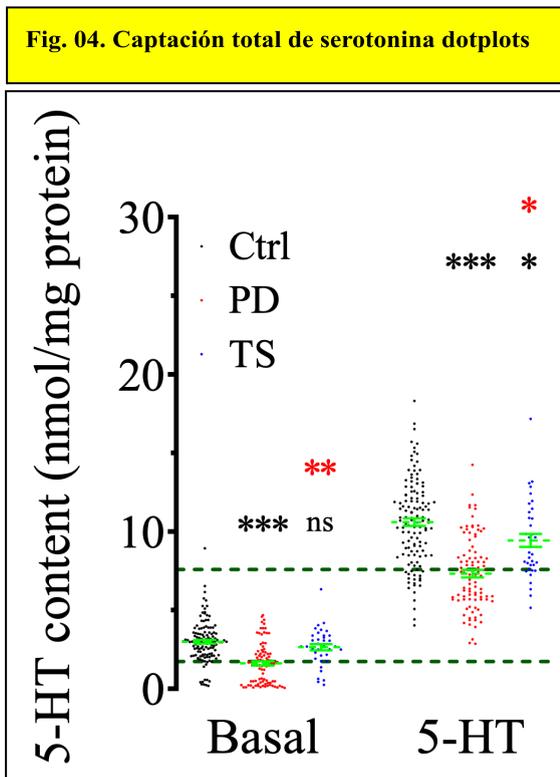
Fig 03. Curvas de captación total de serotonina



Contenido nativo y curvas de captación de serotonina (5-HT) exógena total en plaquetas humanas. Las plaquetas de los voluntarios se aislaron utilizando el protocolo optimizado para medir la serotonina descrito en [22]. Se muestran las curvas predictivas y datos (medias ± intervalos confianza 95%) de captación total en los grupos clínicamente sanos (Ctrl; negro, n = 128), pacientes con Enfermedad de Parkinson (EP; rojo, n = 95) y síndromes tremóricos (TS; azul n = 36) *** p < 0,005 (ANOVA).

Con el propósito de precisar no sólo los niveles nativos de 5-HT en plaquetas, sino también su capacidad de captación y acumulación, se realizaron experimentos de incubación dosis-dependientes con este neurotransmisor. En la *Fig. 03*, se puede observar que la captación total de 5-HT, tras incubar las plaquetas durante 2 horas a concentraciones crecientes de este indol, es significativamente mayor en voluntarios sanos (Ctrl) y en la muestra de presente estudio (TS) en comparación con los pacientes con enfermedad de Parkinson (PD).

No hay diferencias significativas entre Ctrl y TS aunque sí que se observa una ligera disminución en estos últimos. De igual forma, no se aprecia una diferencia significativa entre la curva de TS y la correspondiente a PD. Tanto Ctrl cómo TS comienzan con un contenido basal de 5-HT en gránulos plaquetarios (B) también más alto ($2,99 \pm 0,12$ nmol/mg proteína en Ctrl y $2,64 \pm 0,20$ nmol/mg proteína en TS respecto a $1,62 \pm 0,13$ nmol/mg proteína en PD).



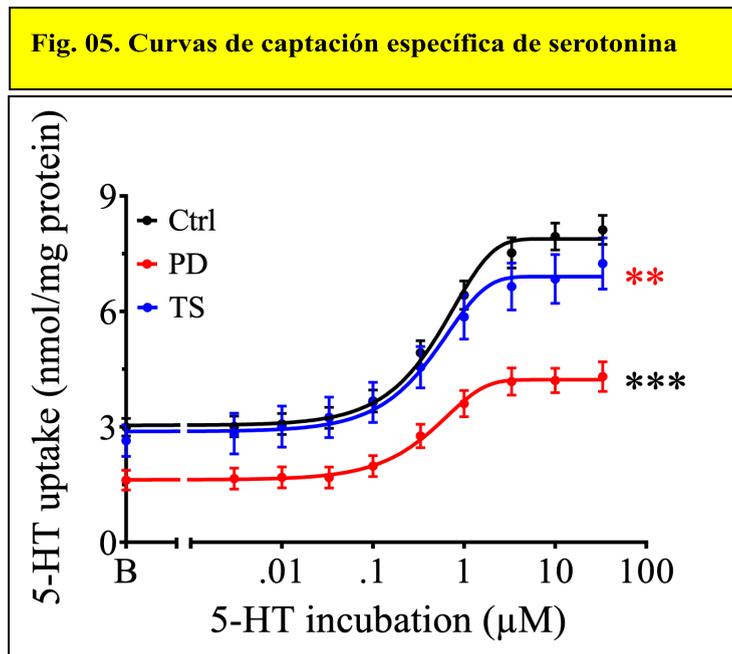
Valores individuales del contenido nativo y la captación total de serotonina entre las plaquetas de los grupos de estudio. Se muestran el contenido nativo de serotonina (Basal) y su captación total (5-HT) tras incubar las plaquetas durante 2 h a una concentración de 5-HT $10 \mu\text{M}$: 128 Controles sanos (Ctrl), 36 síndromes tremóricos (TS) y 95 pacientes con Enfermedad de Parkinson (PD). Las líneas discontinuas verdes representan los valores umbral: 1,73 Basal y 7,59 para captación total: ns: no significativo; * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,005$ (Kruskal - Wallis).

