



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

ANÁLISIS DE LA CONDUCTA MOTORA EN RATAS CON
TRAUMATISMO CRANEOENCEFÁLICO: ESTIMULACIÓN
MAGNÉTICA TRANSCRANEAL COMO MECANISMO
NEUROPROTECTOR

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

Bióloga

P R E S E N T A:

MONTIEL JIMÉNEZ ANA KARINA



DIRECTOR DE TESIS:

Biol. Francisco Estrada Rojo

Ciudad Universitaria. CDMX 2019



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

HOJA DE DATOS DEL JURADO

1. Datos del alumno Montiel Jiménez Ana Karina 5540790446 Universidad Nacional Autónoma de México Facultad de Ciencias Biología 310212492
2. Datos del tutor Biol. Francisco Estrada Rojo
3. Datos sinodal 1 Dr. Julio Eduardo Roque Morán Andrade
4. Datos sinodal 2 Dra. María de la Luz Navarro Angulo
5. Datos sinodal 3 Dra. Sylvia Leticia Verdugo Díaz
6. Datos sinodal 4 M. en C. Enrique Moreno Sáenz
7. Datos del trabajo escrito Análisis de la conducta motora en ratas con traumatismo craneoencefálico: Estimulación magnética transcraneal como mecanismo neuroprotector Número de páginas: 50 2019

AGRADECIMIENTOS

A los laboratorios de Neuroendocrinología y de Bioelectromagnetismo del Departamento de Fisiología, de la Facultad de Medicina UNAM por permitir la realización de este trabajo dentro de sus instalaciones.

A DGAPA con proyecto PAPIIT IG201014 por el apoyo brindado para la realización de este proyecto.

A los profesores del taller de Fisiopatología Cerebral y Neuroprotección por sus enseñanzas.

A mi asesor, Francisco Estrada, por comprometerse con el trabajo, por su paciencia, comprensión y motivación a lo largo de estos años.

A la Doctora Luz Navarro, por permitirme ser parte de su laboratorio y todos los apoyos brindados desde el comienzo.

A la Doctora Marina, por las pláticas, consejos y motivación.

A los miembros del laboratorio de Neuroendocrinología, Paula, Alan, Ricardo, por sus consejos.

A mis sinodales, por su tiempo y dedicación a la hora de revisar el presente escrito.

A la Universidad Nacional Autónoma de México, así como a la Facultad de Ciencias por ser gran pilar en mi formación académica y personal.

AGRADECIMIENTOS PERSONALES

A mi familia, por creer en mí, por el apoyo incondicional y los consejos. Por sus palabras de aliento y motivación.

A mi padre, mi motor principal, un hombre que merece mi total admiración y respeto, por estar ahí en las noches de desvelo, por tener las palabras precisas en el momento indicado.

A mi madre, por las enseñanzas, por no rendirte y por hacerme dar lo mejor de mí, sobre todo en mis primeros años de estudio.

A mis hermanos, por demostrarme que todo es posible a pesar de los obstáculos.

Magu, mi hermana de tesis, la única persona que sabe todas las situaciones por las que pasamos y aun así siguió conmigo, apoyándome y motivándome, este camino no hubiera sido el mismo sin tu apoyo y complicidad.

Irvin, mejor amigo y compañero de viajes y aventuras, por compartir tu conocimiento, estrategias, técnicas y sabiduría. Por tus grandes aportes en el proceso y revisión de este escrito, por el apoyo absoluto sin importar la hora o el día. Tlasohkamati noyolo.

Dana, porque estuviste en los mejores y peores momentos desde la prepa y hasta la actualidad eres una de las personas importantes en mi vida.

Oswaldo, por llegar en el mejor momento, por enseñarme que siempre hay una manera diferente de hacer las cosas y que lo que vale la pena siempre cuesta un poquito más.

CONTENIDOS

1. ABREVIATURAS.....	7
2. RESUMEN.....	8
3. ANTECEDENTES.....	8
3.1 Traumatismo craneoencefálico (TCE).....	8
3.1.1 Epidemiología.....	9
3.1.2 Clasificación del TCE.....	10
3.1.3 Fisiopatología.....	11
3.1.4 Evaluación del TCE.....	14
3.2 Neuroprotección.....	16
3.3 Estimulación magnética transcraneal.....	17
3.3.1 Características generales.....	17
3.3.2 Efectos fisiológicos.....	19
3.3.3 Aplicaciones terapéuticas.....	20
3.4 Conducta motora.....	22
4. JUSTIFICACIÓN	23
5. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.....	23
6. HIPÓTESIS.....	23
7. OBJETIVO GENERAL.....	24
8. OBJETIVOS PARTICULARES.....	24

9. MÉTODOS.....	24
9.1 Sujetos experimentales.....	24
9.2 Inducción del traumatismo.....	25
9.3 Estimulación magnética transcraneal.....	25
9.4 Pruebas de conducta motora.....	26
9.4.1 Escala de Hunter.....	26
9.4.2 Barra de equilibrio.....	27
9.5 Análisis estadístico.....	28
10. RESULTADOS.....	30
11. DISCUSIÓN.....	37
12. CONCLUSIONES.....	44
13. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	45

1. ABREVIATURAS

CDC	Centers for Disease Control and Prevention
DAD	Daño axonal difuso
EMT	Estimulación magnética transcraneal
EMTr	Estimulación magnética transcraneal repetitiva
FCI	Índice de Función Cognitiva
GABA	Ácido gamma-aminobutírico
GCS	Escala de coma de Glasgow
Hz	Hertz (unidad física usada para medir la frecuencia de ondas y vibraciones de tipo electromagnético)
µs	Micro segundo
NMDA	N-metil-D-aspartato (receptor ionotrópico del glutamato)
NO	Oxido Nitrico
PME	Potenciales motores evocados
PSI	Libras de presión
TCE	Traumatismo craneoencefálico
UM	Umbral motor

2. RESUMEN

Un traumatismo craneoencefálico (TCE) se define como una alteración en la función cerebral producida por una fuerza externa y se caracteriza por ser un proceso dinámico con eventos en cascada. Las consecuencias de un TCE tienen relevancia clínica y económica ya que puede originar casos de discapacidad derivados por las secuelas neurológicas, además de ser la tercera causa de muerte en la población de 15 a 45 años. Por lo tanto se vuelve importante investigar terapias que contribuyan a generar neuroprotección ante un TCE.

Dentro de las actuales opciones terapéuticas que se investigan para tratar el TCE está la estimulación magnética transcraneal (EMT), que tiene dos grandes ventajas: es una técnica no invasiva y no tiene reportes de reacciones secundarias. Ésta investigación muestra los resultados del uso de una batería de pruebas neuroconductuales, así como mediciones metabólicas en sujetos sometidos a TCE+EMT, los cuales mostraron una recuperación más rápida que los sujetos solo con TCE, lo cual nos demuestra que la estimulación magnética transcraneal repetitiva (EMTr) resulta coadyuvante en el proceso de recuperación.

Palabras clave:

Estimulación magnética transcraneal, Traumatismo craneoencefálico, Neuroprotección, Conducta motora.

3. ANTECEDENTES

3.1 Traumatismo craneoencefálico

Se define al traumatismo craneoencefálico (TCE) como una alteración en la función cerebral u otra evidencia de patología cerebral, causada por una fuerza externa, ya sea un impacto directo al cráneo, aceleración o desaceleración rápida, penetración de un objeto (arma de fuego) u ondas de choque de una explosión (Menon *et al.*, 2010). Por su alto nivel de incidencia, representa un problema de salud pública en México y en el mundo.

Es importante hacer algunas precisiones sobre esta definición general; una alteración en la función cerebral se refiere a la disminución o pérdida de la conciencia, que puede acompañarse con pérdida de memoria para eventos inmediatamente anteriores al TCE (amnesia) o después de la lesión (amnesia postraumática).

Otro aspecto a considerar es la aparición de deficiencias neurológicas como debilidad, pérdida de equilibrio, visión, parálisis, afasia sensorial, etc. Además, el TCE también puede inducir alteraciones en el estado mental como confusión, desorientación, retraso en el pensamiento y por supuesto deficiencias motoras (Menon *et al.*, 2010).

3.1.1 Epidemiología

A nivel mundial, el TCE es un problema grave y de salud pública (Muñoz *et al.*, 2001; Estrada-Rojo *et al.*, 2012) que contribuye de manera importante al número de muertes y casos de discapacidad permanente. Para los Estados Unidos de Norteamérica, el CDC (Centers for Disease Control and Prevention) estima que anualmente: 1.7 millones de personas sufren un TCE, de las cuales, 52,000 mueren, 275,000 son hospitalizadas, 1, 365,000 son atendidas ambulatoriamente en un servicio de urgencias, y se desconoce el número de personas que no reciben atención médica (CDC, 2015).

En España se reportan entre 200 y 300 TCE por cada 100,000 habitantes (Muñoz *et al.*, 2001; Bárcenas *et al.*, 2006), de los cuales, el 70% tienen una buena recuperación, el 9% fallecen antes de llegar al hospital, el 6% lo hacen durante su estancia hospitalaria y el 15% quedan funcionalmente incapacitados en diferentes grados. Esto sin tomar en cuenta el coste económico hospitalario que para el 2002 ascendió a 180 millones de euros en España (Bárcenas *et al.*, 2006), constituyendo la primera causa de muerte en individuos menores a 45 años de edad, y la tercera en todos los rangos de edad. La tasa de mortalidad por TCE en Europa es del 11%, con 775,500 casos cada año (Estrada-Rojo *et al.*, 2012).

En Iberoamérica, la incidencia anual de TCE es de 200 a 400 por cada 100,000 habitantes (Estrada-Rojo *et al.*, 2012) y particularmente en México, el

TCE ocupa la tercera causa de muerte (después de los problemas cardiovasculares y el cáncer) con 35,567 defunciones y una mortalidad de 38.8 por cada 100 mil habitantes, con una incidencia mayor en hombres que en mujeres, en una relación 3:1, afectando mayormente a la población entre 15 y 45 años de edad (Secretaría de Salud, 2008).

3.1.2 Clasificación del TCE

Según la magnitud de la energía recibida al momento del TCE, se puede determinar el tipo y la magnitud del daño debida a la tensión a la que es sometido el cráneo. En la clínica el TCE se ha clasificado como se muestra en la Figura 1 (Montero *et al.*, 2000).

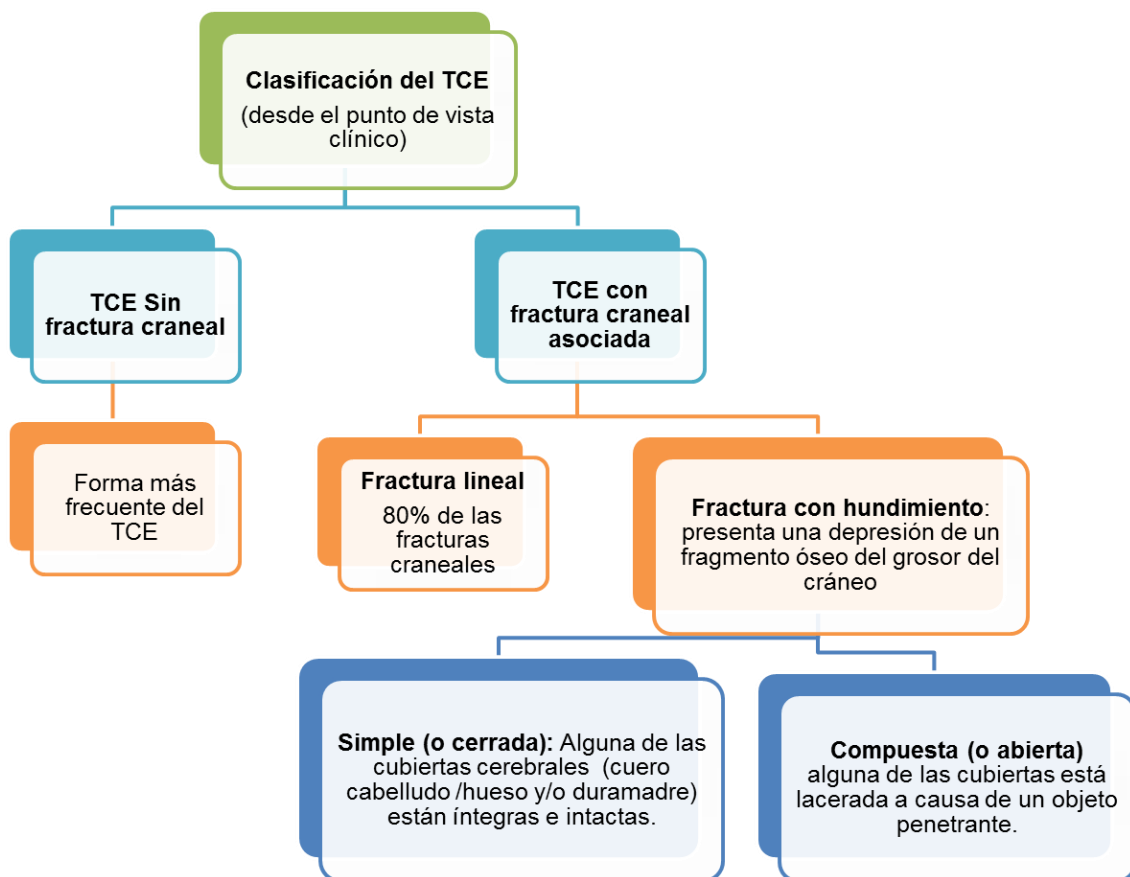


Figura 1. Cuadro explicativo de la clasificación clínica del TCE

Dependiendo de la severidad y el grado de disfunción neurológica, el TCE se puede clasificar de la siguiente manera (Morales y Mora, 2000):

1.- Traumatismo leve: es el más frecuente, se caracteriza por una puntuación en la escala de Glasgow mayor o igual a 13 puntos (ver tabla 1). Puede ser asintomático o presentarse mareos, cefalea, hematomas en el cuero cabelludo, hemorragias o contusiones intracraneales severas. Los pacientes que presentan estas características generalmente son dados de alta tras un corto periodo de observación.

