



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
SECRETARÍA DE SALUD
INSTITUTO NACIONAL DE REHABILITACIÓN**

**Efectos neurológicos de la ligadura de la carótida
común izquierda e hipoxia inducida en ratas neonatas.**

T E S I S

Que para obtener el título
de médico especialista en
Medicina de Rehabilitación
presenta:

Dra. Jimena Quinzaños Fresendo.

Profesor titular:

Dr. Luis Guillermo Ibarra

Asesores:

Dra. En C. Hilda Villegas Castrejón

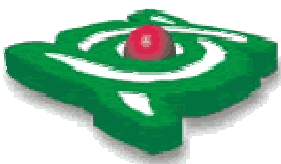
Dr. En C. Emilio Arch Tirado

Dra. Martha Griselda Del Valle Cabrera

Dr. Saúl Renan León

México, D.F.

Febrero 2007





Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a todos aquellos que hicieron posible esta investigación, a mis asesores que no dejaron de enseñarme y apoyarme, al Dr. Roberto Coronado quien empezó este proyecto conmigo, al MVZ Hugo Lecona, al Ingeniero Fidel y al técnico Juan Licona quienes me dieron su tiempo y al Dr. Alfonso Alfaro y el Dr. Rigoberto Piña por sus importantes aportaciones. En particular quiero agradecer al MVZ Antonio Verduzco quien no solo trabajó a mi lado sino me mostró su amistad todo este tiempo y a mi familia que siempre estuvo a mi lado.

A mi Ranas, gracias por ser mi compañero.

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MÉXICO
FACULTA DE MEDICINA
INSTITUTO NACIONAL DE REHABILITACIÓN**

ÍNDICE

RESUMEN.....	Página 1
INTRODUCCIÓN.....	Página 2
Justificación y marco teórico.....	Página 2
Objetivo.....	Página 6
MATERIAL Y MÉTODOS.....	Página 6
Sujetos.....	Página 6
Lesión hipóxico isquémica.....	Página 7
Evaluación neurológica.....	Página 7
Análisis estadístico.....	Página 9
RESULTADOS.....	Página 9
DISCUSIÓN.....	Página 16
CONCLUSIÓN.....	Página 19
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	Página 19

Efectos neurológicos de la ligadura de la carótida común izquierda e hipoxia inducida en ratas neonatas.

RESUMEN

Introducción: La encefalopatía hipóxico-isquémica es causa de discapacidad en la población infantil. Uno de los modelos animales más utilizados de encefalopatía hipóxico-isquémica en un cerebro inmaduro es la preparación de Levine aplicada por Rice en ratas neonatas y que consiste en ligadura de arteria carótida común izquierda e hipoxia.

Objetivo: Estudiar los efectos neurológicos de la ligadura de la carótida común izquierda e hipoxia inducida en ratas neonatas.

Material y métodos: Se incluyeron 5 ratas control, 5 ratas sham y 5 ratas con lesión hipóxico-isquémica mediante la aplicación de la preparación de Levine a ratas de 7 días de edad. A los 42 días se evaluaron todas las ratas mediante el tiempo de agarre de una varilla, la prueba del reflejo posterior y el análisis de la actividad locomotora espontánea (bipedestaciones, número de casillas pisadas, tiempo de acicalado). Se realizó el análisis estadístico mediante pruebas *post hoc*.

Resultados: El grupo con lesión presentó menor tiempo de agarre, menor número de respuestas adecuadas en el reflejo posterior y menor número de casillas pisadas ($p=0.024$, 0.002 y 0.0001 respectivamente). No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el tiempo de acicalado ni en el número de bipedestaciones, aunque en éste último parece que la variable peso por sexo fue confusora.

Conclusiones: Las ratas neonatas en quienes se aplicó la preparación de Levine presentaron alteraciones clínicas que pueden semejar algunos de los signos que acompañan a la parálisis cerebral infantil (problemas en prensión, respuesta a reflejos posturales y locomoción).

INTRODUCCIÓN

La encefalopatía neonatal ocurre en 1-6 de cada 1000 recién nacidos de término y es una de las principales causas de discapacidad en el neurodesarrollo (1). El 25% de los pacientes que sobreviven a la encefalopatía neonatal presentan déficit clínicos permanentes, particularmente motores y cognitivos, que en conjunto representan a la parálisis cerebral infantil (PCI) (2). El avance en los cuidados intensivos neonatales ha sido un factor determinante en el aumento de la frecuencia de esta patología, debido a la viabilidad temprana de los productos (3). Actualmente, se reporta una incidencia en Estados Unidos de PCI moderada y severa de 2.5 por mil nacidos vivos (4). En México, en el año de 1995, habían 2 121 365 personas con PCI, con una tasa nacional para el grupo de 6 a 12 años de 11.55 por cada mil habitantes (5). De acuerdo al programa de prevención y rehabilitación de la discapacidad (PeverR-DIS), la incidencia anual de discapacidad por PCI es de 12,000. El compromiso del personal médico y paramédico es la prevención, el diagnóstico y el tratamiento de esta patología así como la propuesta y el diseño de nuevas técnicas terapéuticas (2).

