



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
FACULTAD DE PSICOLOGÍA

---

# **Efecto del efaroxan en la recuperación funcional tras una lesión cortical en ratas adultas**

TESIS QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

**LICENCIADA EN PSICOLOGÍA**

PRESENTA

**Dora Alicia Aguilar Dorado**

DIRECTORA: Dra. Laura Elisa Ramos Languren  
REVISOR: Mtro. José Antonio Hernández Santos

SINODALES:

Dr. Octavio César García González  
Dr. Hugo Sánchez Castillo  
Dr. José Fernando Peña Ortega





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.

*Dedicado a:*

*A mi hermano Miguel,  
Porque cuando todo salía terriblemente mal, fue un domingo  
cualquiera o todo era maravilloso, siempre estuviste tú.*

*A mi mamá,  
Porque cuando yo me veía imperfecta, tú me enseñaste a ver mi  
magia*

*A mi abuela Alicia,  
Porque al final del día, esta tesis siempre se trató de ti.*

## **Agradecimientos:**

El agradecimiento es la memoria del corazón, y mi corazón no sabe olvidar...

Me gustaría comenzar agradeciendo a los apoyos PAPIIT-UNAM: IA203319 e IN216221, por la beca otorgada durante el proceso de titulación. Al laboratorio de Neurobiología del envejecimiento y daño cerebral, que me acogió, me escuchó y me guió en este camino de la investigación. Gracias a Karen Zaldivar, por ser mi amiga, compañera y comadre en esta vida de la ciencia.

A mi asesora de tesis, Laura Elisa Ramos-Languren, gracias por ser mi “boss”, mi amiga, mi maestra y mi confidente, gracias por no soltarme en este momento, gracias por todo lo que hiciste para que diera este salto cuántico, gracias por abrirme las puertas de tu laboratorio y de tu casa, mientras la ciencia esté en manos de personas como tú, siempre será un proceso más humano.

A mis sinodales; el Mtro. José Antonio Hernández Santos, el Dr. Octavio César García González, el Dr. Hugo Sánchez Castillo y el Dr. José Fernando Peña Ortega, por sus sugerencias y aportaciones para mejorar esta tesis.

A mi mamá, Dora Dorado, que siempre confió en mí, que siempre me hizo sentir valiosa e inteligente, que me abrazó y me escuchó, que me enseñó a dar el último estirón, que me dio el privilegio de decirle mamá.

A mi papá, Miguel Ángel, que es mi eterno maestro, que me acompañó a caminar y me enseñó la importancia del camino, que me apoyó, que confió en mis sueños, que nunca para y siempre inspira.

A mi hermana, Itzel, siempre raras, siempre tan iguales, siempre tan hermanas. A mi increíble sobrino José Fernando, que me llenó de amor e inspiración desde el día uno, gracias por tu huellita en forma de “nani” en mi vida.

A mi hermano, Miguel, gracias por ser mi mejor amigo, la vida es más fácil porque siempre estás tú, y a mi cuñada Mitzi, que me ha visto crecer, me ha dado consejo y me ha querido como una hermana,

A mis acompañantes caninos, Camilo y Puca, gracias por tantos pelitos y amor en este viaje.

Agradezco con el corazón en la mano a Ricardo Victoria, gracias por tanta nobleza en tu cuerpo, por tanto amor y por tanta paciencia, gracias por abrazarme cerquita de tu corazón, por los viajes en coche, por las risas de madrugada y sobre todo por todo lo que hiciste para que este proyecto fuera lo que es, gracias por ser tú, por quererme así y dejarme quererte tanto, no sé cuál sea el siguiente paso en esta vida pero me da muchísimo menos miedo porque sé que lo hago de tu mano. Gracias también a tu increíble familia que siempre confió en mí.

Gracias a mis niños a todos y cada uno, gracias al preescolar que me hizo esto que soy hoy, gracias por enseñarme a hacer todo con amor, a fluir y darme paciencia del tamaño de un océano, gracias por sus besitos y sus dibujos a crayola, siempre serán esta parte llena de fantasía y burbujas de mi vida.

Gracias a Leonardo Valero, que me acompaña en esta vida desde que teníamos 10, que me ha visto evolucionar y crecer y siempre ha querido esta esencia tan mía, gracias por querer este corazón de pollo y enseñarlo a ser fuerte.

Gracias a Angélica Macedo Vargas, que me acompañó en las madrugadas, que me escuchó en la pandemia y me hizo parte de su vida, que me enseñó a creer y a luchar por los sueños, gracias por escucharme, por motivarme y sobre todo por mostrarme que todos tenemos alas y el poder de cumplir lo que deseamos.

Gracias a mis jefecitos del inglés, Karla y Omar, porque vieron talento en mi torpeza, me dieron coraza y cobijo, por ser amigos y maestros antes que jefes, porque siempre tenían una palabra llena de amor o un chiste y por ser los primeros en verme florecer.

Gracias a mis amigas Gaby y Zoe, que fueron compañeras del camino más empedrado jamás vivido, porque a su lado se vivió con humor, porque me enseñaron a defenderme y a poner límites, porque en su fuerza yo encontré la mía.

Gracias a mi “amiga amiga” Diana, gracias por tratarme con ternura, a darme paciencia y reírte conmigo de todo, por no soltarme, por siempre enseñarme y llenar de música la vida, la universidad y los problemas, sin tu compasión y tu consejo la vida no sería tan sencilla.

Gracias a Mariano que siempre fue ejemplo de aventura y perseverancia, que siempre se hace un huequito en la vida para escucharte o jugar un juego de mesa.

Gracias a Fer, que es la amiga más honesta y fiel, que me escucha, me motiva, que demuestra todos los días con su ejemplo, lo bonito que es ser la mejor versión de ti mismo.

Gracias a los Fernandos, Fernanda y Fernanda, por su simpleza, alegría y amor, porque hicieron la vida universitaria sustancialmente más ligera.

Gracias a Irlanda, gracias por ser la mejor directora, la más humana, por tus palabras y tu amistad, que la vida siempre te ponga donde mereces.

Gracias a Pao, mi doctora y burrita socarrona, gracias por tu corazón tan noble y tu amistad tan sincera.

Gracias a Vanesa, mi amiga y comadre de la vida, por motivarnos, por vernos triunfar, por tu amor.

Gracias a mi psicóloga Oli, porque me mantuviste cuerda en todo esto.

