



## Obtención de modelos de demencia en cepas de ratones y su aplicación en el desarrollo de nuevos fármacos

Yenela García Hernández <sup>1\*</sup> <https://orcid.org/0000-0002-4575-8275>  
Nashelly Esquivel Crespo <sup>1</sup> <https://orcid.org/0000-0002-5444-0007>  
Claudio Rodríguez Martínez <sup>1</sup> <https://orcid.org/0000-0003-4235-2103>  
Alain Morejón Calderón <sup>1</sup> <https://orcid.org/0000-0002-2233-1922>  
Yordanka Vargas Caballero <sup>2</sup> <https://orcid.org/0000-0002-6440-3234>  
Roberto Menéndez Soto del Valle <sup>3</sup> <https://orcid.org/0000-0001-8917-1065>  
Teidy Eloisa García Jiménez <sup>3</sup> <https://orcid.org/0000-0003-1059-962X>

<sup>1</sup> Centro Nacional de Biopreparados. Mayabeque, Cuba

<sup>2</sup> Centro Nacional para la Producción de Animales de Laboratorio. La Habana, Cuba

<sup>3</sup> Centro de Neurociencias de Cuba. La Habana, Cuba

\*Autor para la correspondencia: [yenela@biocen.cu](mailto:yenela@biocen.cu)

### RESUMEN

**Introducción:** La demencia es un síndrome clínico que involucra el deterioro de varias funciones cognitivas. **Objetivo:** Obtener modelos de demencia en animales con cepas de ratones producidas en Centro Nacional para la Producción de Animales de Laboratorio y demostrar su utilidad en el desarrollo de una formulación para su tratamiento. **Métodos:** Se evaluaron animales jóvenes de las cepas OF1<sub>cenp</sub> y C57BL/6<sub>cenp</sub> con 3 compuestos que se administraron intracerebroventricular para obtener un modelo de demencia tipo Alzheimer. Además, se realizó la caracterización neuroconductual, hematológica, bioquímica e histológica de las cepas BALB/c<sub>cenp</sub>, OF1<sub>cenp</sub> y C57/BL/6<sub>cenp</sub> envejecidas como modelo de demencia. Estos modelos se evaluaron en el desarrollo del nuevo fármaco de origen biológico Biocen-128. **Resultados:** La cepa OF1<sub>cenp</sub> respondió mejor que la C57BL/6<sub>cenp</sub> al modelo de Alzheimer por administración de estreptozotocina y en ese modelo se demostró el efecto antineuroinflamatorio de la formulación BioCen-128. En las 3 cepas de ratones envejecidos se presentó deterioro en la función cognitiva, en los ratones BALB/c<sub>cenp</sub> y OF1<sub>cenp</sub> se encontró un aumento del daño oxidativo; y en BALB/c<sub>cenp</sub> y C57BL/6<sub>cenp</sub> ocurrió una disminución del peso del timo. Además, el peso del cerebro disminuyó en las 3 cepas estudiadas. Se obtuvo un aumento de polimorfos nucleares y una disminución de linfocitos en los ratones C57BL/6<sub>cenp</sub>. En las cepas BALB/c<sub>cenp</sub> y C57BL/6<sub>cenp</sub> se demostró el efecto positivo de BioCen-128 respecto a parámetros conductuales, hematológicos y bioquímicos. **Conclusiones:** Los ratones machos de la cepa OF1<sub>cenp</sub> [(15-16) meses] y BALB/c<sub>cenp</sub> [(12-13) meses] y hembras de la cepa C57BL/6<sub>cenp</sub> [(15-16) meses] pueden ser utilizados como modelo de demencia. Los modelos de demencia desarrollados fueron validados con la aplicación de BioCen-128 ya que se modificaron marcadores característicos de la demencia tipo Alzheimer.

**Palabras clave:** pruebas conductuales; función cognitiva; demencia tipo Alzheimer

### Editor

Lisset González Navarro  
Academia de Ciencias de Cuba.  
La Habana, Cuba

### Traductor

Darwin A. Arduengo García  
Academia de Ciencias de Cuba.  
La Habana, Cuba

# Obtaining models of dementia in mouse strains and their application in the development of new drugs

## ABSTRACT

**Introduction:** Dementia is a clinical syndrome that involves the decline of various cognitive functions. **Objective:** To obtain animal models of dementia with mice strains produced in Centro para la producción de animales de laboratorio and to demonstrate its usefulness in the development of a formulation for its treatment. **Methods:** Young animals of the strains OF1<sub>cenp</sub> and C57BL/6<sub>cenp</sub> were evaluated with three compounds that were administered intracerebroventricularly to obtain an Alzheimer-type dementia model. In addition, it was carried out the neurobehavioral, hematological, biochemical and histological characterization of the strains BALB/c<sub>cenp</sub>, OF1<sub>cenp</sub> and C57BL/6<sub>cenp</sub> of aged mice as a model of dementia. These models were evaluated for the development of the new biologic drug Biocen-128. **Results:** OF1<sub>cenp</sub> strain responded better than the C57BL/6<sub>cenp</sub> to the Alzheimer's model by administration of streptozotocin and in this model, the anti-neuroinflammatory effect of the BioCen-128 formulation was demonstrated. In the three strains of aged mice there was observed deterioration in cognitive function, in BALB/c<sub>cenp</sub> and OF1<sub>cenp</sub> mice an increase in oxidative damage was found; and in BALB/c<sub>cenp</sub> and C57BL/6<sub>cenp</sub> there was a decrease in thymus weight. In addition, brain weight decreased in all three strains studied. An increase in nuclear polymorphs and a decrease in lymphocytes were observed in C57BL/6<sub>cenp</sub> mice. In the BALB/c<sub>cenp</sub> and C57BL/6<sub>cenp</sub> strains, the positive effect of BioCen-128 was demonstrated with respect to behavioral, hematological and biochemical parameters. **Conclusions:** Male mice of the strain OF1<sub>cenp</sub> (15-16 months) and BALB/c<sub>cenp</sub> (12-13 months) and females of the strain C57BL/6<sub>cenp</sub> (15-16 months), can be used as a model of dementia. The dementia models developed were validated with the application of BioCen-128 since characteristic markers of Alzheimer's dementia were modified.

**Keywords:** behavioral tests; cognitive function; Alzheimer's dementia

## INTRODUCCIÓN

La demencia es un síndrome que involucra el deterioro de funciones cognitivas como la memoria, el lenguaje, el pensamiento, la atención y el cálculo. <sup>(1)</sup> El deterioro de estas funciones es la expresión de la modificación hematológica, bioquímica e histológica que ocurre en el organismo con mayor énfasis en el sistema nervioso central. El riesgo de padecer demencia aumenta con el envejecimiento. La Organización Mundial de la Salud calcula que en el mundo entre un 5 % y un 8 % de la población mayor de 60 años presenta diagnósticos de demencia. <sup>(2)</sup> Actualmente en Cuba se estima que existen de 160 mil a 170 mil personas afectadas, y esa cifra pudiera ascender a 421 mil para 2050. <sup>(3,4)</sup> La enfermedad de Alzheimer (EA) es el tipo más común de demencia. <sup>(2)</sup>

Existe una gran variedad de modelos animales de demencia, clasificados en función del mecanismo por el que éste se produce. <sup>(5)</sup> Estos modelos se agrupan en 3 tipos fundamentales: modificados genéticamente, inducidos por acción farma-

cológica o naturalmente envejecidos. <sup>(6)</sup> En el grupo de modelos que se obtienen por inducción con sustancias químicas, uno de los más utilizados es el de la administración intracerebroventricular (i.c.v.) de estreptozotocina (ETZ), el cual es considerado un modelo clásico de neuroinflamación, elemento patológico que se ha descrito en la mayoría de las demencias. <sup>(7)</sup>

Durante la fase no clínica del desarrollo de productos para el tratamiento de las enfermedades demenciales, un requisito indispensable es la aplicación de pruebas conductuales que demuestren la mejoría en modelos donde se presenten síntomas. <sup>(8)</sup> Entre las pruebas más utilizadas están las que miden memoria espacial como la del Laberinto acuático de Morris (LAM), las de aprendizaje asociativo como la prueba de evitación pasiva y las que miden memoria no espacial como la de reconocimiento de objetos. <sup>(9)</sup>

En Cuba el CENPALAB ha desarrollado varias cepas de ratones que se pueden utilizar en este tipo de investigación (ratones<sub>cenp</sub>). Se conoce que no todas las cepas responden a una determinada prueba conductual, así como que una respuesta satisfactoria se puede obtener bajo diferentes condiciones.