El uso y producción de modelos animales en la investigación científica biomédica, tiene como finalidad esclarecer los mecanismos básicos del

mantenimiento, pérdida y restablecimiento de la salud. Los modelos de lesión hipóxico-isquémica (HI) prenatal/neonatal se han utilizado desde hace más de 20 años y se han realizado revisiones periódicas de los mismos con el objetivo de generar información relacionada con la variedad, la frecuencia de uso y lo apropiado de los modelos animales en especies grandes y pequeñas para el estudio de lesión cerebral en el periodo perinatal (6, 7).

Son pocos los estudios que describen un verdadero modelo de lesión HI intra-uterina. De éstos, el modelo en ovejas de hipoxemia materna (8, 9) o de oclusión de cordón umbilical (10, 11) ha sido el más estudiado. Este modelo presenta algunas desventajas: las ovejas gestantes son costosas y de gran tamaño. Si sobreviven, las crías suelen tener poca evidencia clínica de daño neurológico, lo que limita su uso en seguimiento a largo plazo (6). Finalmente, no se ha realizado una adecuada comparación del neuro-desarrollo entre las ovejas y el humano (12).

Recientemente se ha descrito un modelo de lesión cerebral perinatal en conejos pre-término, este trabajo simula una insuficiencia placentaria observada en humanos, en donde los recién nacidos que sobreviven presentan hipertonia persistente y déficit motor que simulan las manifestaciones clínicas de la PCI (13). Se han publicado estudios bioquímicos del modelo que sugieren posibles mecanismos fisiopatológicos de la lesión nerviosa (14, 15). Un estudio comparativo del neurodesarrollo entre especies demuestra que la etapa neurológica de un conejo de 22 días de gestación, fecha en la que se realiza la lesión HI en el modelo, corresponde a la de un humano de 16 a 18 semanas

de gestación (12). La técnica experimental es difícil y requiere de equipo y material sofisticado ya que la isquemia uterina se logra mediante la colocación de un catéter arterial de embolectomía en la arteria uterina del conejo gestante, con monitoreo de la presión sanguínea en la extremidad inferior mediante un mini-Doppler (14).

Cai y cols. en el 2000 (16), desarrollaron un modelo de lesión en fetos de rata mediante la administración materna de un lipopolisacárido. El modelo demostró que puede ser apropiado para explorar los mecanismos involucrados en los efectos neurológicos de la infección materna, aunque no existen más estudios que lo utilicen.

Uno de los modelos más recientes es en ratones al día 15 de gestación (que corresponde a la semana 28-29 de gestación en el humano), con inflamación intra-uterina localizada mediante la aplicación de un lipopolisacárido en el cordón umbilical (17). El modelo es técnicamente difícil y no ha sido replicado. Sin embargo, tiene la ventaja de poder ser utilizado en ratones transgénicos, que cada día son más utilizados (6).

En cuanto a la lesión HI en animales neonatos, se han estudiado principalmente modelos en especies pequeñas. Algunos autores argumentan que las ratas son menos apropiadas que otros animales para los modelos sintomáticos de la enfermedad neurológica, sin embargo, el análisis comparativo de la mecánica del movimiento en las ratas y los primates muestra similitud en varios patrones (20).

Rice (1981, 18) fue el primero en utilizar la preparación de Levine para producir un modelo de lesión HI en un cerebro inmaduro en ratas. El modelo consiste en la ligadura de la carótida común izquierda seguida de un periodo de una hora y media en un ambiente hipóxico en ratas de 7 días de vida. Esta edad en la rata es equiparable a una edad gestacional de 26-28 semanas en el humano (6, 12). Existen varios estudios de revisión de éste y otros modelos relacionados (6, 7, 19, 21, 22, 23, 24).

Este modelo ha permitido esclarecer algunos de los mecanismos fisiopatológicos que llevan la lesión nerviosa HI en el cerebro inmaduro (6, 7). En particular, se ha dado un papel importante a las cascadas de la inflamación, la coagulación y el complemento, como parte de los procesos que llevan a este tipo de lesión nerviosa (25, 26). Se ha demostrado también una sobre-expresión de receptores de AMPA y NMDA, inducida por la producción de un grupo de proteínas recientemente descritas y llamadas pentrexinas (27).

Una de las características más importantes del modelo es que ha sido la base para la investigación de alternativas terapéuticas en la prevención del daño neurológico en humanos (21, 28, 29). El uso de la hipotermia en niños con encefalopatía HI, basado en estudios previos con el modelo de Rice ha demostrado disminuir la mortalidad y las alteraciones en el neurodesarrollo (30,31, 32, 33).