## Índice

<b><u>Antecedentes</u></b> .....	<b>11</b>
<b><u>EVC</u></b> .....	<b>9</b>
<b><u>Epidemiología de la EVC</u></b> .....	<b>13</b>
<b><u>Clasificación de la EVC</u></b> .....	<b>14</b>
<b><u>Etiología y fisiopatología de la EVC</u></b> .....	<b>16</b>
<b><u>Manifestaciones clínicas de la EVC</u></b> .....	<b>18</b>
<b><u>Clasificación clínica anatómica y etiopatogenia específica de la EVC</u></b> .....	<b>19</b>
<b><u>Lesión FeCl<sub>2</sub></u></b> .....	<b>21</b>
<b><u>Neuroplasticidad</u></b> .....	<b>24</b>
<b><u>Recuperación funcional</u></b> .....	<b>25</b>
<b><u>Mecanismos de recuperación funcional</u></b> .....	<b>28</b>
<b><u>Estructuras anatómicas relevantes en el proceso de recuperación funcional: hipocampo y GD</u></b> .....	<b>30</b>
<b><u>La NA, catecolamina necesaria para la recuperación funcional</u></b> .....	<b>31</b>
<b><u>Receptores adrenérgicos</u></b> .....	<b>33</b>
<b><u>Papel de la NA en la recuperación funcional</u></b> .....	<b>35</b>
<b><u>Efaroxan</u></b> .....	<b>36</b>
<b><u>Justificación</u></b> .....	<b>39</b>
<b><u>Pregunta de investigación</u></b> .....	<b>41</b>
<b><u>Hipótesis</u></b> .....	<b>41</b>
<b><u>Objetivos</u></b> .....	<b>41</b>
<b><u>Objetivo general</u></b> .....	<b>41</b>
<b><u>Objetivos específicos</u></b> .....	<b>41</b>
<b><u>Método</u></b> .....	<b>42</b>
<b><u>Animales</u></b> .....	<b>42</b>
<b><u>Cirugía Estereotáxica para implantación de cánula</u></b> .....	<b>43</b>
<b><u>Cuidados pre y post quirúrgicos</u></b> .....	<b>44</b>
<b><u>Administración crónica del fármaco</u></b> .....	<b>44</b>
<b><u>Administración aguda del fármaco</u></b> .....	<b>44</b>
<b><u>Evaluación motora y somato sensorial</u></b> .....	<b>44</b>
<b><u>Modelo crónico</u></b> .....	<b>50</b>
<b><u>Análisis histológico</u></b> .....	<b>51</b>

<b><i>Disección de GD y puente.....</i></b>	<b><i>52</i></b>
<b><i>Análisis cromatográfico de NA .....</i></b>	<b><i>53</i></b>
<b><i>Análisis estadístico .....</i></b>	<b><i>54</i></b>
<b><i>Resultados .....</i></b>	<b><i>55</i></b>
<b><i>Discusión .....</i></b>	<b><i>71</i></b>
<b><i>Conclusiones .....</i></b>	<b><i>77</i></b>
<b><i>Perspectivas .....</i></b>	<b><i>78</i></b>
<b><i>Bibliografía.....</i></b>	<b><i>79</i></b>

## **Listado de figuras, esquemas y tablas**

<b>Figura 1:</b> Subtipos de la Enfermedad Vascul ar Cerebral.....	12
<b>Figura 2:</b> Tomografía Axial Computarizada que muestra la progresión de la zona infartada .....	13
<b>Figura 3:</b> Déficit motor temprano posterior a una lesión de cloruro ferroso (FeCl <sub>2</sub> ) .....	19
<b>Figura 4:</b> Modelo de microinyección de cloruro ferroso (FeCl <sub>2</sub> ).....	20
<b>Figura 5:</b> Modelo experimental post lesión y recuperación.....	29
<b>Figura 6:</b> Proyecciones noradrenérgicas en corte sagital.....	33
<b>Figura 7:</b> Efectos provocados por la noradrenalina post lesión en puente y giro dentado.....	34
<b>Figura 8:</b> Efectos del efroxan y el idazoxan en la regulación de funciones neurocentrales.....	35
<b>Figura 9:</b> Evaluación motora y somatosensorial.....	44
<b>Figura 10:</b> Evaluación motora espontánea.....	45
<b>Figura 11:</b> Tinción de Perls para verificar la administración de cloruro ferroso (FeCl <sub>2</sub> ).....	49
<b>Figura 12:</b> Actividad sensoriomotora y motora en ratas durante el protocolo del tratamiento.....	53
<b>Figura 13:</b> Actividad motora espontánea en ratas durante el protocolo de tratamiento agudo.....	55
<b>Figura 14:</b> Niveles de noradrenalina contenidos en la porción del puente que contiene al Locus Coeruleus posterior al protocolo de tratamiento agudo.....	56
<b>Figura 15:</b> Niveles de noradrenalina contenidos en el giro dentado posterior al protocolo de tratamiento agudo.....	57
<b>Figura 16:</b> Actividad sensoriomotora y motora en ratas durante el protocolo de tratamiento crónico.....	59
<b>Figura 17:</b> Actividad motora espontánea en ratas durante el protocolo de tratamiento crónico.....	61
<b>Figura 18:</b> Niveles de noradrenalina contenidos en la porción del puente que contiene al locus Coeruleus posterior al protocolo de tratamiento crónico.....	62
<b>Figura 19:</b> Niveles de noradrenalina contenidos en el giro dentado posterior al protocolo de tratamiento crónico.....	63
<b>Esquema 1:</b> Modelo agudo.....	46
<b>Esquema 2:</b> Modelo crónico.....	47
<b>Tabla 1:</b> Clasificación de la Enfermedad Vascul ar Cerebral según criterios clínicos.....	16
<b>Tabla 2:</b> Clasificación de la Enfermedad Vascul ar Cerebral según la topografía.....	17
<b>Tabla 3:</b> Codificación y puntaje de la prueba sensoriomotora y motora.....	43

## **Abreviaturas**

**NA:** Noradrenalina  
**GD:** Giro Dentado  
**EVC:** Enfermedad Vascul ar Cerebral  
**SN:** Sistema Nervioso  
**SNC:** Sistema Nervioso Central  
**CA:** Campos de Amón  
**RENAMEVASC:** Registro Nacional mexicano de EVC  
**AIT:** Accidente cerebral isquémico  
**IC:** Infarto cerebral.  
**HIC:** Hemorragia Intracerebral  
**Ca<sup>2+</sup>:** Calcio  
**PA:** Presión Arterial  
**ICCA:** Infarto Complejo de Circulación Anterior  
**IPCA:** Infarto Parcial de la Circulación Anterior  
**ICP:** Infarto de la Circulación Posterior  
**Fe<sup>+</sup>:** Hierro  
**FeCl<sub>2</sub>:** Cloruro ferroso  
**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>:** Peróxido de hidrógeno  
**O<sub>2</sub>:** Anión superóxido  
**·OH:** Radicales de Hidroxilo  
**5-HT:** Serotonina  
**BDNF:** Factor Neurotrófico Derivado del Cerebro  
**CM:** Capa Molecular  
**CG:** Capa granular  
**CP:** Capa Polimórfica /Hilus  
**CRH-ACHT-Cortisol:** Eje hipotálamo-hipófisis. adrenal  
**SNS:** Sistema Nervioso Simpático  
**FD:** Fascículo Dorsal  
**PLC:** Fosfolipasa C  
**PKC:** Proteína Cinasa C  
**AMPc:** Adenosín Monofosfato Cíclico