(8,10,11,12) Además, la edad de los animales influye en la respuesta a estas pruebas. (13,14) Sin embargo no se tienen reportes de que estos aspectos hayan sido estudiados a profundidad en Cuba, lo cual serviría de base metodológica para los estudios relacionados con el desarrollo de modelos animales de demencia. El objetivo de este trabajo es obtener modelos animales de demencia con cepas de ratones y validación de su empleo para el desarrollo de una formulación dirigida al tratamiento de la demencia tipo Alzheimer.

## MÉTODOS

Los estudios experimentales en modelos animales que se describen a continuación fueron realizados en las instalaciones del vivario del Centro Nacional de Biopreparados (BioCen), provincia de Mayabeque, Cuba. Estos experimentos fueron ejecutados en el periodo comprendido entre los años 2017 y 2021. Los aditamentos utilizados para la evaluación conductual y la administración i.c.v. a los animales fueron fabricados en BioCen con materiales recuperados u ociosos, a partir de referencias comerciales. Todos los reactivos utilizados en este trabajo fueron suministrados por Sigma-Aldrich-Merck (Alemania). Mientras que los animales y el alimento para su mantenimiento durante el periodo experimental, fueron suministrados por el Centro Nacional para la Producción de Animales de Laboratorio (CENPALAB), provincia de La Habana, Cuba. Los animales fueron ubicados en cajas de polipropileno, con encamado de viruta de madera (*Sournid*). Se mantuvieron en una sala convencional con ambiente controlado e iluminación de 12 h luz y 12 h oscuridad. Se utilizó la dieta EA01004<sub>cenp</sub> para roedores *ad libitum* y agua potable.

### Obtención y validación de modelos animales de demencia por administración intracerebroventricular de estreptozotocina

Se utilizaron 40 ratones OF1<sub>cenp</sub> y 30 C57BL/6<sub>cenp</sub> machos de (2-3) meses de edad que fueron distribuidos en 4 grupos y previamente anestesiados con ketamina por vía intraperitoneal (i.p.). La administración i.c.v. se realizó con un aditamento construido en BioCen, bilateralmente a todos los animales el mismo día. Se administró con líquido cefalorraquídeo artificial (LCRA) un grupo control por cada cepa y uno en cada caso con ETZ a la dosis de 1,5 mg/kg. Después de (15 y 21) días de la administración los animales se pesaron y se les aplicó la prueba de evitación pasiva. (15)

Con la cepa que mostró mejor resultado se conformaron 3 grupos que se trataron con BioCen-128. Los grupos GIII y GIV vía i.p. cada 3 días a las dosis de 10 mg/kg y 5 mg/kg respectivamente y el grupo GV por vía intranasal (i.n.) diariamente a la dosis de 1mg/kg. La evaluación de la respuesta se

realizó con las pruebas de evitación pasiva y del laberinto en Y con el brazo cerrado que se aplicaron siguiendo el procedimiento descrito por Esquivel *et al.* (2022a). (15)

BioCen-128: es un ingrediente farmacéutico activo preparado a una concentración de 1,7 mg/mL de proteínas totales, disuelto en solución de NaCl al 0,9 %. Es un extracto purificado de timo bovino que contiene timosina alfa 1 (Ta1) y  $\beta$ 4 (Tb4) como componentes principales. El extracto también contiene ubiquitina y otras proteínas de menor peso molecular, derivadas del timo, involucradas en la modulación del sistema inmunológico, en la sinapsis y plasticidad neuronal. (15,16)

### Obtención y validación de modelos animales de demencia a partir de animales naturalmente envejecidos

#### Experimento 1

Evaluación de ratones de la cepa BALB/c<sub>cenp</sub>: Se utilizaron 120 ratones machos de (2-3) meses de edad. Cuando los animales tuvieron (4-5) meses de edad, se seleccionaron 10 para conformar el grupo control. Luego se seleccionaron grupos de 10 animales cada 4 meses hasta que el animal presentara deterioro cognitivo. Se determinó el porcentaje de supervivencia, el peso corporal y se evaluó la función cognitiva mediante las pruebas del laberinto en Y con los 3 brazos abiertos y la de reconocimiento de objetos. (17)

Se realizaron determinaciones bioquímicas y se calculó en muestras de sangre el porcentaje de polimorfonucleares (PMN) y de linfocitos. Los animales se sacrificaron y se extrajo el cerebro, timo, bazo, riñones y pulmones para analizar su peso. Se realizaron análisis histológicos con tinciones de hematoxilina y eosina a la edad de (16-17) meses con un microscopio óptico (Meiji Techno, Japón). Se obtuvieron homogenizados de cerebro según el método descrito por Uwe y Von Hagen (2009) (18) para medir el daño oxidativo a proteínas. (19,20)

Para validar la utilidad de este modelo se realizó la evaluación de BioCen-128 vía i.n. Se conformaron 4 grupos, 3 con animales envejecidos y 1 de animales jóvenes (G1). G1 y 1 de los grupos de animales envejecidos (G2) recibieron NaCl al 0,9 % (placebo). Mientras que los restantes grupos recibieron BioCen-128, vía i.n. a la dosis de 1,5 mg/kg, con una frecuencia diaria durante 6 ó 10 semanas (G3 y G4).

Evaluación de la respuesta al tratamiento: Se realizó diariamente la inspección visual de los animales para detectar síntomas de toxicidad. Al concluir las primeras 6 semanas de tratamiento, se aplicó a los grupos G1 al G3 la prueba del laberinto en Y; y al término de las 10 semanas se aplicó la prueba de reconocimiento de objetos. (17) Previo al sacrificio se colectaron muestras de sangre del plexo retroorbital que se utiliza-

ron para las determinaciones hematológicas. Posteriormente los animales fueron sacrificados por dislocación cervical y en 5 animales de cada grupo se procedió a la extracción y pesada de los órganos cerebro, pulmones y riñones.

## Experimento 2

Evaluación de ratones de la cepa OF1<sub>cenp</sub>: Se utilizaron ratones machos jóvenes (2-3 meses, n = 30), de mediana edad (7-8 meses n = 30) y envejecidos (15-16 meses, n = 30). Se midió el peso corporal del cerebro e hígado, y se evaluó la función cognitiva. Las pruebas de reconocimiento de objetos y el laberinto en Y con los 3 brazos abiertos se ejecutaron como se describió en el experimento anterior.<sup>(17)</sup> Se aplicó la prueba del LAM siguiendo la metodología descrita por Esquivel *et al.* (2022b).<sup>(21)</sup> En 10 animales de cada grupo se colectó sangre por el plexo retrorbital y en la muestra se midió la concentración de triglicéridos, colesterol y glucosa (HELFA Diagnostic, Cuba). Los animales se sacrificaron y se extrajo el cerebro para determinar la capacidad antioxidante total por el juego de reactivos RANDOX (Reino Unido) y daño oxidativo a lípidos y proteínas.<sup>(19,20)</sup>

## Experimento 3

Evaluación de ratones de la cepa C57BL/6<sub>cenp</sub>: Se emplearon 20 ratones hembras de (3-4) meses de edad y 20 de (15-16) meses de edad. Se midió el peso corporal y se evaluó la función cognitiva por la aplicación de las pruebas de evitación pasiva, laberinto en Y con 3 brazos abiertos y LAM. Estas pruebas se ejecutaron siguiendo los procedimientos descritos por Esquivel *et al.* (2021).<sup>(22)</sup>

Se utilizaron 10 ratones de cada grupo y se colectó sangre para realizar las determinaciones de PMN, linfocitos, triglicéridos y glucosa (HELFA diagnostic, Cuba). Los animales se sacrificaron y se extrajeron los órganos cerebro, timo, bazo, hígado, riñones y pulmones para determinar su peso. Estos órganos, excepto el timo, se fijaron y se destinaron a análisis histológicos por tinción de hematoxilina y eosina con un microscopio Meiji Techno (Japón). En otro grupo de animales se extrajo el cerebro con el cual se preparó el homogenado. En este se determinaron la actividad de las enzimas superóxido dismutasa (SOD) y glutatión peroxidasa (GPx) según los Kit RANDOX (Reino Unido). Con las muestras obtenidas se realizaron Kit de Elisa para la cuantificación de timosina  $\alpha 1$  (Ta1) (*Immundiagnostik AG*, Alemania) y de Interleuquina 1-Beta (IL-1 $\beta$ ) (*Biovendor*, República Checa).