Con el fin de obtener una mayor claridad en los datos individuales, una mayor facilidad para identificar valores atípicos y resaltar cambios bruscos; en la *Fig. 04*, los datos anteriores se

han representado individualmente mediante un gráfico de puntos. En este caso se observan diferencias significativas entre el contenido basal entre PD y TS pero no entre TS y Ctrl.

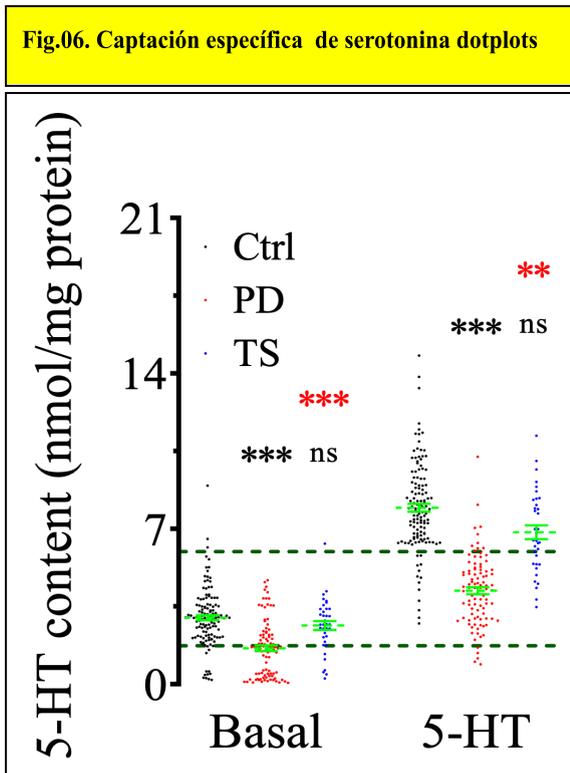
Sin embargo, respecto al contenido total de captación y acumulación 5-HT, sí se verifican diferencias entre los 3 grupos de estudio ($10,59 \pm 0,24$ nmol/mg proteína en Ctrl y $9,43 \pm 0,41$ nmol/mg proteína en TS respecto a $7,32 \pm 0,24$ nmol/mg proteína en PD).

- **Análisis de la captación específica de serotonina en plaquetas**



Como se ha descrito en trabajos anteriores, existe una captación y acumulación de 5-HT plaquetaria no propia de sus gránulos delta. Esta componente inespecífica o más bien su sustracción daría una buena idea del grado de compartimentalización de esta amina biógena en relación a la existente en neurona dopaminérgica, y el grado de neurodegeneración que podría conllevar a la aparición de EP. Este componente se estimó indirectamente mediante la incubación con dosis crecientes de 5-HT en presencia de un inhibidor irreversible del VMAT, la reserpina. Para calcular la captación intrínseca de los gránulos (Utpk spc), se restó la captación total de 5-HT (Utpk) del componente en presencia de reserpina y luego se sumó el contenido nativo de 5-HT, obteniendo así la curvas de captación específicas o intrínsecas de los propios gránulos.

Con respecto a la anterior figura (*fig.05*), sí que apreciamos un nivel de significación para la captación específica entre TS que se ajustan más a Ctrl y se alejan cada vez más de PD. ($7,95 \pm 0,18$ nmol/mg proteína en Ctrl, $6,84 \pm 0,31$ nmol/mg proteína en TS respecto a $4,20 \pm 0,16$ nmol/mg proteína en PD).