2.- Traumatismo moderado: Puntuación de Glasgow entre 9 y 12 puntos (ver tabla 1). Puede presentarse alteración de la conciencia, ya sea pérdida o amnesia, cefalea progresiva, convulsiones postraumáticas, y/o vómitos. La observación hospitalaria en este caso debería ser de al menos 24 horas.

3.- Traumatismo severo: Glasgow menor o igual a 8 puntos (ver tabla 1) que puede ir descendiendo, disminución del nivel de conciencia, focalidad, fractura deprimida o herida penetrante en el cráneo. Los pacientes en este caso generalmente permanecen en coma. Esto pone en riesgo inminente la vida y tiene que ser hospitalizado para intervenciones quirúrgicas inmediatas sobre todo cuando se sospecha de fractura de base del cráneo (Herrera, 2011).

3.1.3 Fisiopatología

Como consecuencia de un TCE se origina una lesión que puede considerarse como el resultado de dos fases: una lesión neuronal inicial (primaria y/o mecánica) que ocurre de manera inmediata al momento del impacto, resultado de una energía externa que se aplica sobre el cráneo y/o un proceso de aceleración que provoca que la masa cerebral golpee contra la bóveda craneal (Estrada-Rojo, en revisión). La lesión secundaria o fase tardía, ocurre como consecuencia de la primaria, al desencadenarse múltiples procesos neuropatológicos a nivel tisular, celular y molecular. Ésta puede continuar minutos, días e incluso años después del trauma (McCormick, 1985; Estrada-Rojo, en revisión).

La lesión primaria tiene como característica el ser irreversible, incluye desgarramiento de materia blanca, contusión focal, hematomas, desajuste de

canales iónicos, cambio conformacional en proteínas, microhemorragias, e isquemia. La lesión secundaria por su parte, consiste en efectos tardíos, potencialmente reversible mediante una terapia adecuada. Incluye liberación de neurotransmisores, radicales libres, respuesta inflamatoria, necrosis y apoptosis (Pellegrino, 2010; Estrada-Rojo *et al.*, 2012).

El daño cerebral producido por un TCE incluye una serie de cambios estructurales, fisiológicos y funcionales en la actividad del sistema nervioso central, que pueden comprometer ciertas funciones cerebrales produciendo secuelas psicológicas como déficit de memoria, irritabilidad y depresión, entre otros (Muñoz *et al.*, 2001).

Podemos encontrar alteraciones focales, como contusiones y laceraciones provocadas por el impacto directo sobre la zona, en ocasiones con el choque del mismo cerebro contra la estructura ósea craneal, por un mecanismo de aceleración y la afectación cerebral difusa, expresada por el daño axonal difuso (DAD), por mecanismos de isquemia o edema cerebral. El DAD se produce posterior al TCE, con mayor expresión entre las 24 y 48 horas, consiste en una secuencia fisiopatogénica de excitación neuronal seguida por inhibición, provocando pérdida de conciencia y la liberación masiva de iones al medio extracelular (Casas, 2008).

A continuación se muestra un esquema (figura 2) donde se aprecia la cascada de eventos que se desencadena posterior a un traumatismo craneoencefálico. Como se puede observar, la consecuencia final es la pérdida de masa cerebral, por lo tanto, es importante aplicar medidas de neuroprotección que permitan retardar o prevenir la muerte celular, como se explica más adelante.

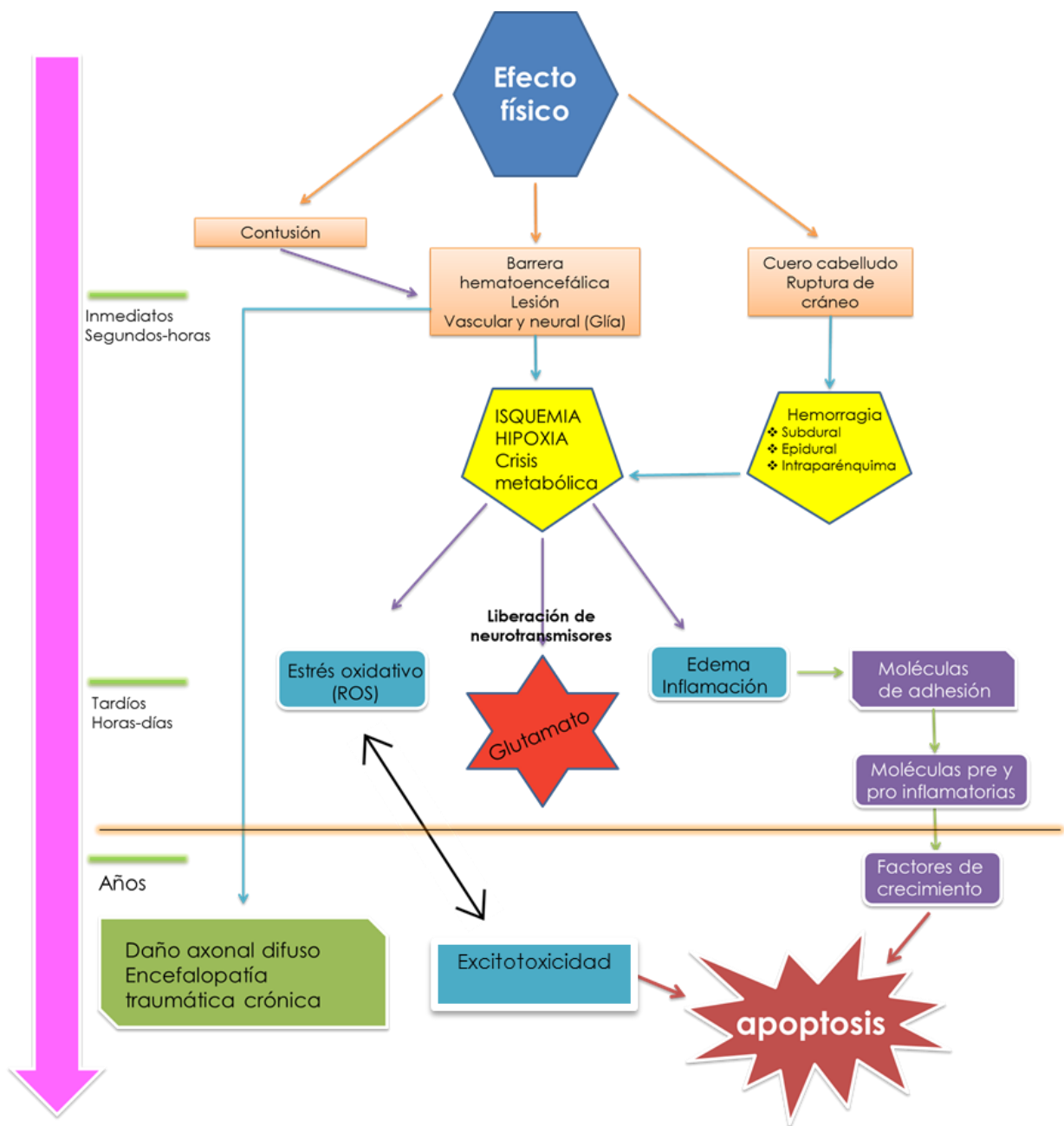


Figura 2. Curso temporal de un TCE (Modificada de Estrada-Rojo, datos no publicados).

3.1.4 Evaluación del TCE

La evaluación de la severidad de TCE puede llevarse a cabo desde una perspectiva de estudio de las lesiones del traumatismo a nivel intracraneal, o por las repercusiones funcionales que dicho impacto mecánico tiene sobre el funcionamiento normal del sistema nervioso central (Garduño-Hernández, 2008).

La utilización de escalas de evaluación para el TCE, sirve para homogenizar la utilización de términos y así, a su vez facilitar la toma de decisiones diagnósticas y terapéuticas a seguir para el tratamiento del paciente (Forastero *et al*, 2002). Esto sin dejar de lado que cada paciente y lesión son diferentes y no se puede predecir en su totalidad el avance de éstos.

El uso de estas escalas en la etapa clínica debe ser apropiado para evaluar la repercusión que tuvo el traumatismo sobre el nivel de conciencia del paciente, la escala más utilizada universalmente es la Escala de Coma de Glasgow (GCS, por sus siglas en inglés) (Tabla 1), que cuantifica la gravedad del TCE en la fase aguda (Muñoz *et al.*, 2001; Forastero *et al*, 2002; Constanti *et al.*, 2011).

La GCS está dividida en tres partes que valoran la reacción ocular, la respuesta motora, y la respuesta verbal. La gravedad de la lesión se estima mediante la suma total de su puntuación, aunque la suma de las puntuaciones por separado suele ser más informativa, sobre todo la puntuación motora que puede considerarse el elemento más predictivo de la escala. Las limitaciones en esta escala incluyen que los pacientes con traumatismo grave, bajo el efecto del alcohol y/o drogas, así como los que se encuentran sedados o entubados tendrían limitaciones para responder (Forastero *et al.*, 2002).

A continuación se enuncian las consideraciones y el puntaje que se toman en cuenta al evaluar con la Escala de Coma de Glasgow, de acuerdo con ésta se puede clasificar el TCE en grave, cuando la GCS es menor a 8 puntos, moderado, con GCS entre 9 y 13 puntos, y leve entre los 14 y 15 puntos (Forastero *et al.*, 2002; Constanti *et al.*, 2011).

Tabla 1. Escala de Coma de Glasgow

Respuesta	Puntuaciones	Aclaraciones
APERTURA DE LOS OJOS (E)		
Espontánea	4	Ojos abiertos, no necesariamente alerta.
Al habla	3	Respuesta no específica, no necesariamente a la orden.
Al dolor	2	No debiera usarse la presión supraorbitaria para el dolor.
Ninguna	1	Incluso al dolor (presión en zona supraorbitaria).
MEJOR RESPUESTA VERBAL (V)		
Orientada	5	En tiempo, personas, lugares.
Confusa	4	Responde a la conversación, pero está desorientado.
Inapropiada	3	Ininteligible.
Incomprensible	2	Gemidos, gruñidos.
Ninguna	1	Ausencia de respuesta.
MEJOR RESPUESTA MOTORA (M)		
Obedece órdenes	6	Sigue las órdenes que se le dan.
Localiza dolor	5	Movimiento intencionado ó resuelto.
Retirada	4	Movimiento de retirada del miembro al estímulo.
Flexión anormal	3	Decorticación: hombros flexionados y en aducción.
Extensión	2	Descerebración: hombros en aducción y rotación interna, antebrazos en pronación.
Ninguna	1	Flacidez generalizada permanente.

Instrucciones:

La escala consta de tres secciones, cada una se puntúa por separado.

Se refleja la mejor respuesta observada a la orden, voz, dolor.

Se refleja como E=, V=, M=.

Se ha sugerido que la duración de la pérdida de conciencia tras el TCE, podría ser indicador del grado de lesión cerebral, es decir, el número de horas o días en los que el paciente presenta un puntuación en la GCS <8, constituye una variable importante en la gravedad del trauma inicial y en la presencia de daños cerebrales secundarios (Muñoz *et al.*, 2001).

Para evaluar la función cognitiva, en 1998, Labi y colaboradores publicaron el Índice de Función Cognitiva (FCI, por sus siglas en inglés). Éste es un instrumento utilizado para la valoración cognitiva después de un TCE y presenta una fiabilidad del 89%. Como ventaja presenta que es corta y fácil de aplicar. Evalúa la atención, comunicación, conducta social, resolución de problemas y memoria (Forastero *et al.*, 2002).

Existen otras escalas que nos ayudan a evaluar el estado de conciencia de un paciente, AVDI (o AVPU por sus siglas en inglés) es una nemotecnia útil y sencilla que funciona como evaluación primaria tomando en cuenta si el paciente está alerta, si responde a estímulos verbales, si siente dolor o si está inconsciente.

En la figura 3 se exponen varios de los tipos mencionados de clasificación del TCE de manera general.