En los animales envejecidos donde se verificó la presencia de deterioro cognitivo y otros parámetros que permiten utilizarlo como modelo de demencia, se administró BioCen-128 para validar el modelo obtenido. Los ratones fueron agrupados en 6 grupos (G3 y G6 recibieron BioCen-128). De ellos 3 recibieron tratamiento por vía i.n. y 3 por vía i.p., a la

frecuencia de 2 veces por semana. G1 y G2 fueron controles jóvenes y envejecidos respectivamente de la vía i.n. y G4 y G5 de la vía i.p. Cuando concluyó el tratamiento, se aplicó la prueba del laberinto en Y; y la prueba de evitación pasiva.<sup>(17)</sup> Los animales fueron desangrados por el plexo retrorbital y se obtuvo el suero para la cuantificación de glucosa y triglicéridos (HELFA Diagnostic, Cuba).

## Análisis estadístico

Se utilizó el *software* GraphPad 5.0 (Estados Unidos). Se aplicó la prueba t de Student's para comparar 2 grupos o se realizó un análisis de varianza (ANOVA) de una sola vía al comparar la misma variable en varios grupos. En este último caso si se encontraron diferencias se realizó la prueba a *posteriori* de Tukey. Se consideraron diferencias significativas para  $p < 0,05$ . Los protocolos fueron aprobados por el Comité Institucional de Ética para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio de BioCen.

## RESULTADOS

### Obtención de modelos animales de demencia por inducción con estreptozotocina

Los ratones OF1<sub>cenp</sub> cumplieron con el criterio de eficacia establecido para la cantidad de animales que desarrollaron deficiencia cognitiva ( $\geq 75$  %) con un 85 % después de 15 días de la administración de ETZ, mientras que en los ratones C57BL/6<sub>cenp</sub> solo el 60 % de los animales desarrollaron deficiencia cognitiva a los 21 días. La evaluación del déficit cognitivo por la prueba de evitación pasiva en ambas cepas demostró que la latencia de escape fue significativamente menor en el grupo de ETZ que en el placebo (figura 1).

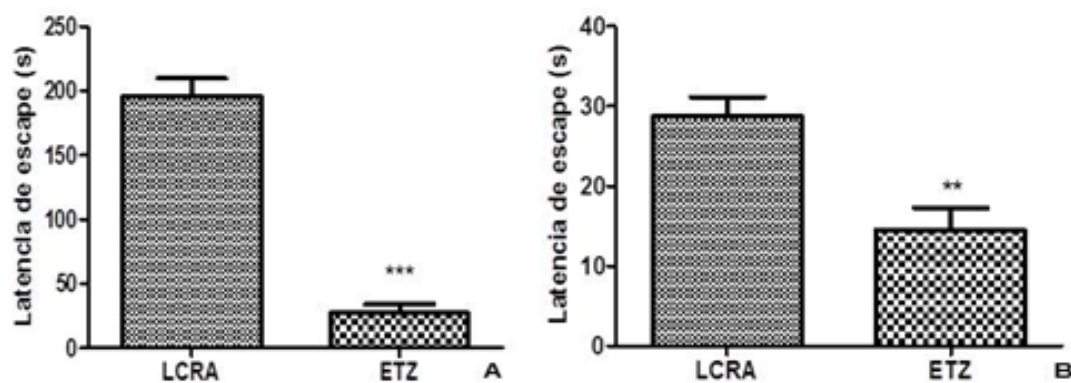
Se verificó la reproducibilidad del modelo de demencia por la administración i.c.v. de ETZ en ratones OF1<sub>cenp</sub>. Después del tratamiento con BioCen-128, solo el grupo que recibió la dosis de 10 mg/kg por vía i.p. no mostró diferencias significativas en relación a los controles respecto al periodo de latencia (figura 2 A). En el caso del laberinto en Y con el brazo cerrado, tanto el grupo al que se administró BioCen-128 por vía i.p. (10 mg/kg), como el grupo que recibió esta formulación i.n. mostraron una mejoría en la función cognitiva. En estos casos, el tiempo de permanencia en el brazo bloqueado (C) fue significativamente mayor que en los otros 2 (A y B) (figura 2 B).<sup>(15)</sup>

### Obtención y validación de modelos animales de demencia a partir de animales naturalmente envejecidos

#### Experimento 1

Evaluación de ratones de la cepa BALB/c<sub>cenp</sub>: La sumatoria de las muertes naturales (8,33 %) y de sacrificios (42,50 %) repre-





**Fig. 1.** Prueba de evitación pasiva. (A) Ratones OF1<sub>cenp</sub> machos después de 15 d de la administración i.c.v. (B) Ratones C57BL/6<sub>cenp</sub> machos después de 21d de la administración i.c.v. \* Representa diferencias significativas para cada grupo respecto al placebo (LCRA) ( $p < 0,05$ ).

sentaron una supervivencia real de 50,83 %. Cuando los ratones tenían (8-9) meses de edad la agresividad alcanzó las mayores dimensiones. El peso corporal de los ratones fue significativamente mayor a partir de los (8-9) hasta los (16-17) meses de edad. <sup>(23)</sup>

En la prueba del laberinto en Y se obtuvo una disminución significativa del porcentaje de alternación en los animales a partir de (12-13) meses de edad (figura 3 A). El índice de preferencia (IP) por el objeto nuevo (ON) en la prueba de reconocimiento de objetos fue menor a los (12-13) meses y no mostró diferencias significativas respecto al objeto familiar (OF) a la edad de (16-17) meses (figura 3 B). <sup>(23)</sup> Se obtuvo un aumento significativo en la población de PMN desde los (8-9) meses de edad, mientras que los linfocitos disminuyeron significativamente (figura 3 C). El peso del timo y del cerebro disminuyó (figura 3 D-E) y el del bazo, riñones y pulmones aumentó significativamente hasta la edad de (16-17) meses. Se demostró un aumento del daño oxidativo a las proteínas en el homogenado de cerebro a partir de la edad de (8-9) meses (figura 3 F). A la edad de (16-17) meses se observaron lesiones tumorales en los pulmones (figura 3 G) y una degeneración glomerular en riñones (figura 3H). <sup>(23)</sup>

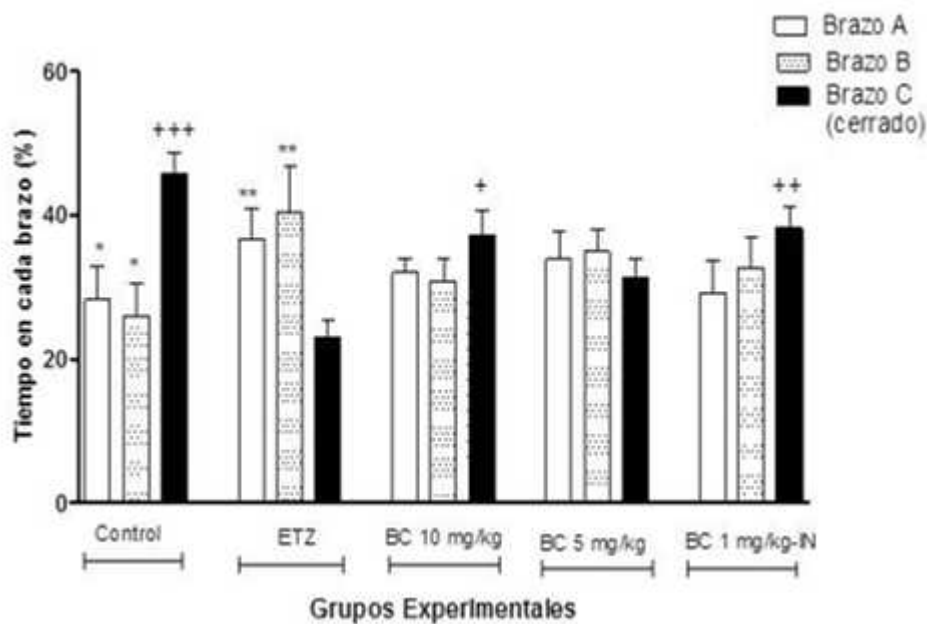
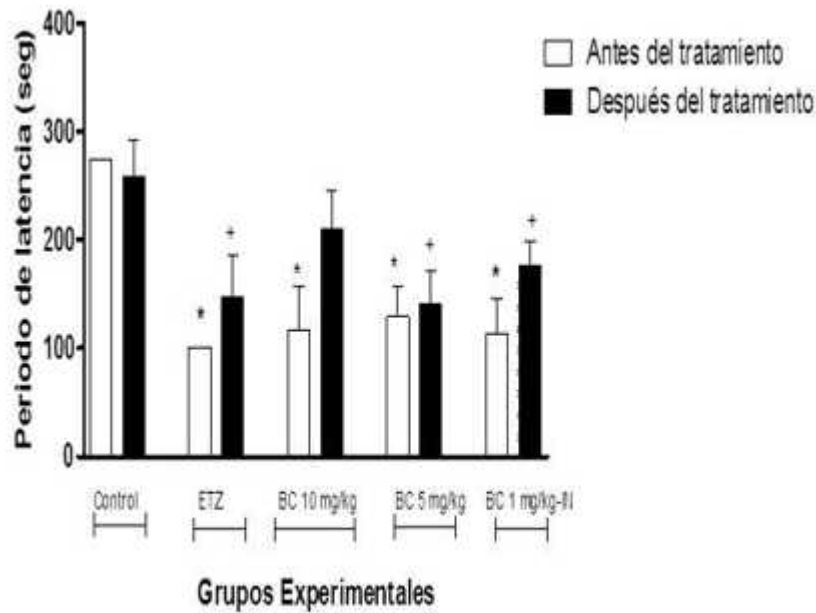
Como resultado de la evaluación de BioCen-128 vía i.n. en el modelo de demencia de ratones BALB/c<sub>cenp</sub> machos envejecidos naturalmente no se encontraron signos clínicos de toxicidad; ni afectaciones respiratorias, del sistema nervioso, cardiovascular o gastrointestinal durante las observaciones diarias. No se obtuvieron diferencias significativas entre el grupo placebo y el grupo tratado con BioCen-128 en la prueba del laberinto en Y a las 6 semanas de tratamiento. La respuesta cognitiva de los animales al tratamiento con Biocen-128 al concluir las 10 semanas, en la prueba de reconocimiento de objetos de-