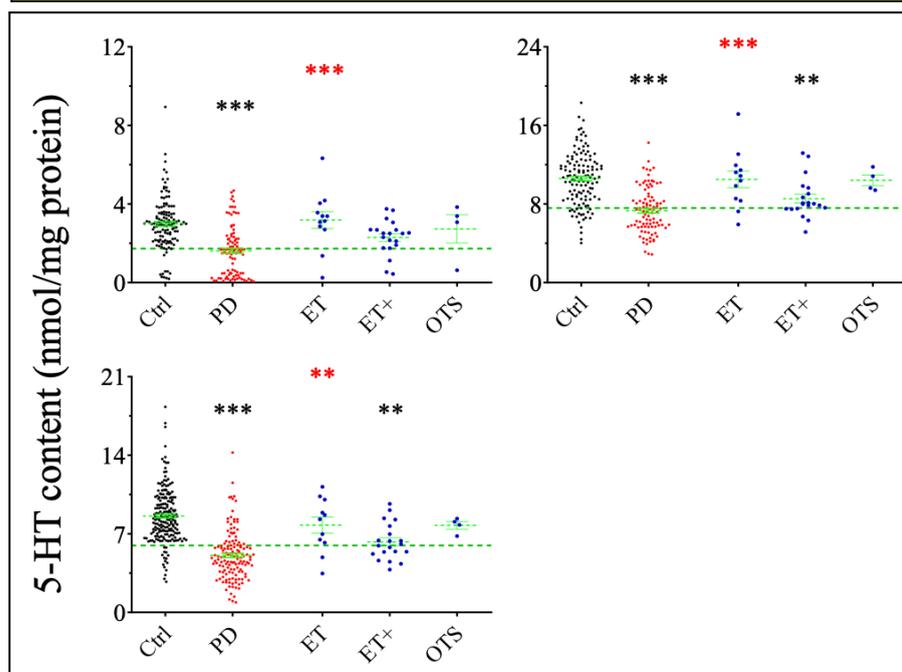


Valores individuales del contenido nativo y la captación específica de serotonina entre las plaquetas de los grupos de estudio. Se muestran el contenido nativo de serotonina (Basal) y su captación específica (5-HT). Esta componente se obtiene excluyendo la componente inespecífica tras una incubación de 30 min con reserpina (1 μ M) seguido de 2 h de incubación con 5-HT 10 μ M: 128 Controles sanos (Ctrl), 35 síndromes tremóricos (TS) y 95 pacientes con Enfermedad de Parkinson (PD). Las líneas discontinuas verdes representan los valores umbral: 1,73 Basal y 5,97 para captación específica: ns: no significativo; * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,005$ (Kruskal - Wallis).

Al analizar este gráfico sí se observa cómo la práctica totalidad de los pacientes con PD se encuentran por debajo del umbral (5,97) y al compararlo con la *Fig. 04*, multitud de ellos se encontraban por encima del umbral (7,59). Sin embargo, en nuestra población de estudio los TS se mantienen en su mayoría por encima del umbral de Utpk spc , estableciéndose así una evidencia significativa entre ambos grupos. En consonancia con lo previsto por resultados anteriores, existen diferencias entre PD - Ctrl y estas no se observan de nuevo entre TS - Ctrl.

4. RESULTADOS TEST SEROTONINA DESGLOSADO ENTRE LOS PRINCIPALES GRUPOS DE INTERÉS (TEMBLOR ESENCIAL Y TEMBLOR ESENCIAL PLUS)

Fig. 07. Captación basal, total y específica de serotonina dotplots



Contenido nativo y captación total y específica de serotonina plaquetaria para cada grupo de estudio. En la parte superior izquierda del gráfico se muestra el contenido basal de 5-HT, en parte superior derecha la captación total de 5-HT y en la parte inferior izquierda la captación específica de 5-HT. Ambas captaciones se muestran tras incubación de las plaquetas durante 2 h a una concentración de 5-HT 10 μ M en ausencia o presencia de 30 min de incubación previa con reserpina (1 μ M). Se pueden observar los voluntarios clínicamente sanos (Ctrl, negro, n = 128), el desglose de síndromes tremóricos (azul): 12 Temblores Esenciales (ET), 20 Temblores Esenciales Plus (ET+), 3 otros síndromes tremóricos (OTS): 2 Temblores farmacológicos, 1 Temblor funcional; 1 Temblor ortostático y los pacientes con Enfermedad de Parkinson (PD, rojo, n = 95). Las líneas discontinuas verdes representan los valores umbral: 1,73 Basal; 7,95 para captación total y 5,97 para captación específica: **p<0,01; ***p<0,005 (Kruskal - Wallis).

Como se ha evaluado con anterioridad, existe una tendencia, más acusada tras evaluar la componente de captación intrínseca, de que los síndromes tremóricos (fundamentalmente Temblor Esencial y Temblor Esencial Plus) se diferencian con respecto a patologías asociadas a la enfermedad de Parkinson. No obstante, en el presente trabajo se ha profundizado en este grupo heterogéneo de síndromes tremóricos, con el fin de encontrar tendencias de evolución patológica de aquellos casos de Temblor Esencial Plus. Así pues se ha procedido a dividir el grupo de síndromes tremóricos en subgrupos conforme a lo mencionado en el apartado de material y métodos (TE, TE+ y otros síndromes tremóricos; OTS), para cada parámetro del test de serotonina (Fig. 07).

La parte superior izquierda del gráfico, representa el contenido basal de serotonina con umbral 1,73 nmol/mg proteína para los 5 grupos. En la parte superior derecha del gráfico, se observa la captación total 5 H-T, umbral 7,95 nmol/mg proteína. Y por último, en la sección inferior queda reflejado el umbral 5,97 nmol/mg proteína para la captación específica de este neurotransmisor.