El modelo también ha sido usado para la investigación del manejo con estatinas (34) y cicloheximida (35) en ratas neonatas. Los resultados de estos estudios son prometedores, sin embargo aún falta su uso en humanos.

El uso de un modelo animal de encefalopatía HI en el Instituto Nacional de Rehabilitación (INR) podría ser la base para el desarrollo de tratamientos específicos que ayuden a prevenir el daño neurológico, y por ende la discapacidad, en pacientes pediátricos con alto riesgo neurológico.

Debido a la ausencia de estudios conductuales relacionados con este modelo que permitan sugerir semejanzas con alteraciones neurológicas en humanos, el objetivo de este trabajo es estudiar los efectos neurológicos de la ligadura de la carótida común izquierda e hipoxia inducida en ratas neonatas.

MATERIAL Y MÉTODOS

Sujetos. Para formar los grupos de estudio se utilizaron 3 ratas Wistar gestantes del bioterio del Instituto Nacional de Rehabilitación alojadas en cajas de 50cm x 30cm x 15cm, con un periodo de luz-oscuridad de 12 horas, iniciando la luz a las 8:00hrs. La temperatura ambiente se mantuvo a 22±2°C. Se les proporcionó agua y alimento comercial ad libitum. Las ratas fueron manejadas bajo la Norma Oficial Mexicana (NOM-062-ZOO-1999). Se obtuvieron 24 crías de 7 días de edad de ambos sexos que se dividieron aleatoriamente en 3 grupos: 1) 5 ratas control sin cirugía; 2) 5 ratas sham o cirugía en falso, con cirugía y sin daño hipóxico-isquémico y; 3) 5 ratas con daño hipóxico-isquémico. Se incluyeron la misma cantidad de machos y hembras en los grupos para evitar sesgos asociados al sexo.

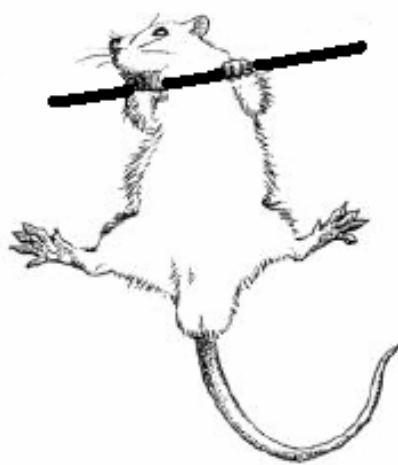
Lesión hipóxico-isquémica. Se provocó daño hipóxico-isquémico en ratas neonatas de acuerdo a la técnica empleada por Rice (1981), (18). Al día 7 de nacimiento, las ratas se anestesiaron con ketamina (0.5 mg/kg), se hizo una incisión en cuello en la línea media de 0.5cm de longitud. Se disecaron los músculos rectos anteriores del cuello para localizar la tráquea y a su izquierda la arteria carótida común izquierda. Se ligó la arteria con Vicryl 5-0 y se cortó. Posteriormente los animales se mantuvieron en recuperación durante 1-2 horas, tras las cuales se colocaron por 100 minutos en una caja de 50cm x 30cm x 15cm con una llave para la entrada de una mezcla comercial de gas con 7.7% de oxígeno en nitrógeno y una llave para la salida del mismo a un flujo constante. Las ratas del grupo control de operación en falso, fueron

anestesiadas con ketamina a 0.5mg/Kg y se hizo una incisión de la piel del cuello en la línea media de 5mm de longitud para localizar la arteria carótida común izquierda, que no se manipuló, y se suturó la piel con un punto de Vicryl 5-0.

Evaluación neurológica. A los 42 días de edad un mismo observador realizó la valoración clínica que consistió en las siguientes pruebas:

Se evaluó capacidad de agarre de las patas delanteras midiendo el tiempo que la rata se mantiene sujeta de una varilla de metal de 0.5cm de diámetro a 80cm de la mesa (18, 36), como se observa en la figura 1.

Figura 1. Capacidad de agarre de las patas delanteras



La prueba del reflejo posterior se evaluó mediante el número de respuestas normales en 10 repeticiones. La rata se sostiene de la cola a 50cm de la mesa y se realiza un movimiento rápido hacia la mesa. Una respuesta normal es la de extensión de las patas delanteras hacia la mesa. Una respuesta inadecuada es cuando la rata flexiona una de las patas delanteras o un hemi-cuerpo, como se demuestra en la figura 2 (18, 36, 37).

Figura 2. Respuesta alterada al reflejo posterior



Finalmente, se evaluó la actividad locomotora espontánea filmando durante 15 minutos en un espacio determinado de 100 cm x 60cm x 30 cm. En el análisis del video se contaron tiempo de acicalado (lavado del cuerpo por ellas mismas), número de bipedestaciones y de casillas pisadas (37).