mostró que los 2 grupos tratados mejoraron respecto a los controles envejecidos e incluso respecto a los controles jóvenes. Se obtuvo un aumento en el peso del cerebro del grupo tratado durante 6 semanas. <sup>(16)</sup> Los pulmones y riñones aumentaron su peso significativamente en los grupos G2, G3 y G4 respecto al G1.

## Experimento 2

Evaluación de ratones de la cepa OF1<sub>cenp</sub>: El peso corporal de los ratones OF1<sub>cenp</sub> machos a partir de la edad de (7-8) meses, fue significativamente mayor que el del grupo control. Se observó una diferencia significativa en el número de entradas en ambos grupos envejecidos en relación con el control en la prueba del laberinto en Y. El porcentaje de alternación fue significativamente menor en los animales de (7-8) y (15-16) meses. En la prueba de reconocimiento de objetos en el control joven el IP para el ON fue significativamente mayor que para el OC, al contrario de lo que ocurría con animales de mediana edad (7-8) meses. En los ratones de (15-16) meses no hubo diferencias significativas. <sup>(21)</sup> En la prueba del LAM en la fase de retención se observó que los animales de (2-3) meses nadaban durante un tiempo significativamente mayor en el cuadrante plataforma, lo que no ocurrió con los animales de (7-8) y (15-16) meses de edad. Los animales jóvenes encontraron el cuadrante plataforma significativamente más rápido. También se obtuvo que el peso del cerebro disminuyó significativamente a medida que avanzaba la edad de los animales y la concentración de glucosa, triglicéridos y colesterol en el suero mostró un aumento significativo en el grupo de (15-16) meses. <sup>(21)</sup>

En el homogenado de cerebro se demostró que el daño oxidativo a los lípidos fue significativamente mayor en ambos grupos de animales envejecidos con respecto al grupo de

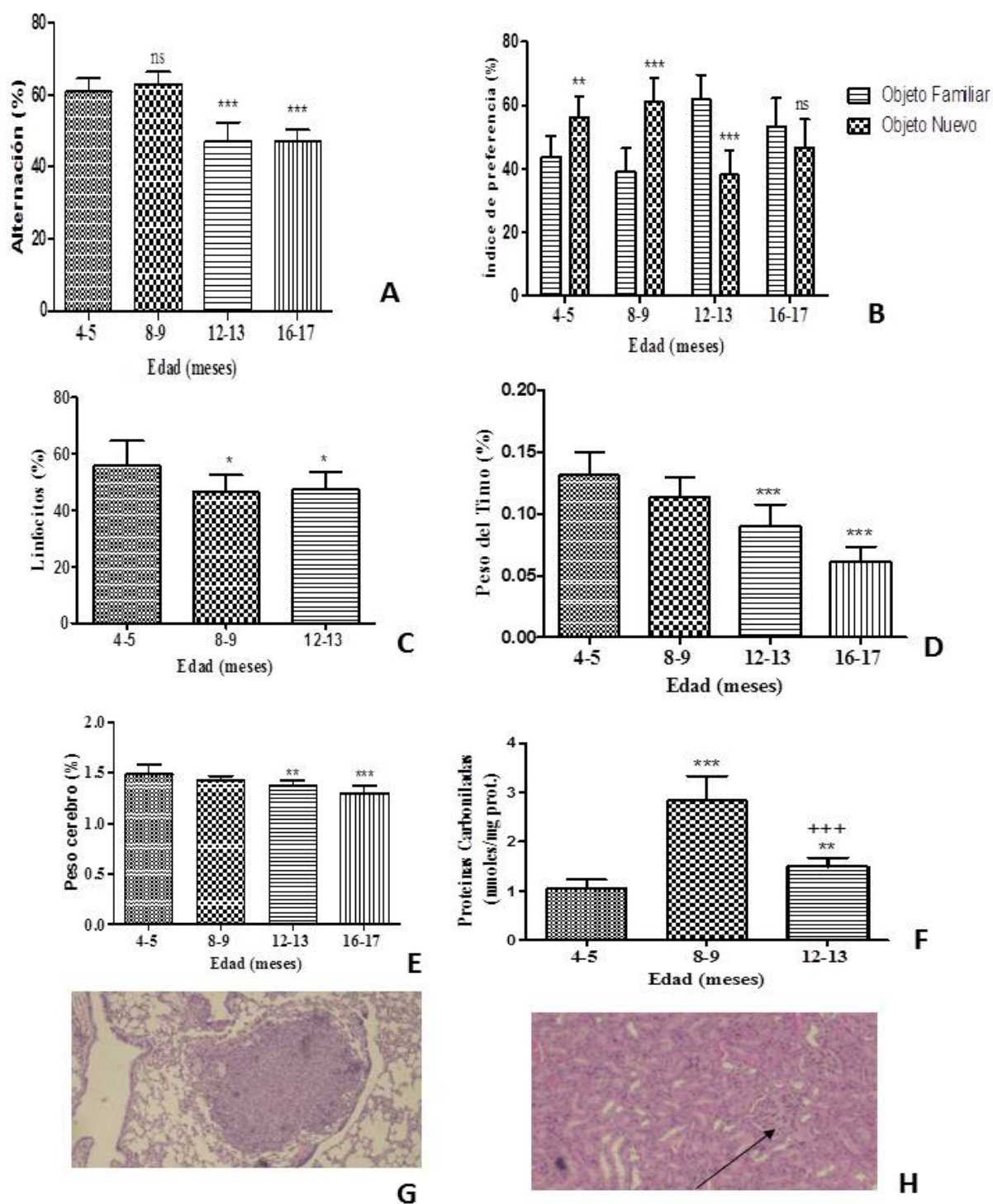


**Fig. 2.** Efecto de BioCen-128 (BC) en animales con déficit cognitivo inducido por ETZ (A) evitación Pasiva (\*) Indica  $p < 0,05$  en comparación con el grupo control antes del tratamiento, (+) Indica  $p < 0,05$  en comparación con el grupo control después del tratamiento. (B) Laberinto en Y con un brazo cerrado \* indica  $p < 0,05$  vs. Brazo C-novedoso dentro de cada grupo, + indica  $p < 0,05$  vs. Brazo-C del grupo ETZ

control joven. Mientras que el daño oxidativo a las proteínas solo fue significativamente mayor en el grupo de (15-16) meses de edad respecto al control. En la determinación de la capacidad antioxidante total se obtuvo que a partir de los (7-8) meses de edad se muestra una tendencia a disminuir, siendo significativa a los (15-16) meses de edad de los ratones. <sup>(21)</sup>

