



**UNIVERSIDAD
AUTÓNOMA
METROPOLITANA**
Unidad Xochimilco

CBS

Universidad Autónoma Metropolitana – Unidad Xochimilco
División de Ciencias Biológicas y de la Salud
Licenciatura en Química Farmacéutica Biológica

**Reporte final de Servicio Social: Caracterización de la
coordinación motora en un modelo de neurodegeneración
inducido por Ácido Quinolínico**

Alumno: Alejandro Jiménez Huerta – 2203060282

Asesor interno: Norma Angélica Noguez Méndez - 17902

Asesor externo: Francisca Pérez Severiano – 1931927

Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía Manuel Velasco
Suárez

Laboratorio de Neurofarmacología Molecular y Nanotecnología

Fecha de inicio: 29 de julio de 2024

Fecha de término: 29 de enero de 2025

Índice

1.Introducción.....	4
1.1 Enfermedades neurodegenerativas.....	4
1.1.1 Enfermedad de Huntington.....	4
1.1.2 Enfermedad de Alzheimer.....	5
1.1.3 Esclerosis múltiple.....	5
1.1.4 Enfermedad de Parkinson.....	5
1.2 Modelos.....	6
1.2.1 Enfermedad de Alzheimer.....	6
1.2.2 Esclerosis Múltiple.....	6
1.2.3 Enfermedad de Parkinson.....	7
1.3 Modelos experimentales de la EH.....	8
1.3.1 Modelos tóxicos.....	8
1.3.2 Modelos basados en excitotoxicidad.....	8
1.4 Modelos basados en la alteración del metabolismo.....	8
1.4.1 Caracterización del daño citotóxico inducido por AQ.....	9
1.4.2 Especies Reactivas de Oxígeno (ROS).....	9
1.4.3 Daño oxidante.....	9
1.4.4 Alteraciones motoras.....	9
1.5 Formas de evaluar alteraciones motoras.....	10
1.5.1 Prueba de marcha o de viga de equilibrio.....	10
1.5.2 Secuencia de habilidades motoras (MOSS).....	10
1.5.3 Prueba de barra horizontal.....	10
1.5.4 Prueba de pantalla invertida.....	11
1.5.5 Prueba de rotarod.....	11
2. Justificación.....	12
2.1 Vinculación con la sociedad.....	13
3. Objetivos.....	13

3.1 Objetivo general.....	13
3.2 Objetivos específicos.....	13
4. Hipótesis.....	13
5. Materiales y métodos.....	13
5.1 Diseño experimental.....	14
5.2 Animales.....	14
5.3 Preparación del AQ.....	14
5.4 Lesión estereotáctica.....	14
5.4.1 Cirugía estereotáctica.....	15
5.5 Evaluación de conducta de giros ipsilaterales.....	15
5.5.1 Preparación de Apomorfina.....	15
5.5.2 Evaluación de los giros ipsilaterales.....	15
5.6 Evaluación de coordinación motriz mediante la prueba con equipo rotarod.....	16
6. Resultados.....	16
6.1 Entrenamiento.....	16
6.2 Evaluación previa a la lesión.....	18
6.3 Lesión estereotáctica.....	19
6.4 Evaluación de rotarod posterior a la cirugía.....	20
6.5 Prueba de giros ipsilaterales.....	20
6.6 Comparación del daño causado por la cirugía estereotáctica y la degradación de la capacidad motora mostrada en la prueba de rotarod.....	21
7 Discusión.....	22
7.1 Recomendaciones.....	23
8 Conclusión.....	23
9 Referencias.....	24

1.Introducción

1.1 Enfermedades neurodegenerativas

Las enfermedades neurodegenerativas se caracterizan por la pérdida progresiva de la integridad de la estructura y funciones de las neuronas involucradas en un proceso específico. Existe una gran variedad de enfermedades de este tipo, tales como la ataxia de Friedrich, la enfermedad de Alzheimer (EA), la demencia con cuerpos de Lewy o la enfermedad de Huntington (EH); pero todas tienen en común que son incurables, además de que los procesos como el estrés oxidante, la neuroinflamación y neurodegeneración se encuentran presentes. (Martínez-Gopar, 2023)

1.1.1 Enfermedad de Huntington

La EH es una enfermedad hereditaria que tiene como consecuencia el deterioro neuronal. Las personas que nacen con el gen HTT, también conocido como gen de la huntingtina mutada, muestran síntomas que aparecen hasta después de los 30 o 40 años. Los síntomas iniciales de la EH pueden incluir movimientos descontrolados, torpeza y problemas de equilibrio, dado al daño en el caudado-putamen, núcleo que forma parte del sistema límbico, responsable del control de los movimientos. Con el paso del tiempo el daño progresa y más adelante, puede impedir caminar, hablar y tragar. Algunas personas dejan de reconocer a sus familiares (García et al., 2023).

Los datos sugieren que a medida que avanza la EH, se generan Patrones Moleculares Asociados a Daño (DAMP) capaces de activar a los receptores tipo Toll (TLR), incluidos agregados de proteínas y constituyentes liberados de las neuronas muertas (Griffioen et al., 2018). La nueva información propuesta por Griffioen condujo al descubrimiento de varias proteínas adaptadoras de los TLR clase 4 (TLR4), como IRAK1, TICAM2 y MyD88, están ligeramente elevadas en los monocitos nativos de los pacientes con EH. Un aumento inicial acumulativo en la expresión de varias de estas proteínas adaptadoras puede conducir a una mayor transducción de señales como TLR4 al Factor Nuclear kappa B (NFkB), aumentando aún más la desregulación de la vía de NFkB (Traüger et al., 2013). Al

mismo tiempo se descubrió como la activación deteriorada dependiente de TLR4 de la cinasa I κ B, p-65, cinasas ERK-1 y 2, y ELK-1, así como la acumulación de mRNA de c-Fos en R6/1 BMMC, de forma que se puede ver el papel de EH en las vías de señalización que conducen al TLR4 a una acumulación y secreción de TNF (Pérez-Rodríguez et al., 2020).