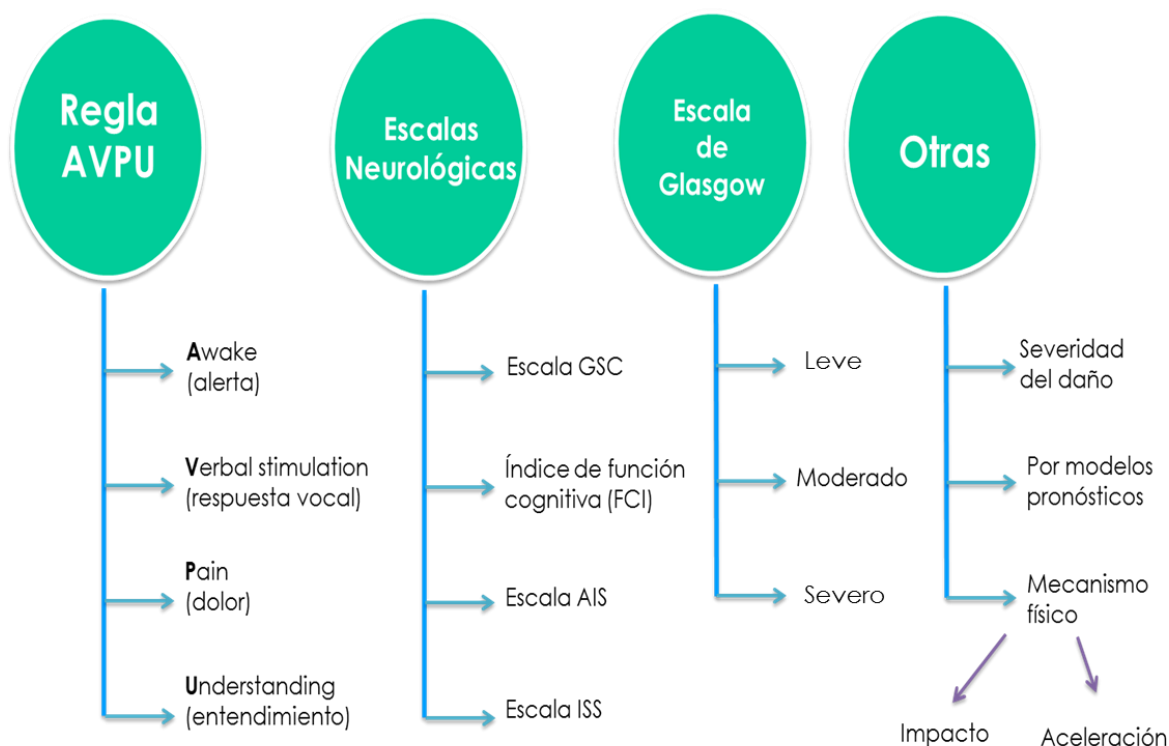


Figura 3. Resumen de la clasificación del TCE

3.2 Neuroprotección

3.2.1 Mecanismos de neuroprotección

Un agente neuroprotector se define como aquel que previene la muerte neuronal, mediante la inhibición de uno o más pasos en los procesos fisiopatológicos que siguen a una lesión del sistema nervioso. Estos agentes pueden usarse también en la prevención de una enfermedad o su avance si se detecta en una etapa pre-sintomática (Jain, 2011). El término “neuroprotección” se refiere entonces, al empleo de cualquier modalidad terapéutica que previene o retarda la muerte celular resultado de una lesión neuronal (Yepes, 2001). Los mecanismos neuroprotectores dependen del tipo y la severidad del daño (Estrada-Rojo, en revisión)

Aunque el término es reciente y hace énfasis al balance de las respuestas que el organismo, concretamente el cerebro, exhibe frente a un

evento de isquemia o ante un TCE (Estrada-Rojo *et al.*, 2012), el concepto de neuroprotección ha estado presente desde la época de los griegos, quienes usaban la crioterapia como tratamiento para las lesiones en la cabeza. La neuroprotección ha avanzado con el paso de los años, desde el reconocimiento de la participación de los radicales libres, el uso de antagonistas al glutamato, barbitúricos, la aplicación de distintos conceptos como la reperfusión y la zona de penumbra (Jain, 2011) hasta el empleo de técnicas como la estimulación magnética transcraneal.

3.3 Estimulación magnética transcraneal

3.3.1 Características generales

Anthony Barker y colaboradores, desarrollaron un método no invasivo, e indoloro para estimular eléctricamente, de manera selectiva y relativamente focal la excitabilidad de la corteza motora (Oliviero *et al.*, 2014). Se basa en la capacidad de un campo magnético generado para penetrar el cráneo y las meninges y originar una corriente eléctrica secundaria en el tejido cerebral que produce despolarización neuronal (Malavera *et al.*, 2014), y es capaz de evocar movimientos contralaterales al activar vías corticoespinales (Pascual y Tormos, 2008; Ibiricu y Morales, 2009). Se le denominó “Estimulación Magnética Transcraneal” (EMT) y consiste en un pulso de corriente que fluye a través de una bobina de hilo conductor (Pascual y Tormos, 2008). Las corrientes eléctricas en movimiento producen campos magnéticos (Verdugo-Díaz y Drucker, 2014).

En la EMT, el campo magnético pasa a través del cuero cabelludo del sujeto sin atenuarse y con la ayuda de una bobina de hilo de cobre encapsulada en una carcasa de plástico que se sitúa sobre la cabeza del sujeto (Pascual y Tormos 2008). Las bobinas usadas para producir el campo magnético tienen diferentes formas, de acuerdo con los objetivos propuestos y activan un área considerable de tejido nervioso. Las bobinas en forma de ocho son las más focales y producen una corriente máxima en la intersección de los

componentes redondos que la conforman (Figura 4) (Leon-Sarmiento *et al.*, 2013).

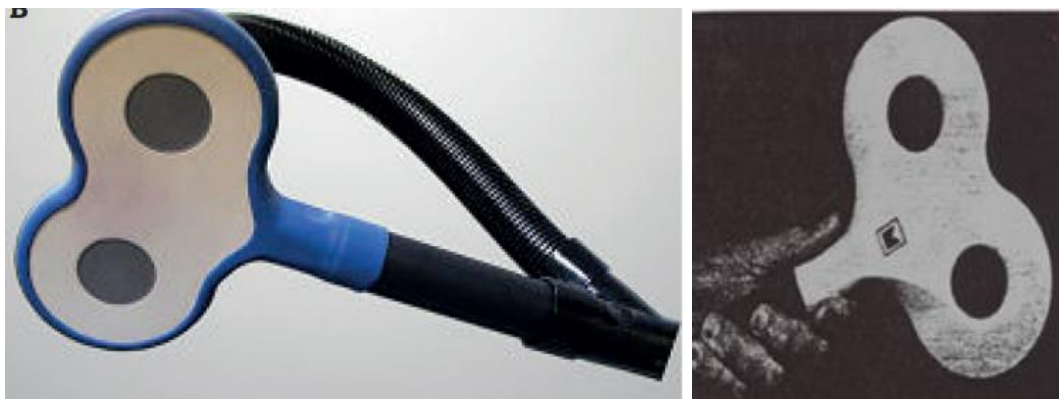


Figura 4. Bobina en forma de 8 para la estimulación magnética trascraneal (Tomada de Malavera *et al.*, 2014; Verdugo-Díaz y Drucker, 2014)

Existen diferentes protocolos para la aplicación de EMT: 1) un pulso único, donde se brindan pulsos aislados con una duración determinada y distanciados en el tiempo; 2) pares de estímulos separados por un lapso (estímulo apareado), donde se producen varios pulsos a intervalos temporales variables en la misma región o en diferente área cerebral. Por último está la EMT-repetitiva (EMTr), una variante de este protocolo, y en la cual se basa este estudio. Consiste en trenes de pulsos con frecuencia variable (Ibiricu y Morales, 2009, Leon-Sarmiento *et al.*, 2013, Malavera *et al.*, 2014). Ésta técnica tiene gran potencial por sus aplicaciones en la práctica clínica e investigación de las funciones motoras, sensoriales y cognitivas de manera simple y repetible (Oliviero *et al.*, 2014). Se ha demostrado que puede modular la excitabilidad de la corteza cerebral y se ha vislumbrado como posible herramienta diagnóstica y terapéutica para la neuropsiquiatría (Malavera *et al.*, 2014).

La EMTr presenta dos variantes: un protocolo convencional que hace referencia a la aplicación de pulsos únicos repetidos a frecuencia alta ($>1\text{Hz}$), que aumenta el flujo sanguíneo en el área estimulada incrementando la actividad cerebral y los protocolos a frecuencia baja ($\leq 1\text{Hz}$) que disminuye la actividad cerebral (Muñoz-Marrón *et al.*, 2012; Malavera *et al.*, 2014).

3.3.2 Efectos fisiológicos

La EMT utiliza el principio de inducción electromagnética descrito por Michael Faraday, que postula que un campo magnético variable en el tiempo puede inducir voltaje en un conductor cercano, además de la ley de Ampere, que menciona que la inducción de un campo eléctrico posteriormente induce un campo magnético (Griškova *et al.*, 2006). La EMT actúa mediante la generación de potentes y breves pulsos magnéticos, de modo que un pulso de corriente fluyendo a través de una bobina de hilo conductor genera un campo magnético que penetra fácilmente la piel, el cráneo y las meninges cerebrales, la frecuencia de cambio de este campo magnético determina la inducción de una corriente secundaria en cualquier conductor cercano, como las neuronas corticales que se encuentran por debajo de la bobina y genera un potencial de acción. Los cambios inducidos pueden verse reflejados claramente tras la estimulación del área motora primaria o sobre la raíz espinal cervical en forma de potenciales motores evocados (PME) (Batrés-Faz *et al.*, 2000; Griškova *et al.*, 2006; Malavera *et al.*, 2014).

Los pulsos simples de EMT despolarizan poblaciones de neuronas y pueden alterar de manera transitoria la actividad cerebral, induciendo una actividad nerviosa aleatoria en el área estimulada; si esta área resulta necesaria para el desarrollo de una tarea dada, su ejecución debería verse alterada. Un estímulo único de intensidad y orientación adecuadas, despolariza la membrana neuronal (probablemente en el origen del axón o en terminaciones dendríticas) e induce un potencial de acción que puede desencadenar una respuesta postsináptica excitadora seguida de un potencial postsináptico inhibitor (Pascual y Tormos, 2008).

Durante la estimulación con pulsos simples o trenes de corta duración, la hipótesis más plausible es que se entorpece de forma cíclica el ritmo normal de activación de grupos de neuronas corticales encargadas del desarrollo de ciertas funciones. Las corrientes inducidas por dichos pulsos despolarizan poblaciones de neuronas, induciendo en ellas periodos de actividad refractaria forzada que entorpecen sus ritmos normales de descarga y el patrón oscilatorio en redes neurales distribuidas. La EMTr es capaz de modular la actividad

cerebral en la región cortical afectada más allá de la duración de la estimulación de la misma y es utilizada para inducir cambios deseables en la actividad cerebral y normalizar alteraciones (Pascual y Tormos, 2008).

3.3.3 Aplicaciones Terapéuticas

La EMT puede utilizarse como complemento de otros métodos empleados en neurociencia para el estudio de vías motoras centrales, de la excitabilidad cortical y en el mapeo de funciones cerebrales corticales (Pascual y Tormos, 2008). En el mapeo de funciones cerebrales es de gran ayuda debido a su capacidad de resolución espacial y temporal, así como por el hecho de ser capaz de activar o interferir con funciones cerebrales. Esto permite establecer relaciones causales entre actividad cerebral y comportamiento (Pascual y Tormos, 2008). En la tabla 2 se muestran diversos estudios que sugieren que la EMT funciona como tratamiento en diversas patologías del sistema nervioso.

Tabla 2. Empleo de la EMT como tratamiento en diversas patologías

Patología	Trabajos que sugieren mejoría
Abstinencia en el abuso de sustancias	Malavera <i>et al</i> , 2014
Alucinaciones	Pascual y Tormos, 2008; Leon-Sarmiento <i>et al</i> , 2013;
Alzheimer	Leon-Sarmiento, 2013; Verdugo-Diaz, 2014
Autismo	Pascual y Tormos, 2008; Leon-Sarmiento <i>et al</i> , 2013; Malavera <i>et al</i> , 2014
Depresión	Pascual y Tormos, 2008; Ibiricu y Morales, 2009; Malavera <i>et al</i> , 2014; Verdugo-Diaz, 2014
Dolor crónico	Pascual y Tormos, 2008; Leon-Sarmiento <i>et al</i> , 2013; Malavera <i>et al</i> , 2014; Verdugo-Diaz, 2014
Epilepsia	Pascual y Tormos, 2008; Ibiricu y Morales, 2009; Leon-Sarmiento <i>et al</i> , 2013; Malavera

	<i>et al</i> , 2014
Esclerosis múltiple	Malavera <i>et al</i> , 2014
Esclerosis lateral amiotrófica	Malavera <i>et al</i> , 2014
Espasticidad	Pascual y Tormos, 2008
Esquizofrenia	Pascual y Tormos, 2008; Malavera <i>et al</i> , 2014
Huntington	Verdugo-Diaz, 2014
Migrañas	Pascual y Tormos, 2008; Leon-Sarmiento <i>et al</i> , 2013; Malavera <i>et al</i> , 2014; Verdugo-Diaz, 2014
Mioclonus cortical	Ibiricu y Morales, 2009
Parkinson	Pascual y Tormos, 2008; Ibiricu y Morales, 2009; Leon-Sarmiento <i>et al</i> , 2013; Malavera <i>et al</i> , 2014; Verdugo-Diaz, 2014
Tartamudez	Malavera <i>et al</i> , 2014
Temblor	Pascual y Tormos, 2008
Tinnitus	Leon-Sarmiento <i>et al</i> , 2013; Malavera <i>et al</i> , 2014; Verdugo-Diaz, 2014,
Trastorno bipolar	Malavera <i>et al</i> , 2014
Trastornos de atención	Pascual y Tormos, 2008; Malavera <i>et al</i> , 2014
Trastornos obsesivo- compulsivos	Pascual y Tormos, 2008; Leon-Sarmiento <i>et al</i> , 2013; Malavera <i>et al</i> , 2014
Rehabilitación en infarto cerebral o lesión traumática	Pascual y Tormos, 2008; Ibiricu y Morales, 2009; Leon-Sarmiento <i>et al</i> , 2013; Malavera <i>et al</i> , 2014; Hongyang, 2015; Yoon, 2015
Rehabilitación en secuelas motoras, cognitivas y lingüísticas	Faz, 2000; Pascual y Tormos, 2008; Leon-Sarmiento <i>et al</i> , 2013; Malavera <i>et al</i> , 2014

Tabla 2. Empleo de la EMT como tratamiento en diversas patologías (continuación).