Conforme a lo observado en la captación basal, total y específica para los 5 grupos; el Temblor Esencial se comporta más como un voluntario clínicamente sano frente a un paciente con enfermedad de Parkinson. Por su parte, el Temblor Esencial Plus se diferencia estadísticamente con respecto al control, tanto en la captación total como específica, sin encontrarse discrepancias significativas con respecto a la enfermedad de Parkinson. Con el análisis estadístico utilizado, no hemos conseguido resultados estadísticamente significativos entre TE y TE plus observando sin embargo la clara tendencia en la que la mayoría de los TE plus se comportan de manera diferente con respecto a un TE. En el test de serotonina, esto queda reflejado cuando se obtienen para este grupo niveles inferiores a los límites establecidos de 5-HT.

En este apartado no se analizan los resultados por separado de los otros 3 Síndromes Tremóricos (farmacológico, funcional y ortostático) por no tener un valor muestral suficientemente representativo, tendiendo no obstante a diferenciarse de los Temblores Esenciales Plus.

DISCUSIÓN

1. SÍNTOMAS NO MOTORES

Tal y como se comentó en el apartado de resultados el 50% de nuestra muestra tenía algún síntoma no motor y el 31% tenía 2 o más. Al comparar nuestros resultados con el estudio de Mayela R-V et al [21], que analiza síntomas no motores en la EP estableciéndose en $\approx 78\%$ y grupo control $\approx 41\%$ podemos concluir que, la prevalencia de síntomas premotores de la muestra estudiada está más alineada con la de los controles que con la EP.

Mientras que en la EP los síntomas no motores son más específicos y útiles para la orientación diagnóstica precoz, en los síndromes tremóricos de nuestra población de estudio, la prevalencia es similar a la de un grupo control. Los hallazgos de nuestra investigación apoyan la asociación de los síntomas no motores con la EP y no con otros síndromes tremóricos.

2. EDAD

Según la estadística calculada en nuestro estudio, los pacientes con TE plus sí son mayores en edad pero no se han encontrado evidencias significativas con respecto a la edad de inicio entre ambos grupos.

Basándome en la revisión del estudio de Lolekha, P. et al, los pacientes con TE-plus mostraban una edad significativamente mayor. No obstante, nuestros resultados difieren en cuanto a la edad en el momento del inicio del temblor, que en su estudio resulta también mayor en los pacientes con TE plus respecto a TE. [22] Esta discordancia puede deberse al pequeño tamaño de nuestra muestra.

3. TIEMPO DE EVOLUCIÓN DE LA ENFERMEDAD

En nuestro estudio, es crucial considerar el sesgo de detección al analizar estas variables. Este sesgo se manifiesta porque los TE plus tienden a estar sobrerrepresentados en comparación con los TE puros. La razón de esto radica en que los TE plus, al ser una condición que requiere seguimiento y atención médica continua, son más propensos a ser detectados y, por ende, incluidos en el estudio. En contraste con los TE, que pueden no requerir la misma

atención médica mantenida y por tanto, no llegar a ser registrados en las consultas del hospital.

Este sesgo podría explicar la menor proporción de sujetos con TE de larga evolución o por el contrario, como se analiza en el artículo de Louis ED et al [23] muchos de estos TE que en un inicio se comportaban como puros, sí que evolucionan y adquieren otras características que terminan en TE plus.

4. ANTECEDENTES FAMILIARES

Los datos que refleja nuestro análisis acerca de la asociación entre la presencia de antecedentes familiares de temblor y la ocurrencia de temblor en los pacientes de la muestra, son similares a los que podemos observar en la bibliografía publicada.[24]

En el estudio de Harsh V. Gupta, et al con una muestra de casi 3000 pacientes con Temblor Esencial, el 64% también tenían antecedentes familiares conocidos de Temblor. Esto puede ser importante para comprender la etiología y la predisposición genética del TE y TE Plus. Y, de la misma forma, diferenciarlo con respecto a la EP, enfermedad en la que la asociación familiar es muy infrecuente, salvo en los casos de inicio en la juventud.

Debemos destacar que los 2 pacientes con temblor farmacológico no presentan antecedentes familiares de temblor. Como cabría esperar dada la ausencia de base genética de esta entidad.

5. ALTERACIONES TIROIDEAS

La revisión de dos estudios observacionales realizados en diferentes áreas de España de manera oportunista, informan de que la prevalencia aproximada de hipotiroidismo subclínico es del 3 al 15% dependiendo de la población estudiada.[25] Tras el estudio estadístico de nuestra muestra se confirma una relación significativa entre TE - TE plus, y la mayor incidencia de hipotiroidismo subclínico respecto a la población general. Los citados estudios hacen referencia al incremento de casos en el sexo femenino de hasta 3 veces más, pero en nuestra muestra de pacientes es igual para ambos sexos.

6. RESULTADO TEST SEROTONINA

Tal y como comentamos en el apartado de resultados, se observa una pequeña tendencia a la disminución de captación total de 5H-T en el conjunto de Síndromes Tremóricos (TS) respecto a un sujeto control. Debemos recordar que de la práctica totalidad de nuestra muestra (TS), 32/36, son pacientes con Temblor Esencial y Temblor Esencial Plus.