**K<sup>+</sup>**: Potasio

**INNN**: Instituto Nacional de Neurocirugía y Neurología

**INNNMV**: Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía, Departamento de Medicina Veterinaria

**LTP**: Potenciación a Largo Plazo.

**LTD**: Depresión a Largo Plazo

**AC**: Adenilato Ciclasa

**NaOH**: Hidróxido de Sodio

**EF**: Efaroxan

**IDZ**: Idazoxan

**LCR**: Líquido Cefalorraquídeo.

**GBD**: Estudio Global de Burden (por sus siglas en inglés)

**NSA**: Asociación Nacional de EVC (por sus siglas en inglés)

**EtOH**: Alcohol etílico

**PBS**: Buffer de fosfato de salina

## Resumen

La modulación plástica que posee el cerebro permite que regrese a valores homeostáticos previos a eventos que alteran su funcionamiento neurológico, un claro ejemplo es la recuperación funcional tras una enfermedad vascular cerebral (EVC). De acuerdo con el Instituto Mexicano del Seguro Social (*Enfermedad Vascular Cerebral, 2018*), tiene una incidencia de 118 personas por cada 100,000 habitantes; En modelos animales, tras una EVC se observa una disminución de Noradrenalina (NA) pontina acompañados de un déficit motor.

Por lo tanto, en esta tesis se analizó el papel de la NA, en la recuperación funcional, utilizando un modelo que examina la conducta motora, a partir de sistemas de seguimiento y valoraciones motoras y somatosensoriales, en ratas lesionadas que reciben administraciones, crónicas o agudas de efroxan (EF), fármaco antagonista a los receptores  $\alpha_2$  adrenérgicos.

Para ello se dispuso de 71 ratas Wistar, divididas en cuatro grupos (agudo y crónico), las cuales fueron sometidas a cirugía estereotáxica para ser lesionadas por una microinfusión de cloruro ferroso ( $\text{FeCl}_2$ ) y evaluadas, previas a la cirugía, posterior a la microinfusión, 3 y 6 horas post microinfusión y 3 días después.

Los resultados obtenidos, muestran que una sola administración de EF no es suficiente para aumentar los niveles de NA, no obstante, posterior a la administración crónica, se observan mejoras significativas en los puntajes de las pruebas conductuales, lo que sugiere que, la NA desempeña un papel relevante en la recuperación funcional posterior a una lesión cerebral de tipo hemorrágica, favoreciendo la recuperación motora.

*Palabras clave: Enfermedad vascular cerebral (EVC), Noradrenalina (NA), recuperación funcional, conducta motora.*

**Apoyo PAPIIT-UNAM: IA203319 e IN216221**

## **Antecedentes**

La enfermedad vascular cerebral (EVC), es una alteración neurológica que consiste en la interrupción de flujo sanguíneo al cerebro, y se caracteriza por una aparición brusca de síntomas que persisten por más de 24 horas sin otra causa aparente que el origen vascular (Arauz & Ruíz-Franco, 2012). La disfunción post EVC, es en gran medida provocada por la muerte neuronal en el área del tejido dañado, pero también por la anomalía celular en las áreas que rodean el infarto (conocida como área de penumbra) ya que se inicia un proceso de diasquisis celular, es decir, eventos como hipometabolismo, desacoplamiento neurovascular y neurotransmisión aberrante extendida (Wieloch & Nikolich, 2006).

Sin embargo, posterior al daño provocado por la EVC, existe un proceso denominado recuperación funcional, que, entre otras cosas, permite iniciar una reversión de los procesos celulares conocidos como diasquisis y poner en marcha los mecanismos plásticos, siendo el área no isquémica peri infartada y el área de penumbra reparada, sitios primarios de compensación de las funciones perdidas (Castro Alamancos, 1993). Estos mecanismos, pueden estar mediados por diversas moléculas como es el caso de la noradrenalina (NA), una monoamina que se teoriza, que tras su incremento hay una mejora sustancial en la actividad celular asociada a la recuperación funcional (Feeney et al., 1993).

Los efectos licitados por la NA, se reportan distales al área directamente dañada, además, los cambios remotos pueden tomar de minutos a semanas y son importantes en la recuperación de una EVC (Ramos-Languren et al., 2016). La NA juega un papel vital en la regulación hipocampal, puesto que el aumento de los niveles de NA incrementan la excitabilidad neuronal mediante la activación de los receptores noradrenérgicos en el giro dentado (GD) y en los campos de Amón (CA) (Hardu Hagen et al., 2016), lo que probablemente permita generar mecanismos plásticos en áreas asociadas al aprendizaje y la memoria.

Para permitir un aumento en el flujo de NA dentro del sistema nervioso central (SNC), existen diversos fármacos que inciden en la transmisión noradrenérgica, permitiendo observar la relación de las alteraciones en este sistema de neurotransmisión (Briley & Chantal, 2011) y por lo tanto comprender los

mecanismos de acción generados por la NA, para la recuperación funcional.

## **EVC**

Desde la perspectiva clínica, este proceso es definido por la Organización Mundial de la Salud (2017), como un síndrome clínico caracterizado por el rápido desarrollo de signos neurológicos focales, los cuales persisten por más de 24 horas sin otra causa aparente que el origen vascular, esta definición comprende a los síntomas focales y a la perspectiva radiológica, es decir, la presencia de un tejido dañado, sin llegar a ser necrótico en su totalidad y una zona denominada de penumbra (Guerra, 2018). Aunado a esto, este fenómeno parece ser paralelo al aumento de la población longeva y al de factores de riesgo por ejemplo, la hipertensión, la diabetes, la obesidad y las dislipidemias (Cruz, 2015).

A pesar de que el cerebro constituye únicamente el 2% del peso corporal, los procesos que consumen energía para asegurar su funcionamiento dan cuenta del 25% total de la glucosa utilizada en el cuerpo y casi el 20% del consumo de O<sub>2</sub> de todo el organismo (Iglesias et al., 2022), es decir, es el órgano más dependiente del aporte de oxígeno y glucosa (Arauz & Ruíz-Franco, 2012); empleando la glucosa en los procesos glucolíticos y de fosforilación oxidativa (Guzmán Mellado et al., 2003), donde es convertida en moléculas de ATP y, finalmente, las moléculas de ATP funcionan como transporte molecular, manteniendo los gradientes iónicos en células gliales y neuronas, así como la neurotransmisión glutaminérgica (Sokoloff, 1999; Magistretti & Pellerin, 1999). Sin embargo, al ocurrir una EVC se produce una detención del aporte sanguíneo a una región del cerebro, lo que impide la eliminación de productos de metabolismo y, en consecuencia, se produce una lesión y necrosis tisular con edema citotóxico del encéfalo (Celedón & Avendaño, 2011). Es por esto que, cuando se detiene la función cerebral producto de una privación de oxígeno por más de 60 segundos, sucede una anoxia cerebral que genera infracciones irreversibles, resultado de una baja producción de energía, lo que obliga a las neuronas a utilizar el metabolismo anaeróbico para generarla (Guerra, 2018). Este metabolismo libera un producto conocido como ácido láctico, que interrumpe el balance de ácido-base

normal en el cerebro (Stam, 2005). Entre menor sea el suministro de oxígeno, el glutamato será depletado, disminuyendo los procesos de funcionalidad. Estos procesos son dependientes de energía, además de ser esenciales para la supervivencia celular. Aquello desencadena mecanismos excitotóxicos que estimulan a la microglía y a los astrocitos, lo que produce un desbalance iónico que resulta en un fallo en la bomba de protones y, como consecuencia, resulta una depleción energética: un flujo anormal en del calcio activo, digiriendo más lípidos y materiales nucleares, y por consiguiente, sucede una falla mitocondrial que se expresa como depleción celular, necrosis y apoptosis (Koh & Park, 2017).