Los efectos conductuales de la EMT deben considerarse consecuencia de la modulación de actividad de toda una red neural. La EMT es una herramienta eficaz, segura y no invasiva para modular la actividad en dicha red

e inducir la normalización funcional por cambios en conectividad y actividad distribuida (Pascual y Tormos, 2008).

3.4 Conducta motora

Para establecer qué es la conducta motora es conveniente definir el fundamento de ésta: el control motor, el cuál involucra un conjunto de procesos que los animales tienen o aprenden para estabilizar o mover el cuerpo o las extensiones físicas del mismo en formas deseadas, esto incluye actividades típicas como caminar, correr, nadar o en el caso del humano hablar, escribir o hacer expresiones faciales (Wiley, 2002).

El control motor y por lo tanto las conductas que se desarrollan a partir de éste, provienen de la actividad desarrollada en el cerebro, principalmente en la corteza motora, existe fuerte evidencia de que la planificación de las secuencias de movimiento requiere de la actividad anticipada del cerebro. Diferentes partes del cerebro se activan en diferentes tiempos en relación con el inicio del movimiento.

La corteza motora suplementaria, por ejemplo, se activa un segundo antes del movimiento, mientras que la corteza motora primaria generalmente se activa sólo 50µs antes de que comience el movimiento voluntario. Esta diferencia sugiere que la corteza motora está involucrada en un nivel motor más elevado que la corteza primaria (Roland, 1993).

Cuando sobreviene una lesión, los efectos cognitivos y conductuales son altamente variables; una lesión incluye un daño estructural en una intrincada red neuronal y este daño puede extenderse con el tiempo si no hay procesos de neuroprotección que se activen o exacerben para contener dicho daño (Catani y Mesulam, 2008).

En modelos de rata con lesión por percusión de fluidos, en la corteza sensorimotora se ha demostrado que se establecen varios déficits, por ejemplo hay asimetría en la ejecución de pruebas en las cuales hay que usar las extremidades, también se presenta déficit motor en pruebas donde se mide la locomoción e incluso problemas visio-espaciales en pruebas como el laberinto

de Morris así como incapacidad de recordar ciertos procesos a largo plazo (Peterson *et al.* 2015).

En pacientes humanos, inmediatamente después de que sucede la lesión, comienza un complejo curso temporal de reorganización cerebral y recuperación de la función, en algunos casos la plasticidad del sistema nervioso permite que se restablezcan los déficits funcionales (Fujimoto *et al.*, 2005).

4. JUSTIFICACIÓN

El TCE es un problema de salud pública a nivel mundial. Las repercusiones para el individuo, la familia y la sociedad en general han cobrado gran importancia desde la perspectiva de la mortalidad, la incapacidad resultante y los altos costos económicos generados. Hasta la fecha, no existe un tratamiento específico efectivo dirigido a la atención de esta patología. Es por ello que se requiere encontrar una alternativa para el tratamiento del TCE que permita la reincorporación del individuo a la sociedad con las menores secuelas posibles y en un periodo de tiempo más corto.

La EMT es un método no invasivo que se ha empleado en tratamientos neurológicos con gran éxito. Se propone que al ser una herramienta simple, reproducible y no invasiva, pueda utilizarse como herramienta terapéutica para el tratamiento de TCE en la población mundial.

5. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿El efecto neuroprotector inducido por la estimulación magnética transcraneal repetitiva tendrá una correlación con los efectos conductuales motores producidos posterior a un traumatismo craneoencefálico en ratas?

6. HIPÓTESIS

Si la EMT ha demostrado la generación de efectos neuroprotectores, entonces al utilizarla en ratas sometidas a un TCE, debemos esperar una mejora en la conducta motora.

7. OBJETIVO GENERAL

- ❖ Evaluar el efecto de la estimulación magnética transcraneal en la conducta motora de ratas con traumatismo craneoencefálico

8. OBJETIVOS PARTICULARES

1. Observar la conducta motora en ratas control y con TCE.
2. Analizar la conducta motora el ratas con TCE y tratadas con estimulación Sham.
3. Examinar la conducta motora en ratas con TCE y tratadas con estimulación magnética transcraneal.
4. Comparar diversos parámetros metabólicos en los grupos control, TCE, estimulación Sham y estimulación magnética transcraneal.

9. MÉTODOS

9.1 Sujetos experimentales.

Estos experimentos se llevaron a cabo en el laboratorio de Neuroendocrinología de la Facultad de Medicina, UNAM, se utilizaron ratas *Rattus norvegicus*, macho, adultas de la cepa Wistar, de 250 a 300g de peso al inicio del experimento.

Se conformaron cuatro grupos (n=12 por grupo):

- Control: Ratas con anestesia el día en que se traumatizó a los otros grupos, el resto del tiempo se mantuvo en condiciones de bioterio.
- TCE: Ratas con TCE sin un tratamiento posterior.
- TCE+SHAM: Ratas con TCE y posteriormente sometidas a restricción de movimiento y una bobina SHAM 15 minutos al día por 7 días.
- TCE+EMT: Ratas con TCE y posteriormente sometidas a EMT, con una intensidad de 1Hz, durante 15 minutos al día, por 7días

Las condiciones de bioterio en las que se mantuvieron a los sujetos consisten en una temperatura media de 22°C (rango de 20° a 23°), con una humedad de 60% y un ciclo de 12 horas luz / 12 horas oscuridad comenzando

a las 8 horas. Los individuos fueron alimentados con la fórmula de *Laboratory Rodent Diet. 5001* y agua filtrada *ad libitum*, llevando un registro del consumo diario así como del peso corporal de los sujetos durante todo el experimento.

Todos los procedimientos experimentales se llevaron a cabo de acuerdo con la NOM-062-ZOO-1999.

9.2 Inducción del traumatismo

Anestesia del sujeto experimental con una solución de hidrato de cloral al 6% vía intraperitoneal (X mg/Kg), posteriormente, se expuso la corteza cerebral dejando al descubierto bregma, y con la ayuda del Atlas de Paxinos y Watson (2006), se localizó la corteza motora en las coordenadas lateral: Bregma - 2.0; posterior: Bregma + 1.4. Se colocó al sujeto en un traumatizador tipo “weight drop model”, donde se indujo un trauma a 40 libras de presión (PSI) y 6 mm de profundidad.

9.3 Estimulación magnética transcraneal

Se llevó a cabo en el laboratorio de Bioelectromagnetismo del departamento Fisiología con apoyo de la Doctora Leticia Verdugo Diaz.

El estimulador fue diseñado *ad hoc* para ratas, por el grupo del Dr. en Bioelectrónica David Elías Viñas, del CINVESTAV, consiste en un aparato de estimulación magnética con una bobina en forma de “8” que emite la estimulación. En este estudio se utilizó 1Hz (considerado como de baja frecuencia) durante 15 minutos por día, por 7 días, así como una bobina “sham” que no emite estimulación, pero que emite el mismo ruido. La estimulación se aplicó a la misma hora del día (13 horas).

Se colocó a la rata sin anestesia en un cilindro de restricción para mantener su cabeza fija y directamente sobre la zona del daño se colocó la bobina en “8” para brindar estimulación, o la bobina sham según el grupo al que perteneciera.

9.4 Pruebas de conducta motora

9.4.1 Escala de Hunter

Escala utilizada para evaluar el estado general del sujeto experimental. Consiste en una serie de pruebas que estudian la conducta motora en ratas, los parámetros que se analizan se muestran en la tabla 4. La escala se aplicó a todos los grupos incluyendo al control, midiéndose 24 horas previas al TCE y hasta el día 7 post trauma. Los datos de cada grupo se analizaron estadísticamente (como se describe al final de esta sección) y se graficaron.

Tabla 4. Escala de Hunter. Escala de evaluación de 21 puntos (*Hunter, 2000*).

Prueba	Puntuación	Rata control (21 puntos)
Colocación de la pata	1 – Por cada pata colocada exitosamente se asigna 1 punto	4
Reflejos correctos	1 – Respuesta rápida	1
Prueba de la barra horizontal	3 – Sube ambas extremidades 2 – Sube una sola extremidad 1 – Sólo se cuelga 0 – Se cae	3
Plataforma inclinada	3 - Rotación máxima 15s 2 – Rotación 15-30s 1 – Rotación más de 30s	3
Rotación	1 – Por cada lado que rote al contrario	2
Alcanzamiento visual de las patas delanteras	1 – Por cada colocación exitosa de patas	2
Circulación	1 – No gira en círculos 0 – Gira en círculos	1

Reflejo contralateral	1 – Sin reflejo 2 – Con reflejo	1
Motilidad	2 – Motilidad normal 1 – Balanceo no fijo 0 – Inmóvil	2
Condiciones generales	2 – Normal (Buena condición de pelaje, alerta) 1 – Desaliñado (pelaje sucio, mala postura, agresivo) 0 – Delgado, débil	2
Total		21 puntos

Tabla 4. Escala de Hunter. Escala de evaluación de 21 puntos (Hunter, 2000). Continuación

9.4.2 Barra de equilibrio

De acuerdo con Gulinello (2010), es una prueba de conducta motora sensible para algunos déficits de coordinación motora, en particular de los miembros posteriores. La capacidad de la rata para sostenerse de la barra es inversamente proporcional a su diámetro (Deacon, 2013).

Consiste en una barra cuadrada de madera de 2cm de ancho, y una barra redonda de 2cm de diámetro, ambas con 100cm de longitud y con marcas cada 25cm. Cada barra (por separado) se monta sobre una base de madera inclinada, con 40cm de separación del piso en su parte más baja, y 50cm en la parte más elevada, protegida por una red para amortiguar la caída de la rata en caso de error. En la parte más elevada de la barra se encuentra una caja de seguridad de acrílico color negro que, debido a la aversión de las ratas a la luz y a las alturas, proporciona seguridad.

La dificultad de la prueba varía con la forma (siendo la barra redonda la que presenta mayor dificultad) y anchura de la barra.

Desarrollo de la prueba

Se precisó de un entrenamiento y habituación del sujeto hacia la barra, por lo cual, el primer día se le colocó en la marca de 25cm más cercana a la caja de seguridad, y se midió el tiempo en que el sujeto tardó en llegar de la marca a la caja de seguridad. En caso de que el sujeto cayera de la barra, o tuviera más de 3 deslices, se consideró error.

Se realizaron 5 intentos por barra (5 intentos barra cuadrada, 5 intentos barra redonda). Posteriormente se le dejó descansar el resto del día. Los días posteriores se realizaron como se muestra en la siguiente tabla.

Tabla 3. Protocolo a seguir para el entrenamiento de los sujetos experimentales en la barra inclinada.

Día	Distancia	Intentos barra cuadrada	Intentos barra redonda
1	25 cm	5	5
2	25 cm	1	1
	50 cm	4	4
3	50 cm	1	1
	75 cm	4	4
4	75 cm	1	1
	100 cm	4	4
5	100 cm	5	5

El entrenamiento se llevó a cabo 5 días previos al TCE, mientras que la prueba se realizó desde el día previo y hasta el día 7 post TCE.

9.5 Análisis estadístico.

Se analizaron y compararon los datos obtenidos tanto en las pruebas de conducta motora como la ingesta de alimento, agua y el peso de los sujetos durante el experimento.

Para establecer el uso de pruebas paramétricas o no paramétricas, se realizó una prueba de Shapiro-Wilk (1965) para evaluar si existía normalidad en

los datos, seguida de una prueba de Levene para determinar si existía homogeneidad de varianzas. Se procedió aplicar pruebas no paramétricas (Kruskal-Wallis) en la Escala Neuroconductual, al no cumplir con el supuesto de homogeneidad de varianzas ($p < 0.05$) y una comparación múltiple de medias como prueba post-hoc. El resto de los datos fue analizado mediante un ANOVA de medidas repetidas y como prueba post-hoc se aplicó una prueba de Tukey.

Todos los datos fueron procesados con *STATISTICA* (Stat Soft. Inc. 2007) versión 8.0

10. RESULTADOS

A continuación, se presentan los resultados obtenidos en este proyecto, en primer lugar los correspondientes a los parámetros metabólicos que se midieron a los sujetos experimentales.

10.1 Consumo de Agua

La figura 5 muestra el consumo de agua tanto para el grupo control como para los grupos experimentales, se grafica el consumo de agua previo al TCE y a las 24h, 3, 5 y 7 días post-TCE. Se puede apreciar una caída en el consumo a las 24 horas post TCE, en todos los grupos destacando diferencias significativas entre los grupos grupo TCE y TCE+EMT, siendo el primero significativamente menor al resto de los grupos. Por otro lado, no existen diferencias entre los grupos Control y TCE+EMT.

