UNIVERSIDAD MIGUEL HERNÁNDEZ

FACULTAD DE MEDICINA

TRABAJO FIN DE GRADO

GRADO EN FISIOTERAPIA

El patrón respiratorio asociado a los movimientos espontáneos en ratones postnatales

AUTOR: CARRILLO NAVARRO, ALBA

TUTOR: Dr Francisco J. Martini

Departamento y Área: Fisiología

Curso académico 2024-2025

Convocatoria de Junio

Biblioteca
UNIVERSITAS Miguel Hernández

ÍNDICE

RESUMEN Y PALABRAS CLAVE..... 1

ABSTRACT AND KEYWORDS..... 2

1. INTRODUCCIÓN..... 3

2. HIPÓTESIS..... 6

3. OBJETIVOS..... 7

4. MATERIALES Y MÉTODOS 8

5. RESULTADOS..... 11

6. DISCUSIÓN..... 15

7. CONCLUSIONES..... 18

8. ANEXO DE FIGURAS Y TABLAS……..20

9. REFERENCIAS 28

Biblioteca
UNIVERSITAS Miguel Hernández

RESUMEN Y PALABRAS CLAVE

La detección temprana de trastornos neurológicos infantiles, como la parálisis cerebral o el autismo, requiere indicadores fiables de maduración cerebral en fases perinatales. Ante las limitaciones éticas de la investigación directa en humanos, los modelos murinos ofrecen una alternativa valiosa para estudiar la ontogenia del sistema nervioso mediante el análisis de comportamientos motores espontáneos. Distintos tipos de movimientos espontáneos se asocian a estados mentales específicos, como la vigilia o el sueño. Por ejemplo, los movimientos generales son más frecuentes durante la vigilia. Sin embargo, el estado mental no es experimentalmente accesible de forma directa. Este trabajo consiste en un estudio observacional que evalúa la posibilidad de utilizar una variable fisiológica accesible como marcador del estado mental. Se propone medir el patrón respiratorio y determinar su asociación con movimientos espontáneos en ratones neonatos. En particular, se analiza la relación entre dos tipos de movimientos —generales y espasmódicos— y la respiración en crías de ratón de 2 y 6 días de vida. Se identificó una correlación significativa, aunque moderada, entre la variabilidad de la frecuencia respiratoria y los movimientos generales en los ejemplares más maduros. Esto sugiere una asociación funcional entre los sistemas motor (y, por tanto, el estado mental) y respiratorio. Los resultados respaldan el uso de movimientos espontáneos como marcadores no invasivos de maduración neurológica, y plantean al patrón respiratorio como posible variable indirecta del nivel de vigilia o sueño en el organismo estudiado.

Palabras clave: ratón postnatal; movimientos espontáneos; espasmos y movimientos generales; desarrollo del sistema nervioso; frecuencia respiratoria.

ABSTRACT AND KEYWORDS

Early detection of childhood neurological disorders, such as cerebral palsy or autism, requires reliable indicators of brain maturation during perinatal stages. Given the ethical limitations of direct research in humans, murine models offer a valuable alternative for studying the ontogeny of the nervous system through the analysis of spontaneous motor behaviors. Different types of spontaneous movements are associated with specific mental states, such as wakefulness or sleep. For example, general movements are more frequent during wakefulness. However, mental state is not directly accessible experimentally. This work is an observational study that assesses the possibility of using an accessible physiological variable as a marker of mental state. Specifically, we propose measuring the respiratory pattern and determining its association with spontaneous movements in neonatal mice. In particular, we analyze the relationship between two types of movements—general and twitch-like—and respiration in mouse pups at 2 and 6 days of age. A significant, though moderate, correlation was identified between respiratory rate variability and general movements in more mature subjects. This suggests a functional association between the motor (and thus mental state) and respiratory systems. The results support the use of spontaneous movements as non-invasive markers of neurological maturation and suggest the respiratory pattern as a potential indirect indicator of the wakefulness or sleep state of the studied organism.

Keywords: postnatal mouse; spontaneous movements; twitches and general movements; nervous system development; respiratory rate.

Biblioteca
UNIVERSITAS Miguel Hernández

1. INTRODUCCIÓN

El desarrollo neurológico temprano constituye uno de los procesos más complejos y dinámicos del ser humano. Desde las primeras etapas gestacionales, el sistema nervioso se va organizando progresivamente, y esta maduración se refleja, por ejemplo, en el comportamiento motor espontáneo del recién nacido. La observación de los patrones de movimiento perinatales —particularmente los movimientos generales, espasmódicos, así como otros comportamientos como el bostezo y el hipo— ofrece información clave no solo sobre la integridad del sistema nervioso, sino también sobre su funcionalidad y evolución. Estos patrones motores no son aleatorios: responden a una arquitectura neurológica bien definida y, por tanto, tienen un alto valor diagnóstico y pronóstico en el ámbito clínico (1,2).

Entre los patrones motores más estudiados se encuentran los movimientos generales (*general movements*, MGs). En humanos, los MGs aparecen de manera espontánea y endógena a partir de la novena semana de gestación y continúan manifestándose hasta los 4-5 meses de vida postnatal. Se caracterizan por su complejidad, fluidez, variabilidad espacio-temporal y la participación de múltiples grupos musculares. Involucran extremidades, cabeza, tronco y cuello, y permiten una evaluación cualitativa del tono muscular, la coordinación motora y la organización neurológica del lactante (1). Los MGs se ajustan a medida que progresa el desarrollo del Sistema Nervioso: durante las primeras semanas de vida extrauterina son amplios, suaves y fluidos, y se los denomina MGs “de contorneo” (*writhing*). Hacia las 6-9 semanas se tornan de amplitud baja y aceleración variable, dando lugar a los denominados movimientos “de ajetreo” (*fidgety*) (2). La ausencia o alteración de estos movimientos, especialmente la falta de fluidez o la presencia de patrones estereotipados y rígidos, es uno de los indicadores más fiables para la detección precoz de parálisis cerebral u otras disfunciones neurológicas (3).

Por otro lado, los movimientos espasmódicos o mioclónicos (*myoclonic twitches*) del recién nacido son manifestaciones motoras espontáneas breves y rápidas. A diferencia de los MGs, suelen aparecer de forma más abrupta y estereotipada, involucrando principalmente a las extremidades en un trasfondo de atonía generalizada. También en contraposición a los MGs, los espasmos se presentan con mayor

frecuencia durante los estados de sueño, especialmente el sueño activo (los recién nacidos duermen cerca de 16 horas por día), sin alterar el nivel de consciencia ni otros signos clínicos preocupantes. Aunque pueden confundirse con convulsiones neonatales, los movimientos espasmódicos suelen ser benignos y transitorios, asociados a la inmadurez del sistema nervioso central (4,5). Su identificación es importante para evitar diagnósticos erróneos y tratamientos innecesarios.