### **Epidemiología de la EVC**

En las últimas décadas se ha estimado que en el mundo, cada 4 segundos ocurre un infarto agudo de miocardio y cada 5 segundos una EVC (Rosas-Peralta & Attie, 2007), de acuerdo con el Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS, 2015), en México, la EVC tiene una incidencia de 118 personas por cada 100,000 habitantes al año y los datos de la Secretaría de Salud en México muestran que, desde el año 2000, se incrementó la tasa de mortalidad por la EVC, particularmente en menores de 65 años (Chiquete et al., 2011). Además, datos obtenidos por el Registro Nacional Mexicano de Enfermedad Vascul ar Cerebral (RENAMEVASC) (Ruiz-Sandoval et al., 2011), muestran que la prevalencia de esta enfermedad fue de un 29% sobre un total de 2,000 pacientes, siendo considerada durante el año 2015, la sexta causa de muerte en el país (Leeo, 2015), con un índice del 56% de discapacidad grave, hasta 30 días después del evento agudo (Cruz, 2015). Los datos más recientes, obtenidos en 2018, definen a la EVC como la cuarta causa de muerte en la población general, y la tercera causa de mortalidad en los adultos mayores de 65 años (Chiquete et al., 2011; Arauz & Ruíz-Franco, 2012), lo que define a la EVC como un problema de salud pública, no solo a nivel nacional, sino a nivel mundial; ya que cifras recopiladas por la Organización Mundial de la Salud (2017), refieren a la EVC como la principal causa de discapacidad en países industrializados, donde las secuelas motoras son la principal causa de discapacidad y la hemiplejía, la forma más frecuente, con un 73.63% de casos

reportados, con complicaciones asociadas a la misma (Valdés et al., 2007).

Asimismo, la EVC es también la segunda causa de demencia y la tercera causa global de muerte (9.7%), de las cuales 4.95 millones ocurren en países con ingresos medios y bajos, y su tasa de recurrencia a dos años, va del 10% al 22% (Organización Mundial de la Salud, 2017). La EVC, tiene una tasa de duplicación a partir de los 35 años (Ruiz et al., 2002) y una mortalidad elevada, ya que durante el 2015, se estima que hubo un total de 17,7 millones de muertes asociadas a la EVC, es decir un total de 31% de muertes mundiales (Organización Mundial de la Salud, 2017), aunado a esto, posterior a una EVC, únicamente el 38% de los casos sobrevive al pasar el año, y solo un 30% logra ser independiente, tres meses después de la lesión. El factor de riesgo con mayor grado de vinculación para la EVC, es la hipertensión arterial sistémica, con un porcentaje estimado del 55% al 81% (Cruz, 2015).

En perspectiva, se prevé un mayor impacto particularmente en los países con ingresos medios (Tsai et al., 2013); puesto que, de no existir intervenciones de prevención adecuadas, se calcula que su incidencia se incrementará hasta en un 44% para el año 2030 (Strong et al., 2007).

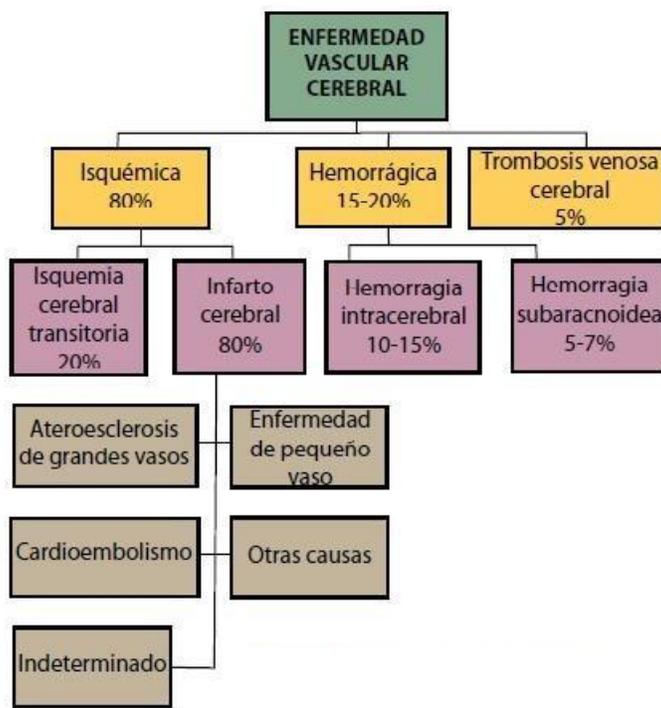
### **Clasificación de la EVC**

La EVC se clasifica en cuatro principales subtipos: isquemia, hemorragia, evento criptogénico y trombosis venosa cerebral (Arauz & Ruíz-Franco, 2012) (Figura 1). Siendo la más frecuente la isquemia cerebral, que constituye el 80% de las EVC, y se refiere al daño vascular causado por la hiperplasia de la capa muscular de las arterias; posee diversas clasificaciones, por ejemplo, por la duración de sus manifestaciones, las de origen desconocidos y las de tipo isquémico trombótico (Hernández-Ruiz et al., 2017); así como subtipos relacionados a la duración de la sintomatología, como los accidentes isquémicos transitorios (AIT), con una duración no mayor a los 60 minutos provocando daños neuronales irreversibles (Johnston et al., 2007) y un con un mayor riesgo de desarrollar un infarto cerebral (IC), hasta dos semanas después (Johnston et al., 2007).

Otro de los subtipos clasificados es la hemorragia Intracerebral (HIC), que

constituye un total del 15 a 20% de los casos y se define como la rotura de un vaso que da lugar a una colección hemática en el parénquima cerebral o espacio subaracnoideo (Strong et al., 2007). Sus manifestaciones clínicas pueden estar o no relacionadas con el proceso de aterosclerosis y a la ruptura o desgarro de alguna arteria cerebral, consecuencia de la presión arterial elevada o malformaciones vasculares (Gutierrez Velásquez et al., 2005). Las manifestaciones de la HIC dependen del sitio de la afección cerebral, frecuentemente son unilaterales e incluyen alteraciones del lenguaje, del campo visual, de la debilidad hemicorporal y de la pérdida de la sensibilidad (Van derWop, 2007).