### Experimento 3

Evaluación de ratones de la cepa C57BL/6<sub>cep</sub>: Los cambios encontrados se refieren a la comparación del grupo envejecido de (15-16) meses respecto a los controles jóvenes. El peso de los animales de (15-16) meses de edad fue significativamente mayor. En el laberinto Y el porcentaje de alternación fue significativa-

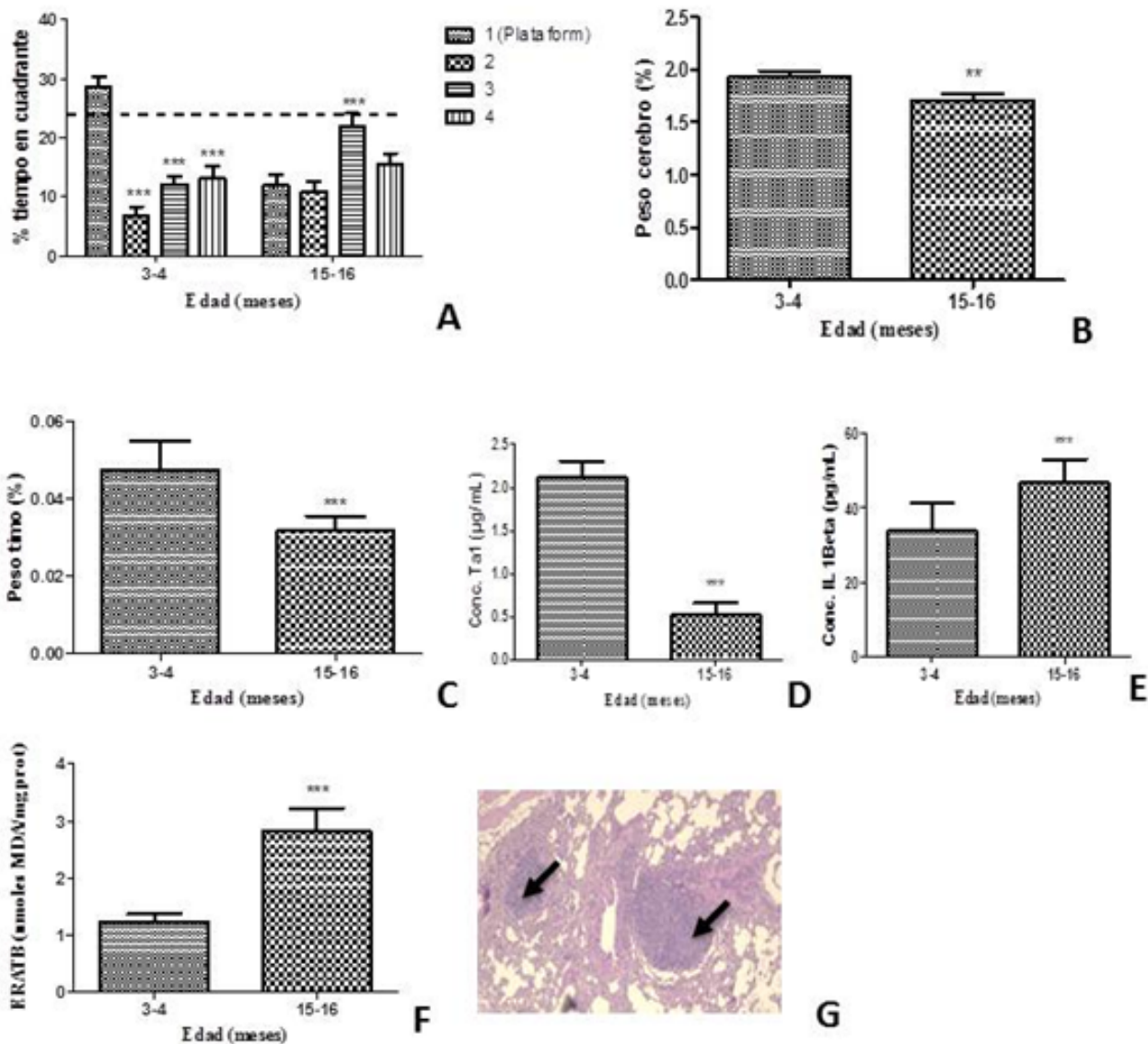


**Fig. 3.** Marcadores de demencia identificados en el modelo de ratones machos BALB/c<sub>cep</sub> naturalmente envejecidos; A) porcentaje de alternación en el Laberinto en Y; B) IP en la prueba de reconocimiento de objetos; C) linfocitos; D) peso del timo; E) peso del cerebro; F) proteínas carboniladas. \* indica diferencias significativas en relación al grupo control o en B al objeto familiar ( $p < 0,05$ ); G) lesiones tumorales en pulmón; H) degeneración glomerular en riñones

mente menor en los animales de (15-16) meses. En la prueba de evitación pasiva la latencia para ingresar al compartimiento oscuro (CO) de los animales jóvenes fue significativamente mayor.

En el LAM durante la fase de retención se obtuvo que los animales jóvenes nadaban durante un tiempo significativamente mayor en el cuadrante de la plataforma (figura 4 A). La población de linfocitos en el grupo de (15-16) meses de edad disminuyó significativamente, contrario a lo ocurrido con los PMN. La concentración de glucosa y de triglicéridos mostró un aumento significativo en el grupo de (15-16) meses. <sup>(22)</sup>

El peso del cerebro y timo en ratones de (15-16) meses de edad fue significativamente menor (figura 4 B-C). La concentración de Ta1 en el homogenado de cerebro en el grupo envejecido tuvo una disminución significativa (figura 4 D). Además, la IL-1 $\beta$  (figura 4 E) y el daño oxidativo a lípidos (figura 4 F) aumentaron significativamente en los animales envejecidos. Estos presentaron menor actividad de las enzimas SOD y GPx. <sup>(24)</sup> En el 70 % de los animales envejecidos se observó engrosamiento de los septos alveolares y algunas áreas con infiltración linfocitaria en la morfología del pulmón (figura 4 G). <sup>(22)</sup>



**Fig. 4.** Marcadores de demencia identificados en el modelo de ratones hembras C57BL/6cnp naturalmente envejecidos; A) porcentaje de tiempo en cada cuadrante en la fase de retención en el LAM; B) peso del cerebro; C) peso del timo; D) concentración de Timosinas  $\alpha$ 1; E) concentración de Interleuquina 1Beta; F) daño oxidativo a lípidos; G) infiltración linfocitaria en pulmones. \* Indica  $p < 0,05$  comparado al grupo control joven



Con la administración de BioCen-128 los resultados obtenidos en la prueba del laberinto en Y demostraron la superioridad de los animales de los grupos controles (G1 y G4) que fue similar a los grupos tratados por ambas vías (figura 5 A). En la prueba de evitación pasiva se obtuvo que los animales envejecidos tuvieron un periodo de latencia significativamente menor que los animales que recibieron BioCen-128 por ambas vías. La concentración de glucosa en el grupo G3 fue menor significativamente que en los grupos controles jóvenes y envejecidos. En el grupo de animales tratados con BioCen-128 por vía i.p. se comportó de manera similar a los animales controles envejecidos (figura 5 B). Se obtuvo una disminución en los animales tratados por la vía i.n. e i.p. de la concentración de triglicéridos (figura 5 C).<sup>(16)</sup>