Los patrones de movimientos espontáneos aparecen bajo diferentes estados mentales, o de consciencia. La información sensorial y motora generada por estos movimientos no se procesa de la misma manera en diferentes estados mentales. Esta distinción es aparentemente relevante para la formación y maduración de los circuitos neuronales (6, 7). Por lo tanto, conocer el estado mental del organismo bajo estudio es fundamental no sólo para identificar el tipo de comportamiento motor sino también para determinar posibles consecuencias en casos de desarrollo anormal.

Una de las clasificaciones más simples divide los tipos de estados mentales en tres categorías: sueño tranquilo (ST), sueño activo (SA) y vigilia (8). En individuos adultos, cada estado mental se diferencia por una combinación particular de tono muscular, movimientos oculares y patrón electroencefalograma cortical (EEG). En los individuos recién nacidos o de pocos meses de vida, la asociación entre estas variables y los estados mentales no es tan robusta.

En la vigilia, que incluye desde la somnolencia hasta la alerta activa, el neonato muestra respuestas más evidentes al entorno. Durante los períodos de vigilia tranquila, se observan movimientos más organizados y sostenidos, mientras que la vigilia agitada puede acompañarse de movimientos más desorganizados y de mayor tono muscular (4). El SA (equivalente al sueño REM en adultos) ocupa cerca del 50% del tiempo de sueño neonatal. Se caracteriza por una alta actividad cerebral, movimientos oculares rápidos, respiración irregular, muecas faciales y frecuente presencia de movimientos generales y espasmódicos. Se considera un estadio crucial para la maduración cerebral, la consolidación de conexiones sinápticas y el desarrollo sensorial (9). El ST, en contraste, es un estado de reposo profundo, con tono muscular bajo, respiración regular y escasa actividad motora. En este estado predominan los procesos de restauración metabólica y crecimiento celular.

La estructura de los ciclos sueño/vigilia aparece durante las primeras semanas de vida, y su regularidad y evolución son indicativos del progreso neurológico. Alteraciones en la duración, distribución o calidad de estos estados se asocian a trastornos del desarrollo neurológico, trastornos del espectro autista o problemas de regulación sensorial (10).

Por otra parte, la existencia de patrones de movimiento similares en otras especies animales, como roedores y primates, ha permitido avanzar en la comprensión de las bases neurobiológicas del desarrollo motor. En estudios con ratas recién nacidas, por ejemplo, se han identificado comportamientos análogos a los movimientos generales humanos, como los movimientos de ajetreo y los reflejos posturales tempranos, los cuales también están modulados por redes neurales subcorticales y por la maduración de estructuras como el tronco encefálico (11,12). La conservación filogenética sugiere que muchos de estos comportamientos motores cumplen funciones adaptativas esenciales, como la preparación para la locomoción, la interacción social o el desarrollo de la autorregulación fisiológica.

El estudio de los estados mentales en neonatos, en diferentes especies, facilita la clasificación sistemática y fidedigna de los movimientos espontáneos. Sin embargo, los métodos de registro del nivel de consciencia implican el montaje de equipamiento sobre el recién nacido. Por lo tanto, para preservar la naturalidad y comodidad del mundo que rodea al recién nacido, es importante desarrollar métodos para obtener información con mínimas intervenciones. Esta perspectiva proporciona una base sólida para el diseño de intervenciones tempranas que mejoren los resultados a largo plazo en niños con riesgo neurológico (13).

2. HIPÓTESIS

Los patrones respiratorios en ratones neonatos varían de manera sistemática en función del estado mental subyacente, reflejado en la expresión de distintos tipos de movimientos espontáneos (movimientos generales y espasmos). En particular, la frecuencia respiratoria debe ser mayor durante etapas que incluyen movimientos generales, que se asocian a estados de vigilia, mientras que etapas con espasmos, característicos del sueño activo, presentan una frecuencia respiratoria inferior.

Biblioteca
UNIVERSITAS Miguel Hernández

3. OBJETIVOS

Objetivos Generales

- Evaluar la relación entre los patrones de movimiento espontáneo y la frecuencia respiratoria en crías de ratón durante el desarrollo postnatal temprano, como posible marcador indirecto del estado mental.

Objetivos Específicos

1. Registrar y clasificar los movimientos espontáneos de crías de ratón de 2 y 6 días postnatales mediante análisis de video, diferenciando entre movimientos generales y espasmos.
2. Extraer y analizar la señal respiratoria a partir de variaciones en la intensidad de regiones específicas del cuerpo en registros de vídeo.
3. Correlacionar cuantitativamente la frecuencia respiratoria con la ocurrencia de los distintos tipos de movimientos espontáneos.

Biblioteca
UNIVERSITAS Miguel Hernández

4. MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo consistió en un estudio observacional de crías de ratones en el que realizamos grabaciones de vídeo a partir de los cuales extrajimos información, mediante códigos desarrollados en Matlab, sobre el comportamiento motor, el patrón respiratorio y su interrelación.

Ratones

Utilizamos 4 crías de ratones provenientes del animalario RMG del Instituto de Neurociencias de Alicante. La evaluación ética del trabajo la realizó la Oficina de Investigación Responsable (OIR) de la UMH, la cual nos otorgó la autorización que lleva el código TFG.GFI.FJM.ACN.250306. La edad de las crías era 2 y 6 días postnatales (P2 y P6). Los ratones pertenecen a líneas experimentales del laboratorio López-Bendito. Antes de que fueran utilizados para los experimentos programados, fueron colocados en una placa de Petri a 37 ºC y grabados con una cámara en posición cenital.

Adquisición de las películas

El tamaño de las imágenes grabadas fue de 3840x2160 píxeles, con una resolución espacial aproximada de 27 píxeles por milímetro. La duración total fue aproximadamente 4 minutos, con una resolución temporal de 60 imágenes o cuadros por segundo. Por tanto, cada película contiene cerca de 15.000 cuadros. La profundidad de las imágenes la establecimos en 10 bits. Posteriormente, los vídeos fueron procesados mediante códigos personalizados desarrollados en MATLAB.

Procesamiento de las películas

Los vídeos originales fueron grabados en formato MOV y posteriormente preprocesados para reducir el tamaño y descartar el contenido irrelevante. De esta manera, evitamos la saturación de los códigos de análisis utilizados a continuación. Brevemente, el preprocesado consiste en recortar manualmente el área de interés del vídeo (para centrar la región donde se encuentra la cría), reducir el tamaño de las películas aplicando un “binning” de factor 4 y en escalated de grises, ya que la información del color no es relevante para los análisis posteriores. Cada vídeo se guardó en un nuevo archivo comprimido en

formato AVI, manteniendo la tasa de fotogramas original de 60 FPS y ajustando la calidad para lograr un equilibrio entre compresión y visibilidad. Por último, segmentamos manualmente los vídeos en bloques temporales o "substacks" de hasta 1500 cuadros o más cortos si son delimitados por momentos de movimientos bruscos.