Finalmente, la trombosis venosa cerebral, que representa el 0,5 % de las EVC y afecta con mayor frecuencia a sujetos jóvenes con factores de riesgos congénitos o adquiridos. Tiene manifestaciones clínicas variables que unidas a un estudio de neuroimagen adecuado permiten realizar el diagnóstico (Küppers-Tiedt et al., 2011).



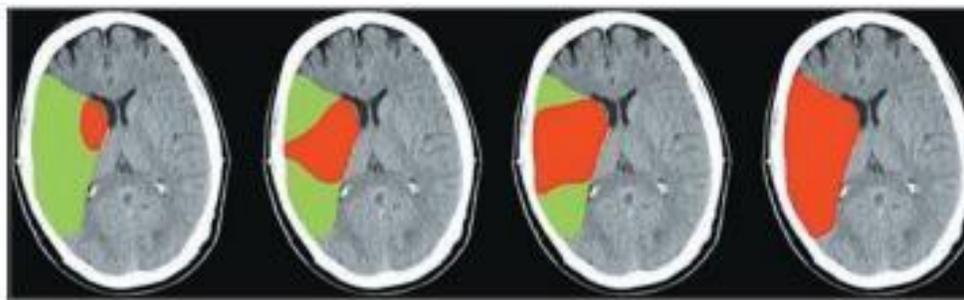
**Figura 1. Subtipos de la Enfermedad Vascular Cerebral.**

Frecuencia de los subtipos de la enfermedad vascular cerebral. Recuperado de Arauz & Ruíz-Franco, 2012.

## **Etiología y fisiopatología de la EVC**

Etiológicamente hablando, la isquemia cerebral, puede deberse a trastornos subyacentes que afectan principalmente la sangre, los vasos sanguíneos o el corazón, ya que cerca del 50% de las EVC de tipo isquémicas son de tipo cardioembólicas, el 25% tiene una relación directa con la oclusión del gran vaso, un 10% por la oclusión de pequeños vasos y finalmente un aproximado del 15% es de tipo criptogénico, es decir de origen desconocido (Tsai et al., 2013).

Al dilucidar los efectos fisiopatológicos que subyacen a estas etiologías, encontramos alteraciones metabólicas y bioquímicas que conducen a un mal funcionamiento del sistema nervioso (SN), y una necrosis celular (Guyton & Hall, 2001). Entre estos procesos se exhibe una respuesta inflamatoria, estrés oxidativo, exceso de aminoácidos excitatorios extracelulares, formación de radicales libre y entrada de calcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ) a las neuronas (Van derWop, 2007), a este conjunto de procesos, se le conoce como la diasquisis (Wieloch & Nikolich, 2006), es decir, un fenómeno fisiológico basado en la depresión reversible de funciones conectadas anatómica o funcionalmente al área lesionada (González Aguado et al., 2000) (Figura 2).



**Figura 2. Tomografía Axial Computarizada que muestra la progresión de la zona infartada.**

Se observa la progresión de la zona infartada (rojo) hacia la zona de penumbra (verde), si la reperusión no es lograda. Recuperada de Van der Woop, 2007,

Es necesario comprender, que en situaciones fisiológicas normales, el flujo sanguíneo cerebral (FSC), es independiente de variaciones amplias de la presión

y de perfusión gracias a un mecanismo de autorregulación en el que intervienen factores miogénicos, bioquímicos, neurogénicos y peptidérgicos; dicho mecanismo se altera en situaciones de isquemia o HIC de forma que, en el territorio del infarto, la presión de perfusión se hace dependiente de la presión arterial (PA) (Guyton & Hall, 2001), y al disminuir la perfusión cerebral, se modifica la transmisión sináptica, el transporte de iones y la preservación de la integridad estructural de forma progresiva, hasta producir muerte celular (Khoshnam et al., 2017). Aunado a esto, existe una vulnerabilidad selectiva debido entre otras cosas a factores como la densidad neuronal, la diferente perfusión regional y el distinto metabolismo; por lo que las neuronas de la corteza cerebral, del hipocampo, del globo pálido y del cerebelo sufren cambios estructurales más precozmente que las neuronas de otras localizaciones y que las células gliales; es decir, la disminución de FSC por debajo del umbral determinado, origina inmediatamente estas alteraciones e inclusive una despolarización de las membranas celulares (Khoshnam et al., 2017).

Durante un EVC, el núcleo afectado, es rodeado por un área disfuncional, causada por alteraciones metabólicas e iónicas, pero con integridad estructural conservada, conocida como penumbra isquémica (Arauz & Ruíz-Franco, 2012), es decir, la obstrucción de un vaso sanguíneo cerebral ocasiona un gradiente de isquemia más profundo en el centro del territorio vascular y menos pronunciado en la periferia de este. En dicha zona periférica se originan alteraciones de la actividad funcional de las neuronas, pero se conserva una actividad metabólica mínima que preserva su integridad estructural por un periodo de tiempo (Quillinan et al., 2016). La recuperación del tejido dañado periférico, depende del estrés celular impuesto por repetidas despolarizaciones que ocurren varias horas después del inicio de la isquemia, así como por el edema y la inflamación, las neuronas que sobreviven y fueron dañadas por procesos catabólicos, son rápidamente reparadas (Katsman et al., 2003).

## **Manifestaciones clínicas de la EVC**

La principal característica clínica de una EVC es la aparición súbita del déficit neurológico focal, aunque ocasionalmente puede presentarse con progresión escalonada o gradual, todas las manifestaciones, dependen del sitio de afección cerebral (Arauz & Ruíz-Franco, 2012). De acuerdo con Alba (2011), los síntomas pueden ser puramente sensoriales o motores, pasando por los síntomas sensomotrices.

Los síntomas frecuentemente diagnosticados son: hemiparesia/hemiplejía, afasia, dificultad al caminar, pérdida de equilibrio o de coordinación, mareos, dolor de cabeza brusco (intenso e inusual, casi siempre acompañado de otros síntomas), y pérdida de la visión en uno o ambos ojos.

Las secuelas motoras constituyen la principal causa de discapacidad, siendo la hemiplejía la forma más frecuente, misma que está sujeta a cambios influenciados por las complicaciones que surgen durante la evolución del paciente, esta no debe ser concebida como la expresión fina y estática de la EVC; sino que debe comprenderse como el inicio de un conjunto de cambios en la condición neurológica, la capacidad funcional y social del individuo, que está sujeta a modificaciones por múltiples factores (Valdés et al., 2007). Sin embargo, se ha descrito que posterior a dos semanas, existe una substancial recuperación de tipo motor (Wieloch & Nikolich, 2006).

## **Clasificación clínica anatómica y etiopatogenia específica de la EVC**

De acuerdo con el Servicio de Neurología, Hospital Navarra en Pamplona (2000), existe una clasificación de la EVC de acuerdo con diversas características como las manifestaciones clínicas (Tabla 1), la localización anatómica (Tabla 2) y por su evaluación diagnóstica.