Análisis estadístico. Se determinó el tipo de distribución de los datos y los resultados con una distribución no normal, se analizaron mediante la prueba de Kruskal-Wallis, mientras que las que presentaron una distribución normal se analizaron con la prueba de Bonferoni (40).

RESULTADOS

De las 9 ratas neonatas lesionadas, 2 murieron durante la hipoxia y 2 fueron devoradas por su madre. Las 5 restantes fueron evaluadas clínicamente a los 42 días de edad y posteriormente sacrificadas a las 6 semanas para el análisis histológico. Las 5 ratas control y 5 ratas con cirugía en falso fueron evaluadas clínicamente a los 42 días de edad.

El peso de las ratas no siguió una distribución normal (Kolmogorov-Smirnov, $p= 0.05$). De acuerdo a la prueba de Kruskal-Wallis los pesos promedio de los tres grupos no fueron significativamente diferentes ($p=0.36$) y, aunque los grupos estuvieron pareados por sexo, el peso de las ratas según el sexo no presentó diferencias significativas ($p=0.06$) (Tabla 1).

Tabla 1. Promedios de peso por grupo y sexo.

Grupos	Sexo	Media	Desv. Típ.	N
Con lesión	Hembra	133.3333	5.7735	3
	Macho	135.0000	7.0711	2
	Total	134.0000	5.4772	5
Cirugía en falso	Hembra	130.0000	0.0001	3
	Macho	140.0000	0.0001	2
	Total	134.0000	5.4772	5
Control	Hembra	136.6667	5.7735	3
	Macho	140.0000	0.0001	2
	Total	138.0000	4.4721	5
Total	Hembra	133.3333	5.0000	9

	Macho	138.3333	4.0825	6
	Total	135.3333	5.1640	15

La potencia estadística observada para estimar las diferencias de peso entre los grupos según el sexo de las ratas fue del 57.9%.

Con excepción del tiempo de acicalado, en el resto de los resultados sobre la valoración neurológica de las ratas del grupo con lesión tuvieron promedios significativamente menores que los grupos de comparación. En todas las variables, las diferencias entre los grupos de cirugía en falso y de control no fueron significativas. El reflejo posterior no siguió una distribución normal (K-S= 1.38, p=0.044), por tal razón se analizó con la prueba de Kruskal-Wallis (tabla 2).

Tabla 2. Promedios (DS) de las variaciones neurológicas por grupos.

Valoración neurológica	Grupo			P
	1. Con lesión	2. Cirugía en falso	3. Control	
Bipedestaciones	40.4 (18.5)	61.8 (12.5)	82.2 (28.3)	1 vs 2 = 0.39 1 vs 3 = 0.024* 2 vs 3 = 0.44
Tiempo de acicalado	149.2 (36.1)	125.8 (18.7)	140.4 (19.3)	1 vs 2 = 0.54 1 vs 3 = 1.0 2 vs 3 = 1.0
Número de	41.2 (19.8)	65.4 (5.1)	65.4 (3.7)	1 vs 2 = 0.024*

casillas				1 vs 3 =0.024* 2 vs 3= 1.0
Reflejo posterior	3.2 (1.3)	10.0(0.0)	9.8 (0.4)	0.002*
Tiempo en varilla	8.0 (3.6)	23.6 (3.2)	23.0 (5.3)	1 vs 2 = 0.0001* 1 vs 3 =0.0001** 2 vs 3= 1.0

Al controlar la posible influencia del peso por sexo de las ratas (tabla 3), la diferencia en los promedios de bipedestaciones por grupo fue cancelada a través del análisis de covarianza ($p=0.09$), para una potencia estadística observada de 67.7%.

Tabla 3. Promedio de bipedestaciones por grupo y sexo.

Sexo	Grupos		
	Con lesión	Cirugía en falso	Control
Hembra	50.6 (11.0)	67.6 (12.6)	89.0 (37.5)
Macho	25.0 (18.3)	53.0 87.0)	72.0 (5.6)