El grupo TCE muestra un consumo variable a lo largo del experimento. Se muestran los días en donde hubo diferencias significativas con ($F_{(15,192)}=2.18, p<0.05$) (Figura 5).

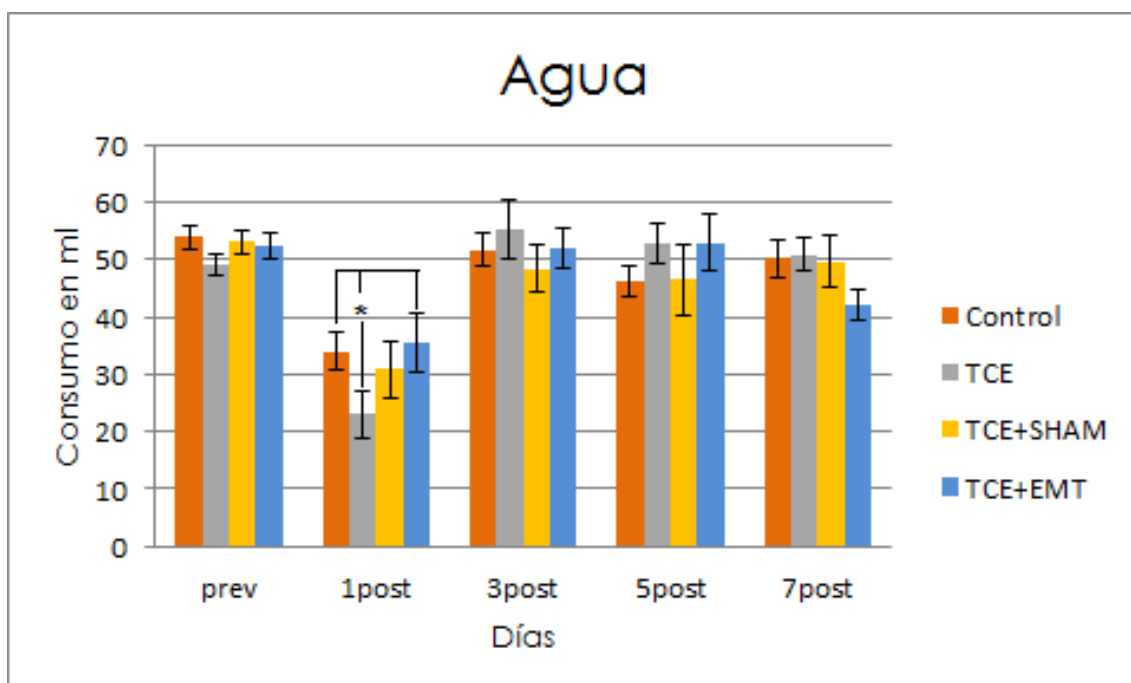


Figura 5. Medición del consumo de agua. La grafica muestra el promedio \pm error estándar para la ingesta de agua medida tanto al grupo control como a los experimentales antes y 24h, 3, 5 y 7 días post-TCE. $F_{(15,192)}=2.18, p<0.05, n=12$.

10.2 Consumo de Alimento

La figura 6 muestra el consumo de alimento para todos los grupos tanto en la fase previa al TCE como a las 24h, 3, 5 y 7 días post TCE, se indica cuando existieron diferencias estadísticamente significativas ($F_{15,192}= 2.01$, $p<0.05$).

Se puede observar que a las 24h post-TCE, los grupos TCE+SHAM y TCE+EMT tiene un mayor consumo que el grupo de solo TCE, en esta grafica es muy claro como el grupo TCE+EMT aumenta progresivamente su consumo de alimento por encima de los otros grupos experimentales hasta alcanzar el nivel del grupo control, tanto el grupo TCE+SHAM y solo TCE aumentan el consumo pero no en los niveles del grupo control.

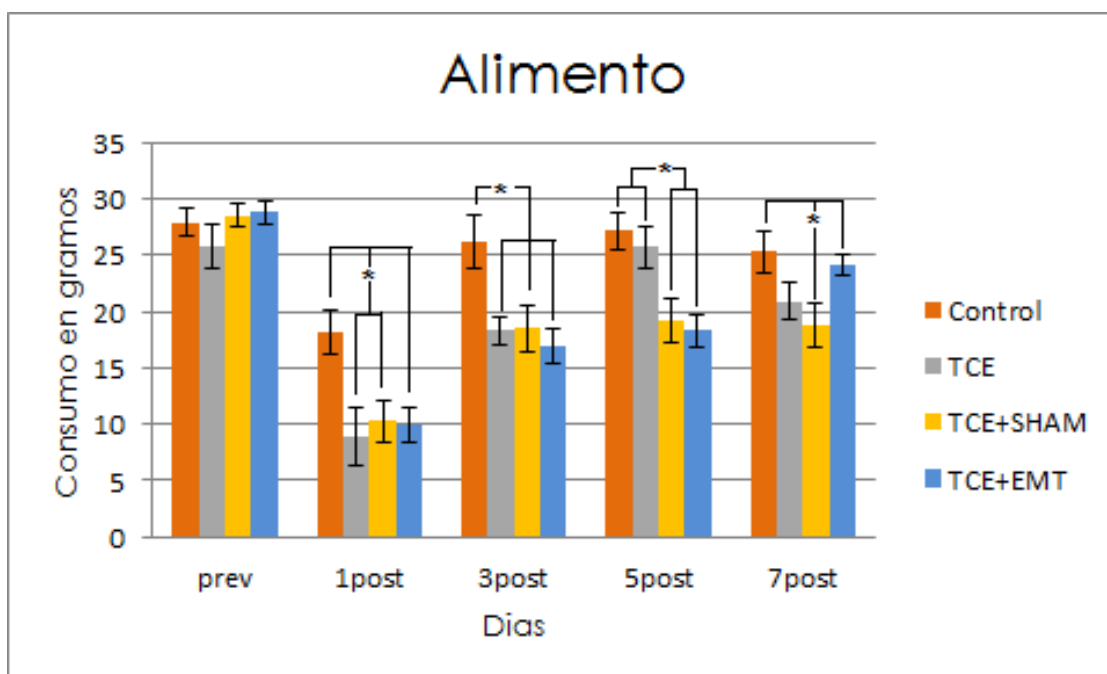


Figura 6. Consumo de alimento. La grafica muestra cómo se dio el consumo de alimento tanto en el grupo control y los experimentales, antes y 24h 3, 5 y 7 días post-TCE. Se grafica promedio \pm error estándar. $F_{15,192}= 2.01$, $p<0.05$, $n=12$.

10.3 Diferencia en peso corporal

A continuación, se muestran las mediciones del peso corporal de todos los grupos (Fig. 7), se puede apreciar una clara tendencia a la pérdida de peso 24h post-TCE con diferencias altamente significativas en la diferencia de peso ($F_{15,192}= 4.96$, $p<0.001$); Dónde control es diferente a TCE y TCE+SHAM y el grupo TCE es diferente al grupo TCE+EMT.

Nuevamente al día 3 hay una recuperación en este parámetro observándose que el grupo TCE+EMT tiene una mayor recuperación, aunque

ya no es estadísticamente significativa. En el día 5 post todos los grupos tienen valores similares por lo que no hay diferencias significativas en este periodo.

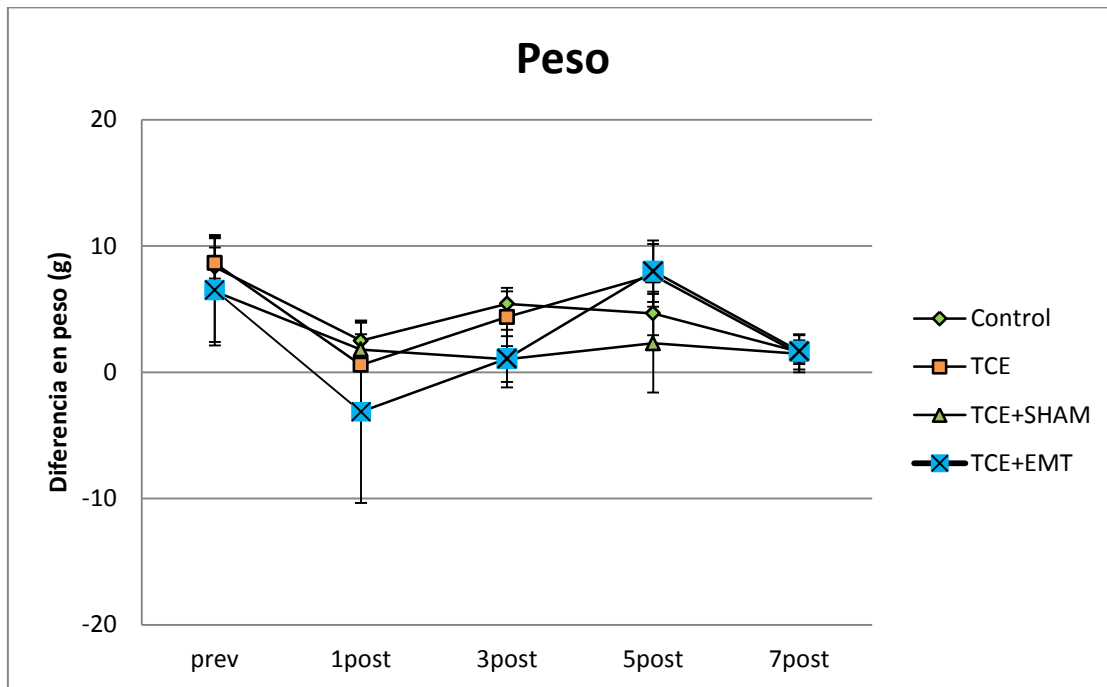


Figura 7. Medida de peso. Esta gráfica muestra la medición de peso en todos los grupos (control y experimentales), de manera previa y posteriormente a las 24h 3, 5 y 7 días de efectuado el TCE. Se grafica promedio \pm error estándar. $F_{(15,192)} = 4.96$, $p < 0.001$, $n = 12$.

A continuación se muestran los resultados obtenidos en las pruebas de conducta motora.

10.4 Escala de Hunter

Como se describió en la metodología se utilizó una escala Neuroconductual (Hunter, 2000), para medir la recuperación motora, espacial y los reflejos en todos los grupos, la figura 8 muestra los resultados de aplicar esta escala, en donde el máximo puntaje es 21 para un sujeto normal, la gráfica muestra que a las 24 horas post-TCE, los grupos TCE+SHAM y TCE+EMT tienen una tendencia hacia un puntaje superior en la escala con respecto al grupo solo TCE, la cual se mantiene hasta el día 7. Por otro lado, el grupo con solo TCE cae en la escala a las 24 h y solo después de los 3 a 5 días alcanza los valores de los grupos anteriormente mencionados.

Esta grafica muestra por lo tanto el curso temporal de todos los grupos al valorarlos con una escala neuroconductual ofreciendo un panorama general de su recuperación post TCE.

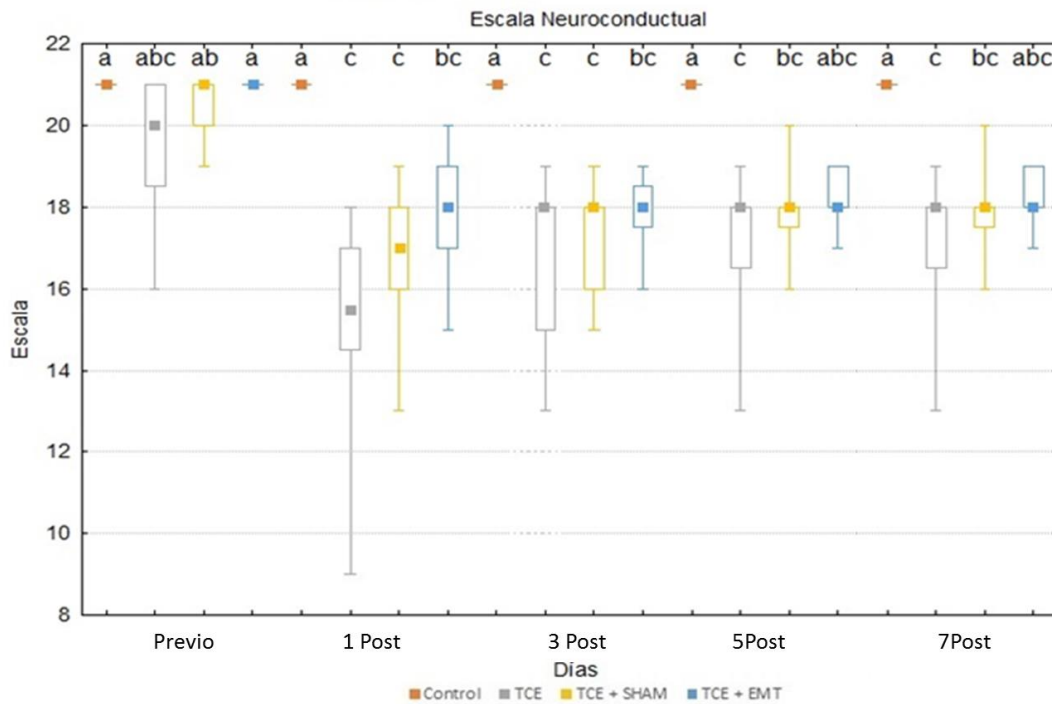


Figura 8. Escala Neuroconductual. La gráfica muestra el promedio \pm error estándar de los valores alcanzados tanto por el grupo control como los experimentales, al aplicar la escala neuroconductual de 21 puntos de Hunter. Se grafican el periodo previo al TCE y mediciones a las 24h, 3, 5 y 7 días post-TCE. $H_{(15,192)}=150.97$, $p<0.01$, $n=12$.