<b>Característica clínica</b>	<b>Descripción</b>
EVC asintomático	Lesiones isquémicas sin manifestaciones clínicas, pero con focalización neurológica.
Transitorio	Breves episodios de la pérdida de la función focal neurológica debido a la isquemia de un territorio cerebral (Carotideo o vertebro-basilar).
Déficit isquémico reversible	Disfunción focal de más de 24 horas de duración con recuperación posterior.
Infarto con déficit menor	Por la localización o tamaño deja poca secuela.
Infarto progresivo	Se define como un episodio ictal que evoluciona hacia el empeoramiento desde su inicio, por el aumento de la intensidad del déficit o porque se añaden nuevos déficits que corresponden al mismo territorio. El deterioro puede ser gradual o de forma brusca, las primeras 24 horas son las más importantes.
Ictus deteriorante	Progresión de la lesión por infección hipoxia, alteración electrolítica, glucemia, deshidratación, fiebre o edema.
Infarto establecido	El evento no cambia desde su inicio y durante las primeras 72 horas de observación.

**Tabla 1: Clasificación de la Enfermedad Vascul ar Cerebral según los criterios clínicos**

Clasificación de las enfermedades vasculares cerebrales según los criterios clínicos (Carlsson et al., 2003). Datos recuperados por el consenso de la IV junta de comité sobre el desarrollo y manejo del EVC deteriorante (1998).

Localización anatómica	Descripción
Infartos en el territorio de la carótida interna	Ocurre una pérdida de la función neurológica en los territorios cerebrales irrigados por ramas de la arteria cerebral media; generalmente hay hemiplejía, hemianopsia, trastorno de la sensibilidad y desviación óculo cefálica, trastorno de lenguaje, así como una alteración del esquema corporal según el hemisferio cerebral afectado.
Infarto de la arteria cerebral media	Oclusión de ramas superior, inferior o preferentes profundas da lugar a variantes sindrómicas, mientras que la oclusión trombótica o embólica del tronco principal de la arteria cerebral media produce déficit masivo grave.
Infarto de la arteria cerebral anterior	Se compensa por una arteria comunicante anterior permeable. Si no existe flujo el contralateral es escaso, de forma que producirá debilidad de predominio en la pierna contralateral.
Infarto del territorio vertebro-basilar	Es la lesión predominante de la porción proximal u ostium de la arteria vertebral extracraneal, es un marcador de arterosclerosis.

**Tabla 2: Clasificación de la Enfermedad Vascul ar Cerebral según la topografía**

Clasificación de las enfermedades vasculares cerebrales según la topografía de la lesión y los síndromes neurológicos producidos (Caplan, 1996).

Por último, existen clasificaciones que están fundamentadas en diversos criterios de evaluación diagnóstica, como la validada por la comunidad de Oxfordshire (1991), con una clasificación que permite valorar la localización, el tamaño de la lesión, así como brindar información precoz, sencilla y de alta probabilidad (Bamford et al., 1991), prediciendo el tamaño y la localización en el estimado de 75% del total de los pacientes.

Este criterio de clasificación establecido por Oxfordshire (1991), reconoce tres tipos de infartos; en primer lugar, el infarto completo de circulación anterior (ICCA), que es descrito como una combinación de la disfunción cerebral (disfasia, discalculia, trastorno viso espacial) con el déficit motor y/o sensitivo que afecta por lo menos dos áreas (pierna, brazo, cara) además de estar en presencia de la alteración de la conciencia, asumiendo que se afectó la función cortical.

En un ICCA, el territorio de la arteria media cerebral superficial y profunda o el cerebro anterior son las posibles áreas que presentan lesión, además de ser un evento de alta mortalidad precoz y con escasa posibilidad de buena recuperación

funcional (Anderson et al., 1994).

En esta clasificación también se describe el infarto parcial de la circulación anterior (IPCA), la localización de estos infartos es prevalente en la división superior e inferior de la arteria cerebral media, estriado capsulares y cerebral anterior, obedeciendo en su generalidad de un embolismo arteria-arteria o cardiaco (Oxfordshire, 1991), finalmente, describe los infartos de la circulación posterior (ICP) que presentan síndromes como el alterno con participación de pares craneales, el déficit sensitivo y/o motor bilateral y la disfunción cerebelosa; este tipo de infartos posee un riesgo significativo de recurrencia y una tasa de mortalidad baja (Anderson et al., 1994).

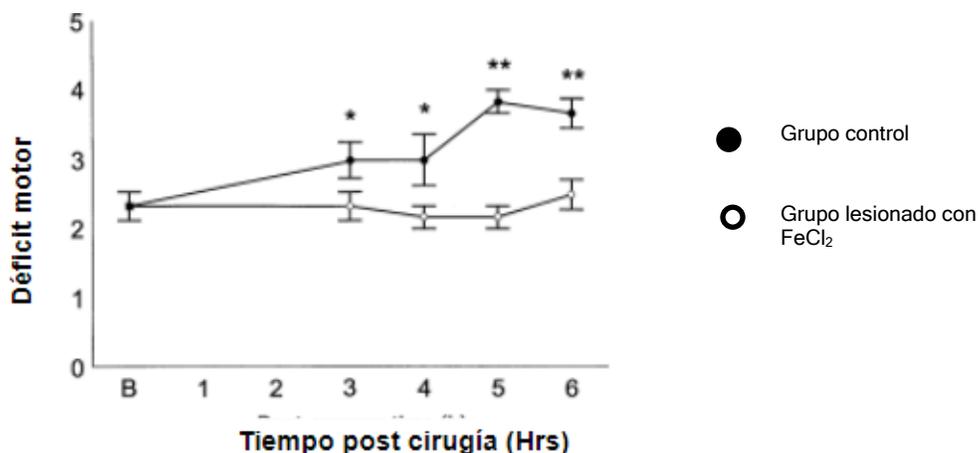
Otra de las clasificaciones por criterio de evaluación diagnóstica, es la clasificación TOAST (1993), donde un diagnóstico de EVC arterotrombótico, no puede establecerse si el Doppler o la angiografía son normales o con mínimas alteraciones (<50% de estenosis) (Bladdin & Chambers, 1993). Esta clasificación incluye lesiones que tienden a producirse en territorios fronterizos, es decir, entre las zonas de irrigación de las dos arterias principales; además, se incluyen arterosclerosis de los grandes vasos, donde se forma una placa que puede ser vulnerable, capaz de fragmentarse o embolizarse de una arteria a otra, finalmente, también describe, los cardioembolismos particularmente en pacientes jóvenes o con cardiopatía arterial y la enfermedad de vaso pequeño, que está estrechamente relacionada con deterioro cognitivo (Adams et al., 1993).

### **Lesión por FeCl<sub>2</sub>**

Existen condiciones patológicas donde la acumulación de hierro en áreas específicas se asocia a desórdenes neurodegenerativos (Andersen et al., 2014), desde un ambiente meramente controlado, existe en la investigación diversos modelos animales que permite emular procesos neurodegenerativos.