Selección de regiones de interés (ROIs) y extracción de intensidad media

Para la extracción de señales fisiológicas a partir de cambios de intensidad en regiones específicas del cuerpo del animal, mediante un código interactivo en MATLAB seleccionamos múltiples regiones de interés (ROIs) y se calcula la intensidad media de píxeles dentro de cada una de ellas a lo largo del tiempo. Para cada ROI, se calcula la derivada temporal de la señal de intensidad y se aplica un umbral de movimiento, definido inicialmente por el usuario (por defecto: 10 unidades arbitrarias). Los puntos que superan este umbral se marcan como afectados por movimiento, y el umbral puede ajustarse interactivamente por el usuario en una interfaz gráfica. Esta detección de movimiento se suaviza con una ventana móvil de 0.5 segundos para evitar falsos positivos aislados. El movimiento artefactual detectado por este procedimiento se comprueba en las películas para confirmarlo. La señal cruda se filtra con un filtro pasabanda (1–20 Hz) para aislar la componente respiratoria y estabilizar la línea de base. Las señales filtradas y alineadas de todas las ROIs se combinan mediante un promedio. Se aplica una máscara global de movimiento (construida como la unión de todas las máscaras individuales por ROI) para anular temporalmente los segmentos contaminados.

Detección de picos respiratorios y cálculo de frecuencia

Se identifican los picos de la señal compuesta libre de movimiento usando criterios de prominencia mínima y distancia mínima entre picos (≥150 ms). A partir del intervalo entre picos sucesivos, se calcula la frecuencia respiratoria instantánea. Las estimaciones contaminadas por movimiento entre dos picos consecutivos se descartan automáticamente. Se guarda también el valor medio de la frecuencia respiratoria para todo el periodo limpio.

Comportamiento motor

Los videos fueron analizados utilizando el programa "BORIS", que permitió categorizar los movimientos y medir la duración exacta de cada uno. Para ello, fue necesario revisar cada grabación en varias ocasiones, tanto a velocidad normal como a velocidad reducida (0,2X), a fin de determinar con precisión el inicio y el final de cada comportamiento, en particular los movimientos generales y espasmódicos. Las grabaciones fueron revisadas de manera independiente por dos observadores.

Conversión de anotaciones de comportamiento desde Excel a MATLAB

Para relacionar la actividad respiratoria con el comportamiento del animal, se utilizaron anotaciones manuales registradas previamente en archivos de Excel. Estas anotaciones incluían el tiempo de ocurrencia de eventos, la categoría de comportamiento observada y el estado general del animal. Hemos escrito un código en MATLAB que automatiza la extracción de esta información y la convierte a un formato compatible con MATLAB para su posterior sincronización con las señales fisiológicas.

Interpolación y suavizado de la señal respiratoria

La frecuencia respiratoria se interpola linealmente sobre un vector temporal común (all_times) que unifica todos los bloques (porque la frecuencia de muestreo de las diferentes variables no coinciden). Luego, se aplica un filtro de media móvil con ventana de 3 segundos para suavizar la señal. Se realiza el mismo suavizado sobre la señal de movimiento corporal. Finalmente, se calculan los coeficientes de correlación de Pearson entre: la frecuencia respiratoria y la señal binaria de movimiento general, la frecuencia respiratoria y la señal binaria de espasmos, y la frecuencia respiratoria y la señal continua de movimiento corporal.

5. RESULTADOS

Analizamos los movimientos corporales de 4 crías de ratones con el programa BORIS (Behavioral Observation Research Interactive Software). Nuestro análisis se basó en observaciones de dos tipos de comportamientos motores: movimientos generales y espasmos, registrados en diferentes sujetos (dos ratones P2 y dos ratones P6), y se extraen variables cuantitativas como duración, frecuencia e intervalos entre eventos (**Tabla 1**).

Observamos como los movimientos generales fueron más frecuentes que los espasmos en todos los sujetos, y además tuvieron mayor duración media. Los ratones P6 destacan por tener movimientos generales más prolongados, lo que podría reflejar que estaban más activos o que su comportamiento era más variable.

En cuanto a los espasmos, fueron eventos breves y poco frecuentes, especialmente en los sujetos P6, y los intervalos entre estos eventos fueron los más largos del conjunto.

El porcentaje de duración sobre el total fue mayor en R1P2 (3.8% para movimientos generales), mientras que en espasmos el máximo fue 1.9% (también en R1P2), indicando que estas conductas solo ocupan una fracción menor del tiempo total registrado.

Por tanto, los datos obtenidos mediante BORIS muestran un patrón consistente donde los movimientos generales dominan en duración y frecuencia frente a los espasmos.

En paralelo, utilizando programas creados en Matlab, analizamos los movimientos respiratorios de las crías (**Figuras 1 y 2**). Las imágenes de las crías P6 permitieron completar el análisis y obtener datos fiables. Sin embargo, las imágenes de las crías P2 arrojaron datos difíciles de interpretar. En estos animales, los cambios en intensidad que reflejan los ciclos inspiración-espiración fueron muy tenues y, por tanto, indistinguibles del ruido de base.

En la **Figura 3** mostramos cómo se detectan los cuadros de la película en los que el movimiento del animal no permite medir la respiración. La señal del gráfico del panel superior muestra aproximadamente 50 segundos de los cambios en intensidad registrados en el ROI 2 durante uno de los

experimentos. La señal se mantuvo estable durante los primeros 40 segundos, con pequeñas variaciones normales. A partir del segundo 43, observamos cambios bruscos en la señal, lo que sugiere la presencia de artefactos provocados por el movimiento del ratón.

Para detectar de manera consistente la presencia de movimientos corporales excesivos, calculamos la diferencia en el valor de los píxeles en cuadros sucesivos. Como lo único que se mueve en el campo visual es el animal, grandes diferencias significan grandes movimientos. Esta diferencia la elevamos al cuadrado para evitar valores negativos y generamos la señal del gráfico del panel inferior en la **Figura 3**. En este gráfico, los valores que superan un umbral (*Threshold*) determinado de manera empírica indican posibles artefactos de movimiento. De esta manera, fue posible identificar, señalar (con asteriscos en rojo) y descartar los periodos afectados por el movimiento.

En cada experimento o película, la información de los 4 ROIs se integra con la detección de movimiento para conservar sólo los cuadros útiles de la secuencia. Para ello, creamos una máscara binaria que genera segmentos contínuos donde los cuadros inestables son más frecuentes (**Figura 4, panel inferior**). Una vez descartados los cuadros con artefactos, filtramos la señal de intensidad para estabilizar la línea de base y resaltar las frecuencias en las que sabemos se encuentra el ritmo respiratorio (**Figura 4, panel central**; el panel superior muestra los datos sin filtrar).

Para calcular la frecuencia respiratoria, promediamos los 4 trazos de los 4 ROIs y sobre esta señal conjunta realizamos una detección de picos (**Figura 5, panel superior; Figura 6**). Observamos la presencia regular de picos, lo que indica una buena detección de un patrón de respiración continua. Cuantificamos este patrón calculando la frecuencia de respiración instantánea (**Figura 5, panel inferior**). Cada punto proviene de calcular la inversa de la duración de los intervalos entre picos detectados. La frecuencia respiratoria media en el ejemplo de la figura fue de 3,79 Hz (alrededor de 227 respiraciones por minuto), variando entre 2 y 6 Hz durante toda la medición. Las zonas de mayor variabilidad (por ejemplo, entre 5–10 segundos y 40–50 segundos), correspondiente con una respiración más rápida, más profunda o más agitada, lo cual podría indicar un cambio de estado fisiológico, estrés, o movimiento residual.