1.1.2 Enfermedad de Alzheimer

La enfermedad de Alzheimer (EA), es un trastorno neurológico que provoca la muerte de las células nerviosas. Por lo general, la EA comienza paulatinamente y sus primeros síntomas pueden atribuirse a la vejez o al olvido común. A medida en que avanza la enfermedad, se van deteriorando las capacidades cognitivas, entre ellas la capacidad para tomar decisiones y llevar a cabo las tareas cotidianas, y pueden surgir modificaciones de la personalidad, así como conductas problemáticas. En sus etapas avanzadas, la EA conduce a la demencia y finalmente a la muerte (Romano, 2007).

1.1.3 Esclerosis múltiple

La esclerosis múltiple es la enfermedad neurológica crónica más frecuente en adultos jóvenes la cual se caracteriza por episodios de disfunción neurológica diseminados en el espacio y el tiempo que originan una gran variedad de síntomas, según la zona del Sistema Nervioso Central (SNC) afectada. El 90% de los pacientes de esclerosis múltiple presentan un curso clínico caracterizado por la aparición de episodios o brotes de disfunción neurológica más o menos reversibles, que se repiten cada cierto tiempo y que, a medida que se repiten, van dejando secuelas funcionales neurológicas (forma en brotes o recidivante-remitente) (Fernández et al., 2015).

1.1.4 Enfermedad de Parkinson

La enfermedad de Parkinson (EP), corresponde al desorden del movimiento más común y a la segunda enfermedad neurodegenerativa más frecuente del SNC. Predomina en hombres y la edad usual de presentación comprende entre los 65 y 70 años. En la neuropatología intervienen los niveles en depleción de dopamina,

secundario a las inclusiones citoplasmáticas de alfa-sinucleína. Los síntomas motores cardinales corresponden a la bradiquinesia, tremor en reposo y rigidez (Morales, K et al., 2022).

1.2 Modelos de enfermedades neurodegenerativas

1.2.1 Enfermedad de Alzheimer

La neurodegeneración de las neuronas colinérgicas, noradrenérgicas, serotoninérgicas, gabaérgicas y glutamatérgicas se observa en distintas áreas cerebrales relacionadas con la memoria como pueden ser el cortex de asociación y el sistema límbico. El biomarcador para su diagnóstico es la presencia de depósitos extracelulares de amiloide e intracelulares de TNF. Los depósitos de amiloide son agregados de β amiloide ($A\beta$), péptidos de 39 a 43 aminoácidos que derivan de una gran proteína transmembrana denominada APP. Los TNF son filamentos helicoidales compuestos por proteína tau hiperfosforilada asociada a microtúbulos. Hasta la fecha las mutaciones identificadas en familias con EA (APP/PS) alteran el procesamiento de la APP con la consecuente acumulación de $A\beta$. En concreto, la producción del péptido $A\beta$ incrementa la predisposición a formar depósitos a amiloide (Payno, 2009).

1.2.2 Esclerosis múltiple

La esclerosis múltiple se induce mediante inmunización activa o transferencia de células T específicas contra antígenos de la mielina. Para la inmunización activa se inyecta al animal un homogenizado del sistema nervioso central o bien proteínas o péptidos de la mielina emulsionados en el adyuvante completo de Freud. En algunas especies, como los ratones y los primates, es necesario también la administración de *Bordetella pertussis*. Aunque se desconoce el mecanismo preciso, se piensa que ésta participa en la permeabilización de la barrera hematoencefálica. De esta forma, se desarrolla una respuesta mediada por células T CD4+ frente al antígeno encefalitogénico utilizado. Para la inmunización por transferencia pasiva, a partir de los ratones inmunizados se obtienen células de ganglios linfáticos o esplenocitos, que son administrados por vía intravenosa a ratones sanos induciendo la esclerosis múltiple. Transcurridos unos 10 días de la inmunización activa o 3-4 días de la

transferencia pasiva, aparecen los primeros signos clínicos de esclerosis múltiple, que consisten en una parálisis ascendente que afecta inicialmente la cola y progresa hacia las extremidades anteriores (Moreno, 2012).

1.2.3 Enfermedad de Parkinson

La neurotoxicidad del 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina (MPTP) (fármaco desarrollado para sintetizar petidina - meperidina) ha sido demostrada en diversas especies animales, incluyendo macacos, ratones (C57Black) y gatos. No existe una explicación adecuada para la diferente vulnerabilidad de las distintas especies animales al MPTP; no obstante, se ha postulado que puede estar relacionada con diferencias en el metabolismo del MPTP y la distribución y retención cerebral de su metabolito, el MPP⁺. Para algunos autores, la neurotoxicidad del MPTP es dependiente del contenido de neuromelanina, ya que la afinidad del MPP⁺ (metabolito del MPTP, diseñado para modelar a la enfermedad de Parkinson) por la neuromelanina es muy alta y dicho pigmento está presente en las NDA (coenzima del metabolismo celular), mientras que para otros está relacionada con la actividad de la MAO-B (enzima que degrada la dopamina) a nivel de los capilares cerebrales. En cuanto a las alteraciones conductuales, se ha reportado que una gran variedad de primates no humanos desarrolla también un síndrome parkinsoniano cuando se les administra MPTP. Estos animales muestran una reducción muy importante de la actividad espontánea, rigidez, bradicinesia y temblor; muy pocos desarrollan el temblor de reposo característico de la EP. Los síntomas parkinsonianos son inicialmente transitorios, pero se hacen permanentes con la administración repetida de la toxina. Los mecanismos implicados en la recuperación espontánea que experimentan estos animales no se conocen, pero pueden estar relacionados con una modificación transitoria de otros sistemas de neurotransmisión, diferentes al nigroestriado (Adriana, A. 2010).