El modelo de microinyección FeCl<sub>2</sub> en la cabeza, es realizado para emular un daño en la corteza que es reminiscente a la hemorragia subaracnoidea (Gonzalez-Piña et al., 2006) Una vez lesionada, se muestra un déficit motor

temprano, con un incremento de déficit hasta 3 horas después de la microinyección (Figura 3).



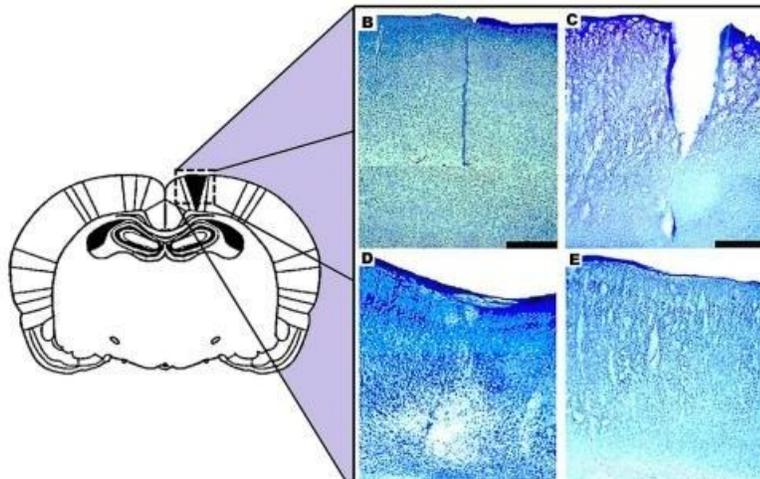
**Figura 3: Déficit motor temprano posterior a una lesión de cloruro ferroso (FeCl<sub>2</sub>).**

Déficit motor temprano encontrado en las ratas lesionadas y comparado con el grupo control o ratas operadas simuladamente. Después de tres horas de la cirugía, los animales lesionados mostraron un aumento significativo en el déficit motor. Tales efectos se observaron durante cuatro horas hasta pasadas seis horas del post operatorio. Los datos se expresan como media  $\pm$  E.E.M. Registro basal (B) previo a las cirugías, simulada o lesionada: Circulo negro, grupo control, circulo blanco grupo lesionado. Test de U Mann-Whitney \*  $P \leq 0,001$ , \*\*  $P \leq 0.0001$ . Recuperada de González- Piña, 2006.

El modelo de microinyección funciona gracias a la formación de radicales libres potenciada por el hierro ( $Fe^+$ ), promoviendo el daño neuronal,  $Fe^{3+}$  o/y  $Fe^{2+}$ , al reaccionar con lípidos hidropéroxidos que producen radicales libres (Siesjo, 1989). La administración intracortical de  $Fe^+$  tiene por consecuencia una reacción con el peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) y el anión superóxido ( $O_2^-$ ), para formar radicales hidroxilos ( $\bullet OH$ ) a través de la reacción de Fenton ( $Fe_{2+} + H_2O_2 \rightarrow Fe_{3+} + \bullet OH + OH^-$ ) (Loftspring, 2010; Bueno-Nava et al., 2010; J.-Y. Lee et al., 2010; Andersen et al., 2014).

A su vez, los  $\bullet OH$  y sus productos pueden reaccionar con ácidos grasos poliinsaturados en las membranas celulares, incrementando la velocidad de peroxidación en el cerebro, contribuyendo al daño neuronal, mimetizando los efectos de una hemorragia subaracnoidea (Figura 4) (Ramos-Languren et al., 2016; Bueno et al., 2010; (Chen et al., 2014)). Se ha descrito que la administración de  $50\mu M$  de

cloruro ferroso ( $\text{FeCl}_2$ ) en la corteza motora, equivale a 40 mL de hemorragia en un cerebro humano, el promedio de acuerdo a lo establecido en el grupo de Triggs & Wilmore (1984).



**Figura 4: Modelo de Microinyección de cloruro ferroso ( $\text{FeCl}_2$ )**

(A) Representación esquemática y de sección coronal que muestra el sitio de microinyección en distintos grupos. (B) Rata lesionada 3 días post inyección (C) Rata lesionada 10 días post inyección, (D) 20 días post inyección (E) escala 50  $\mu\text{m}$ . Recuperada de Ramos-Languren y colaboradores. 2016.

Durante un EVC, la neurodegeneración del SNC, puede ser una consecuencia directa al aumento de  $\text{Fe}^+$ , esto debido a que este posee la capacidad de catalizar la formación de radicales libres citotóxicos (Arendash et al., 1993), además de inactivar la cadena de respiración mitocondrial en respuesta del estrés oxidativo inducido por el  $\text{Fe}^+$  (Hartley et al., 1993). El desarrollo de modelos animales con lesiones por  $\text{FeCl}_2$  ha demostrado que estas infusiones causan incremento de  $\text{Fe}$  en la sustancia nigra, acompañado de pérdida neuronal y glial, que está asociado al decremento de marcadores estriatales dopaminérgicos (Arendash et al., 1993). Asimismo, es importante señalar que posterior a este proceso inicia un decremento de la NA pontina, asociado con déficits conductuales observados 3 días posteriores a la lesión, lo que sugiere que la inhibición remota del puente puede iniciar 3 horas posteriores a la lesión (Ramos-Languren et al., 2016).

La inervación de estructuras contenidas en el puente, como lo es LC, siendo la

principal fuente de NA, así como, la inervación hacia la corteza motora puede derivar en un decremento noradrenérgico, lo que se traduce en déficits conductuales (Bueno et al., 2010). Los modelos animales causan déficits cognitivos, motores y sensoriales similares a los de los pacientes en presencia de un EVC y estudios postmortem en estos especímenes confirman la relevancia del modelo animal para la condición humana (Leifer & Kowall, 1993).

### **Neuroplasticidad**

Una de las principales características del SNC, es un proceso denominado neuroplasticidad, que es definida como la potencialidad del SN de modificarse para formar conexiones nerviosas en respuesta a la información nueva, la estimulación sensorial, el desarrollo, la disfunción o el daño (Garcés-Vieira & Suárez-Escudero, 2014) y la potencialidad de cambios sinápticos, axonales y dendríticos, así como, el incremento de la activación y la migración de células madre endógenas, las modificaciones en la glía, los procesos inflamatorios y la angiogénesis (Nudo, 2007), que es mediado por múltiples factores, como el grado de enriquecimiento ambiental, las modificaciones farmacológicas o el grado de distintas lesiones (T. Jones & Schallert, 1994). En resumen, es un proceso que representa la capacidad del SN de cambiar su reactividad como resultado de activaciones sucesivas (Lee et al., 2008). Tal reactividad posibilita que el tejido nervioso pueda experimentar cambios adaptativos o estructurales, permitiendo así su participación en funciones cognitivas superiores, como la memoria y el aprendizaje.