El objetivo principal del trabajo es buscar si existe alguna relación entre el patrón respiratorio y el estado mental reflejado en el comportamiento motor. Por tanto, además del patrón respiratorio, hemos extraído etiquetado en las películas los diferentes tipos de movimientos corporales presentes a estas edades en crías de ratones: movimientos generales y espasmos (**Figura 7**). Los movimientos generales se presentaron de manera intermitente (**Figura 7, segundo panel**). En contraste, los espasmos fueron eventos poco frecuentes y breves (**Figura 7, tercer panel**). Además de estos dos tipos de movimientos, calculamos una tercera señal de movimiento que abarca todo tipo de movimiento (**Figura 7, cuarto panel**). Esta señal inespecífica proviene de la diferencia en los valores de intensidad de todos los píxeles en imágenes sucesivas. La señal respiratoria (**Figura 7, primer panel**) se mantuvo relativamente estable, lo que indica una adecuada separación entre la actividad respiratoria y el ruido por movimiento.

Para establecer si existe correlación entre la respiración y el comportamiento motor realizamos un análisis de correlación entre ambas señales. En concreto, hemos utilizado el coeficiente de correlación de Pearson (r). Para la cría P6_1, obtuvimos que las correlaciones con cada una de las señales motoras fueron las siguientes:

- **Movimientos generales**: $r = 0{,}199$; $p < 0{,}001$
- **Espasmos**: $r = 0{,}047$; $p < 0{,}001$
- **MOV**: $r = 0{,}135$; $p < 0{,}001$

Las correlaciones son estadísticamente significativas ($p < 0{,}001$), aunque de baja magnitud. Esto sugiere una débil sincronización entre respiración y las variables de comportamiento. Especialmente, los espasmos no presentan una relación notable con la respiración.

Estos son los resultados para la cría P6_2:

- **Movimientos generales**: $r = 0{,}284$; $p < 0{,}001$
- **Espasmos**: $r = 0{,}164$; $p < 0{,}001$
- **MOV**: $r = 0{,}391$; $p < 0{,}001$

El comportamiento motor que mejor se correlaciona con la respiración son los movimientos generales. Por el contrario, los espasmos presentaron correlaciones más bajas. Los movimientos en su conjunto, ya sean generales, espasmos o de otro tipo presentaron las correlaciones más altas. El hecho de que todas las correlaciones sean estadísticamente significativas ($p < 0,001$ en todos los casos) nos muestra que, aunque no son fuertes, las asociaciones son consistentes.

Biblioteca
UNIVERSITAS Miguel Hernández

6. DISCUSIÓN

Este trabajo ha permitido analizar la relación entre el comportamiento motor espontáneo y la actividad respiratoria en crías de ratón durante los primeros días de vida. Los hallazgos obtenidos refuerzan la idea de que la respiración podría ser un indicador útil del estado de consciencia. Conocer en qué estado mental se encuentra el sujeto estudiado es fundamental ya que afecta a variables como el tipo de actividad eléctrica neuronal y los circuitos neuronales que la generan (14, 15).

Uno de los principales resultados ha sido la confirmación de la clara predominancia de los movimientos generales sobre los espasmos, tanto en frecuencia como en duración. Ambos tipos de movimientos, ya descritos en humanos como un reflejo del desarrollo cerebral saludable, también se manifiestan en roedores y podrían tener funciones similares en la organización de circuitos sensoriomotores en formación (14). Estudios previos han mostrado que estos movimientos espontáneos ayudan a moldear la actividad cortical a través de la estimulación sensorial interna, es decir, producida por el propio cuerpo del animal durante el sueño activo (15). Esta estimulación es clave para el desarrollo funcional de la corteza somatosensorial y motora, especialmente durante la fase neonatal.

Si bien no pudimos cuantificar los movimientos de las crías P2, nuestras observaciones personales indican que las crías de seis días de edad (P6) presentan movimientos generales más prolongados y mejor definidos que las de dos días (P2). Los cambios observados en P6 corresponden a una progresión normal del desarrollo motor, coherente con la literatura que describe cómo el control motor se vuelve más refinado a medida que madura la conectividad neuronal, especialmente entre estructuras subcorticales y corticales (16). Además, esta observación es paralela a estudios en modelos animales que muestran que la maduración de las redes neuronales ocurre de forma escalonada, con una participación progresiva de estructuras corticales en la regulación del comportamiento motor (17). En estudios futuros, sería interesante encontrar la manera de analizar crías más jóvenes que P6 para poder extraer datos de la progresión temporal, no solo del patrón motor, sino también de los cambios asociados en la respiración.

Un hallazgo interesante fue la correlación positiva entre los movimientos generales y la actividad respiratoria, en los sujetos P6. Este resultado sugiere una creciente coordinación entre sistemas fisiológicos que en etapas iniciales actúan de forma más independiente. Investigaciones realizadas en modelos de ratón han mostrado que la respiración y el movimiento pueden coordinarse a través de neuronas bimodales en la médula espinal, capaces de recibir y procesar señales tanto del generador respiratorio como de los circuitos locomotores (18). Esta coordinación, aún tenue en neonatos, podría estar sentando las bases para patrones motores complejos como la locomoción y la vocalización.

En cambio, los espasmos no mostraron una relación clara con la actividad respiratoria. Esto refuerza la hipótesis de que se trata de eventos aislados, posiblemente mediados por reflejos espinales u oscilaciones subcorticales, en lugar de formar parte de una red motora central coordinada. Estudios recientes han identificado que los movimientos mioclónicos del sueño en ratas recién nacidas se originan de manera independiente a la actividad cortical, reflejando así la actividad espontánea de redes más primitivas (19).

Es posible que el escaso tiempo total en el que ocurren los espasmos impida un análisis robusto ya que esperaríamos que se asociara a una frecuencia respiratoria menor comparada con la respiración asociada a los movimientos generales. Por consiguiente, sería importante obtener datos a edades más tempranas, cuando los espasmos representan un porcentaje mayor de los movimientos totales (20),

Además, el análisis conjunto de señales motoras y respiratorias ha resultado útil para explorar la relación entre diferentes sistemas en desarrollo. Sin embargo, el tamaño reducido de la muestra y las dificultades técnicas en el registro de algunas señales limitan la generalización de los resultados. Respecto a la parte técnica, futuros estudios podrían beneficiarse del uso de herramientas de neuroimagen o electrofisiología para validar estas observaciones, como se ha comenzado a hacer con técnicas de videoanálisis automatizado que permiten detectar de forma temprana alteraciones en el desarrollo motor (21). Por otro lado, como finalmente solo hemos estudiado dos crías por edad contando los ratones P2, es necesario aumentar el tamaño muestral para poder realizar comparaciones

estadísticas válidas entre edades u otros factores de variabilidad (género, especie, tratamiento, entre otros).