1.2.4 Modelos experimentales de la EH

Los estudios realizados para aumentar el conocimiento de la etiología de la EH, y la constante búsqueda de alternativas terapéuticas, ha hecho incuestionable la

importancia del uso de la experimentación animal. Aunque la EH no se manifiesta en los animales de manera espontánea, se han desarrollado modelos experimentales de la enfermedad, que han ayudado a estudiar los mecanismos involucrados en la patogenia de ésta, permitiendo desarrollar estrategias terapéuticas. No existe un modelo experimental único que satisfaga completamente los requerimientos de similitud con la EH en cuanto a fenomenología clínica, aspecto histológico y genético (Teresa et al.,2011).

Modelos tóxicos. La muerte neuronal excitotóxica lenta puede producirse como consecuencia de un defecto en el metabolismo oxidativo. Las interrupciones en la síntesis de ATP pueden conducir a despolarización neuronal parcial con activación de receptores NMDA, lo cual provocaría daño neuronal excitotóxico secundario (Teresa et al.,2011).

Modelos basados en excitotoxicidad. Se ha descrito que los modelos de excitotoxicidad han sido utilizados con mayor frecuencia cuyos mecanismos de excitotoxicidad están basados en la sobreexcitación de las neuronas como resultado de estimulación propagada y continua de receptores a aminoácidos excitadores, lo que produce alteraciones serias en la fisiología de las neuronas, conduciéndolas a muerte celular, aprovechando distintas opciones tales como glutamato, el ácido kaínico y el NMDA (Teresa et al.,2011).

Modelos basados en la alteración del metabolismo. La teoría de la excitotoxicidad explica el mecanismo de muerte neuronal en la EH y en otras enfermedades neurodegenerativas como una primera causa de muerte neuronal, pero una posible explicación de la toxicidad del glutamato podría ser también déficit en la producción de energía mitocondrial. Por lo tanto, se hipotetizó que alteraciones en la fosforilación oxidativa pueden ser el déficit primario que predispone a la degeneración neuronal secundaria a la toxicidad por glutamato (Beal *et al.*, 1993b). Toxina con la que puede ser producido este tipo de alteración metabólica: Ácido 3-nitropropiónico (3-NP; inhibidor del complejo II de la cadena respiratoria mitocondrial) (Teresa et al., 2011).

1.4 Modelos basados en la alteración del metabolismo

1.4.1 Caracterización del daño citotóxico inducido por AQ

El daño citotóxico cerebral, muestra determinadas señales cuando éste es inducido de forma correcta, de forma que confirma el funcionamiento adecuado del procedimiento desarrollado en los sujetos. Estas señales se confirman y evalúan mediante distintos parámetros tales como:

1.4.1.1 Prueba de giros ipsilaterales

La apomorfina, al ser un agonista dopaminérgico, induce giros ipsilaterales. Este efecto se debe a que la apomorfina estimula los receptores dopaminérgicos en el cerebro, especialmente en el sistema nigroestriatal, lo que altera el equilibrio de la actividad motora y causa los giros (Nagendran, A 2024)

1.4.2 Daño oxidante

El estrés oxidativo puede participar a través de numerosos mecanismos etiopatogénicos en el proceso de neurodegeneración, característico del grupo de enfermedades conocidas como neurodegenerativas, tales como la EA, , la EP, la EH y la esclerosis lateral amiotrófica (Bailo et al., 2022). Existen parámetros de evaluación para distinguir un daño oxidativo: Medición de especies reactivas de oxígeno, entre otros.

1.4.3 Especies Reactivas de Oxígeno (ROS)

Las especies reactivas del oxígeno (ROS) son producidas como una consecuencia del metabolismo aeróbico fisiológico normal. La cadena de transporte de electrones de la mitocondria, los peroxisomas, la NADPH oxidasa, la óxido nítrico sintetasa desacoplada y el sistema del citocromo P450 son las fuentes más importantes de producción de los ROS. El desbalance entre la producción de los ROS y el sistema de defensa antioxidante en los sistemas vivos ocasiona una ruptura de la función celular y daño (Carlos & Carlos, 2019).

1.4.4 Alteraciones motoras

La EH se caracteriza clínicamente por la presencia de alteraciones del comportamiento, alteraciones afectivas y cognitivas asociadas a una disfunción

motora progresiva y antecedentes familiares compatibles con una transmisión autosómica dominante.

La edad promedio donde puede iniciarse la aparición de la sintomatología de la EH, es a los 38 años. De forma característica los signos iniciales son la inquietud generalizada, alteraciones del sueño, cambios en el comportamiento, así como ansiedad y depresión (Rodríguez et al., 2013) con unos límites que pueden variar entre la segunda y la séptima décadas de la vida. La edad de inicio y gravedad de la enfermedad dependen del tamaño de la expansión de la secuencia CAG.

1.5 Pruebas para evaluar las alteraciones motoras

1.5.1 Prueba de marcha o de viga de equilibrio

Permite detectar deficiencias sutiles en la motricidad y el equilibrio, en comparación con otras pruebas motoras. Esta prueba evalúa la capacidad del animal para caminar sobre una viga larga y estrecha, colocándolo en esta para observar que pueda caminar en ella sin caerse, realizando la prueba en una plataforma estrecha y elevada (Kamal et al., 2025).

1.5.2 Secuencia de habilidades motoras (MOSS)

La conducta motora está mediada por una red neuronal compleja que se origina en la corteza y termina en los músculos esqueléticos, involucrando tractos neuronales y vías de conexión de la primera y la segunda motoneurona. Existen diversos métodos para determinar anomalías de la marcha en pequeños roedores. La prueba MOSS, está diseñada para detectar déficits latentes en el rendimiento motor (Kamal et al., 2025).

1.5.3 Prueba de barra horizontal

Esta prueba se basa en el hecho de que la capacidad de agarre de los roedores es inversamente proporcional al diámetro de la barra, la prueba de la barra horizontal se centra únicamente en la fuerza de agarre estática del animal y no evalúa su capacidad para responder a condiciones cambiantes (Kamal et al., 2025).