Covariable peso: $p=0.08$

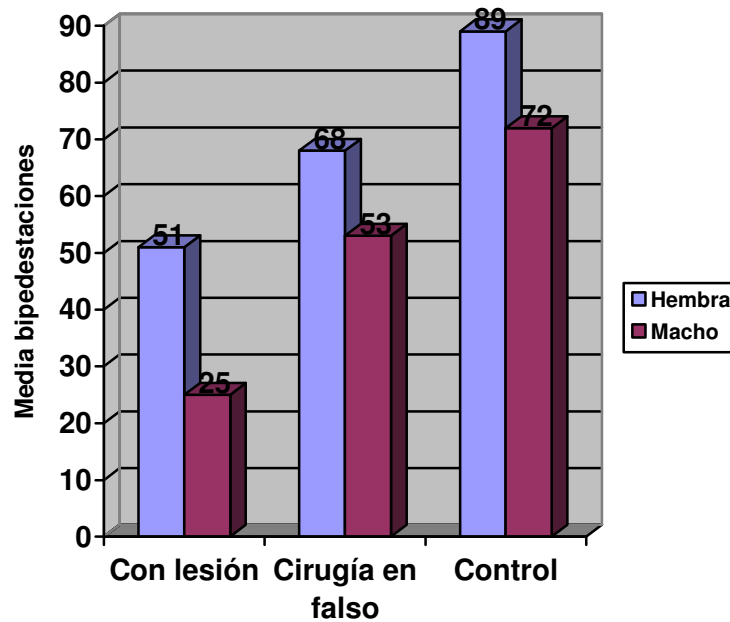
Grupo: $p=0.09$

Sexo: $p=0.023$

Los datos muestran que la tendencia sistemática es que las ratas hembras pesen menos y realicen mayor número de bipedestaciones y lo contrario para los machos. En relación al número de bipedestaciones, es

probable que el peso*sexo sea una variable confusora para diferenciar a los grupos experimentales (gráfico 1).

Gráfico 1. Promedio de bipedestaciones por grupo y sexo de ratas.



En el resto de los resultados neurológicos el peso por sexo no influyó para variar significativamente las diferencias o no diferencias encontradas entre los grupos experimentales.

Exceptuando la variable “tiempo de acicalado” que no contribuye a diferenciar los grupos adecuadamente, si se considerara el resto de las variables como los ítems de un test, éstas guardan una muy buena correlación interclase (tabla 4), con un coeficiente alpha de Cronbach de 0.735 (Intervalos de confianza del 95% desde 0.420 hasta 0.900, $p=0.0004$). Es decir que las mediciones muestran una buena confiabilidad.

Tabla 4. Coeficientes de correlación entre las variables de valoración neurológica.

	Bipedestación	Número de casillas	Reflejo posterior
Bipedestación	1.000		
Número de casillas	0.652	1.000	
Reflejo posterior	0.635	0.761	1.000
Tiempo en varilla	0.547	0.828	0.913

Debido a lo anterior, contemplando las cuatro variables expuestas en la tabla 4, el análisis discriminante pronostica que hasta el 80% de las ratas estarían correctamente clasificadas en sus grupos pertenecientes originales (tabla 5).

Tabla 5. Resultados de la clasificación por análisis discriminante.

		Grupo de pertenencia pronosticado			Total	
		Grupos	Con lesión	Cirugía en falso	Control	
Original	Recuento	Con lesión	5	0	0	5
		Cirugía en falso	0	4	1	5
		Control	0	2	3	5
	%	Con	100.0	.0	.0	100.0

		lesión				
		Cirugía en falso	.0	80.0	20.0	100.0
		Control	.0	40.0	60.0	100.0

a Clasificados correctamente el 80.0% de los casos agrupados originales

De acuerdo a los resultados del análisis discriminante, sólo las 5 ratas que originalmente se clasificaron pertenecientes al grupo “con lesión” se pronostica que pertenecerían a ese mismo grupo; en cambio, una del grupo “cirugía en falso” pertenecería al “control” y, de las 5 control, 2 pertenecerían al de “cirugía en falso”.

No obstante, al incluir el peso de las ratas más las cuatro variables antes mencionadas, el análisis discriminante predice que hasta el 93.3% de los casos quedarán correctamente clasificados (tabla 6).

Tabla 6. Resultados de la clasificación por análisis discriminante.

		Grupo de pertenencia pronosticado			Total	
		Grupos	Con lesión	Cirugía en falso	Control	
Original	Recuento	Con lesión	5	0	0	5
		Cirugía en falso	0	5	0	5

		Control	0	1	4	5
	%	Con lesión	100.0	.0	.0	100.0
		Cirugía en falso	.0	100.0	.0	100.0
		Control	.0	20.0	80.0	100.0

a Clasificados correctamente el 93.3% de los casos agrupados originales

Véase en la tabla 6, que el total de las ratas originalmente clasificadas como “con lesión” quedaría en el mismo grupo por compartir las características neurológicas medidas, lo mismo sucede para las 5 ratas de “cirugía en falso” y, por último, sólo una de las 5 ratas “control” se pronostica que pertenecería al grupo de cirugía en falso.

DISCUSIÓN

El principal objetivo de este estudio fue estudiar los efectos neurológicos de la ligadura de carótida interna izquierda e hipoxia en ratas neonatas. Clínicamente, las ratas con lesión tuvieron menos movilidad espontánea, más alteraciones en la respuesta al reflejo posterior y permanecieron significativamente menos tiempo en la varilla.

Cabe mencionar que todos los animales lesionados presentaron ptosis moderada del ojo ipsilateral al sitio de la lesión. Esta alteración se debió probablemente a una lesión asociada del nervio simpático pericarotídeo durante la ligadura de la carótida común (38).