En resumen, los datos obtenidos apoyan la hipótesis de que existe una asociación funcional entre los sistemas motor y respiratorio durante las primeras fases del desarrollo postnatal. En consecuencia, los cambios en la frecuencia respiratoria podrían ser un indicador del estado mental. Este tipo de estudios son esenciales para comprender mejor la base neurobiológica del comportamiento espontáneo y su valor como marcador de maduración cerebral.

Biblioteca
UNIVERSITAS Miguel Hernández

7. CONCLUSIONES

Los principales hallazgos confirmatorios u originales de este trabajo pueden resumirse en los siguientes puntos:

1. Predominio de movimientos generales: En todas las crías observadas, los movimientos generales fueron más frecuentes y duraderos que los espasmos. Esto coincide con la literatura previa, que los considera una expresión natural y positiva del desarrollo neurológico temprano (1,2,3).

2. Diferencias según la edad (datos no cuantificados): Las crías más desarrolladas (P6) presentaron movimientos generales más largos y variados, lo que sugiere un progreso en la coordinación motora con la edad. Los espasmos, por el contrario, fueron menos frecuentes en este grupo, lo que podría reflejar una disminución de comportamientos inmaduros (4,5).

3. Detección del patrón respiratorio: La respiración genera movimientos superficiales más amplios en las crías de mayor edad y, por tanto, facilita su medición con las técnicas empleadas. En las más jóvenes (P2), la señal generada por la respiración es más sutil debido a la baja amplitud de las oscilaciones que provoca en la superficie corporal y, probablemente también, a la inmadurez del control autónomo en los primeros días de vida (7,10).

4. Relación entre respiración y movimiento: Aunque las correlaciones encontradas fueron débiles, sí se observó una relación significativa entre la respiración y los movimientos generales. Creemos que esta relación será más evidente en crías de mayor edad, lo que podría reflejar una progresiva coordinación entre distintos sistemas fisiológicos (8,11,12).

5. Aplicaciones futuras: Este tipo de análisis podría aplicarse en estudios de desarrollo neurológico en otras especies o contextos clínicos, como herramienta no invasiva para detectar alteraciones del desarrollo, tal como se ha propuesto en neonatología humana (13).

Estos hallazgos refuerzan la importancia de los movimientos generales como indicadores del estado neurológico y abren nuevas posibilidades para el seguimiento temprano del desarrollo cerebral, tanto en investigación como en la práctica clínica.

Biblioteca
UNIVERSITAS Miguel Hernández

8. ANEXO DE FIGURAS Y TABLAS

	Subject	Behavior	Modifiers	Total number of occurences	Total duration (s)	Duration mean (s)	Duration std dev	inter-event intervals mean (s)	inter-event intervals std dev	% of total length
1	R1P2	Mov. generales		33	36.582	1.109	0.619	6.450	11.237	3.8
2	R1P2	Espasmos		32	18.534	0.579	0.334	6.611	7.088	1.9
3	R2P2	Mov. generales		18	21.516	1.195	0.738	13.842	22.766	2.2
4	R2P2	Espasmos		19	14.230	0.749	0.306	11.510	11.559	1.5
5	R1P6	Mov. generales		22	33.084	1.504	1.641	9.920	8.048	3.4
6	R1P6	Espasmos		4	2.034	0.509	0.206	20.544	9.988	0.2
7	R2P6	Mov. generales		16	28.318	1.770	1.678	12.950	8.522	2.9
8	R2P6	Espasmos		7	6.051	0.864	0.585	33.464	31.318	0.6

Tabla 1. *Tabla generada en BORIS que resume el comportamiento motor, indicando la distribución y características temporales de los eventos clasificados como movimientos generales y espasmos en 2 crías de ratones de 2 días de edad (R1P2 y R2P2) y 2 crías de 6 días de edad (R1P6 y R2P6).*

Biblioteca
UNIVERSITAS Miguel Hernández

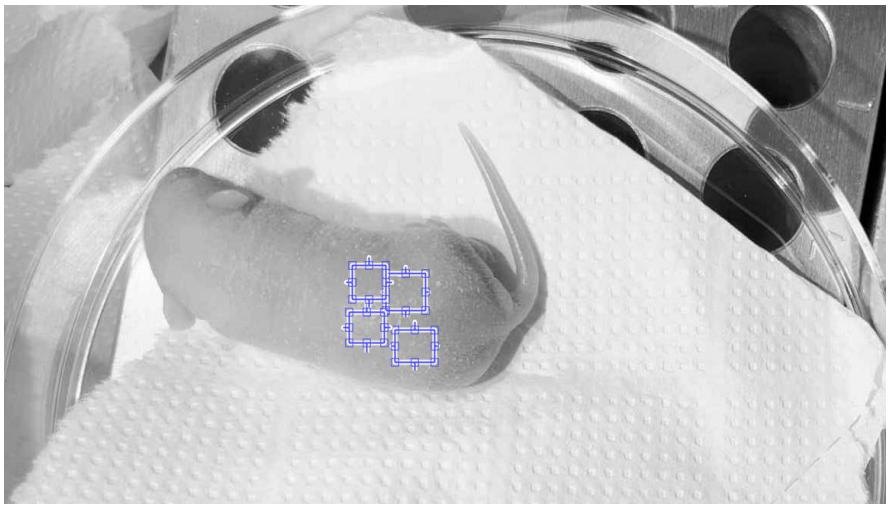

Figura 1. *Fotograma de una de las grabaciones de crías P6. Los recuadros azules son las regiones de interés (ROIs) dibujados por el usuario. De cada ROI, el programa obtiene la intensidad media de los píxeles en cada fotograma. De esta manera, por cada cría, obtuvimos 4 trazos que reflejan los movimientos respiratorios como cambios en la intensidad media de luz a lo largo del tiempo.*

Biblioteca
UNIVERSITAS Miguel Hernández

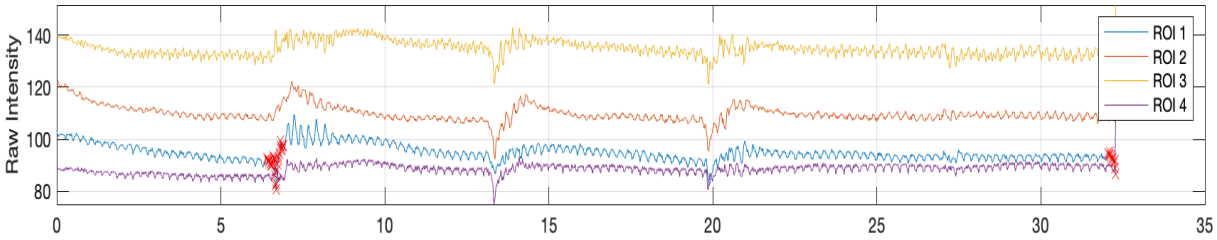

Figura 2. *Los 4 trazos obtenidos de cada ROI de la Figura 1. Las oscilaciones regulares presentes a lo largo de todo el trazo representan los ciclos respiratorios capturados en cada ROI. Los asteriscos rojos indican puntos descartados por excesivo movimiento del animal. El eje horizontal representa el tiempo en segundos.*