Tomando en cuenta el puntaje específico para conducta motora en la escala neuroconductual, es decir eliminando los parámetros que miden reflejos, se generó una gráfica en donde el puntaje máximo es de 15 puntos y es la que corresponde a la figura 9. Aquí se puede observar con mayor claridad el efecto que se dio en los grupos TCE+SHAM y TCE+EMT, por ejemplo a las 24h post-TCE hay una valoración más alta en estos grupos con respecto al grupo de solo TCE, además desde el día 3 al 7 post TCE conservan el puntaje en la escala, lo que no sucede con el grupo de solo TCE, el cual tiene la puntuación más baja a las 24h además de que no alcanza los valores de los otros grupos siendo diferente al control incluso el día 7, en la gráfica se destacan las diferencias estadísticamente significativas ($H_{(15,192)}=131.12$, $p<0.01$).

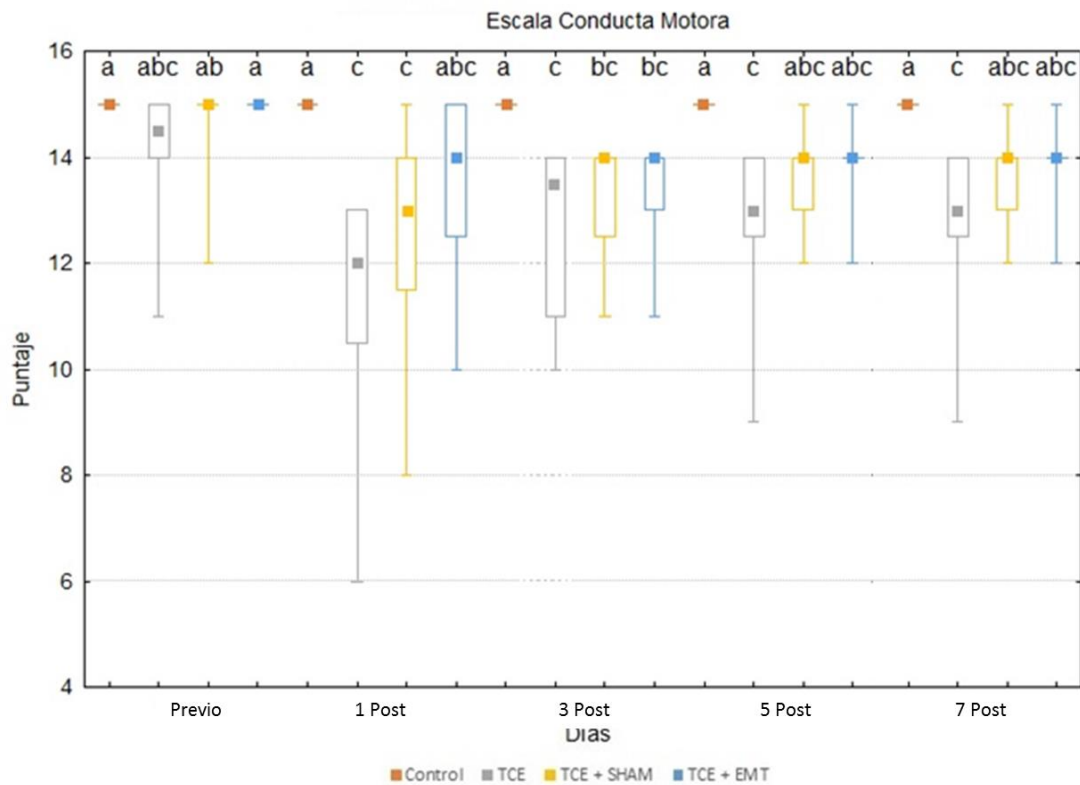


Figura 9. Escala Neuroconductual reducida. La gráfica muestra los valores promedio \pm error estándar de la escala de Hunter para todos los grupos, considerando los parámetros correspondientes a conducta motora y eliminando los parámetros correspondientes a la medición los reflejos. Se muestran los valores tanto de la etapa previa a efectuar el TCE como las mediciones a las 24h, 3 y 5 días post-TCE. $H_{(15,192)}=131.12$, $p<0.01$, $n= 12$.

10.5 Porcentaje de aciertos barra de equilibrio (cuadrada)

La figura 10 es una gráfica donde se muestra la proporción de aciertos que tuvieron los sujetos en sus cinco intentos en la barra de equilibrio modalidad cuadrada.

Nuevamente el grupo de solo TCE muestra diferencias significativas con respecto al control a las 24h mientras que los grupos TCE+SHAM y TCE+EMT no se diferencian del grupo control. Al día 3 de la prueba, el grupo TCE+SHAM es el que muestra diferencia con respecto al grupo control, sin embargo al día 5 todos los grupos son similares. .

Sobresale el hecho de que TCE+EMT no presenta diferencias con control a lo largo del experimento. Mientras que el grupo de solo TCE muestra una ejecución que cae a las 24h con diferencias altamente significativas con respecto al control y solo alcanza a este grupo hasta el día 5 de la prueba.

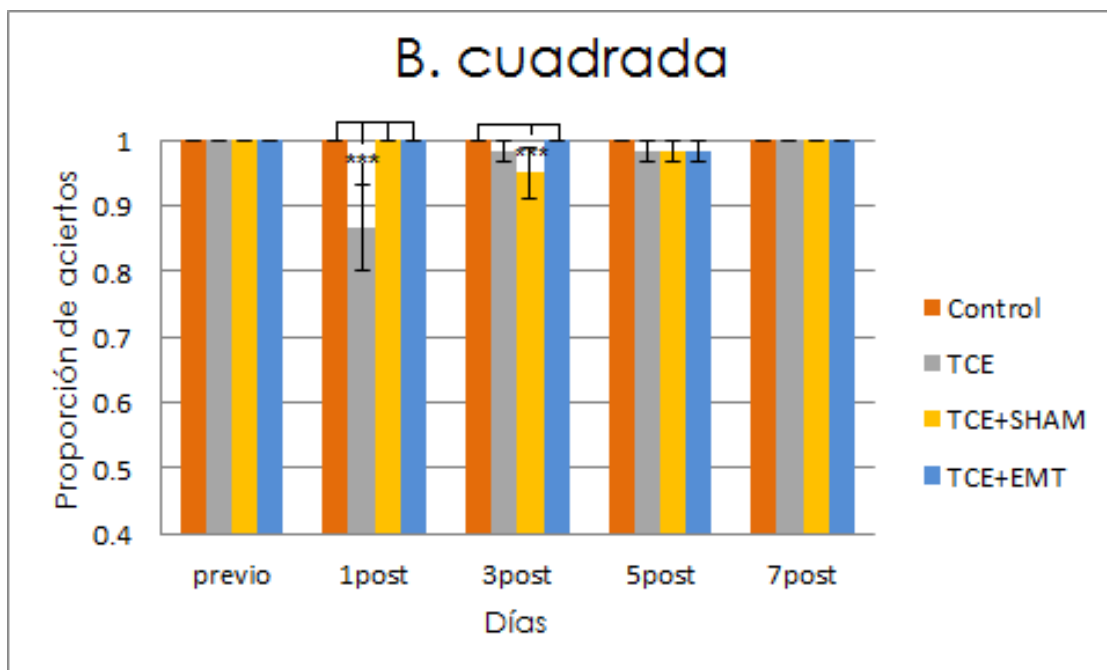


Figura 10. Prueba de barra de equilibrio cuadrada. Esta gráfica muestra la prueba de equilibrio para todos los grupos, utilizando una barra de forma cuadrada. Se presentan los valores promedio de la ejecución de la prueba \pm error estándar en la etapa previa a la TCE y los valores obtenidos una vez que se efectuó, midiendo a las 24h, 3, 5 y 7 días. $F_{(15,192)} = 3.69$, $p < 0.001$, $n = 12$.

10.5.1 Porcentaje de aciertos barra de equilibrio (redonda)

En la figura 11 se muestran los resultados para la prueba de equilibrio con barra redonda, como puede apreciarse el grupo de solo TCE es el que peor ejecuta la prueba a las 24h, mientras que al día 3 de la prueba la ejecución sigue siendo pobre con respecto al grupo control y al grupo TCE+EMT, incluso al día 7 este grupo se muestra diferente con respecto a los demás.

Por su parte esta figura muestra claramente como el grupo TCE+SHAM ejecuta la prueba a las 24 h por encima del grupo de solo TCE y aunque tiene una caída en la ejecución al día 3, para el día 7 prácticamente no hay diferencia con respecto al grupo control.

Por lo que respecta al grupo TCE+EMT, la gráfica muestra como este grupo a las 24h ejecuta la prueba, solo un poco por debajo del grupo control y muy por encima del resto de los grupos, además al día 3 iguala en la ejecución

al grupo control y esto se mantiene al día 7 de la prueba donde no hay absolutamente ninguna diferencia con respecto al grupo control.

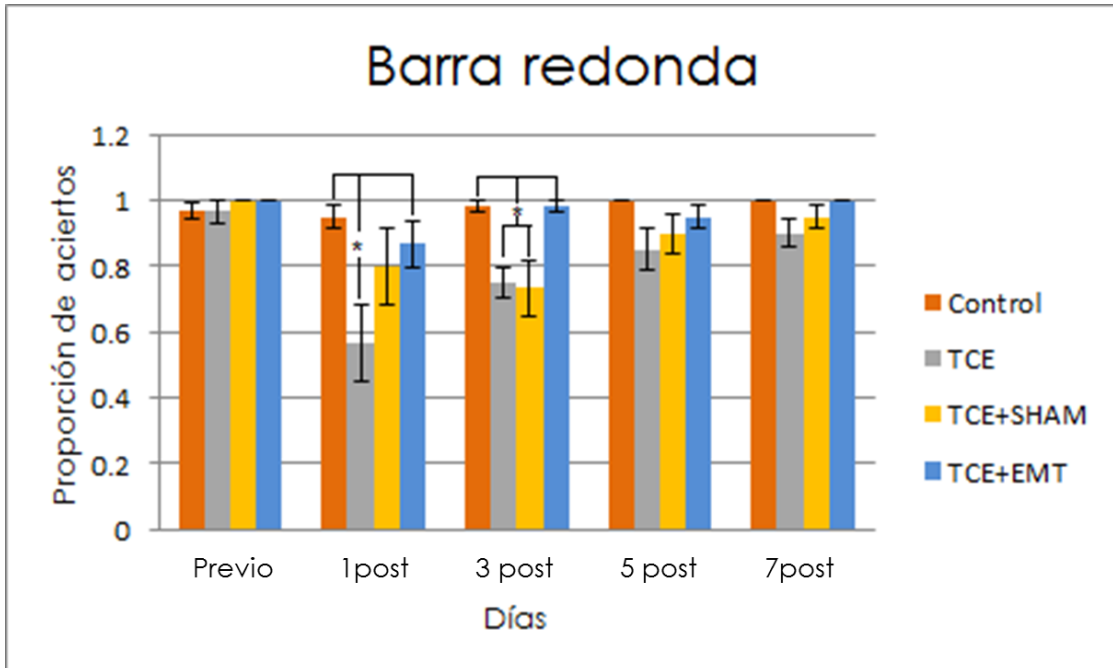


Figura 11. Prueba de equilibrio con barra redonda. Esta gráfica muestra el promedio \pm error estándar de los valores obtenidos tanto por el grupo control, como los experimentales, en la ejecución de la prueba de equilibrio utilizando una barra redonda, los valores mostrados son los obtenidos previamente a efectuar el TCE, y a las 24 horas, 3, 5 y 7 días post TCE. $F_{(15,192)}=2.46, p<0.05, n=12$.

11. DISCUSIÓN

Este trabajo se centró en evaluar el efecto de la Estimulación Magnética Transcraneal como mecanismo de neuroprotección en ratas con TCE. Dicha evaluación se hizo midiendo diversos parámetros correspondientes al metabolismo en general como fueron la ingesta de alimento y agua, así como el peso corporal de los sujetos. También se evaluaron parámetros neuroconductuales y conducta motora.

En cuanto a los parámetros metabólicos los resultados de este trabajo muestran que posterior a un TCE tanto la ingesta de agua como alimento descienden considerablemente, así mismo existe una pérdida considerable en el peso corporal de los sujetos experimentales. Lo anterior se explica porque cuando hay daño cerebral ocurre una alteración de la barrera hematoencefálica, lo que permite la llegada al cerebro de ácido biliar proveniente del metabolismo hepático, lo que ocasiona que diversas funciones neuronales tanto a nivel metabólico como humoral se afecten (Nizamutdinov *et al.*, 2017).

Por ejemplo, se sabe que el ácido biliar puede alterar el eje hipotálamo-hipofisiario, al afectar entre otras regiones a los núcleos laterales hipotalámicos, los cuales son responsables de la ingesta de alimento. Este daño anula la sensación de hambre lo que propicia la inanición del individuo, que se caracteriza por adelgazamiento, debilidad muscular y metabolismo reducido (McMillin *et al.*, 2016; Hall, 2016).