En el artículo de Roberto Erro et al se evidencia una revisión sistemática de todos los estudios clínicos, electrofisiológicos, de imágenes y anatomopatológicos indexados en la base de datos Medline acerca del Temblor Esencial. De este se concluye que algunos autores argumentaron que la nueva categoría Temblor Esencial Plus podría ser una manifestación tardía del TE, otros sugirieron que podría ser una variante del TE, mientras que otros propusieron que podría representar un estado de transición entre el TE y la enfermedad de Parkinson. [26] Una de las principales hipótesis es la posible denervación dopaminérgica en aquellos pacientes con Temblor Esencial que presentan características de “Plus”, como el temblor en reposo, lo que evidenciaría una progresión hacia enfermedad de Parkinson. Este hecho se evidenció en alguno de los estudios gracias al DATSCAN, técnica de imagen que evalúa la función del sistema dopaminérgico en los ganglios de la base. En cambio, en nuestro estudio se revisó los pacientes con esta prueba de imagen y de 19 pacientes con TE y TE plus, sólo presentaban alteraciones 2 de ellos. En concreto; el paciente 715Q, con hipocaptación en los ganglios de la base y alteración en los tres niveles del test de serotonina y paciente 459H, sin alteraciones en el test e hipocaptación de los ganglios de la base por debajo del límite inferior de la normalidad.

De igual manera, esta última teoría acerca de la superposición de la enfermedad de Parkinson en Temblor Esencial Plus, es la que podría explicar esta leve disminución de captación y acumulación total y/o específica plaquetaria en pacientes TE plus, tal y como se observa en la *Fig.07*. Respecto a nuestro estudio, de los 32 pacientes con TE (12) - TE plus (20);14 presentaron alteraciones en el test de serotonina, de los cuáles 12, corresponden al grupo TE plus y sólo 2 a TE. Así confirmamos como el TE plus se comporta más como una EP y el TE se asemeja más a Ctrl.

CONCLUSIONES

En cuanto a los resultados del test de serotonina, se observó una pequeña tendencia a la disminución de la captación total y específica de 5H-T en el conjunto de Síndromes Tremóricos (TS), sin llegar a ser estadísticamente significativa respecto a los controles sanos. Esta disminución es más pronunciada en los pacientes con Temblor Esencial Plus (TE plus), lo que podría indicar una superposición con la EP. En nuestro estudio, la mayoría de los pacientes con alteraciones en el test de serotonina pertenecen al grupo TE plus, lo que apoya la hipótesis de que el TE plus tiene características más similares a la Enfermedad de Parkinson (EP) que al TE puro. En contraposición, el Temblor Esencial (TE) se asemeja más al grupo control presentando ambas diferencias significativas en el test con respecto a la EP.

Por tanto, el test de serotonina en plaquetas parece prometedor como herramienta diagnóstica en el diagnóstico diferencial entre TE, TE-Plus y EP. Si podemos realizar con mayor certeza el diagnóstico, también podremos asegurar las implicaciones terapéuticas y pronósticas diferentes para cada enfermedad.

Como hallazgos no descritos hasta el momento en otros estudios, en nuestra muestra encontramos una relación significativa entre Síndromes Tremóricos (TE- TE Plus) y una mayor incidencia de hipotiroidismo subclínico en comparación con la población general, sin diferencia significativa entre sexos.

Aunque los pacientes con TE plus son mayores en edad en comparación con aquellos con TE, no se encontraron diferencias significativas en la edad de inicio del temblor entre ambos grupos. Esta diferencia en la edad total pero no en la edad de inicio, contrasta con algunos estudios previos y sugiere que en nuestra muestra la progresión del TE a TE plus no necesariamente se relaciona con el inicio más temprano del temblor.

Existe un sesgo de detección en el estudio, ya que los TE plus tienden a ser más detectados debido a la necesidad de seguimiento médico continuo. Este sesgo puede explicar la mayor proporción de casos de TE plus en comparación con los TE en nuestra población de estudio. O por el contrario, indicar que muchos casos inicialmente diagnosticados como TE evolucionan con el tiempo para adquirir características adicionales que los clasifican como TE plus.

La asociación entre antecedentes familiares de temblor y su ocurrencia en los pacientes de nuestra muestra es consistente con la literatura publicada, lo que subraya la importancia de la predisposición genética en el TE y TE plus.

Finalmente, los resultados del estudio indican que la prevalencia de síntomas no motores en la muestra estudiada es más similar a la de un grupo control que a la de la EP. Esto sugiere que, a diferencia de la EP donde los síntomas no motores son más específicos y útiles para el diagnóstico precoz, en los síndromes tremóricos, no son tan distintivos ni precisos.

¿QUÉ HE APRENDIDO CON ESTE TFG?

Creo que gracias a este trabajo, he conseguido sentirme independiente para completar determinadas tareas que hasta la fecha no había realizado.