1.5.4 La prueba de la pantalla invertida

La Prueba de la pantalla invertida mide la fuerza muscular, la coordinación y la fatiga general de los roedores, cronometrando el tiempo que pueden aferrarse a una malla de alambre invertida. Este método rápido y económico mide la función motora (Kamal et al., 2025).

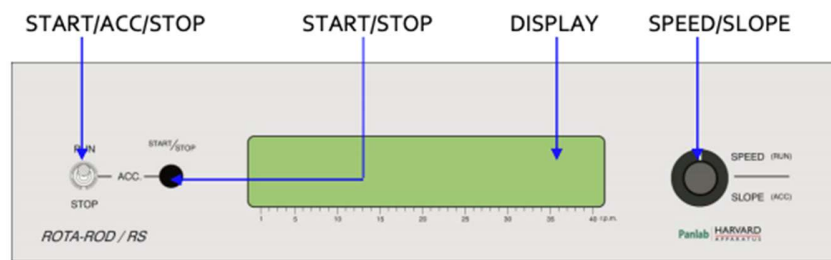
1.5.5 Prueba de rotarod

La prueba de rotarod permite evaluar los efectos neurológicos de los fármacos, al igual que el daño causado por padecimientos tales como la EP, la esclerosis lateral amiotrófica, la EH y algunas lesiones cerebrales traumáticas. Por lo tanto, su aplicación se vuelve sumamente útil para la medición de los efectos causados ya sea por una enfermedad o por un medicamento (Nagendran, A 2024).

Rotarod es una prueba para evaluar la función motora y la coordinación en roedores. El equipo consta de un motor interno que hace girar un rotor en el cual se posiciona a cada sujeto para ser evaluado, teniendo 4 secciones separadas para realizar un máximo de 4 sesiones simultáneas; aunado a esto, cuenta con un panel de control que permite programar la sesión de trabajo correspondiente, ya sea de entrenamiento o evaluación. La coordinación motora o la fatiga se pueden evaluar midiendo el tiempo que el animal permanece en una varilla giratoria antes de caerse. Esta es una de las pruebas más utilizadas para evaluar la función motora, que cuenta con diversos tipos y protocolos con ruedas de carrera complejas (Kamal et al, 2025).



A



B

Figura 1 equipo rotarod y énfasis a la placa de control. Acceleration mode (ACC) A vista general del equipo de rotarod B Vista del panel

de control. ESCRIBIR DE DONDE SE TOMO LA IMAGEN

Esta prueba requiere que los ratones se equilibren en una varilla giratoria que irá acelerando de forma progresiva, de forma que su latencia para caer brinda los datos que se registran como la medida del punto final. Los ratones pueden ser evaluados a una velocidad establecida (usualmente la velocidad más alta a la que los ratones pueden equilibrarse), para diferentes ensayos o a una velocidad gradualmente acelerada de 0 a 40 rpm durante 5 min dentro de un ensayo. Se le atribuye a la fatiga cierta influencia en los resultados obtenidos de la varilla acelerada, mientras que la latencia de caída con la varilla a una velocidad constante, que es más sensible a los cambios biológicos que influyen en la coordinación motora y el equilibrio (Hanlon & Vanderah, 2010).

2. Justificación

La comprensión del cómo las enfermedades neurodegenerativas dañan de manera significativa la salud de los pacientes, es clave en el planteamiento de estrategias terapéuticas, ya que el entender cómo es su mecanismo de funcionamiento, permite el desarrollo de tratamientos que se dirijan a los puntos clave del mismo, mejorando así la calidad de vida de quienes son aquejados por ellas. A nivel experimental, empleando un modelo experimental de enfermedad neurodegenerativa (EH) permitirá confirmar la existencia de la relación entre la prueba de rotarod y la prueba de giros ipsilaterales, esclareciendo así un mecanismo de daño.

El desarrollo de este experimento se relaciona con las actividades y objetivos del módulo “LOS FÁRMACOS COMO MODIFICADORES DE FUNCIONES

BIOLÓGICAS”; tales como: manejo de animales de experimentación y obtención de muestra, vías de administración, absorción y distribución, entre otros.

2.1 Vinculación con la sociedad

Misión

“Contribuir al bienestar y la equidad social en cumplimiento con el derecho de protección a la salud a través de la innovación científica, la excelencia académica y la calidad y seguridad de los servicios de salud en el ámbito de las neurociencias”.

Visión

"Ser la institución pública líder a nivel nacional e internacional en atención médica integral; enfocada principalmente en el sistema nervioso, el desarrollo de investigación clínica, científica y en la formación de capital humano, con el más alto grado de humanismo, calidad y eficiencia".

3. Hipótesis

Si el sujeto de experimentación muestra giros en la prueba de conducta rotatoria (medición de giros ipsilaterales), se mostrará un deterioro en la conducta motora en la prueba de rotarod.

4. Objetivos

4.1 Objetivo general

Demostrar que la administración intraestriatal de AQ en ratones, induce daño neurológico y reduce la capacidad motriz.

4.2 Objetivos específicos

- Validar la prueba de rotarod con ratones de la cepa C57Black, intactos.
- Caracterizar la respuesta a la prueba de rotarod en un ratón C57Black lesionado con AQ.
- Correlacionar el daño causado por el AQ en el ratón C57Black con el cambio en la respuesta mostrada en la prueba de rotarod.

