

SISTEMA PARA LA EVALUACIÓN DE LA MEMORIA PROCEDIMENTAL Y ASIMETRÍA MOTORA EN UN MODELO EXPERIMENTAL DE PARKINSON EN RATAS Y MÉTODO PARA SU UTILIZACIÓN

RESUMEN

La presente invención, de acuerdo con las características más relevantes, comprende un sistema para evaluar el síndrome dis-ejecutivo y laterilización en animales hemiparkinsonizados. Se provee un sistema con forma de laberinto, en el cual se evalúa el aprendizaje de un animal, principalmente ratas, antes y después de inducirle una lesión unilateral de la *substantia negra* (LES), empleando la neurotoxina 6 OHDA. Se provee un método para su utilización.

CAMPO DE LA INVENCIÓN

La presente invención se relaciona en forma general con dispositivos y métodos para el estudio de síntomas en modelos de roedores, y en forma particular se relaciona con un dispositivo y métodos para estudiar síndrome dis-ejecutivo de roedores con enfermedad de Parkinson.

ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN

La presente invención concierne en particular a un laberinto para estudiar en forma experimental el síndrome dis-ejecutivo de roedores con enfermedad de Parkinson. (el dispositivo es para evaluar ratas, si se fuera a utilizar en ratones habría que hacer adecuaciones de todas las medidas del sistema)

El documento de modelo de utilidad CN 201315790Y (2009) describe un laberinto rectangular en forma de Y, el cual se emplea para fortalecer la memoria de un animal, en una prueba de reflejo condicionado y aplicando un caso particular para

un ratón. El suelo de dicho laberinto contiene elementos electrónicos para detectar el movimiento del animal, sin embargo el sistema de iluminación se describe como aplicado en los extremos del laberinto, sin una disposición especial y no se menciona la incorporación de ruido blanco. Tampoco se describe la aplicación de la invención para diagnosticar síndromes asociados a la enfermedad de Parkinson, más allá de probar el aprendizaje natural o memoria de un animal.

El documento de solicitud de patente FR 2980667 A1 (2013) describe un laberinto conformado por una multiplicidad de cámaras conectadas entre sí, incorporando medios para permitir la entrada y la salida del animal. Sin embargo, en estas pruebas hay múltiples grados de libertad para el animal de estudio, dado que cada cámara conecta en forma adyacente a 2 o 3 cámaras más. En la parte superior se registra en video el comportamiento cinético del animal y no se hace mención a mecanismos de inducción del movimiento en forma sistemática, como por ejemplo ruido o iluminación. No se menciona si la disposición de elementos sirve para evaluar un síndrome dis-ejecutivo.

Por su parte el documento de solicitud de patente CN 102687676 A (2012) da a conocer un laberinto basado en la identificación de color y un método de experimentación aplicado en roedores. El laberinto basado en el color comprende una plataforma provista de una tablilla transparente para dividir la plataforma, las diferentes entradas se distinguen por el uso de al menos dos colores diferentes. Allí se pueden evaluar ciertos aspectos asociados a la memoria, sin embargo al ser estáticos los colores del laberinto, se podría pensar que los resultados no permiten evaluar diferentes variables asociadas a la asimetría motora, y la memoria procedimental en modelos experimentales de enfermedad de Parkinson que plantea evaluar la presente invención. Además no se mencionan los impulsos para el proceso de aprendizaje del roedor.

DESCRIPCIÓN BREVE DE LAS FIGURAS

Figura 1. Muestra el sistema de la presente invención con su disposición espacial.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

La memoria procedimental corresponde a habilidades y destrezas automatizadas con un fuerte componente motor, y se adquieren a través de la práctica reiterada y también por condicionamiento (Bermeosolo, 2012). El conocimiento de cómo podemos realizar diferentes actividades, tales como conducir un automóvil o hacer un lazo preciso es almacenado como resultado de la experiencia del condicionamiento experimental o memoria procedimental (Arreguín-González, 2013).

El envejecimiento cerebral, las lesiones traumáticas, la demencia frontotemporal y la enfermedad de Parkinson (EP), son eventos y patología que se caracteriza por Síndrome Dis-Ejecutivo (Mujica-Alfonzo, 2010; Kehagia et al., 2013), que se puede resumir en un déficit cognitivo de establecimiento de un patrón de ejecución adecuado que va desde definición de los objetivos a cumplir, la programación o planificación de actividades, secuencias de acciones, autoevaluación, que puede conducir a una repetición constante y automatización o una modificación de decisiones que conlleve a nuevos planes. Estos síntomas están relacionados con la disfunción del lóbulo temporal y son una manifestación del deterioro de la memoria procedimental.