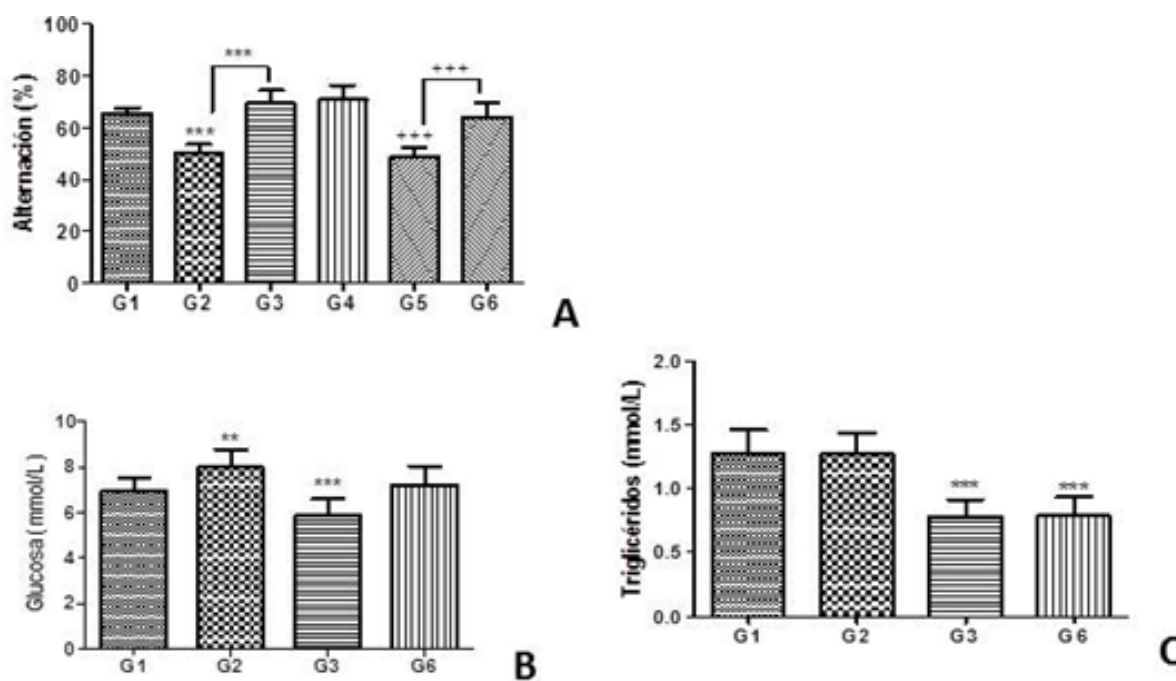
## DISCUSIÓN

El modelo desarrollado en este trabajo por administración i.c.v. de ETZ a partir de la evaluación de los ratones de las cepas OF1<sub>cenp</sub> y C57BL/6<sub>cenp</sub> es clásico de demencia tipo Alzheimer.<sup>(7)</sup> Sin embargo, la diversidad de cepas, diseños de administración, y pruebas conductuales aplicadas es muy variable. Por lo tanto, cada laboratorio debe establecer

su metodología para obtener el modelo de forma reproducible bajo sus condiciones.

Los resultados obtenidos en la prueba de evitación pasiva (ver figura 1 A) demostraron que los ratones OF1<sub>cenp</sub> desarrollaron deficiencia cognitiva, por lo que se puede afirmar que se obtuvo el modelo de demencia tipo Alzheimer.<sup>(15)</sup> En este experimento los resultados de la prueba de evitación pasiva mostraron la presencia de deficiencia cognitiva en el grupo de la ETZ (ver figura 4 B). Teniendo en cuenta que el porcentaje de animales que desarrollaron deficiencia cognitiva, 60 %, frente a 85 % en OF1<sub>cenp</sub>, así como que se requirió un tiempo de 21 días en lugar de 15 como ocurrió en OF1<sub>cenp</sub> para que los animales presentaran deficiencia, se puede concluir que los mejores resultados se obtuvieron con OF1<sub>cenp</sub>. Desde el punto de vista económico y práctico estos experimentos contribuyen a la sustitución de importaciones en relación a la construcción del aditamento para la inoculación del compuesto por vía i.c.v.

A partir de los resultados favorables obtenidos durante la obtención del modelo de demencia tipo Alzheimer por la administración i.c.v. de ETZ en la cepa OF1<sub>cenp</sub> este diseño fue validado para evaluar el efecto del fármaco en desarrollo BioCen-128. Los resultados obtenidos en los grupos tratados



**Fig. 5.** Marcadores de respuesta al tratamiento con BioCen-128 en ratones C57BL/6<sub>cenp</sub> envejecidas; A) resultados del laberinto en Y; B) concentración de glucosa; C) concentración de triglicéridos; G 1) controles jóvenes NaCl al 0,9 % (placebo); G 2) controles envejecidos NaCl al 0,9 %. (G 3 y G 6) recibieron BioCen-128 vía i.n. y vía i.p. respectivamente. \* Diferencias significativas de cada grupo respecto al G 1 ( $p < 0,05$ ).

por vía i.p. a la dosis de 10 mg/kg y por vía i.n. a la dosis de 1mg/kg (ver figura 2 A-B) valida la utilidad del modelo de demencia estandarizado para la evaluación de fármacos con potencialidades antineuroinflamatorias. <sup>(15)</sup>

El otro modelo de demencia obtenido fue a partir de ratones naturalmente envejecidos. Una de las cepas evaluadas fue la BALB/c<sub>cenp</sub> por su reconocido uso en estudios relacionados con la inmunidad que tiene estrecha relación con el envejecimiento. <sup>(24)</sup> La aparición de riñas frecuentes en las cajas, especialmente a la edad de (8-9) meses, pudiera explicarse porque está reportado que los ratones machos BALB/c<sub>cenp</sub> son los más agresivos y los que con mayor dificultad se adaptan a convivir dentro de las cajas de alojamiento. <sup>(25)</sup> Este aspecto relacionado con el manejo es desventajoso, sin embargo, el incremento con la edad del peso corporal demuestra que los animales que permanecieron en el experimento mostraron un adecuado estado de salud. <sup>(24)</sup>

La deficiencia cognitiva que se encontró a partir de la edad de (12-13) meses por las pruebas del laberinto en Y y de reconocimiento de objetos (ver figura 3 A-B), demuestra la utilidad de estos animales como modelo de demencia tipo Alzheimer, pues el hipocampo es la estructura cerebral involucrada en la respuesta conductual que se mide en ambas pruebas. <sup>(26,27)</sup> Se demostró por primera vez en el país el deterioro cognitivo, relacionado con la funcionalidad del hipocampo en las cepas estudiadas.

El comportamiento de linfocitos y PMN, así como del peso del timo y el bazo también constituyen marcadores de demencia que se han descrito por primera vez en ratones BALB/c<sub>cenp</sub> machos desde la edad de (12-13) meses (ver figura 3 C-D). Además, la disminución del peso del cerebro, (ver figura 3 E) constituye un marcador que se ha encontrado *post mortem* en personas con demencia tipo Alzheimer. <sup>(28)</sup>

El aumento del daño oxidativo a las proteínas (ver figura 3 F) es otro marcador, ya que la concentración de proteínas oxidadas es mayor en el cerebro de personas con demencia. <sup>(29)</sup> El aumento significativo obtenido del peso de los pulmones debe estar relacionado con las lesiones observadas en la histología pulmonar (ver figura 3 G). Se ha demostrado que la función cognitiva se ve afectada en pacientes con enfermedad pulmonar con o sin hipoxemia. <sup>(30)</sup> Asociado con el envejecimiento en ratones se observa inflamación, apoptosis y estrés oxidativo que, en conjunto, deterioran la función renal. <sup>(30,31)</sup> Este deterioro se reflejó en la degeneración glomerular de la histología de este órgano en el estudio (ver figura 3 H).

Durante la validación del modelo animal descrito anteriormente con la aplicación de BioCen-128, se demostró la utilidad práctica del mismo. Fue posible establecer parámetros importantes como son la vía de administración, dosis y frecuencia.

El experimento demostró la utilidad del modelo con la identificación de 2 variables de respuesta, una cognitiva, la prueba de reconocimiento, y una morfológica, el peso del cerebro. En relación a los resultados específicos para el desarrollo de la fase no clínica de BioCen-128 el experimento demostró los mejores resultados para el tiempo de tratamiento de 6 semanas, frecuencia diaria por vía i.n. y a la dosis de 1,5 mg/kg. <sup>(16)</sup>

Se evaluó la OF1<sub>cenp</sub> teniendo en cuenta que presenta un comportamiento mucho menos agresivo entre los miembros del grupo. El resultado del incremento de peso con la edad, corrobora el adecuado estado de salud de los animales. Los hallazgos en las pruebas conductuales demuestran la aparición de deficiencia cognitiva en los ratones OF1<sub>cenp</sub> machos a partir de los (7-8) meses de edad, que se evidencia por 3 pruebas (laberinto en Y, reconocimiento de objetos y LAM) relacionadas con la funcionabilidad del hipocampo. <sup>(21,26,27)</sup>

La disminución del peso del cerebro permite suponer la presencia de neurodegeneración, elemento morfológico que se ha descrito en varios tipos de demencia. <sup>(5,21)</sup> El aumento de los niveles de glucosa sérica, se corresponden con lo reportado en la literatura ya que se conoce que durante el proceso de envejecimiento que conduce al deterioro cognitivo y la demencia, se establece un hipometabolismo de la glucosa en el cerebro. <sup>(32)</sup> Los niveles de triglicéridos y colesterol se consideran otro marcador ya que se ha descrito que la movilización de lípidos se deteriora con la edad. Esto conduce a largo plazo a una acumulación excesiva de lípidos en tejidos, lo que resulta en una mayor incidencia de trastornos como la demencia. <sup>(33)</sup>