5. Materiales y métodos

5.1 Diseño experimental

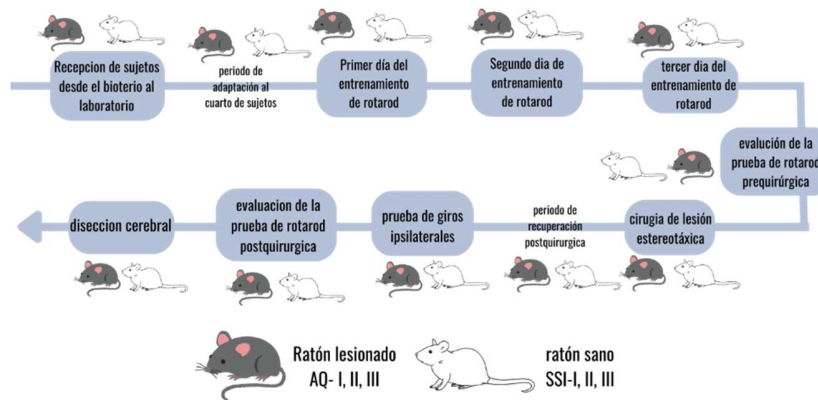


Figura 2 Esquema del diseño experimental. Este esquema resume el proceso seguido durante todo el experimento desarrollado

5.2 Animales

En este trabajo se utilizaron ratones macho de la cepa C57BL/6J (WT). Éstos fueron mantenidos en condiciones de temperatura, humedad y ciclos luz-oscuridad de 12:12 horas, con agua estéril y alimento proporcionados por el Bioterio del Instituto Nacional de Neurología Manuel Velasco Suárez (INNN MVS). Los ratones estuvieron dentro de un rango de peso de 25-30g y fueron hospedados en cajas de acrílico.

5.3 Preparación del AQ

En una balanza analítica, pesar la cantidad de 0.4000 a 0.4012g de AQ, posteriormente, disolver el AQ con 7 mL de Solución Salina Inyectable (SSI) en un vaso de precipitado de 10 mL. Preparar 2 soluciones de NaOH, a una concentración de 1M y otra a 0.1M para llevar la solución de AQ a un pH de 7.2 a 7.4, para finalmente aforar la solución a 10 mL con mas SSI. Por último, tomar una alícuota de 10 μ L de la solución de AQ y aforar con 70 μ L de SSI.

5.4 Lesión estereotáxica

La lesión estatal con AQ, se llevó a cabo de acuerdo con la tesis "Papel del receptor Toll-like 4 en los procesos de neurodegeneración e inflamación asociados a la

enfermedad de Huntington” (Martínez-Gopar 2023), se realizaron el modelo de acuerdo a los procesos que ahí se indican.

5.4.1 Cirugía Estereotáxica

Como primer paso se prepara el anestésico disolviendo 140 μ L de pentobarbital en 860 μ L de SSI (81.9 mg/kg) y administrar por vía IP al ratón 10 μ L/g de peso. Posteriormente se limpia la cabeza con H₂O₂ y poner 2 gotas de lidocaína esparciendo por la cabeza. Una vez que se absorbió la lidocaína, se fija al ratón en el estereotáxico usando los lápices y el bozal, presionando hacia los lados la cabeza con una microespátula para confirmar la inmovilidad del cráneo. Una vez inmovilizado se hace una incisión en la cabeza sin dañar el cráneo. Después de debe ubicar el punto craneal Bregma y posicionar la aguja de la jeringa Hamilton en este punto, para tomar las medidas que se usarán como punto 0AP, 0ML, 0DV y moverse a las coordenadas según el atlas de Paxinos y Watson, para dirigirse al núcleo estriado +0.6AP, -2.0ML, -2.7DV. Marcar con un lápiz este punto y realizar un trépano.

Se carga la jeringa Hamilton con la solución final de AQ y administrar 1 μ L a una velocidad de 0.333 nL/min. Una vez terminada su administración, se dejan 10min de difusión y se sutura la herida.

5.5 Evaluación de conducta de giros ipsilaterales

La conducta de giros inducida por apomorfina posterior a la lesión se realizó acorde a la tesis de Martínez-Gopar 2023:

5.5.1 Preparación de Apomorfina

Pesar 0.1g de ácido Ascórbico y diluirlos en 10 mL de SSI. Después pesar 1.6 a 1.7 mg de apomorfina y disolver en agitador vortex con la solución de ácido ascórbico, la cual se utiliza para que la apomorfina se pueda disolver y no sufra oxidación.

5.5.2 Evaluación de los giros ipsilaterales

Administrar 10 μ L/g de ratón de la solución de apomorfina por vía intraperitoneal y

esperar 2 min hasta ver piloerección y después de 5 min de la administración se empiezan a contar los giros ipsilaterales durante una hora.

5.6 Evaluación de coordinación motriz mediante la prueba con equipo rotarod

Los ratones tuvieron un periodo de adaptación a su carril durante 10 minutos antes del inicio de la prueba. Previo a este período de adecuación, se preparó el rotor, limpiando cada carril del aparato con etanol al 70%.

A continuación, se inició la velocidad en 4 rpm, configurando la aceleración en 5 minutos y la velocidad final en 40 rpm para proporcionar una aceleración constante de 4 a 40 rpm durante un período de 5 minutos.

Después del período de adecuación, se colocaron a los sujetos en el rotarod en sus respectivos carriles mientras la varilla gira a 4 rpm. Una vez que todos los sujetos estén en sus respectivos carriles, se inicia prueba. Se registrará la latencia para caer del ratón. Nota: Se puede emplear un temporizador secundario como respaldo. Una vez finalizada la prueba, se permitirá que cada sujeto descanse en cajas aisladas durante 10 minutos antes de la siguiente prueba para evitar la fatiga.

6. Resultados

Se realizó la caracterización de la respuesta a la prueba de rotarod en la evaluación de ratones intactos y lesionados con AQ.