El hipotálamo también controla el equilibrio hidroelectrolítico, por lo que cualquier daño sobre este centro de control conlleva a una hiposecreción o hipersecreción de hormona antidiurética. En el primer caso se puede presentar poliuria (exceso de secreción de orina), mientras que en el segundo la sobre secreción es independiente de la osmolaridad del plasma, lo que lleva a un estado de hipotonicidad, en este caso la toma de agua empeora el efecto del TCE y aumenta el edema (Herrera-Martínez, 2011).

Se conoce además que las disfunciones endocrinas son una consecuencia común del TCE y pueden presentarse de manera inmediata o

mucho tiempo después del impacto, estas consecuencias también ocasionan déficits motores y psiquiátricos (Schneider y cols. 2005).

Por otra parte se han descrito las llamadas neuronas AgRP, localizadas en el núcleo arcuato del hipotálamo, las cuales tiene un papel preponderante en el control del comportamiento de ingesta (Shutter, 1997). Si se activan causan una potente hiperfagia, pero su inhibición y/o lesión, llevan a la inanición en unos cuantos días (Wu, 2009). Si a partir del TCE hay anomalías en el eje hipotálamo-hipófisis, esto pudiera explicar en parte la baja ingesta de los sujetos luego de un TCE y a su vez proporcionar un blanco a investigar, para aminorar las consecuencias metabólicas de este daño (Wu y Zheng, 2018)

Los resultados de este trabajo muestran que los grupos correspondientes a solo TCE, TCE+SHAM y TCE+EMT se comportan de acuerdo a lo descrito anteriormente, mostrando ingesta de agua y alimento muy bajas con respecto al control y la consecuente pérdida de peso, sin embargo los grupos TCE+SHAM y TCE+EMT muestran una recuperación más rápida sobre todo a las 24 horas en donde claramente se ve una tendencia de estos dos grupos a la recuperación, al tener una mayor ingesta de agua y alimento con la consecuente ganancia de peso; en este último parámetro además se observa como hacia los días finales de las mediciones hay ya un ajuste de todos los grupos y se comportan de manera similar, lo que indicaría que los grupos TCE+SHAM y TCE+EMT, mantienen su recuperación.

Se conoce que la EMT tiene efecto en la excitabilidad neuronal, incluso provocando activación o inhibición de vías, esto depende de la intensidad del campo el tipo de pulso que se use la duración de las sesiones y el tiempo entre sesiones (Barker *et al.*, 1999, Estrada-Rojo y Verdugo-Díaz, 2003).

En el caso de este trabajo las características de las condiciones de la EMT usada (descritas en la metodología), se pueden considerar que son inhibitorias de la excitabilidad neuronal, además de que tendrían efecto en la modulación de redes neuronales específicas. Esto podría estar modulando los procesos de desregulación que se estén llevando a cabo en zonas como el

hipotálamo y por consecuencia reduciendo los efectos a nivel metabólico consecuencia del TCE (Pascual-Leone *et al.*, 2008; Olivero *et al.*, 2014).

Además existen evidencias publicadas por el grupo de los laboratorios de Neuroendocrinología y Bioelectromagnetismo del departamento de Fisiología de la Facultad de Medicina de la UNAM, que muestran que los campos magnéticos tiene efectos en varios niveles, dependiendo también del tipo de campo que se use. Por ejemplo, los campos estáticos pueden producir cambios a niveles de estrés oxidativo tanto en plasma como en cerebro (Coballase *et al.*, 2018). También la EMT puede modular cambios de este tipo en cerebro a nivel celular, por ejemplo, se ha mostrado que genera recuperación post TCE en zonas como el hipocampo (Verdugo-Díaz *et al.*, 2017) además de que puede influir en la expresión de receptores de neurotransmisores que intervienen en la neuroprotección ante un TCE como puede ser el receptor a GABA_A, (Hernández-Luna, 2017). Todos estos efectos podrían estar coadyuvando a la mejora en las condiciones metabólicas y conductuales que reporta este trabajo.

La otra parte importante que aborda este trabajo es la evaluación neuroconductual, las escalas neurológicas son de gran ayuda para evaluar de manera rápida y fiable la gravedad de un TCE. Como se sabe posterior a un TCE, pueden surgir una serie de anomalías en funciones ejecutivas, las cuales tienen impacto en la forma en que un sujeto tiene una vida segura e independiente en su comunidad. Puede abarcar desde incapacidades de procesos motores básicos como el desplazamiento, el control de extremidades, hasta desempeños conductuales anómalos como la incapacidad de inhibir ciertos impulsos, agresiones impulsivas, aspectos cognitivo-conductuales (problemas para planeación, debilidad emocional, generación de empatía) esto dependiendo de la zona dañada. (Wood y Worthigton, 2017).

Por otra parte, se han hecho diversos estudios de escalas y pruebas neuroconductuales en modelos de TCE en rata. Es importante resaltar dos aspectos: primero no son muchos los trabajos que abordan las respuestas motoras y conductuales post-TCE a mediano y largo plazo, segundo hay varios detalles que deben considerarse para que las respuestas medidas sean

fidedignas, por ejemplo la aclimatación de los individuos a las condiciones de laboratorio y/o considerar si hay que exponerlos a las pruebas planteadas con anterioridad o no (Sell *et al.*, 2017; Hausser *et al.*, 2018). En este trabajo, se cuidaron estos detalles con detenimiento y se eligieron pruebas que se sabe valoran aspectos conductuales importantes para conocer la recuperación ante un TCE; por otra parte este trabajo incluye una batería de pruebas conductuales que permiten explorar de manera adecuada la recuperación motora luego de un TCE.

Para este estudio se utilizó la escala de 21 puntos de Hunter, ya que, al igual que la escala de coma de Glasgow, puede ser dividida para evaluar específicamente aspectos de la conducta motora. El número y tipo de pruebas que abarcan, por ejemplo, la prueba de plataforma inclinada y la barra horizontal involucran la exploración de la acomodación espacial del individuo lo que a su vez incluye al sistema vestibular y áreas que permiten las funciones senso-motoras como la corteza sensomotora, el tálamo, el cerebelo, los ganglios basales y las neuronas corticoespinales, entre otras áreas. Los déficits en esta pruebas indicarían potencialmente alteraciones en alguna de estas áreas y por el contrario una calificación alta en los grupos experimentales, con respecto al grupo con TCE, indicarían recuperación de la función y por lo tanto menor daño (Hamm, 2001; Sell *et al.*, 2017; Hauser *et al.*, 2018).

La figura 8 muestra los resultados de este trabajo mediante el uso de la escala de Hunter que como se explicó en la metodología contiene una serie de pruebas que abarcan diversas funciones sensoriales, motoras, de equilibrio y reflejos. Podemos observar que el día previo al TCE los valores de la escala están en 21 puntos que es el máximo de la escala y representa la normalidad, el grupo de solo TCE está en 20 puntos lo que pudo deberse a que esta grupo todavía no estaba perfectamente habituado (Hausser *et al.*, 2018), sin embargo ésta no es una diferencia significativa por lo que se pudo seguir con el estudio.

Posterior al TCE, se observa en los grupos experimentales una calificación más baja en la escala neuroconductual, tanto en el estudio de

Hausser, 2018 como en el presente, se observa que el día previo a la lesión es significativamente diferente a los días posteriores, sin embargo, si observamos a los grupos TCE+SHAM y TCE+EMT vemos que califican mejor que el grupo de solo TCE, esto apoyaría la hipótesis de este trabajo, es decir, mostrar que la EMT funciona como terapia neuroprotectora, modificando la conducta motora de las ratas con TCE. Además podríamos decir que también la restricción de movimiento lograría ser un coadyuvante en la recuperación ante un TCE. En este sentido trabajos previos han demostrado que efectivamente la sola restricción actúa por ejemplo a nivel de estrés oxidativo permitiendo la activación de los mecanismos que inhiben a las especies reactivas de oxígeno, las cuales en este caso estarían produciéndose por efecto del TCE, si esto es así la restricción por sí misma ayudaría a aminorar el daño post-TCE (Coballase *et al.*, 2018). Por su parte la EMT, en las condiciones en que fue aplicada, se consideraría que estaría produciendo un efecto inhibitorio de la excitabilidad neuronal, lo que disminuiría la excitotoxicidad que se produce luego de un TCE y por lo tanto disminuye el daño.

Como ya se mencionó en este trabajo, la escala neuroconductual de Hunter abarca parámetros que evalúan reflejos, los cuales se integran a nivel de médula, por lo que estos parámetros no se ven afectados dado que la lesión es nivel de corteza motora (Berret, 2009; Hall, 2016), por lo tanto se decidió excluirlos y solo evaluar los aspectos que evalúan la parte sensorimotora. Si se hace esto, nos queda la gráfica de la figura 9, la cual muestra de manera muy clara que a las 24 horas post-TCE, el grupo de solo TCE presenta la evaluación más baja en la prueba, mientras que, tanto el grupo de TCE+SHAM como el grupo TCE+EMT tienen calificaciones más altas, de hecho el grupo de TCE+EMT claramente califica mejor y se acerca al grupo control, en los días posteriores al daño; los días 3 al 7 este grupo mantiene una calificación que si bien no iguala a la obtenida por el grupo control sigue siendo muy cercana, algo que no sucede con el grupo de solo TCE que siempre queda por debajo, mientras que el grupos TCE+SHAM muestra también recuperación alcanzando el nivel del grupo TCE+EMT a partir del día 3, lo que nuevamente nos indica que también el proceso de restricción podría estar coadyuvando a la neuroprotección.

Dentro de las pruebas de este estudio, se incluye una prueba de equilibrio conocida como barra de equilibrio en dos modalidades, barra cuadrada y redonda, la cual detecta déficits tanto en la coordinación motora como en la función cognitiva, por lo tanto, es sensible al daño en cerebelo y las áreas cerebrales relacionadas con el control motor. Esta prueba no debe ser utilizada a largo plazo ya que el animal puede generar apatía por realizar la prueba, o bien los cambios en su edad y peso modifican su comportamiento (Hausser *et al.*, 2018).

Las figuras 10 y 11 muestran los resultados de la prueba de la barra de equilibrio, en la modalidad de barra cuadrada se vuelve a mostrar que los grupos TCE+SHAM y TCE+EMT ejecutan la prueba mejor que el grupo de solo TCE, mientras que en el resto de los ensayos (días 3 a 7) prácticamente no hay diferencias en la ejecución en ninguno de los grupos, esto reafirma que tanto la restricción como la EMT producen un efecto neuroprotector inmediato, lo cual confirma la importancia de establecer ventanas terapéuticas temporales luego de un TCE.

Es importante resaltar que este tipo de pruebas puede presentar habituación, lo que hace que los sujetos dejen de desempeñar la prueba, surjan problemas de orientación, estado de conciencia y resolución de conflictos, limitando la capacidad de los individuos para pensar o responder a diferentes estímulos ambientales, por lo cual ya no detectan factores de riesgo y al estar sobre las barras de equilibrio la rata no reacciona como debería y no escapa hacia la caja de seguridad, pues la barra y la altura ya no representan un riesgo para ella independientemente de que presenten algún daño, esto sucedió con algunos de los sujetos experimentales el día 7 (Wood y Worthington, 2017).

Cuando se produce un TCE se ha demostrado que existe una disminución de la excitabilidad cortical en el lado lesionado, que se correlaciona con el rendimiento motor del sujeto en los primeros 3 meses posteriores a un TCE. El equilibrio interhemisférico también se ve afectado pues hay una hiperexcitabilidad en el hemisferio sano, y una hipoexcitabilidad en el

hemisferio lesionado, esta alteración tiene repercusiones en la recuperación motora (Swayne *et al.*, 1988).

Se ha propuesto que posterior a un TCE, se disminuye la excitabilidad cortical además de que existen cambios en las interacciones interhemisféricas, esto depende del tipo y la gravedad del TCE así como el tiempo que transcurre entre la lesión y el tratamiento empleado. La EMTr es una terapia que neuromodula y restaura las interacciones interhemisféricas mediante la inhibición de la corteza con frecuencias iguales o menores a 1Hz. Cuando la EMTr se aplica sobre la corteza motora, la corriente activa a las interneuronas, las cuales, activan vías trans-sinápticas y éstas a su vez impulsan neuronas del tracto corticoespinal. La respuesta muscular periférica se puede registrar por electromiografía como un potencial motor evocado (Lu *et al.*, 2017).

Lo anterior explicaría los resultados que se muestran en este trabajo, la EMTr actuaría recuperando interacciones neuronales en la zona dañada. Lo que llevaría a una recuperación motora.

Finalmente otra causa de la recuperación que observamos en este trabajo, podría ser que la EMTr favorece una mayor expresión de los receptores GABAa tanto en la zona ipsi como la contralateral al TCE, así como en zonas que son muy susceptibles como el hipocampo (Hernández-Luna, 2017), el receptor GABAa podría ser el blanco de la EMTr que provocara que la excitabilidad de la zona dañada sea modulada, por ejemplo, una mayor expresión de los GABAa se opondría al efecto excitotóxico de los receptores NMDA que también suelen cambiar de expresión cuando ocurre un TCE (Laurer *et al.*, 1999; Hoyte *et al.*, 2004; Estrada-Rojo *et al.*, 2018).