Biblioteca
UNIVERSITAS Miguel Hernández

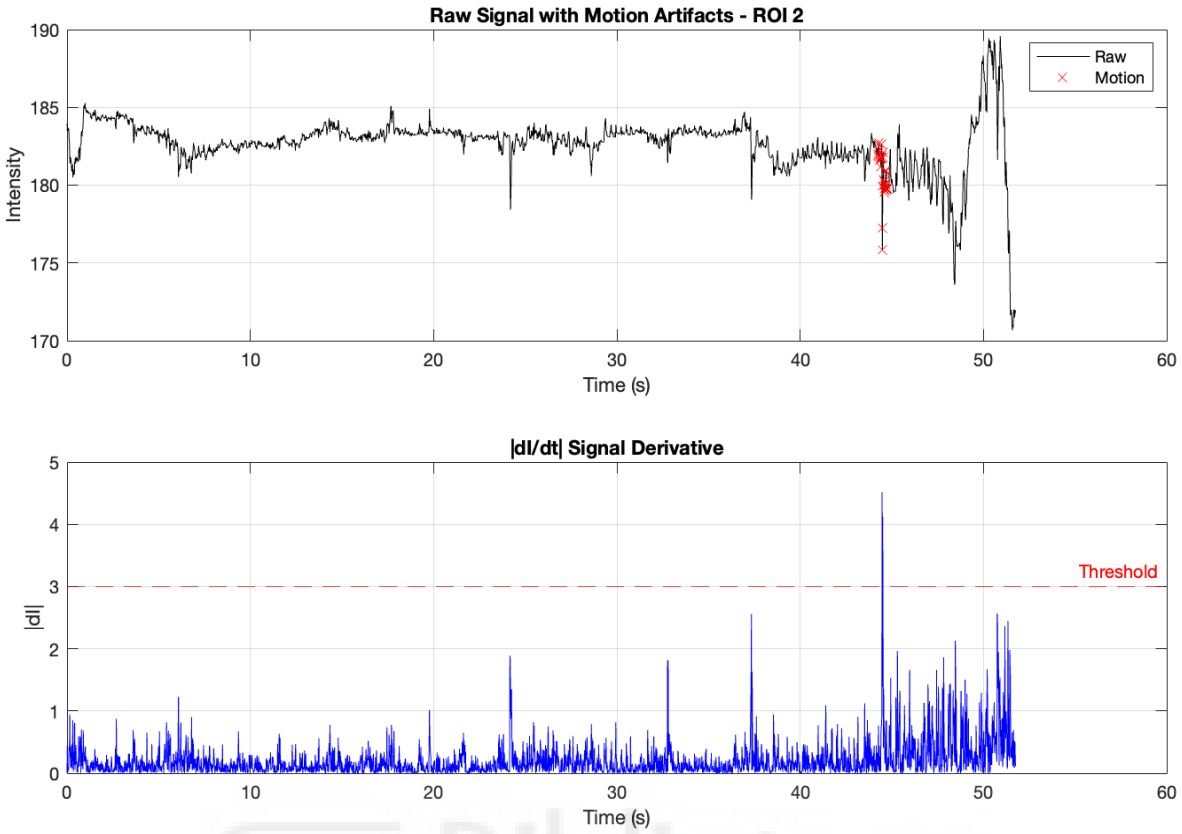

Figura 3*. Señal de intensidad con detección de artefactos de movimiento en ROI 2 de la Figura 2. Panel superior: La línea negra muestra la señal, mientras que las cruces rojas indican los puntos identificados como artefactos de movimiento. Panel inferior: Derivada temporal de la señal (|dI/dt|), utilizada para detectar cambios bruscos. La línea roja discontinua representa el umbral a partir del cual se considera la presencia de un artefacto. Como comprobación final, el usuario comprueba en la película el período detectado como posible movimiento artefactual.*

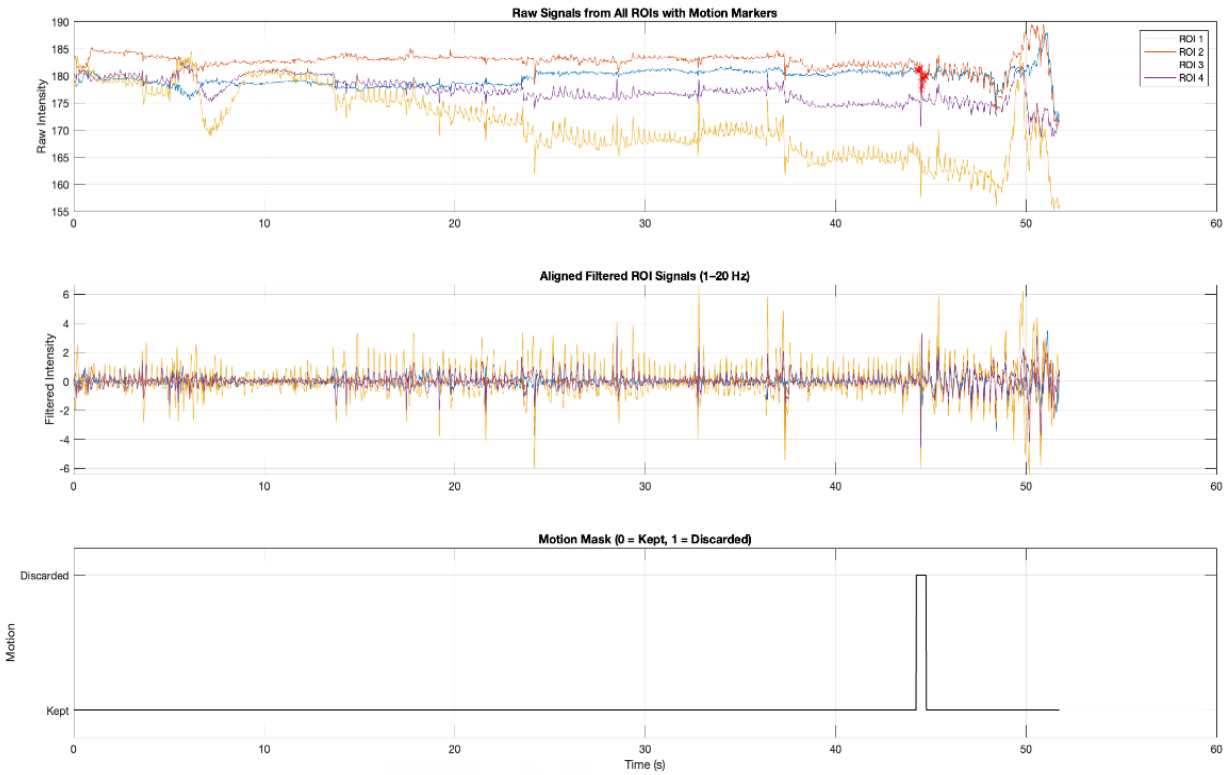

Figura 4. *Ejemplo del procesamiento de señales de cuatro regiones de interés (ROIs) con detección de movimiento en una cría P6. Panel superior: Señales de intensidad para cada ROI. Las cruces rojas indican puntos donde se detectaron artefactos de movimiento. Panel central: Señales alineadas y filtradas (1–20 Hz). Panel inferior: Máscara de movimiento binaria, donde los valores en 1 indican segmentos descartados debido al artefacto motor.*