6.1 Entrenamiento

Se pesó a cada ratón antes de iniciar el primer ciclo de cada día de entrenamiento, y una vez hecho esto, se programa al equipo a la primera velocidad de entrenamiento, poniendo el switch de inicio en el modo “run” y programando la velocidad a 10 rpm con la perilla SPEED/SLOPE y se sube cada ratón. Antes de iniciar el entrenamiento, se les hacen marcas en la cola con un plumón, para poder diferenciar a cada sujeto. Posteriormente se le permiten 5 intentos a cada ratón en la primera velocidad, para resistir un mínimo de 25 segundos, anotando en la bitácora el máximo de tiempo conseguido por cada ratón. Se recomienda que después de la primera caída, se le permita a cada ratón explorar el equipo con el fin de disminuir el estrés que puedan sentir y así muestren los mejores resultados posibles. Una vez que se cumplan los 5 intentos con cada ratón, se les permite descansar

con agua y comida por 10 min; mientras este descanso de da se debe limpiar de desechos todo el rotor y cada platina utilizando toallas de papel con una solución de etanol al 70%. Una vez que se cumplió el tiempo de descanso se inicia el segundo ciclo de entrenamiento, a las mismas condiciones, pero aumentando la velocidad del equipo a 20 rpm, y una vez que todos los ratones hayan pasado nuevamente por la prueba, se les dejó descansar otros 10 min con agua y comida. Se repite este mismo proceso otras 2 veces, pero una a 30 rpm y la otra a 40 rpm, registrando todos los resultados en una tabla como la siguiente:

Tabla 1 Registro de entrenamiento de rotarod. En la tabla se muestran diferentes grupos de sujetos tratados con solución salina (SSI) como control o sujetos lesionados estriatalmente con AQ.

Sujeto	PESO (g)	T _{V10rpm} ^(seg)	T _{V20rpm} ^(seg)	T _{V30rpm} ^(seg)	T _{V40rpm} ^(seg)
I-AQ	25	30	8	7	0
II-AQ	28	12	9	5	0
III-AQ	26	56	63	13	5
I-SSI	25	92	63	36	3
II-SSI	25	59	38	11	0
III-SSI	25	20	8	3	0

g: gramos, rpm: revoluciones por minuto, seg: segundos, AQ: ácido quinolínico, SSI: solución salina inyectable

Este es el proceso de entrenamiento completo de un día, el cual se debe repetir de la misma forma durante 3 días consecutivos.



Figura 3 Sujeto en entrenamiento en el rotarod. Se muestra la imagen donde el ratón está teniendo tiempo de reconocimiento en el equipo.

6.2 Evaluación previa a la lesión

Al día siguiente de que se terminó el tercer entrenamiento se realizó la evaluación, en la cual se programa el rotarod. Se programó el rotarod colocando el switch de inicio en la opción ACC y seleccionando con la perilla SPEED/SLOPE 5 minutos como el tiempo para alcanzar la velocidad máxima. Antes de subir a los ratones al equipo, se debe revisar que tanto el rotor como las platinas se encuentren limpios (en caso de que este se encuentre sucio, se deben limpiar con la misma solución de etanol), y una vez limpias se pesa cada ratón y se sube al rotor, y en cuanto este comience a caminar, se presiona el botón START/STOP para que el rotor comience a acelerar, hasta que finalmente el ratón caiga, y se almacenan los datos de velocidad máxima alcanzada y tiempo máximo resistido sin caer. Una vez que todos los sujetos hayan pasado por la previa se les deja descansar 10 min y se repite la misma, para corroborar que los datos sean correspondientes entre sí.

Tabla 2 Registro de respuesta a la prueba de rotarod antes de la lesión.

Sujeto	Peso (g)	T (seg)	V (rpm)	T+10min (seg)	V +10min (rpm)
I-AQ	24	91	15	109	17
II-AQ	29	117	18	125	20
III-AQ	26	128	19	113	18
I-SSI	24	110	17	63	11
II-SSI	25	96	15	65	17
III-SSI	25	64	11	102	16



Figura 4. Equipo de Rotarod.



Figura 5. Sujeto realizando la evaluación.

6.3 Lesión estereotáxica

La cirugía estereotáxica fue realizada de acuerdo al procedimiento previamente indicado, y acorde a las condiciones experimentales brindadas, inyectando el AQ a los ratones marcados como AQ, y con solución salina a los marcados como SSI.

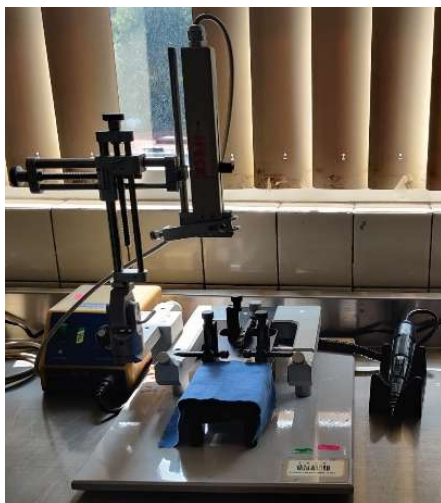


Figura 6. Equipo estereotáxico para roedor. Marca Stoelting.



Figura 7. Sujeto en el proceso quirúrgico.

6.4 Evaluación de rotarod posterior a la cirugía.

Una vez concluida la cirugía, se cede un tiempo para recuperación postquirúrgica, para posteriormente repetir el mismo procedimiento para la evaluación del grado de degradación de la capacidad motora.

Tabla 3 Registro de respuesta a la prueba de rotarod postquirúrgica

Sujeto	Peso (g)	T (seg)	V (rpm)	T+10min (seg)	V +10min (rpm)
I-AQ	23	85	14	111	17
II-AQ	26	121	17	118	18
III-AQ	23	35	8	45	9
I-SSI	24	120	18	135	21
II-SSI	25	106	17	118	18
III-SSI	25	75	13	124	19

g: gramos, rpm: revoluciones por minuto, seg: segundos, AQ: ácido quinolínico, SSI: solución salina inyectable



Figura 8 Prueba de rotarod postquirúrgica, donde se observa la degradación de la capacidad motora

6.5 Prueba de giros ipsilaterales

La prueba de giro, se realizó de acuerdo a el procedimiento previamente explicado en la sección de material y métodos. Los resultados mostrados en esta prueba confirman la correcta ejecución de la cirugía estereotáxica.

Tabla 3 Registro de respuesta a prueba de giros ipsilaterales

sujeto	n° de giros ipsilaterales
I-AQ	2
II-AQ	5
III-AQ	126
I-SSI	0
II-SSI	0
III-SSI	0

AQ: ácido quinolínico, SSI: solución salina inyectable



Figura 9 Prueba de giros ipsilaterales. Imagen representativa.