Los resultados encontrados son similares a los descritos por otros autores (18, 36, 37). Bona y col. en 1997 estudiaron ratas neonatas a las cuales sometieron a ligadura de una carótida común e hipoxia. Evaluaron periódicamente a las ratas durante el desarrollo mediante el reflejo posterior y encontraron que las ratas con lesión mostraban alteración en la respuesta a diferencia de las ratas control (36).

Por su parte, Puurunen y cols. en el 2001 estudiaron el comportamiento de ratas adultas en las que se había aplicado la preparación de Levine. Estos autores encontraron que el comportamiento espontáneo era diferente al de las ratas control, lo que corresponde con los resultados del presente trabajo (37).

En cuanto al número de bipedestaciones, se identificó al peso por sexo como una variable confusora, ya que la tendencia fue que las ratas con menor peso (hembras) realizaran un mayor número de bipedestaciones. Al controlar la posible influencia del peso por sexo, se encontró que sí existe una diferencia estadísticamente significativa entre los grupos.

No se demostraron diferencias significativas en el tiempo de acicalado. Estudios previos han demostrado que esta variable se altera principalmente con la edad y con el estrés (39, 40, 41). Es conveniente señalar que las ratas del estudio tenían la misma edad y estuvieron sometidas al mismo estrés durante la prueba de la movilidad espontánea, por lo que no resulta sorprendente que no hayan habido diferencias estadísticamente significativas entre los grupos en esta variable.

Si se utilizan el tiempo en la varilla, el reflejo posterior, el número de casillas y el número de bipedestaciones como una prueba de evaluación neurológica, se obtendrá una clasificación correcta en el 80% de los casos, lo que representa una cifra alta tratándose de una evaluación clínica. Si se incluye el peso de las ratas al análisis, entonces el 93.3% de las ratas quedarán correctamente clasificadas. Así, las pruebas clínicas aquí utilizadas son adecuadas y confiables para la evaluación neurológica de las ratas neonatas en quienes se aplicó la preparación de Levine.

La evaluación de las reacciones posturales constituye una herramienta clave en el diagnóstico temprano de las secuelas neurológicas ocasionadas por

lesiones HI en un cerebro inmaduro. En pacientes que presentan hemi-paresia espástica, las respuestas son asimétricas, con patrón predominantemente flexor en el hemi-cuerpo afectado (42). El reflejo posterior en la rata es un reflejo postural que semeja la prueba de paracaídas que se realiza en los niños y que se presenta entre los 6 y 9 meses de edad. En este estudio, la respuesta al reflejo mostró diferencias estadísticamente significativas entre los grupos, con una respuesta predominantemente asimétrica en las ratas con lesión, resultado similar a lo observado en humanos.

Los niños con PCI presentan pocos movimientos espontáneos, dependiendo del grado de afección, desde edades tempranas, y más tarde se observan importantes problemas de locomoción (4, 43). En este estudio, se demostró que las ratas con lesión tienen menor movilidad que las ratas control, reflejado en el número de casillas pisadas.

Finalmente, en los niños con PCI, como parte del retraso en el desarrollo psicomotor, se encuentran alteraciones en la función de la mano, secundarias a espasticidad, debilidad y poco control volitivo (44, 45). Por su parte, el tiempo durante el cual la rata se sostiene de la varilla evalúa indirectamente la función de la mano, por lo que se encuentra una similitud más entre el comportamiento animal y el humano.

CONCLUSIONES

lesiones HI en un cerebro inmaduro. En pacientes que presentan hemi-paresia espástica, las respuestas son asimétricas, con patrón predominantemente flexor en el hemi-cuerpo afectado (42). El reflejo posterior en la rata es un reflejo postural que semeja la prueba de paracaídas que se realiza en los niños y que se presenta entre los 6 y 9 meses de edad. En este estudio, la respuesta al reflejo mostró diferencias estadísticamente significativas entre los grupos, con una respuesta predominantemente asimétrica en las ratas con lesión, resultado similar a lo observado en humanos.

Los niños con PCI presentan pocos movimientos espontáneos, dependiendo del grado de afección, desde edades tempranas, y más tarde se observan importantes problemas de locomoción (4, 43). En este estudio, se demostró que las ratas con lesión tienen menor movilidad que las ratas control, reflejado en el número de casillas pisadas.

Finalmente, en los niños con PCI, como parte del retraso en el desarrollo psicomotor, se encuentran alteraciones en la función de la mano, secundarias a espasticidad, debilidad y poco control volitivo (44, 45). Por su parte, el tiempo durante el cual la rata se sostiene de la varilla evalúa indirectamente la función de la mano, por lo que se encuentra una similitud más entre el comportamiento animal y el humano.