Los modelos experimentales y especialmente en la EP han sido muy útiles, no sólo para entender mejor la patología o eventos neurológicos y sus síntomas, sino que han sido cruciales para el desarrollo de terapias celulares y génicas (Luquin, 2000), sin embargo pocas veces se explora en ellos el deterioro de la memoria procedimental, en parte porque no hay pruebas suficientes implementadas para su evaluación. El objetivo fundamental de la presente invención

consistió en crear un dispositivo y un método para evaluar una nueva prueba "Turner Maze" que permitiera evaluar la asimetría motora, y la memoria procedimental en modelos experimentales de enfermedad de Parkinson, de forma clara, ágil y con parámetros bioéticos.

La presente invención, de acuerdo con las características más relevantes, comprende un sistema para evaluar el síndrome dis-ejecutivo y laterilización en animales hemiparkinsonizados, el cual incluye un primer compartimiento rectangular (1), cerrado, con una puerta de entrada de un solo sentido, una fuente emisora de ondas acústicas en su interior (7), y al menos una fuente emisora de ondas luminosas, y que comprende además dos aberturas de igual área en una de sus caras para la salida del animal.

El invento incorpora un segundo compartimiento rectangular (2) (5), cerrado, con una superficie o pared que lo divide en dos secciones iguales, cada una provista con una fuente emisora de ondas luminosas en el techo para inducir el movimiento del animal, así como una puerta abatible hacia adelante sin retroceso para la entrada y una abertura que comprende una puerta abatible hacia adelante sin retroceso para la salida del animal.

Al salir del segundo compartimiento, el invento provee un tercer compartimiento rectangular (3), cerrado, con dos puertas abatible hacia adelante sin retroceso, que comprende dos aberturas de igual área en una de sus caras para la salida del animal. Por último se incorpora un cuarto compartimiento rectangular (4) (6), cerrado, con una superficie que lo divide en dos secciones iguales, cada una con una puerta abatible hacia adelante sin retroceso para la entrada del animal. En donde los compartimientos están conectados secuencialmente entre sí.

Para efectos de la presente invención, una puerta abatible hacia adelante en una puerta de un solo sentido, de fácil apertura por un animal y la cual se cierra al paso para evitar el retroceso del mismo.

En un aspecto adicional de la presente invención, el primer compartimiento rectangular posee una fuente emisora de ondas acústicas para inducir el paso del animal por el sistema, generando una ello un sonido blanco. Los animales evitan este tipo de sonidos según estudios previos, lo que permite lograr la dinámica del mismo por todo el sistema. Dicho sonido blanco puede lograrse mediante parlantes alámbricos y inalámbricos que emitan las frecuencias características de un sonido blanco.

Para efectos de la presente invención el ruido blanco o sonido blanco es una señal acústica aleatoria que se caracteriza por el hecho de que sus valores de señal en dos tiempos diferentes no guardan correlación estadística.

En otro aspecto de la presente invención, la fuente emisora de ondas luminosas se puede proveer mediante una luz fría generada por diodos emisores de luz o luces LED. Esta forma de iluminación es intensa para los animales, especialmente roedores, e induce en ellos repulsión con movimiento, dado que son animales nocturnos y no le gustan los campos abiertos e iluminados.

En otro aspecto, la presente invención se caracteriza porque la superficie inferior del laberinto está elaborada en un material que permita registrar el movimiento del roedor para estudiar su comportamiento cinético: desplazamiento, velocidad y aceleración durante el paso por el mismo. Para lograrlo se puede proveer un material que permita la visualización del animal, por lo que prefieren polímeros translucidos como el acrílico o cerámicos como el vidrio. Adicionalmente, se pueden emplear otras técnicas como la incorporación de polímeros con memoria de forma o polímeros conductores los cuales cambian sus propiedades mecánicas al paso del animal por el laberinto. Frente a los últimos desarrollos en tecnologías táctiles y para transmitir información en forma inalámbrica, se pueden emplear también polímeros que incorporan óxido de indio y estaño, óxido de estaño dopado con flúor, óxido de zinc dopado, cerámicos que incorporan piezoeléctricos. Estos permitirían generar gráficos en tiempo real de las pisadas del roedor así

como registrar paralelamente el tiempo de cada pisada para correlacionar la velocidad y la aceleración.

En una versión preferida de la presente invención se emplean roedores para evaluar el síndrome dis-ejecutivo y lateralización en animales hemiparkinsonizados, a manera de caso de estudio.