En mi caso, me encontraba yo sola en la consulta de Neurología con mis pacientes y era la única responsable de realizar una correcta historia clínica, exploración y resolver las dudas que pudieran tener acerca del estudio, acordes a su enfermedad o pruebas complementarias. Todo lo que fuese útil para mí, con respecto al estudio, pero que también les pudiese ayudar a ellos, que se prestaban voluntariamente para participar. Siempre con el respaldo de la Dra. Mercedes Pueyo y la Dra Carolina Hernández, que siempre se prestaron a ayudarme cuando lo necesitaba.

Otro de los puntos que destacaría, ya que no esperaba dominar en la carrera de Medicina, es la extracción de sangre. Puesto que suele ser una técnica relacionada la mayoría de la veces con la enfermería. Tuve que aprender gracias a una familiar y a las enfermeras Olivia y Elena de las consultas de Neurología, que siempre supervisaron mi trabajo. Comencé con conocidos que se prestaron a ser los primeros, para ya después tener la confianza de efectuar la técnica con los pacientes. Normalmente, pacientes mayores, pluripatológicos y con temblor que dificultaron con creces la tarea.

Ya por último, el contacto de nuevo con el laboratorio. Todos los procedimientos se realizan con delicadeza, perfeccionismo y el tiempo empleado que conlleva el proceso de cada muestra te ayuda a apreciar el trabajo que hay detrás del número que refleja cada análisis. Quiero agradecerle al Dr. Pablo Montenegro y Alicia Méndez por tener paciencia y explicarme todo paso a paso.

BIBLIOGRAFÍA

1. NINDS. Tremor. NIH Publication. November 2023. 23-NS-4734.
2. Bathia KP, Bain P, Bajaj N, et al. Consensus statement on the classification of tremors. From the task force on tremor of the International Parkinson and Movement Disorder Society. *Mov Disord*. 2018;33(1):75-87.
3. Lenka A, Jankovic J. Tremor syndromes: An updated review. *Front Neurol*. 2021;12:684835.
4. Louis ED, Ferreira JJ. How common is the most common adult movement disorder? Update on the worldwide prevalence of essential tremor. *Mov Disord*. 2010;25:534-41.
5. Sharma S, Pandey S. Approach to a tremor patient. *Ann Indian Acad Neurol*. 2016 Oct-Dec;19(4):433-443.
6. Cohen O, Pullman S, Jurewicz E, Watner D, Louis ED. Rest tremor in patients with essential tremor: prevalence, clinical correlates, and electrophysiologic characteristics. *Arch Neurol*. 2003;60(3):405-410.
7. Louis ED. Essential tremor. *Lancet Neurol* 2005; 4: 100-10.
8. Lavita SI, Aro R, Kiss B, Manto M, Duez P. The role of beta-carboline alkaloids in the pathogenesis of essential tremor. *Cerebellum* 2016; 15: 276-84.
9. Louis ED, Jurewicz EC, Applegate L, Luchsinger JA, Factor-Litvak P, Parides M. Semiquantitative study of current coffee, caffeine, and ethanol intake in essential tremor cases and controls. *Mov Disord* 2004; 19: 499-50.
10. Kosmowska B, Wardas J. The pathophysiology and treatment of essential tremor: the role of adenosine and dopamine receptors in animal models. *Biomolecules*. 2021 Dec 2;11(12):1813.
11. Nicoletti G, Manners D, Novellino F, et al. Changes in diffusion tensor magnetic resonance imaging in cerebellar structures of patients with familial essential tremor. *Neurology*. 2010;74:988-94.
12. Pan MK, Kuo SH. Essential tremor: Clinical perspectives and pathophysiology. *J Neurol Sci*. 2022;435:120198.
13. Venegas PF, Gómez RR, Sinning MO. Essential tremor: A critical review. *Rev Chil Neuro-Psiquiatr*. 2010;48(1):58-65.