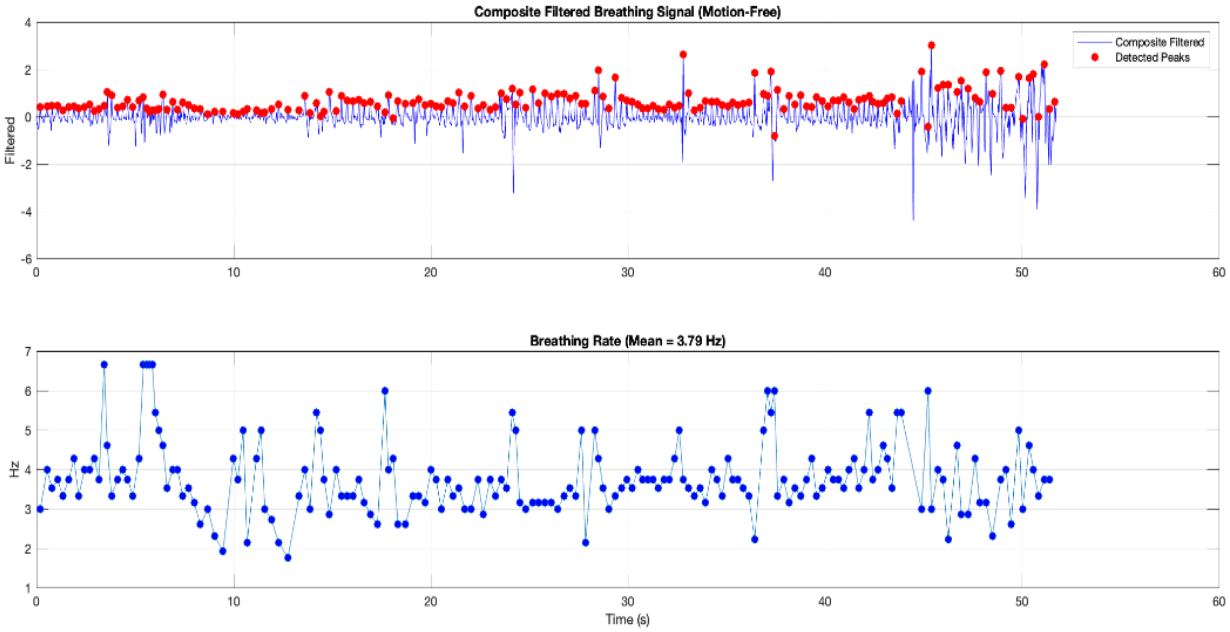

Figura 5. *Panel superior: Ejemplo de señal respiratoria compuesta y filtrada con los picos respiratorios detectados marcados en rojo de una cría P6. Panel inferior: Progresión de la frecuencia respiratoria instantánea a lo largo del tiempo, con un valor medio de 3,79 Hz.*

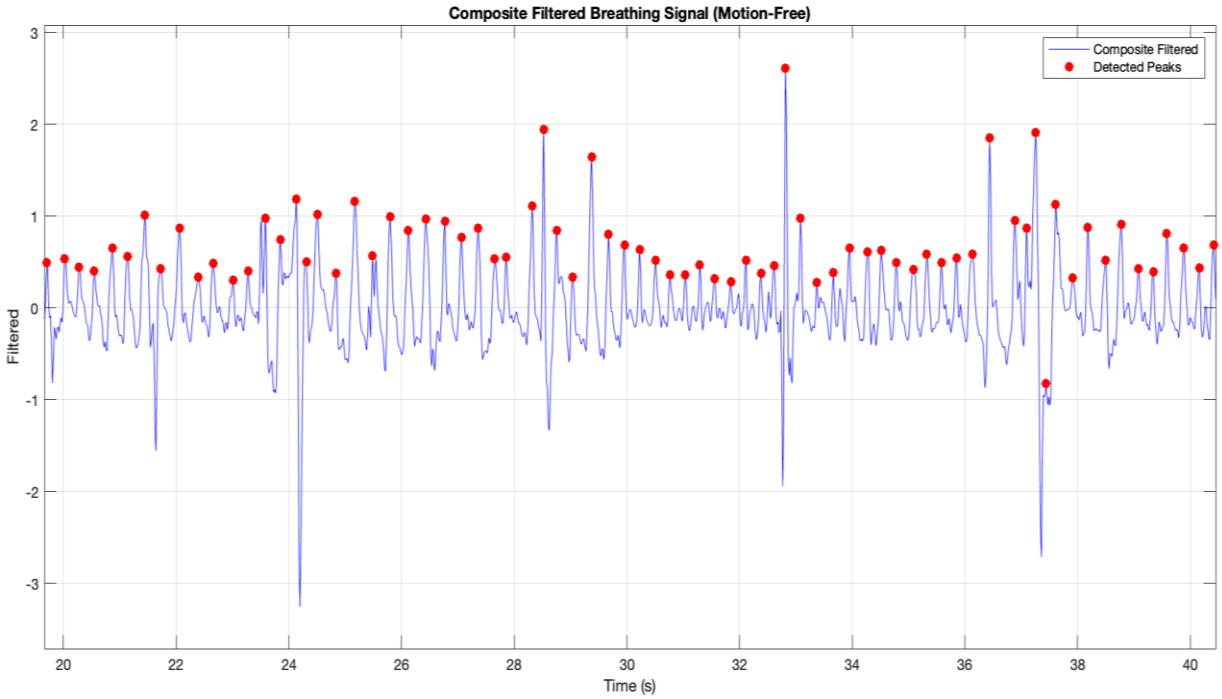

Figura 6. *Ampliación de la señal respiratoria del panel superior de la Figura 5. Mostramos la señal entre los segundos 20 y 40. Se observan con claridad las oscilaciones de la señal respiratoria y la eficiencia de la detección de los picos (puntos rojos).*