CONCLUSIONES

Las ratas neonatas en quienes se aplicó la preparación de Levine presentaron alteraciones clínicas que pueden semejarse a algunos de los signos que acompañan a la PCI. A partir de este modelo, se podrían desarrollar nuevos trabajos de investigación con la finalidad de comprender mejor la fisiopatología del daño neurológico en la PCI y de desarrollar alternativas terapéuticas para la prevención del mismo.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. González F, Miller S. 2006. Does perinatal asphyxia impair cognitive function without cerebral palsy? *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*; 91: F454-F459.
2. Vannucci R, Perlman J. 1997. Intervention for perinatal hypoxic-ischemic encephalopathy. *Pediatrics*; 100: 1004-1014.
3. Meberg A, Broch H. 2004. Etiology of cerebral palsy. *J Perinatol Med* ; 32: 434-439
4. Graham H, Kerr M, Delber P. 2003. Musculoskeletal Aspects of Cerebral Palsy. ; *British Editorial Society of Bone and Joint Surgery*; 85-B(2): 157-166
5. Arroyave G. 2000. Coste-beneficio del tratamiento farmacológico de la parálisis cerebral con espasticidad en México. *Rev Esp Salud Pública*; 74: 549-559
6. Northington F. 2006. Brief update on animal models of hypoxic-Ischemic encephalopathy and neonatal stroke. *ILAR J*; 47(1):32-8.
7. Aswal S, Pearce W. Animal models of neonatal stroke. 2001. *Curr Opin Pediatr*; 13: 506-516
8. Gleason CA, Hamm C, Jones MD, Jr. 1990. Effect of acute hypoxemia on brain blood flow and oxygen metabolism in immature fetal sheep. *Am J Physiol.*; 258: H1064-4069
9. Harris AP, Helou, S Gleason CA, Traystman RJ, Koeehler RC. 2001. Fetal cerebral peripheral circulatory responses to hypoxia after nitric oxide synthase inhibition. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*; 281: R382-R390

10. González H, Hunter CJ, Bennet L, Power GG, Gunn AJ. 2005. Cerebral oxygenation during postasphyxial seizures in near-term fetal sheep. *J Cereb Blood Flow Metab* (www.jcbm.com; last accessed May 26, 2005).
11. Lotgering FK, Bishai JM, Struijk PC, Blood AB, Hunter CJ, Oberg KC, Power GG, Longo LD. 2004. Absence of robust ischemic preconditioning by five 1-minute total umbilical cord occlusion in fetal sheep. *J Gynecol Investig*; 11: 449-456
12. Clancy B, Darlington B, Finlay BL. 2001. Translating developmental time across mammalian species. *Neuroscience*; 105(1): 7-17
13. Derrick M, Luo NL, Bregman JC, Jilling T, Ji X, Fisher K, Gladson CL, Beardsley DJ, Murdoch G, Back SA, Tan S. 2004. Preterm fetal hypoxia-ischemia causes hypertonia and motor deficits in the neonatal rabbit: A model of human cerebral palsy? *J Neurosci*; 24: 24-34
14. Derrick M, Brady E, Tan S. 2001. The in-vitro fate of rabbit fetal brain cells after acute in vivo hypoxia. *J Neurosci*; 21: RC138
15. Tan S, Bose R, Derrick M. 2001. Hypoxia-ischemia in fetal rabbit brain increases reactive nitrogen species production: Quantitative estimation of nitrotyrosine. *Free Radical Biol Med*; 30: 1045-1051
16. Cai Z, Pan ZL, Pang Y, Evans OB, Rhodes P. 2000. Cytokine induction in fetal rat brains and brain injury in neonatal rats after maternal lipopolysaccharide administration. *Pediatr Res*; 47 (1): 64-72
17. Elovitz MA, Mrinalini C, Sammel M. 2006. Elucidating the early signal transduction pathways leading to fetal brain injury in preterm birth. *Pediatr Res*; 59(1): 50-55

18. Rice JE, Vannucci RC, Brierley JB. 1981. The influence of immaturity on hypoxic-ischemic brain damage in the rat. *Ann Neurol*; 9: 131-141
19. Tuor UI, Del Bigio MR, Chumas PD. 1996. Brain damage due to cerebral hypoxia/ischemia in the neonate: Pathology and pharmacological modification. *Cerebrovasc Brain Metab Rev*; 8: 159-193
20. Cenci A, Whishaw IQ, Schallert T. 2002. Animal models of neurologic deficit: How relevant is the rat? *Nature*; 3: 574
- Vannucci RC, Vannucci SJ. 1997. A model of prenatal hypoxic-ischemic brain damage. *Ann N Y Acad Sci*; 835: 234-249
21. Volpe J. 1997. Brain injury in the premature infant- from pathogenesis to prevention. *Brain & Development*; 19: 519-534
22. Vannucci RC, Connor JR, Mauger DT, Palmer C, Smith MB, Towfighi J, Vannucci SJ. 1999. Rat model of perinatal hypoxic-ischemic brain damage. *J Neurosci Res*; 55: 158-163
23. Vexler ZS, Ferreiro DM. 2001. Molecular and biochemical mechanisms of perinatal brain injury. *Semin Neonatol*; 6: 99-108
24. Yager JY. 2004. Animal models of hypoxic-ischemic brain damage in the newborn. *Semin Pediatr Neurol*; 11: 31-46
25. Cowell R, Plane JM, Silverstein FS. 2003. Complement activation contributes to hypoxic-ischemic brain injury in neonatal rats. *J Neurosci*; 23(28): 9459-9468.
26. Cowell R, Xu H, Galasso JM, Silverstein FS. 2002. Hypoxic-ischemic injury induces macrophage inflammatory protein-1 {alpha} expression in immature rat brain. *Stroke*; 33: 795-801