14. Lenka A, Pandey S. Essential Tremor: Five New Things. *Neurol Clin Pract.* 2022 Apr;12(2):183-186
15. Prasad S, Pal PK. Reclassifying essential tremor: Implications for the future of past research. *Mov Disord.* 2019 Mar;34(3):437.
16. Sharifi S, Nederveen AJ, Booij J, van Rootselaar AF. Neuroimaging essentials in essential tremor: A systematic review. *NeuroImage Clin.* 2014;5:217-231.
17. Shanker V. Essential tremor: diagnosis and management. *BMJ.* 2019 Aug 5;366:l4485.
toca el 20 de tfg comp
18. Zesiewicz TA, Elble RJ, Louis ED, Gronseth GS, Ondo WG, Dewey RB Jr, Okun MS, Sullivan KL, Weiner WJ. Evidence-based guideline update: treatment of essential tremor: report of the Quality Standards subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology.* 2011 Nov 8;77(19):1752-5.
19. Sharda A, Flaumenhaft R. The life cycle of platelet granules. *F1000Res.* 2018 Feb 28;7:236
20. Montenegro P, Pueyo M, Lorenzo JN, Villar-Martinez MD, Alayón A, Carrillo F, Borges R. Secretory vesicle failure occurs in Parkinson's disease in human platelets. *Ann Neurol.* 2022;91:697–703.
21. Rodríguez-Violante M, Cervantes-Arriaga A, Villar-Velarde A, Corona T. Relationship between the type and side of motor symptoms with the prevalence of non-motor symptoms in Parkinson's disease. *Neurologia.* 2011 Jul-Aug;26(6):319-24.
22. Lolekha P, Dharmasaroja P, Uransilp N, et al. Differences in clinical characteristics and natural history between essential tremor and essential tremor plus. *Sci Rep.* 2022;12:7669.
23. Louis ED, Huey ED, Cosentino S. Characteristics of "ET plus" correlate with age and tremor duration: "ET plus" may be a disease stage rather than a subtype of essential tremor. *Parkinsonism Relat Disord.* 2021;91:42-47.
24. Gupta HV, Pahwa R, Dowell P, Khosla S, Lyons KE. Exploring essential tremor: Results from a large online survey. *Clin Park Relat Disord.* 2021 Jun 25;5:100101.
25. Mariscal Hidalgo AI, Lozano Alonso JE, Vega Alonso T, en nombre del Grupo de Investigación del Hipotiroidismo Subclínico en Castilla y León. Hipotiroidismo subclínico en una muestra oportunistica de la población de Castilla y León. *Gac Sanit.* 2015 Mar-Apr;29(2):105-111.
26. Erro R, Sorrentino C, Russo M, Barone P. Essential tremor plus rest tremor: current concepts and controversies. *J Neural Transm.* 2022;129:1-12.

ANEXOS

TABLA RESUMEN DE LA MUESTRA DE PACIENTES CON TEMBLOR

ID	Basal	Uptk	spe Uptk	Diagnóstico	Notas
087G	3,08	10,86	-	Tembler esencial	HTA, AF Temblor, sin síntomas no motores
713M	2,11	8,12	6,17	Tembler esencial plus	HTA, AF Temblor, sin síntomas no motores
715Q	2,68	7,62	5,38	Tembler esencial plus	HTA, AF Temblor Insomnio e hiposmia como síntomas no motores
946H	1,76	8,09	4,49	Tembler esencial plus	HTA, plaquetopenia, vértigo periférico, artrosis, hipotiroidismo subclínico, AF temblor, contacto con insecticidas, Trastorno conducta sueño REM y estreñimiento como síntomas no motores
326R	2,16	7,87	5,35	Tembler esencial plus	HTA, DM2, artrosis, AF Temblor, sin síntomas no motores
960E	3,56	17,16	9,98	Tembler esencial	Artrosis, hipertiroidismo subclínico, AF temblor, sin síntomas no motores
918E	3,68	7,53	5,36	Tembler esencial plus	HTA, DM2, hipotiroidismo subclínico Depresión, insomnio y disfagia como síntomas no motores
401X	3,39	8,34	6,05	Tembler esencial	Hernia discal-osteoporosis, AF familiares, sin síntomas no motores
772X	2,69	5,15	3,78	Tembler esencial plus	Osteoporosis, hipotiroidismo subclínico Depresión, insomnio y estreñimiento como síntomas no motores
397B	4,18	11,22	10,27	Tembler esencial	DM2, artrosis, sin síntomas no motores
511C	2,68	9,04	6,98	Tembler esencial plus	HTA, DM2, artrosis, sin síntomas no motores
495E	3,07	10,83	8,35	Tembler farmacológico	HTA, DM2, artrosis, sin síntomas no motores
257E	3,26	12,85	9,67	Tembler esencial plus	HTA, vértigo periférico, AF temblor, sin síntomas no motores
001L	1,12	11,24	9,11	Tembler esencial plus	HTA, artrosis, AF temblor Depresión como síntoma no motor
507N	6,33	13,07	11,19	Tembler esencial	Migrañas, hipotiroidismo subclínico, sin síntomas no motores
339F	4,04	11,94	8,89	Tembler esencial	Artrosis, contacto con insecticidas, AF temblor, sin síntomas no motores
823K	3,13	11,45	8,68	Tembler esencial	AF temblor, sin síntomas no motores
055C	1,91	7,51	6,35	Tembler esencial plus	HTA, hipotiroidismo subclínico, contacto con insecticidas, sin síntomas no motores