También es un hecho, que el grupo TCE+SHAM tiene una recuperación en muchos casos parecida a la tiene el grupo TCE+EMT, esto podría sugerir que la restricción de movimiento a la que se somete a los sujetos experimentales pudiera ser un factor importante que ayude a la recuperación de un TCE. Incluso, estudios previos indican que la restricción aumenta los niveles NO debido al estrés causado, (Coballase *et al* 2018) lo que abre un panorama interesante de investigar.

12. CONCLUSIONES

Los resultados muestran que efectivamente la EMTr induce cambios que permiten que la recuperación ante un TCE sea más rápida y que esta mejoría se mantenga a lo largo del tiempo que duró el experimento.

Los resultados también muestran que tanto las variables metabólicas como las conductuales, medidas en este estudio, son un buen parámetro para medir recuperación ante un TCE.

Es importante resaltar que en este estudio, el grupo TCE+SHAM también tuvo mejoras en cuanto a la ejecución de las tareas post TCE, sin embargo sigue quedando por debajo de los grupos tratados con EMTr, por lo tanto proponemos establecer futuros estudios que evalúen los efectos de la restricción de movimiento tras un TCE.

Estudios como estos son un parteaguas que nos indican que la EMTr sin duda es una gran alternativa en el tratamiento del traumatismo craneoencefálico.

13. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ardila, A., y Roselli, M. (2007). *Patologías Neurológicas*. En Neuropsicología Clínica (11-23). México: El manual moderno S. A. de C. V.
- Barker AT. (1999). The history and basic principles of magnetic nerve stimulation. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol Suppl*, 51: 3–21.
- Bárcenas O., Rodríguez A., Rivero M., Cañizal G., Mestre M., y Calvo P. (2006). Revisión del traumatismo craneoencefálico. *Neurocirugía*, 17, 495-518.
- Bartrés, D., Junqué. C., Tormos. J., y Pascual, A. (2000). Aplicación de la estimulación magnética transcraneal a la investigación neuropsicológica. *Rev Neurol*, 30 (12), 1169-1174.
- Berret, K., Barman, S., Boitano, S., y Brooks, H. (2009). *Ganong's Review of medical Physiology*. New York: McGraw Hill.
- Casas, C. (2008). *Traumatismos craneoencefálicos*. En S. de Neuropediatría (118-128). El palmar, Murcia: Hospital U. Virgen de la Arrixaca.
- Catani, M. Mesulam, M. (2008). What is a disconnection syndrome? *Cortex*, 44, 911-913.
- Coballase, E., Navarro, L., Ortiz, J., Verdugo-Díaz, L., Gallardo, J., Hernández, M., y Estrada-Rojo, F. (2018). Static Magnetic Fields Modulate the Response of Different Oxidative Stress Markers in a Restraint Stress Model Animal. *BioMed Research International*, 2018, p. 9.
- Constanti, C., Cardoso, R., Fürbringer, S. (2011). Escala de Coma de Glasgow nas primeiras 72 horas após trauma cranioencefálico e mortalidade hospitalar. *Revista Latino-Americana de Enfermagem*, 19, p. 7.
- Deacon, R. (2013). Measuring Motor Coordination in Mice. *Journal of Visualized Experiments*, 75.
- Estrada-Rojo, F., Morales, J., Tabla, E., Solís, B., Navarro, H., Martínez, M., Pérez, A., González, R., Rodríguez, L., y Navarro, L. (2012).

Neuroprotección y traumatismo craneoencefálico. *Revista de la Facultad de Medicina UNAM*, 55 (4), pp. 16-29

- Estrada-Rojo, F., (En revisión 2015) Mecanismos morfológicos, celulares y moleculares del daño por trauma craneoencefálico. Entendiendo el daño para generar neuroprotección
- Estrada-Rojo, F., y Verdugo-Díaz, L. (2003). La Estimulación Magnética Transcraneal. *Ciencia y desarrollo*, XXIX, 172.
- Estrada-Rojo, F., Morales, J., Coballase, E., Martínez, M., y Navarro, L. (2018). Diurnal variation of NMDA receptor expression in the rat cerebral cortex is associated with traumatic brain injury damage. *BMC Research Notes*, 11: 150.
- Fujimoto, S., Longhi, L., Saatman, K., Conte, V., Stocchetti, N., y McIntosh, T. (2005). Motor and cognitive function evaluation following experimental traumatic brain injury. *Neurosci Biobehav*, 4, pp. 365-378
- Garduño, F. (2008). Traumatismo craneoencefálico en niños: Mecanismos de la lesión primaria. *Bol. Médico Hospital Infantil, México*, 65, pp. 148-1533.
- Geschwind, N. (1985). Mechanism of change after brain lesions. *The New York Academy of Sciences*, 457, pp. 1-11.
- Gulinello, M., Acquarone, M., Kim, J., Spray, D., Barbosa, H., Sellers, R., Tanowitz, H., y Weiss, L. (2010, Julio 12). Acquired infection with *Toxoplasma gondii* in adult mice results in sensorimotor deficits but normal cognitive behavior despite widespread brain pathology. *Microbes and infection*, 12, pp. 528-537.
- Hall E., (2016). *Guyton y Hall tratado de fisiología médica*. España: S.A. Elsevier España. 13ª edición.
- Griškova, I., Höppner, J., Rukšėnas, O., y Dapšys, K. (2006). Transcranial magnetic stimulation: the method and application. *Medicina (Kaunas)*; 42(10): pp. 798-804.
- Hamm, R. (2001). Neurobehavioral Assessment of Outcome Following Traumatic Brain Injury in Rats: an evaluation of select measures. *J, Neurotrauma* 18(11), pp. 1207-1216.

- Hausser, N., Johnson K., Parsley, M., Guptarak, J., Sparrt. H, y Sell S., (2018). Detecting Behavioral Deficits in rats After Traumatic Brain Injury. *J.Vis.Exp* (131), e56044.
- Herrera, E. (2011). *Traumatismo Craneoencefálico, Fundamentos patología, fisiopatología clínica, diagnóstico y tratamiento*. Puebla, México: Trillas.
- Hernández-Luna, M. (2017) *Expresión del receptor GABA_A, en cerebros de rata sometida a traumatismo craneoencefálico y estimulación magnética transcraneal*. Tesis Licenciatura, Biología Facultad de Ciencias UNAM. pp. 83
- Hoyte, L., Barber, P., Buchan, A., y Hill, M. (2004). The rise and fall NMDA antagonist for ischemic stroke. *Current Molecular Medicine*, 4, pp. 131-136.
- Hunter, A., Hatcher, J. Virley, D., Nelson, P., Hadingham, S., y Parsons, A., (2000) Functional assessments in mice and rats after focal stroke. *Neuropharmacology* 39. pp. 806-816.
- Ibircu, M., y Morales G. (2009) Estimulación magnética transcraneal. *An. Sist. Sanit. Navar.*; 32 (supl. 3): pp. 105-113.
- Jain, K. (2011). *The Handbook of Neuroprotection*. Switzerland: Humana Press.
- Laurer, L., y McKintosh, T., (1999) Experimental models of brain trauma. *Current Opinion Neurology*. (6) 715-21.
- Leon-Sarmiento, F., Granadillo, E., y Bayona, E. (2013). Presente y futuro de la estimulación magnética transcraneal. *Investigación Clínica*, 54 (1), 74-89.
- Lu, X., Bao, X., Li, J., Zhang, G., Guan, J., Gao, Y., y Wang, R. (2017). High-frequency repetitive transcranial magnetic stimulation for treating moderate traumatic brain injury in rats: A pilot study. *Experimental and therapeutic medicine*, 13(5), 2247-2254.
- Malavera, M., Silva, F., García, R., Rueda, L., y Carrillo, S., (2014,). Fundamentos y aplicaciones clínicas de la estimulación magnética transcraneal en neuropsiquiatría. *Revista Colombiana de Psiquiatría*.43 (1): pp. 32-39.

- McCormick, W. (1985). Pathology of closed head injury. En Wilkins RH, (pp. 11544-1570). New York: SS.
- McMillin, M., y DeMorrow, S. (2016). Effects of bile acids on neurological function and disease. *FASEB Journal*. 30(11):3658-3668
- Menon, K., Schwab, K., Wright, D., y Maas, A., (2010). Position Statement: Definition of Traumatic Brain Injury. *Archives of physical Medicine and Rehabilitation*.;91:1637-40
- Montero, J., Roig, L., Jiménez, J., Calderón, G., y Donnay, B. (2000) Traumatismo craneoencefálico. En: *Medicina de Urgencias: Guía Diagnóstica y Protocolos de Actuación*. (Cap 80, pp 667-675). Madrid: Harcourt.
- Morales, M y Mora, E. (2000). Traumatismo craneoencefálico. *Medicina General*, 20, 38-45.
- Muñoz, J., Lapedriza, N., Pelegrín, C., y Tirapu, J. (2001). Factores de pronóstico en los traumatismos craneoencefálicos. *Rev Neurol*. 32(4): pp. 351-364.
- Muñoz-Marrón, E., Redolar, D., y Zulaica, A. (2012). Nuevas aproximaciones terapéuticas en el tratamiento de la heminegligencia: la estimulación magnética transcraneal. *Rev Neurol*; 55: pp. 297-305.
- Nizamutdinov, D., DeMorrow, S., McMillin, M., Kain, J., Mukherjee S., Zeitouni S., Frampton, G., Clint, P., Hurst, J., y Shapiro, L., (2017). Hepatic alterations are accompanied by changes to bile acid transporter-expressing neurons in the hypothalamus after traumatic brain injury. *Scientific Reports*. 7:40112. pp. 10.
- Oliviero, A., Carrasco, M., Soto, V., Campolo, M., y Mordillo, L. (2014). Efecto de los campos magnéticos estáticos sobre la corteza cerebral. *En: Estimulación magnética transcraneal y neuromodulación*. Capítulo 11. España: Elsevier; pp. 127-133.
- Pascual-Leone, A., y Tormos-Muñoz, J. (2008). Transcranial magnetic stimulation: the foundation and potential of modulating specific neuronal networks. *Conferencia Inaugural. Rev Neurol*;46 Supl 1:S3-10
- Paxinos, G., y Watson, C., (2006). *The rat brain in stereotaxic coordinates*: Elsevier. P.456

- Pellegrino, F. (2010). Traumatismo craneoencefálico: Fisiopatología, monitorización y tratamiento. *Rev Arg Neuro*; (1), pp 9-15
- Peterson, T., William, R., Maass, J., Anderson, R., Anderson, G., y Hoane, R., (2015). A behavioral and histological comparison of fluid percussion injury and controlled cortical impact injury to the rat sensorimotor cortex. *Behav Brain Res.* 1; 294: 254–263.
- Roland, P. (1993). Brain activation. New York: Wiley
- Shapiro, S. y Wilk, M. (1965). "Analysis of variance test for normality (complete samples)" *Biometrika* 52: 591–611.
- Schneider, M., Shneider, HJ. Stalla, GK. (2005) Anterior pituitary hormone abnormalities following traumatic brain injury. *J. Neurotrauma.* 22:93746
- Shutte, JR. (1997) Hypothalamic expression of ART, a novel gene related to agouti, is Up-regulated in obese and diabetic mutant mice. *Gene Dev.* 11:593-602.
- Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica (2008). Aspectos clínicos y epidemiológicos del Trauma Craneoencefálico en México. Secretaría de Salud; 25: pp1-4
- Wiley, J. (2002). Stevens' handbook of experimental psychology. New York: John Sons, Inc.
- Swayne, D., Tyler, D., y Batker, J. (1988). Cerebral infarction with associated venous thrombosis in a dog. *Veterinary pathology*, 25(4), 317-320.
- Traumatic Brain Injury In the United States. Department of Health and Human Services Centers for Disease Control and Prevention. Emergency Department Visits, Hospitalizations and Deaths 2002-2006. Revisado en Noviembre, 4, 2015, Disponible en :[<http://www.cdc.gov/TraumaticBrainInjury>]
- Verdugo-Díaz L., y Drucker, R., (2014) Campos magnéticos: usos en la biología y la medicina. En: *Estimulación magnética transcraneal y neuromodulación*. Capítulo 1. España: Elsevier. pp. 1-19.
- Verdugo-Díaz, L., Estrada-Rojo, F., García, A., Hernández, Hernández, A., Guzmán, C., Martínez, M., Pérez, A., Calvario A, Elías, D., y Navarro, L. (2017). Effect of Intermediate-Frequency Repetitive Transcranial Magnetic Stimulation on Recovery following Traumatic Brain Injury in Rats. *BioMed Research International.* (2017), Article ID 4540291, pp. 11.

- Yepes, M. (2001). Thrombolytics and neuroprotective agents in the treatment of the patient with an acute cerebrovascular ischemic accident. *Rev Neurol*; 32(3): pp. 259-266.
- Wood, R., y Worthington A. (2017). Neurobehavioral abnormalities Associated with Executive Dysfunction after Traumatic Brain Injury. *Front. Behavior. Neurosci.*11: pp. 195.
- Wu, Q., Boyle, MP., Palmiter, RD. (2009). Loss of GABAergic signaling by AgRP neurons to parabrachial nucleus leads to starvation. *Cell* 137;1225-1234.
- Wu, Q. y Zheng, R.,(2018). *Neural Regulation Metabolism*. Springer. Singapore. Pte Ltd. 240 pp.