Con el envejecimiento de los animales se incrementó el daño oxidativo a lípidos y proteínas que es un evento fisiológico que se ha descrito en el cerebro de personas con demencia. En el caso de la capacidad antioxidante total, una disminución de este parámetro es inversamente proporcional al riesgo de padecer trastornos neurodegenerativos. <sup>(34)</sup>

Además de las cepas BALB/c<sub>cenp</sub> y OF1<sub>cenp</sub> se evaluó la C57BL/6<sub>cenp</sub> por su amplio uso en estudios neuroconductuales. <sup>(12,35)</sup> Sin embargo en estos animales resaltan la elevada agresividad hacia el experimentador especialmente en el sexo macho. Por otra parte, se conoce que el sexo hembra es considerado un factor de riesgo para a demencia tipo Alzheimer. <sup>(1-4)</sup> Estos elementos conllevaron a evaluar en este trabajo ratones hembras. El comportamiento del peso corporal fue como se esperaba, similar a lo obtenido para las cepas BALB/c<sub>cenp</sub> y OF1<sub>cenp</sub>. <sup>(22)</sup>

En base a los diferentes mecanismos de memoria que se evalúan en la prueba del laberinto en Y, el LAM (ver figura 4 A-B) y la evitación pasiva, se puede afirmar que los ratones C57BL/6<sub>cenp</sub> hembras de (15-16) meses presentan deterioro cognitivo relacionado al hipocampo. <sup>(22,26,27)</sup>

El comportamiento de los linfocitos y PMN fue similar a lo descrito en los ratones BALB/c<sub>cenp</sub> y constituyen otra evidencia de la utilidad de estos animales naturalmente envejecidos como modelo de demencia. (36,37,38) El resultado del incremento de glucosa y triglicéridos, constituyen eventos fisiológicos que se presentan en la demencia tipo Alzheimer. (32,33) Los resultados obtenidos con relación a la disminución del peso de timo (figura 4 D) e incremento del bazo justifican la disminución de la población de linfocitos obtenida en ratones envejecidos debido a que en estos órganos tiene lugar su producción. Además, el comportamiento del peso del cerebro y el timo (ver figura 4 C-D), así como del bazo y los pulmones constituyen evidencias experimentales de la utilidad de estos animales como modelo de demencia. (22)

Este trabajo aporta las primeras evidencias experimentales de la disminución de la Ta1 (ver figura 4 E) en ratones C57BL/6<sub>cenp</sub> lo cual constituye un marcador de envejecimiento ligado a la deficiencia cognitiva. De igual forma el aumento de la IL-1 $\beta$  (ver figura 4 F), la cual tiene la capacidad de activar astrocitos, y regula la expresión y procesamiento de proteínas precursoras de b-amiloide. (39,40)

El análisis conjunto de la disminución de 2 de las enzimas más importantes que conforman el sistema antioxidante endógeno de los organismos vivos (SOD y GPx), unido al incremento del daño oxidativo a los lípidos (ver figura 4 G), confirma la utilidad de estos animales como modelo de demencia ya se ha confirmado que este evento fisiológico está presente en pacientes con demencia. (29)

De la misma forma que en los ratones BALB/c<sub>cenp</sub> envejecidos en la cepa C57BL/6<sub>cenp</sub> se presentan daños en la estructura pulmonar, aunque no con apariencia tumoral. Sin embargo, estas alternaciones morfológicas (ver figura 4 H) nos permiten afirmar que en estos animales existe disfunción pulmonar. (30)

Cuando se validó la utilidad de este modelo con la administración de BioCen-128 los resultados obtenidos en la prueba del laberinto en Y (ver figura 5 A) y de evitación pasiva, demostraron el efecto positivo del tratamiento. Otro marcador de respuesta al tratamiento obtenido fue la disminución de la concentración de glucosa y de triglicéridos (figura 5 B-C). Se demostró a la utilidad del modelo desarrollado de ratones C57BL/6<sub>cenp</sub> hembras a la edad de (15-16) meses para la evaluación de fármacos con composición química similar a BioCen-128. Estos resultados permitieron establecer dosis de respuesta para las vías i.n. e i.p. con una frecuencia de 2 veces por semana y por una duración de 5 semanas. El acortamiento del periodo de respuesta mínima a 5 semanas es una ventaja que se identifica en este modelo respecto al desarrollado en ratones BALB/c<sub>cenp</sub> naturalmente envejecido.

## Conclusiones

Se demostró que la cepa OF1<sub>cenp</sub> muestra mejor respuesta para la obtención del modelo de demencia tipo Alzheimer por administración i.c.v. de ETZ que puede ser empleado para la evaluación de fármacos con potencialidades antineuroinflamatorias. Se estableció para cada cepa<sub>cenp</sub> evaluada (BALB/c, C57BL/6 y OF1) la edad mínima para evidenciar la presencia de eventos neuroconductuales, hematológicos, histológicos, bioquímicos e inmunológicos ligados a la demencia que posibilitan su utilización como modelos.

Igualmente se demostró la utilidad de emplear como marcadores de demencia la concentración de timosina  $\alpha$ 1, interleuquina 1 $\beta$ , la población de linfocitos y PMN, el peso del cerebro y el timo, la histología pulmonar y renal y las pruebas conductuales de evitación pasiva, laberinto en Y, LAM y reconocimiento de objetos. La validación de los modelos obtenidos en los experimentos con el nuevo producto biológico BioCen-128 posibilitó demostrar la actividad de mejoría cognitiva, inmunomoduladora, antiinflamatoria, hipoglucemiante, antioxidante, y de disminución de triglicéridos con lo que se avanza hasta la fase final de desarrollo no clínico.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- MEDLINEplus. Información de salud para usted [Internet]. Bethesda: [National Institutes of Health](https://www.nlm.nih.gov/); [citado 22 ago 2022]. Disponible en: <https://medlineplus.gov/spanish/ency/article/000739.htm>
- Zurique C, Cadena M, Zurique M, Camacho P, Sánchez M, Hernández S et al. Prevalencia de demencia en adultos mayores de América Latina: revisión sistemática. *Rev Esp Geriatr Gerontol.* 2019;54(3):346-55.
- Bosch RI, Llibre J, Zayas T, Hernández E. Superar el estigma hacia la demencia, un reto para la sociedad cubana. *Rev Habanera de Cienc Médicas.* 2017;16(1):135-45.
- Fonte T, Llibre JJ, Santos DJ. Prevalencia y factores de riesgo de demencia en personas de 80 años o más. *Rev Cub Med.* 2021;60(3):e1675. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/med/v60n3/1561-302X-med-60-03-e1675.pdf>
- Luquin MR. Modelos experimentales de enfermedad de Parkinson. *Rev Neurol.* 2000;31(1):60-6. Disponible en: <https://doi.org/10.33588/rn.3101.99654>
- ICH Topic S 7A Safety Pharmacology Studies for Human Pharmaceuticals. European Medicines Agency, 2006. Disponible en: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/ich-s-7-safety-pharmacology-studies-human-pharmaceuticals-step-5\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/ich-s-7-safety-pharmacology-studies-human-pharmaceuticals-step-5_en.pdf)
- Nazem A, Sankowski R, Bacher M, Al-Abed Y. Rodent models of neuroinflammation of Alzheimer disease. *Journal of Neuroinflammation* 2015;12:74. Disponible en: <https://doi.org/10.1186/s12974-015-0291-y>
- Navarrete F, Pérez-Ortiz JM, Femenía T, García-Gutiérrez MS, García-Payá ME, Leiva-Santana C et al. Métodos de evaluación de trastornos cognitivos en modelos animales. *Rev Neurol.* 2008;47(3):137-45.