27. Hossain MA, Russell JC, O'Brien R, Laterra J. 2004. Neuronal pentraxin 1: A novel mediator of hypoxic-ischemic injury in neonatal brain. *J Neurosci*; 24(17): 4187-4196.
28. Baud, O. 2004. Postnatal steroid treatment and brain development. *Arch Dis Child Fetal Neonatol Ed*; 89(2): 96-100
29. Gunn AJ. 2000. Cerebral hypothermia for prevention of brain injury following perinatal asphyxia. *Curr Opin Pediatr*; 12: 111-115
30. Sirimanne ES, Blumberg RM, Bossano D, et al. 1996. The effect of prolonged modification of cerebral temperature on outcome after hypoxic-ischemic brain injury in the infant rat. *Pediatr Res*; 217: 1193-1199
31. Battin MR, Penrice J, Gunn TR, Gunn AJ. 2003. Treatment of term infants with head cooling and mild systemic hypothermia (35 °C and 34.5°C) after perinatal asphyxia. *Pediatrics*; 111: 244-251
32. Shankaran S, Laptook, AR, Ehrenkranz RA, et al. 2005. Whole-body hypothermia for neonates with hypoxic-ischemic encephalopathy. *N Engl J Med*; 353(15): 1574-1584
33. Battin, MR, Dezoete JA, Gunn TR, Gluckman PD, Gunn AJ. 2001. Neurodevelopmental outcome of infants treated with head cooling and mild hypothermia after perinatal asphyxia. *Pediatrics*; 107: 480-484
34. Balduini W, Mazzoni E, Carloni S, De Simone MG, Perego C, Sironi L, Cimino M. 2003. Prophylactic but or delayed administration of simvastatin protects against long-lasting cognitive and morphological consequences of neonatal hypoxic-ischemic brain injury, reduces interleukin-1 β and tumor necrosis factor- α mRNA induction, and

- does not affect endothelial nitric oxide synthase expression. *Stroke*, 34: 2007-2012
35. Park WS, Sung DK, Kang S, Koo SH, Kim YJ, Lee JH, Chang YS, Lee M. 2006. Therapeutic window for cycloheximide treatment after hypoxic-ischemic brain injury in neonatal rats. *J Korean Med Sci*; 21: 490-494
36. Bona E, Johansson BB, Hagberg H. 1997. Sensorimotor function and neuropathology five to six weeks after hypoxia-ischemia in seven-day-old rats. *Ped Res*; 42(5):678-683.
37. Puurunen, K. 2001. The effects of pharmacotherapy and training on functional recovery after global and focal cerebral ischemia in rats. Department of Neurology Series of Reports; 58: 135p.
38. Towfighi J, Yager JY, Housman C, Vannucci RC. 1990. Neuropathology of remote hypoxic-ischemic damage in the immature rat. *Acta Neuropathol*; 81: 578-587
39. Renner MJ, Pierre PJ. 1998. Development of exploration and investigation in the Norway rat - *rattus norvegicus*. *J Gen Psych*; 125(3): 270-291.
40. Hori Y, Takeda H, Tsuji M, Matsumiya T. 1998. Differentiation of the inhibitory effects of calcium antagonists on abnormal behaviors induced by methamphetamine or phencyclidine pharmacology; 56: 165-174.
41. Isaacson RL, Green EJ. 1978. The effect of ACTH1-24 on locomotion, exploration, rearing, and grooming. *Behav Biol*; 24(1): 118-122
42. Zafeiriou D. 2004. Primitive reflexes and postural reactions in the neurodevelopmental examination. *Pediatric Neurology*; 31(1): 1-8

43. Einspieler C, Cioni G, P. Paolicelli B, Bos AF, Dressler A, Ferrari F, Roversi MF, Prechtl HF. 2002. The early markers for later dyskinetic cerebral palsy are different from those for spastic cerebral palsy. *Neuropediatrics*; 33: 73-78
44. Eliasson AC, Forssberg H, Hung YC, Gordon AM. 2006. Development of hand function and precision grip control in individuals with cerebral palsy: A 13-year follow-up study. *Pediatrics*;118(4): e1226-e1236
45. Fedrizzi E, Pagliano E, Andreucci E, Oleari G. 2003. Hand function in children with hemiplegic cerebral palsy: prospective follow-up and functional outcome in adolescence. *Developmental Medicine & Child Neurology*, 45: 85–91 85