6.6 Comparación del daño causado por la cirugía estereotáxica y la degradación de la capacidad motora mostrada en la prueba de rotarod

Tabla 4 Comparación entre el daño causado por el AQ y al cambio en la capacidad motora mostrado en la prueba de rotarod

Sujeto	μ T(seg) prequirúrgico	μ V (rpm) prequirúrgico	μ T(seg) postquirúrgico	μ V (rpm) postquirúrgico	N° de giros ipsilaterales
I-AQ	100	16	98	15	2
II-AQ	121	19	119	17	5
III-AQ	120	18	40	8	126
I-SSI	86	14	127	19	0

II-SSI	80	16	112	17	0
III-SSI	83	13	99	16	0

g: gramos, rpm: revoluciones por minuto, seg: segundos, AQ: ácido quinolínico, SSI: solución salina inyectable

7. Discusión

El objetivo de este trabajo fue validar el uso del rotarod en ratones para tener de manera cuantitativa su estado neurológico, manifestado por la coordinación motora, mostrado en un ratón sano (administrado únicamente con SSI) y para compararlo, ratones lesionados con AQ fueron probados también.

Se logró demostrar que la prueba de rotarod es adecuada para valorar el estado de daño y deterioro cerebral de un ratón, en particular al núcleo estriado.

A continuación se brindará una descripción en detalle los logros de este trabajo:

- 1) Se logró validar la prueba de rotarod con sujetos sanos administrados intraestriatalmente con SSI. Demostramos que el método utilizado para la evaluación por rotarod es viable para futuros experimentos donde esta prueba sea requerida.
- 2) Se logró caracterizar la respuesta a la prueba de rotarod en un sujeto lesionado con AQ, objetivo que se logró observando como efectivamente, el daño causado por el AQ, deteriora la capacidad motora del ratón de forma que corresponde directamente el daño causado.

También se hace notar que la falta de condiciones adecuadas para la ejecución no permitió que se realizaran de manera óptima los procedimientos señalados. Los animales asignados para el experimento se encontraban en un rango de peso de 19-25 g, cuando la literatura sugiere el uso de Ratones de 25-30g; por lo que algunos sujetos no tenían ni el peso ni la madurez necesaria para obtener los resultados esperados tras la cirugía estereotáxica, y por el mismo motivo no se mostraron datos claros que expliquen la relación esperada entre los resultados de la pruebas de giros ipsilaterales inducidos por apomorfina y el deterioro de la respuesta motora mostrada en la prueba de rotarod.

7.1 Recomendaciones

Tras la realización de este proyecto se encontraron distintos inconvenientes detallados anteriormente, por lo que se recomienda repetir el experimento con las condiciones adecuadas , de tal forma que el peso y la madurez de los sujetos sea el óptimo para la obtención de los resultados que se esperan, de forma que se confirme la correlación antes mencionada.

7.2 Aporte a la sociedad

El desarrollo de este proyecto permitió generar un método de trabajo que permita realizar experimentos complejos para la comunidad científica futura, de tal forma que los impedimentos actuales pierdan relevancia en el camino hacia una mejoría exponencial tanto en los procesos utilizados como en ellos resultados obtenidos en los experimentos donde este procedimiento sea necesario.

8. Conclusión

La prueba de rotarod permite evaluar los efectos neurológicos de los fármacos al igual que los niveles de fatiga y el rendimiento físico. Por lo tanto, su aplicación se vuelve sumamente útil para la medición de los efectos causados ya sea por una enfermedad o por un medicamento. Particularmente esta prueba brindó información cuantitativa de la función motora y la coordinación en roedores, midiendo el tiempo que el animal permanece en cada etapa de la prueba.

Se logró validar esta información en los ratones de cada grupo evaluado, los lesionados con AQ y los controles administrados intraestriatalmente con SSI. Dejando establecido el uso de este equipo para ejecutar la prueba de coordinación motora en el laboratorio para el protocolo que corresponda.

9. Referencias

Adriana, A. A., del Ángel, A. S., & Fainstein, M. K. (2010). Modelos neurotóxicos de la enfermedad de parkinson y disfunción mitocondrial. *Revista de educación bioquímica*, 29(3), 92-100.

Academia Estadounidense de Medicina Física y Rehabilitación. Encefalopatías metabólicas (<https://www.aapmr.org/about-physiatry/conditions-treatments/rehabilitation-of-central-nervous-system-disorders/metabolic-encephalopathies>)

Bailo, P. S., Martín, E. L., Calmarza, P., Breva, S. M., Gómez, A. B., Giráldez, A. P., Callau, J. J. S., Santamaría, J. M. V., Khialani, A. D., Micó, C. C., Andreu, J. C., Tormo, G. S., & Gallifa, I. F. (2022). Implicación del estrés oxidativo en las enfermedades neurodegenerativas y posibles terapias antioxidantes. *Advances In Laboratory Medicine / Avances En Medicina de Laboratorio*, 3(4), 351-360. <https://doi.org/10.1515/almed-2022-0022>

Carlos, C. C., & Carlos, C. C. (2019). *Especies reactivas del oxígeno: formación, función y estrés oxidativo*. https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1409-00152019000100091

De J Sánchez-Zúñiga, M., Carrillo-Esper, R., Sánchez-Pérez, H., González-Chávez, A., & Elizondo-Argueta, S. (2020). Circuito insulínico cerebral. De las bases a su impacto en la clínica. *Cirugía y Cirujanos*, 88(1). <https://doi.org/10.24875/ciru.18000572>

Fernández, O., Fernández, V. E., & Guerrero, M. (2015). Esclerosis múltiple. *Medicine-Programa de Formación Médica Continuada Acreditado*, 11(77), 4610-4621.