En otro aspecto de la presente invención, se provee un método para evaluar el síndrome dis-ejecutivo y lateralización en animales hemiparkinsonizados. Dicho método comprende, en su forma más general:

1. Tomar un sistema como el descrito previamente e insertar en el primer compartimiento rectangular un roedor.
2. Hacer transitar repetidamente el roedor por el sistema mediante la activación de la fuente emisora de ondas acústicas hasta que el tiempo de latencia de escape sea constante.
3. Limpiar el sistema después de cada ensayo con un solvente orgánico. Esto para evitar que el roedor siga un patrón de olores previos del roedor que estuvo en la prueba anterior.
4. Inducir en el roedor una lesión unilateral de 60HDA en la sustancia nigra.
5. Hacer transitar repetidamente el roedor lesionado por el sistema mediante la activación de la fuente emisora de ondas acústicas hasta que el tiempo de latencia de escape sea constante. Lo que evidencia aprendizaje.
6. Registrar el patrón de movimiento del roedor al transitar por el sistema.

Para efectos de la presente invención, el tiempo de latencia es el tiempo que tarda el roedor en entrar al sistema y llegar al compartimiento meta. En la presente invención dicho tiempo no es un valor constante sino un rango de tiempo constante.

Para efectos de la presente invención la sustancia nigra se encuentra en el mesencéfalo (entre los pedúnculos cerebrales y el tegmento) y tiene dos zonas. Una zona pálida ventral, la *pars reticulata* (o zona reticular) (SNpr) y una zona pigmentada dorsal, la *pars compacta* (o zona compacta) (SNpc), que contiene las

neuronas dopaminérgicas, cuyos cuerpos celulares contienen la neuromelanina. Este pigmento oscuro, un polímero derivado de la dopamina, es el que da su nombre. La 6-hidroxidopamina (6-OHDA) es un análogo hidroxilado del neurotransmisor dopamina, esta es la neurotoxina más ampliamente utilizada en el desarrollo de modelos experimentales de enfermedad de Parkinson en roedores, cuando es administrada en el haz nigroestriado induce una lesión selectiva de las neuronas dopaminérgicas de la sustancia nigra.

.En una versión preferida del invento, el solvente orgánico empleado para la limpieza del sistema es alcohol etílico en solución acuosa.

Ejemplo de realización

Para la evaluación del “Turner Maze”, se realizó la construcción un laberinto con las siguientes dimensiones: largo de 125 cm, ancho de 12 cm y alto de 6 cm. La longitud de paso en el primer compartimiento fue de 25 cm, en el segundo de 50 cm, para el tercer y cuarto de 25 cm cada uno. Para la evaluación del laberinto se utilizaron 15 animales, los que fueron entrenados en el laberinto durante 5 días hasta alcanzar el criterio de aprendizaje (Fase De Adquisición). Después del entrenamiento de adquisición los animales fueron distribuidos aleatoriamente en dos grupos: 5 animales para controles intactos (INT) y 10 animales con lesión unilateral de la *sustancia nigra* (LES), inducido con la neurotoxina 6 OHDA (específica para catecolaminas). Quince días después de la lesión los animales fueron evaluados nuevamente utilizando el mismo paradigma experimental (Fase Reiteración) donde se validó que el laberinto diseñado tiene la capacidad de evaluar el síndrome dis-ejecutivo y laterilización, en animales hemiparkinsonizados.

REIVINDICACIONES

- 2) Un sistema para evaluar el síndrome dis-ejecutivo y laterilización en animales hemiparkinsonizados, caracterizado porque comprende:
 - a) Un primer compartimiento rectangular, cerrado, con una puerta de entrada de un solo sentido, una fuente emisora de ondas acústicas en su interior, y al menos una fuente emisora de ondas luminosas, y que comprende además dos aberturas de igual área en una de sus caras para la salida del animal;
 - b) Un segundo compartimiento rectangular, cerrado, con una superficie que lo divide en dos secciones iguales, cada una provista con una fuente emisora de ondas luminosas en el techo, una puerta abatible hacia adelante sin retroceso para la entrada y una abertura que comprende una puerta abatible hacia adelante sin retroceso para la salida del animal;
 - c) Un tercer compartimiento rectangular, cerrado, con dos puertas abatible hacia adelante sin retroceso, que comprende dos aberturas de igual área en una de sus caras para la salida del animal;
 - d) Un cuarto compartimiento rectangular, cerrado, con una superficie que lo divide en dos secciones iguales, cada una con una puerta abatible hacia adelante sin retroceso para la entrada del animal.