9. Dudchenko PA. Overview of the tasks used to test working memory in rodents. *Neurobio Rev* 2004;28:699-709.
10. Palumbo ML, Zorrilla MA, Cremaschi GA, Genaro AM. Different effect of chronic stress on learning and memory in BALB/c and C57BL/6 inbred mice: Involvement of hippocampal NO production and PKC activity. *Inter J Biology Stress* 2009;12(4):350-61.
11. Magani F, Damianich A, Duaip G, Rojo D, Trigila A, Pimentel J *et al.* Federman Reconocimiento de objetos en ratones *Mus musculus* cepa C57BL/6J. *Rev Argent Cienc Comport* 2013;5(3):24-9.
12. Mehta M, C Schmauss. Strain-specific cognitive deficits in adult mice exposed to early life stress. *Behav Neurosci* 2011;125(1):29-36.
13. Hughes RN. The value of spontaneous alternation behavior (SAB) as a test of retention in pharmacological investigations of memory. *Neurosci Biobehav Rev* 2004; 28(5):497-505.
14. Antunes M, Biala G. The novel object recognition memory: neurobiology, test procedure, and its modifications. *Cogn Process* 2012;13:93-110.
15. Esquivel N, García Y, García T, Menéndez R, Rodríguez C. Potential anti neuro-inflammatory effect of BioCen-128 in animal models of dementia. *Animal Models Exp Med.* 2022;5(4):369-76.
16. Rodríguez C, García Y, Reyes MC, Esquivel N, Viera DR, Govin Y *et al.* Composición farmacéutica con fines terapéuticos. A7.2019-0113. OMPI 2021, Boletín Oficial 395(1):1. <https://www.ocpi.cu/sites/default/files/archivos/bo/395Vol-I.pdf>
17. García Y, Esquivel N. Comparison of the Response of Male BALB/c and C57BL/6 Mice in Behavioral Tasks to Evaluate Cognitive Function. *Behav. Sci.* 2018;8(1):14. Disponible en: <https://doi.10.3390/bs8010014>
18. Uwe M, Von Hagen J. Isolation of subcellular organelles and structures. *Methods Enz* 2009;463:305-26.
19. Okawa O, Ohishi N, Yagi K. Assay of lipid peroxides in animal tissues by the thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 1979;95(2):351-8.
20. Resnick AZ, Packer L. Oxidative damage to proteins: Spectrophotometric method for carbonyl assay. *Methods Enz* 1994;233:357-63.
21. Esquivel N, García Y, Carvajal O, Rodríguez C. Characterization of male OF1cnp mice with age-induced cognitive decline. *Int J Clin Exp Med* 2022;6(2):111-21.
22. Esquivel N, García Y, Martínez M, Lores B, Rodríguez C. Age-Related Cognitive Decline in Female C57BL/6cnp Mice 15-16 Months of Age. *J Biomed Eng Res* 2021;5:1-12.
23. Esquivel N, García Y, Lores B, Gutiérrez M, Rodríguez C. Characterization of aged male BALB/cnp mice as a model of Dementia. *Lab Anim Res* 2020;36:7. Disponible en: <https://doi.org/10.1186/s42826-020-00038-0>
24. Zaia A, Piantanelli L. Insulin receptors in mouse brain: reversibility of age-related impairments by a thymic extract. *Age* 2000;23:133-9.
25. Van Loo PL, Van Zutphen LF, Baumans V. Male management: coping with aggression problems in male laboratory mice. *Lab Anim* 2003;37:300-13.
26. Halliday G. Pathology and hippocampal atrophy in Alzheimer's disease. *Comment* 2017;16(11):862-4. Disponible en: [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(17\)30343-5](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(17)30343-5)
27. Cohen SJ, Munchow AH, Rios LM, Zhang G, Ásgeirsdóttir HN, Stackman RW. The rodent hippocampus is essential for non-spatial object Memory. *Curr Biol* 2013;23(17):1685-90.
28. Schrag E. Iron, zinc and copper in the Alzheimer's disease brain: a quantitative meta-analysis. Some insight on the influence of citation bias on scientific opinion. *Prog Neurobiol* 2011;94(3):296-306.
29. Sultana R, Butterfield DA. Oxidative modification of brain proteins in Alzheimer's disease: perspective on future studies based on results of redox proteomics studies. *J Alzheimers Dis* 2013;33:243-51.
30. Lim JH, Kim EN, Kim MY, Chung S, Shin SJ, Kim HW. Age-associated molecular changes in the kidney in aged mice. *Oxid Med Cell Longev* 2012. Disponible en: <https://doi.org/10.1155/2012/171383>
31. Shi Y, Liu Z, Shen Y, Zhu H. A Novel Perspective Linkage Between Kidney Function and Alzheimer's Disease. *Front Cell Neurosci* 2018;12:384. Disponible en: <https://doi.org/10.3389/fncel.2018.00384>
32. Cunnane S C, Nugent S, Roy M, Courchesne-Loyer A, Croteau E, Tremblay S. Brain fuel metabolism, aging and Alzheimer's disease. *Nutrition* 2011;27(1):3-20.
33. Araki S, Okazaki M, Goto S. Impaired lipid metabolism in aged mice as revealed by fasting-induced expression of apolipoprotein mRNAs in the liver and changes in serum lipids. *Gerontology* (2004);50(4):206-15.
34. Quintanar MA, Calderón JV. Total antioxidant capacity. Base and applications. *REB* 2009;28(3):89-101.
35. Oriol S, Kofman O. Strain dependent effects of conditioned fear in adult C57Bl/6 and Balb/C mice following postnatal exposure to chlorpyrifos: relation to expression of brain acetylcholinesterase mRNA. *Front. Behav. Neurosci* 2015;9(110):1-12. Disponible en: <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2015.00110>
36. Shaw AC, Joshi S, Greenwood H, Panda A, Lord JM. Aging of the innate immune system. *Curr Opin Immunol* 2010;22:507-13.
37. Lynch HE, Goldberg G, Chidgey A, Van den Brink M, Boyd R, Sempowski G. Thymic involution and immune reconstitution. *Trends Immunol* 2009;30(7):366-73.
38. Lessard-Beaudoin M, Laroche M, Demers MJ, Grenier G, Graham RK. Characterization of age-associated changes in peripheral organ and brain region weights in C57BL/6 mice. *Experimental Gerontology* 2015;63:27-34.
39. Wang G, He F, Xu Y, Zhang Y, Wang X. Immunopotentiator Thymosin Alpha-1 Promotes Neurogenesis and Cognition in the Developing Mouse via a Systemic Th1 Bias. *Neurosci. Bull* 2017. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s12264-017-0162-x>
40. Serrano-Sánchez A, Díaz-Armesto I. Participación de la interleucina-1 e interleucina-6 en la etiopatogenia de la enfermedad de Alzheimer. *Rev Neurol* 2001;33(7):648-52. Disponible en: <https://doi.org/10.33588/m.3307.2001163>

---

Recibido: 20/05/2024

Aprobado: 20/06/2024

---

#### Agradecimientos

Al personal técnico y especialistas del Centro Nacional de Biopreparados, Centro de Neurociencias de Cuba, Centro Nacional para la Producción de Animales de Laboratorio, Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología y Hospital Salvador Allende que colaboraron con esta investigación.

#### Conflictos de intereses

Los autores declaran que no existen conflictos de intereses entre ellos, ni con la investigación presentada.

#### Contribuciones de los autores

Conceptualización: Yenela García, Claudio Rodríguez



Curación de datos: Nashelly Esquivel  
Adquisición de fondos: Claudio Rodríguez  
Investigación: Yenela García, Nashelly Esquivel, Roberto Menéndez, Teidy Eloisa García  
Metodología: Yenela García, Nashelly Esquivel, Claudio Rodríguez, Alain Morejón, Yordanka Vargas, Roberto Menéndez, Teidy Eloisa García  
Administración del proyecto: Claudio Rodríguez  
Recursos: Yordanka Vargas  
Supervisión: Yenela García  
Validación: Alain Morejón  
Visualización: Claudio Rodríguez  
Redacción-borrador original: Yenela García, Nashelly Esquivel  
Redacción-revisión y edición: Yenela García, Claudio Rodríguez

#### **Financiamientos**

La fuente de financiamiento de la investigación fue el Fondo Financiero de Ciencia e Innovación (FONCI).

#### **Cómo citar este artículo**

García Hernández Y, Esquivel Crespo N, Rodríguez Martínez C, Morejón Calderón A, Vargas Caballero Y, Menéndez Soto del Valle R et al. Obtención de modelos de demencia en cepas de ratones y su aplicación en el desarrollo de nuevos fármacos. An Acad Cienc Cuba [internet] 2024 [citado en día, mes y año];14(2):e1593. Disponible en: <http://www.revistaccuba.cu/index.php/revacc/article/view/1593>

El artículo se difunde en acceso abierto según los términos de una licencia Creative Commons de Atribución/Reconocimiento-NoComercial 4.0 Internacional (CC BY-NC-SA 4.0), que le atribuye la libertad de copiar, compartir, distribuir, exhibir o implementar sin permiso, salvo con las siguientes condiciones: reconocer a sus autores (atribución), indicar los cambios que haya realizado y no usar el material con fines comerciales (no comercial).

© Los autores, 2024.