ID	Basal	Uptk	spe Uptk	Diagnóstico	Notas
624P	2,7	9,85	6,98	Tembler esencial	HTA, vértigo periférico, hipotiroidismo subclínico, AF temblor, sin síntomas no motores
173L	0,25	5,92	3,47	Tembler esencial	Artrosis Depresión como síntoma no motor
148W	3,06	9,83	7,69	Tembler esencial plus	Artrosis, AF temblor Depresión y estreñimiento como síntomas no motores
488A	2,5	9,64	8,38	Tembler esencial plus	AF temblor Trastorno de la conducta sueño REM como síntoma no motor
455F	3,39	9,41	8,01	Tembler farmacológico	HTA, Mieloma múltiple, sin síntomas no motores
456F	1,75	8,03	5,91	Tembler esencial plus	HTA, vértigo periférico, artrosis, hipotiroidismo subclínico, AF temblor, sin síntomas no motores
209H	2,31	7,88	5,17	Tembler esencial plus	HTA, artrosis Alteraciones del sueño y problemas memoria de fijación como síntomas no motores
459H	3,75	13,18	8,21	Tembler esencial plus	HTA, lupus, vértigo periférico Estreñimiento y alteraciones del sueño como síntomas no motores
918K	1,36	7,25	4,91	Tembler esencial	AF temblor, sin síntomas no motores
971S	2,51	7,99	5,79	Tembler esencial plus	HTA, DM2, plaquetopenia, AF temblor Depresión, estreñimiento y sueño como síntomas no motores
788R	0,63	9,63	6,8	Tembler funcional	HTA, espina bífida, vértigo periférico, hernias discales, hipotiroidismo subclínico, AF temblor Depresión como síntoma no motor
282H	2,86	10,38	8,3	Tembler esencial	DM2, hipotiroidismo subclínico, AF temblor Depresión y alteraciones del sueño como síntomas no motores
197H	0,44	6,33	4,62	Tembler esencial plus	HTA, DM2, artrosis, AF Temblor Depresión y alteraciones del sueño como síntomas no motores
289D	0,54	7,47	4,33	Tembler esencial plus	HTA, DM2, plaquetopenia, artrosis, hipotiroidismo subclínico Depresión, estreñimiento y disfonía como síntomas no motores
055R	3,84	11,78	7,8	Tembler ortostático	DM2, epilepsia, hernia, hipotiroidismo subclínico, AF temblor Alteraciones del sueño como síntoma no motor
344G	3,38	8,55	6,46	Tembler esencial	Hernia discal-osteopenia Insomnio como síntoma no motor
427L	2,53	8,67	6,38	Tembler esencial plus	HTA, artrosis, AF temblor Depresión como síntoma no motor
490B	2,5	6,72	5,95	Tembler esencial plus	HTA, DM2, enf Waldenström, hernia discal, hipotiroidismo subclínico, sin síntomas no motores

CONSENTIMIENTO INFORMADO

HOJA INFORMATIVA.

Usted va a participar voluntariamente en un proyecto de investigación que tiene por objeto diagnosticar la Enfermedad de Parkinson, con mucha más antelación de la que hoy es posible.

Para ello donará **20mL** de su sangre mediante una extracción estándar practicada por un profesional sanitario autorizado del Hospital Universitario de Canarias. Estas muestras serán remitidas al Laboratorio de Farmacología de la Facultad de Medicina para su estudio.

Los médicos del Servicio de Neurología mantendrán su anonimato y los investigadores de la Facultad no tendrán acceso a sus datos personales ni a su historial clínico, más que en los aspectos relevantes para esta investigación.

Este proyecto de investigación ha sido informado favorablemente por los Comités de Ética del Hospital Universitario de Canarias y de la Universidad de La Laguna y está financiado por el Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades del Gobierno de España.

En la hoja adjunta tiene el Consentimiento Informado. No se contemplan nuevas extracciones. El estudio no supone ningún riesgo añadido a la práctica clínica básica hospitalaria.

Información de contacto.

Dr. Ricardo Borges 922.319346; rborges@ull.es

COMITÉ ÉTICO



The research project entitled: "**Functional analysis of secretory vesicles from peripheral tissues for the preclinical diagnostic of Parkinson's Disease**" (CHUC_2020_80), has been evaluated by the Institutional Review Board (IRB) of the Hospital Universitario de Canarias, as approved in the session held on 23rd July 2020. The IRB evaluated several aspects of the project:

The clinical data to be used in this study research are suitable and appropriate for the project.

The capability and skills of the Main Researcher and the available tools and techniques are appropriate to achieve the goals of the study, and they do not interfere with the respect of the ethical guidelines and current regulations. The appropriate Informed consent of the participants are clearly defined and according to the legal and ethical Spanish regulations.

Thereby, the IRB of the Hospital Universitario de Canarias approve the project for the ethical and legal aspect of the afore mentioned study at the following centers and researchers:

- Universidad de La Laguna - Dr. **RICARDO BORGES JURADO**
- Hospital Universitario de Canarias – Dr. **FRANCISCO CARRILLO PADILLA**
- Hospital Universitario Nra. Sra de Candelaria – Dr. **FERNANDO MONTON ALVAREZ**
- Centro Neurológico Dr Alayón – Dr. **ANTONIO ALAYON FUMERO**

Prof. Emilio J. Sanz
President of the Institutional Review Board
Hospital Universitario de Canarias