En donde los compartimientos están conectados secuencialmente entre sí.
- 3) El primer compartimiento rectangular de la reivindicación 1, en donde la fuente emisora de ondas acústicas produce un sonido blanco y se selecciona del grupo que comprende: parlantes alámbricos y parlantes inalámbricos.
- 4) La fuente emisora de ondas luminosas según la reivindicación 1, caracterizada porque comprende una luz fría generada por diodos emisores de luz.
- 5) El sistema según la reivindicación 1, caracterizado porque la superficie inferior está elaborada de un material que se selecciona de grupo que comprende: polímeros translucidos, polímeros con memoria de forma, polímeros conductores, polímeros que incorporan óxido de indio y estaño, óxido de

estaño dopado con flúor, óxido de zinc dopado, cerámicos que incorporan piezoeléctricos.

- 6) Un método para evaluar el síndrome dis-ejecutivo y laterilización en animales hemiparkinsonizados, caracterizado porque comprende siguientes pasos:
 - a) Tomar un sistema como el descrito en la reivindicación 1 e insertar en el primer compartimiento rectangular un roedor;
 - b) Hacer transitar repetidamente el roedor por el sistema descrito en la reivindicación 1 mediante la activación de una fuente emisora de ondas acústicas hasta que el tiempo de latencia de escape sea constante;
 - c) Limpiar el sistema después de cada ensayo con un solvente orgánico;
 - d) Inducir en el roedor una lesión unilateral de 60HDA en la sustancia nigra;
 - e) Hacer transitar repetidamente el roedor lesionado por el sistema descrito en la reivindicación 1 mediante la activación de una fuente emisora de ondas acústicas hasta que el tiempo de latencia de escape sea constante;
 - f) Registrar el patrón de movimiento del roedor al transitar por el sistema descrito en la reivindicación 1;

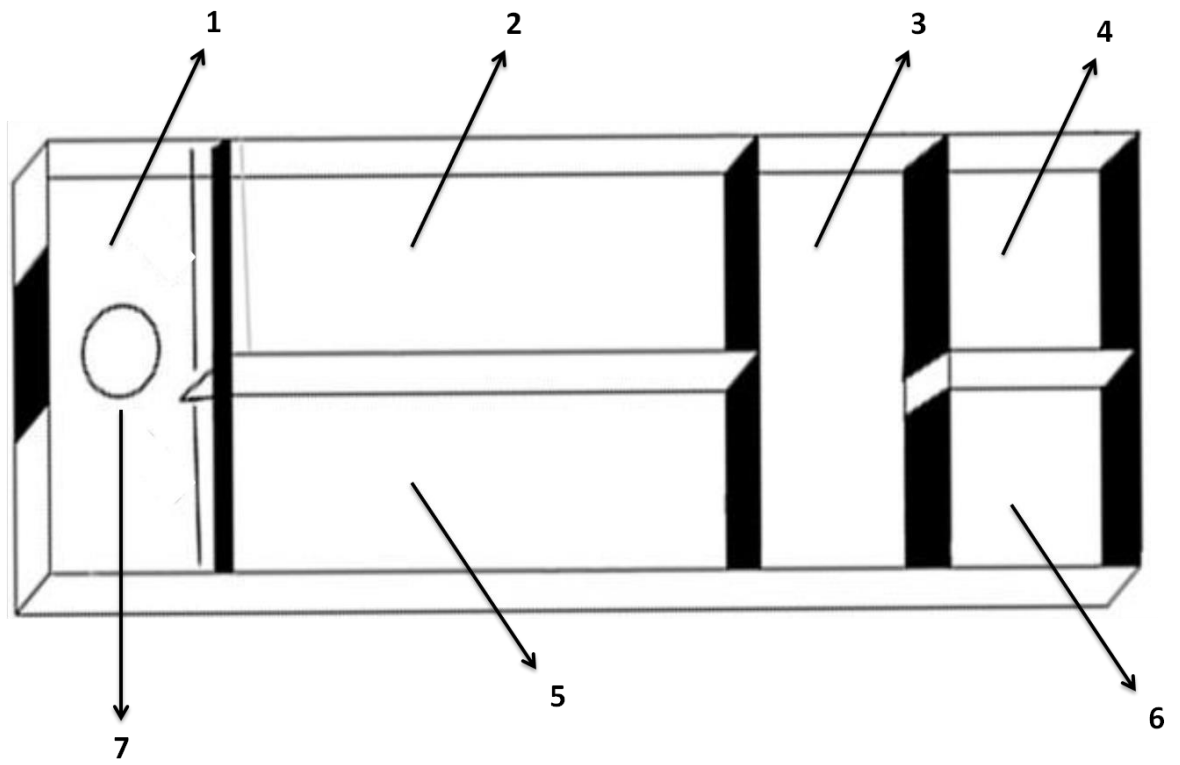


Figura 1