Biblioteca
UNIVERSITAS Miguel Hernández

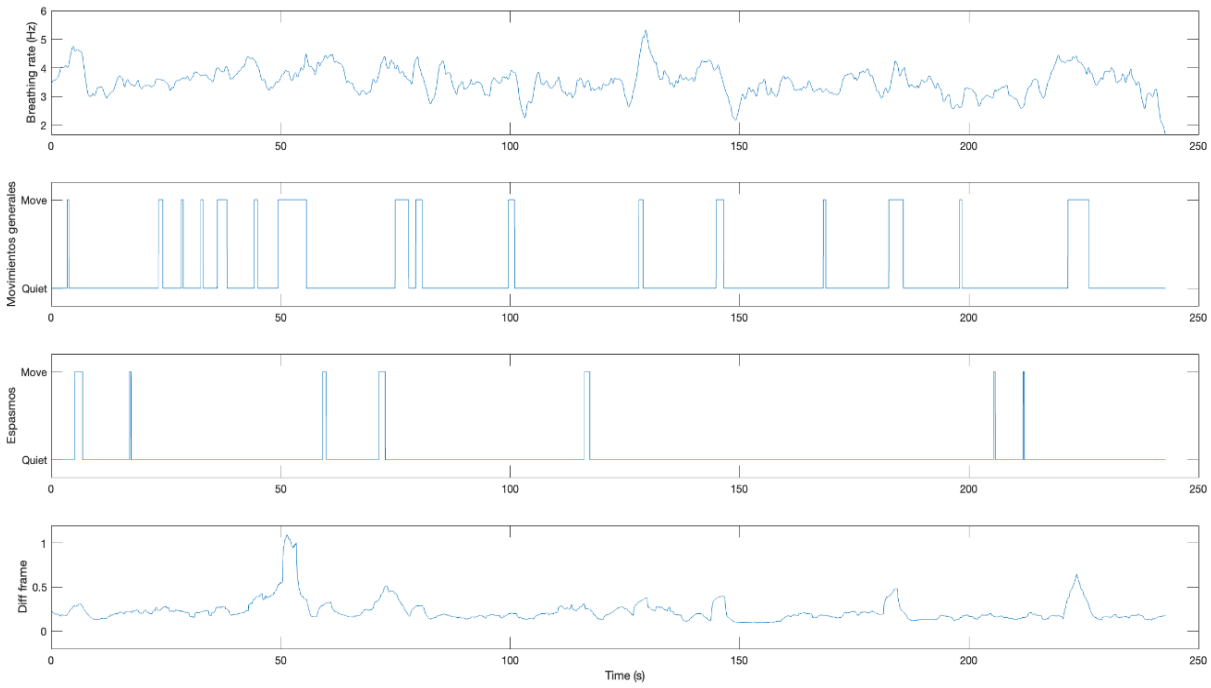

Figura 7. *Ejemplo de análisis simultáneo de la frecuencia respiratoria (arriba), los movimientos generales, espasmos (segundo y tercer panel, respectivamente) y la diferencia entre cuadros (cuarto panel) a lo largo de 250 segundos. Se observa variabilidad respiratoria y eventos de movimiento esporádicos, con escasa aparición de espasmos. La señal de diferencia de imagen presenta picos coincidentes con la actividad motora.*

9. REFERENCIAS

1. Prechtl HF. State of the art of a new functional assessment of the young nervous system. An early predictor of cerebral palsy. Early Hum Dev. 1997;50(1):1–11.
2. Einspieler C, Prechtl HF, Bos AF, Ferrari F, Cioni G. Prechtl's method on the qualitative assessment of general movements in preterm, term and young infants. London: Mac Keith Press; 2004.
3. Ferrari F, Cioni G, Einspieler C, Roversi MF, Bos AF, Paolicelli PB. Cramped synchronized general movements in preterm infants as an early marker for cerebral palsy. Arch Pediatr Adolesc Med. 2002;156(5):460–7.
4. Volpe JJ. Neurology of the Newborn. 5th ed. Philadelphia: Elsevier; 2008.
5. Lombroso CT. Neonatal myoclonus: observations from long-term EEG video monitoring. Neurology. 1993;43(4):701–7.
6. Blumberg MS, Dooley JC, Sokoloff G. 2020. The developing brain revealed during sleep. *Curr. Opin. Physiol.* 15:14–22
7. Dooley JC, Sokoloff G, Blumberg MS. 2019. Behavioral states modulate sensory processing in early development. *Current Sleep Medicine Reports*. 5(3):112–17
8. Grigg-Damberger MM. The visual scoring of sleep in infants 0 to 2 months of age. J Clin Sleep Med. 2016;12(3):429–45.
9. Anders TF, Emde RN, Parmelee AH. A manual of standardized terminology, techniques and criteria for scoring of states of sleep and wakefulness in newborn infants. UCLA Brain Information Service/Brain Research Institute; 1971.
10. Pillay K, Matic V, De Vos M, Naulaers G, Vanhatalo S. Neonatal sleep patterns: A window into brain development. Front Neurosci. 2020;14:525.
11. Blumberg MS, Marques HG, Iida F. Twitching in sensorimotor development from sleeping rats to robots. Curr Biol. 2013;23(12):R532–7.
12. Seelke AMH, Blumberg MS. The microstructure of active and quiet sleep as cortical delta activity emerges in infant rats. Sleep. 2010;33(6):684–91.

13. Adde L, Helbostad JL, Jensenius AR, Taraldsen G, Støen R. Early prediction of cerebral palsy by computer-based video analysis of general movements: a feasibility study. Dev Med Child Neurol. 2010;52(8):773–8.
14. Khazipov R, Luhmann HJ. Early patterns of electrical activity in the developing cerebral cortex of humans and rodents. *Trends Neurosci.* 2006;29(7):414–418. doi:10.1016/j.tins.2006.05.007.
15. Blumberg MS, Seelke AMH. The form and function of infant sleep: From muscle twitches to sensorimotor development. *Curr Dir Psychol Sci.* 2010;19(1):32–37. doi:10.1177/0963721409359282.
16. Colonnese MT, Phillips MA. Thalamocortical function in developing sensory circuits. *Curr Opin Neurobiol.* 2018;52:72–79. doi:10.1016/j.conb.2018.04.002.
17. Gee JM, Keller D, Lacerda CM, Roberts MT. A developmental shift in excitation–inhibition balance accelerates active sleep rhythms in rat cortex. *eLife*. 2021;10:e64066. doi:10.7554/eLife.64066.
18. Morin D, Juvin L, Simmers J. Bimodal respiratory–locomotor neurons in the neonatal rat spinal cord. *J Neurosci.* 2017;37(5):1224–1236. doi:10.1523/JNEUROSCI.2679-16.2016.
19. Karlsson KA, Blumberg MS. Active medullary control of atonia in week-old rats. *Neuroscience*. 2005;130(2):275–283. doi:10.1016/j.neuroscience.2004.09.042.
20. Blumberg MS, Rattenborg NC. 2017. Decomposing the evolution of sleep. *Beyond Evol. Sens. Syst.* 2017; p. 523–45.
21. Adde L, Helbostad JL, Jensenius AR, Taraldsen G, Støen R. Early prediction of cerebral palsy by computer-based video analysis of general movements: a feasibility study. *Dev Med Child Neurol.* 2010;52(8):773–778. doi:10.1111/j.1469-8749.2010.03629.x.