García Céspedes Dayanet, Sánchez Jorge Sara Rocío, Estrada Illana Luis Alberto BASES GENÉTICAS DE LA ENFERMEDAD DE HUNTINGTON Y LA TRANSMISIÓN HEREDITARIA. MECANISMOS MOLECULARES. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA. (2023). Tercer Congreso Virtual de Ciencias Básicas Biomédicas. Recuperado 21 de enero de 2024, de https://digital.csic.es/bitstream/10261/52082/1/2003_Rese%C3%B1a_Berger.pdf

Griffioen, K., Mattson, M. P., & Okun, E. (2018). Deficiency of Toll-like receptors 2, 3 or 4 extends life expectancy in Huntington's disease mice. *Heliyon*, 4(1) <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2018.e00508>

Hanlon, K. E., & Vanderah, T. W. (2010). Constitutive Activity at the Cannabinoid CB1 Receptor and Behavioral Responses. *Methods In Enzymology On CD-ROM/Methods In Enzymology*, 3-30. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-381298-8.00001-0>

Kamal, O. M., Ojeda-Hernández, D. D., Selma-Calvo, B., Benito-Martín, M. S., De la Fuente-Martín, S., García-Martín, M., Larriba-González, T., Sancho-Bielsa, F., Matias-Guiu, J. A., Matias-Guiu, J., & Gómez-Pinedo, U. (2025). Technical Assessment of Motor and Behavioral Tests in Rodent Models of Multiple Sclerosis. *Journal Of Integrative Neuroscience*, 24(2). <https://doi.org/10.31083/jin26429>

Koons, N. (2024, 15 octubre). La excitotoxicidad y su papel en la neurodegeneración inducida por conmociones cerebrales. *Carolina Brain Center | Raleigh, NC*. <https://www.carolinabraincenter.com/es/excitotoxicity-and-its-role-in-concussion-induced-neurodegeneration/#:~:text=Consecuencias%20de%20la%20excitotoxicidad%20en,t%C3%B3xicas%20como%20la%20beta%2Damiloides>

León Regal, Milagros, Cedeño Morales, Raúl, Rivero Morey, Rodolfo, Rivero Morey, Jeisy, García Pérez, Diana, & Bordón González, Leissay. (2018). La teoría del estrés oxidativo como causa directa del envejecimiento celular. *MediSur*, 16(5), 699-710. Recuperado en 18 de marzo de 2025, de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1727-897X2018000500012&lng=es&tlng=es.

Lyman, M., Lloyd, D. G., Ji, X., Vizcaychipi, M. P., & Ma, D. (2014). Neuroinflammation: the role and consequences. *Neuroscience research*, 79, 1-12.

Martínez-Gopar, P, Papel del receptor Toll-like 4 en los procesos de neurodegeneración e inflamación asociados a la enfermedad de Huntington. (2023). [Tesis doctoral]. CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y DE ESTUDIOS AVANZADOS DEL INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL SEDE SUR SEDE SUR DEPARTAMENTO DE FARMACOBIOLOGÍA.

Morales, K. P. C., Elizondo, D. S. P., & Fernández, R. V. (2022). Enfermedad de Parkinson. *Revista Médica Sinergia*, 7(2), 5.

Moreno, B., Espejo, C., Mestre, L., Suardiaz, M., Clemente, D., de Castro, F., ... & Guaza, C. (2012). Guía de uso adecuado de modelos animales para el desarrollo de terapias en esclerosis múltiple. *Rev Neurol*, 54, 114-124.

MUERTE NEURONAL EXCITOTÓXICA: INTERACCIÓN ENTRE LAS RUTAS DE SEÑALIZACIÓN DEL IGF-I y EL GLUTAMATO. (2003). [Disertación de doctorado, UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Departamento de Biología Celular].
<https://digital.csic.es/bitstream/10261/83425/1/Muerte%20neuronal%20excitot%C3%B3xica.pdf>

Nagendran, A., José López, R., Suñol, A., Brocal, J., & Gonçalves, R. (2024). The value of a head turn in neurolocalization. *Journal of veterinary internal medicine*, 38(1), 268–276.
<https://doi.org/10.1111/jvim.16957>

Payno, M., Villanueva, C., & Matías-Guiu, J. (2009). Modelos experimentales de la enfermedad de Alzheimer. *Neurología*, 24(4), 255-262.

Pérez-Rodríguez, M. J., Ibarra-Sánchez, A., Román-Figueroa, A., Pérez-Severiano, F., & González-Espinosa, C. (2020). Mutant huntingtin affects toll-like receptor 4 intracellular trafficking and cytokine production in mast cells. *Journal of Neuroinflammation*, 17(1).
<https://doi.org/10.1186/s12974-020-01758-9>

Rodríguez Pupo, Jorge Michel, Díaz Rojas, YunaViviana, Rojas Rodríguez, Yesenia, Rodríguez Batista, Yordanis, & Núñez Arias, Enriqueta. (2013). Update on Huntington Disease. *Correo Científico Médico*, 17(Supl. 1), 546-557. Recuperado en 10 de abril de 2025, de
http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1560-43812013000500003&lng=es&tng=en.

Romano, M., Nissen, M. D., Del Huerto, N., & Parquet, C. (2007). Enfermedad de alzheimer. *Revista de posgrado de la vía cátedra de medicina*, 75, 9-12.

Teresa, S. S., Lisette, B. L., Rocío, G. M., Esteban, A. A., Iván, D. A., Nancy, P. F., Lourdes, L. P., Elena, G. F. M., Felipe, M. L. J., Lisis, M. M., De los Angeles, R. A. M., & Liliana, F. T. (2011). **ENFERMEDAD DE HUNTINGTON: MODELOS EXPERIMENTALES y PERSPECTIVAS TERAPÉUTICAS.** http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0120-548X2011000100002&script=sci_arttext

Träger, U., André, R., Lahiri, N., Magnusson-Lind, A., Weiss, A., Grueninger, S., McKinnon, C., Sirinathsinghi, E. C., Kahlon, S., Pfister, E. L., Moser, R., Hummerich, H., Antoniou, M., Bates, G. P., Lüthi-Carter, R., Lowdell, M. W., Björkqvist, M., Ostroff, G. R., Aronin, N., & Tabrizi, S. J. (2014). HTT-lowering