Asimismo, la plasticidad es una propiedad de los sistemas biológicos que les permite adaptarse a los cambios del medio para sobrevivir, la cual depende de los cambios fisiológicos que ocurran al interior (Komitova et al., 2006). El SN, posee una plasticidad altamente desarrollada y evidente en las primeras etapas del desarrollo, sobre todo en los mamíferos (Lee et al., 2008); esta plasticidad permite dar al SN, reestructuraciones funcionales durante daños o lesiones al tejido, no obstante, la persistencia de la misma en la adultez en un cerebro sano aún necesita ser dilucidada.

Por lo tanto, esto, es un proceso continuo a corto, mediano y largo plazo de remodelación de mapas neurosinápticos, que, entre otras cosas optimiza el funcionamiento de las redes cerebrales durante la filogenia y ontogenia posterior a daños del SN,(Duffau, 2006). De esto se deriva la idea de que el proceso de neuroplasticidad es una de las bases fundamentales de muchas de las estrategias experimentales de la neurorehabilitación (Cramer, 2008).

El cerebro es entonces, una estructura que muestra un espectro de capacidades intrínsecas para reaccionar como un sistema altamente dinámico con propiedades plásticas. Se espera que produzca modificaciones adaptativas a lo largo de la vida en su organización funcional, dando así lugar a cambios en el comportamiento y, específicamente, en las funciones cognitivas superiores (Yukihiro, 2015). A nivel neuronal, estos cambios plásticos pueden ser visualizados a través de un incremento del árbol dendrítico y del número de espinas dendríticas, que mejoran los contactos sinápticos y en consecuencia la comunicación entre las neuronas (Hernández et al., 2015).

### **Recuperación funcional**

Si bien, la neuroplasticidad está mediada mayormente por la experiencia y el aprendizaje, múltiples estudios han buscado la relación central, entre la denominada recuperación funcional, la neuroplasticidad y la EVC (Hakon et al., 2018).

El término recuperación funcional hace referencia a una regresión de las condiciones basales del organismo, aludiendo a una patogénesis de la EVC y el sitio de lesión, que está influenciada por el entorno, la continuidad de la rehabilitación y la motivación (Anderson et al., 1994). Dicha recuperación comienza con el tejido dañado, y depende de las repetidas despolarizaciones ocurridas posteriores a la EVC, el edema y la inflamación. Todas las neuronas que lograron sobrevivir, que son rápidamente reparadas por procesos anabólicos (Katsman et al., 2003). Posteriormente, ocurre en la zona peri infartada, denominada zona de penumbra, que son, sitios primarios de compensación para las funciones perdidas, y son dependientes del sitio y tamaño de la lesión, así

como el tiempo transcurrido posterior a la EVC (Wieloch & Nikolich, 2006).

La recuperación funcional podría ser dividida y definida en tres fases, de acuerdo con Wieloch y Nikolich (2006):

- 1) Reversión de la diasquisis, que es la inhibición de las partes remotas, pero anatómicamente relacionadas a la lesión (Feeney & Baron, 1986) la activación de la génesis celular y la reparación del tejido.
- 2) Cambio de las propiedades de las vías neuronales existentes.
- 3) La activación de la plasticidad neuroanatómica, que permite la formación de nuevas conexiones neuronales.

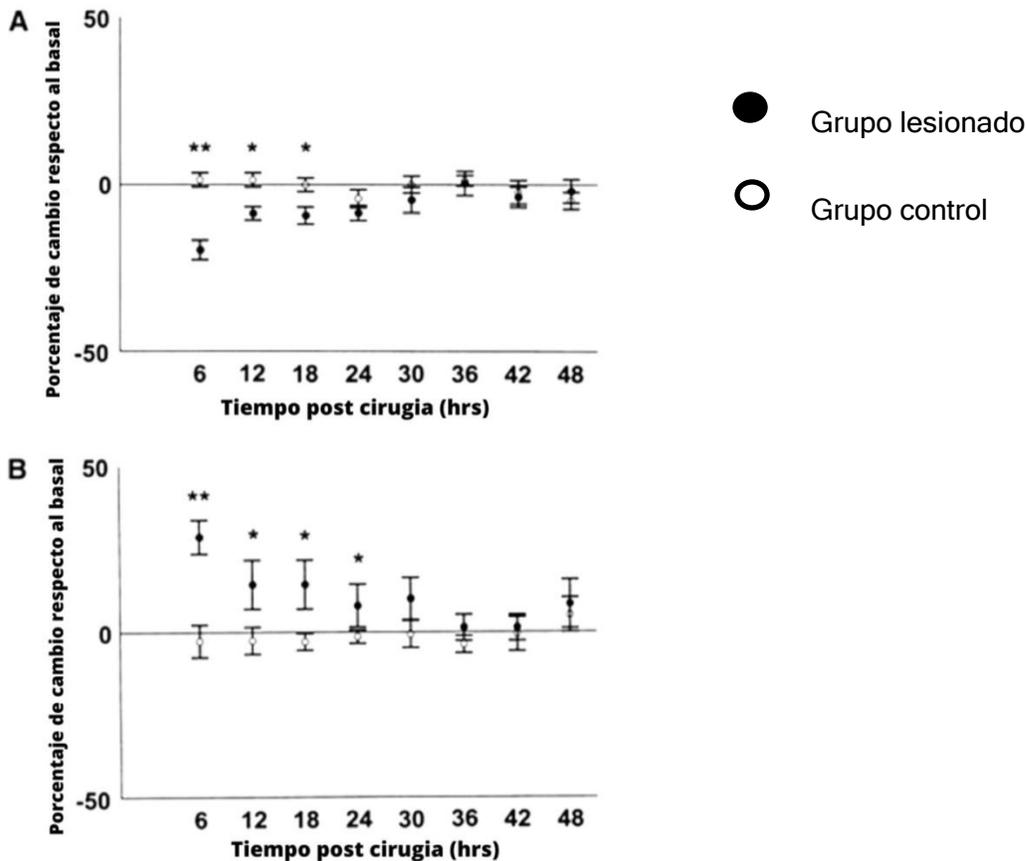
Estas últimas dos fases tienen una relación directa con el aprendizaje y los procesos de reaprendizaje, por lo tanto, hay estructuras implicadas en estos procesos como el hipocampo y corteza.

El hipocampo no solo es una estructura esencial para el aprendizaje y la memoria, sino que también es comprendido como un sistema modelo en la investigación tanto de los mecanismos de plasticidad sináptica como de los mecanismos de recuperación funcional (Moreno Fernández et al., 2013), ya que, posterior a un evento de neurodegeneración, existen mecanismos plásticos de recuperación que alivian los cambios estructurales en el hipocampo y reducen los déficits cognitivos inducidos por la isquemia (Ano et al., 2019). Asimismo, el procesamiento espacial de la información recae en el hipocampo dorsal, mientras que el hipocampo ventral se considera relevante para la regulación de las emociones (Fanselow & Dong, 2010). Ambos procesos que se ven directamente afectados posteriores a la EVC.

Dentro de esta estructura se encuentra contenido el GD, una circunvolución de la corteza cerebral localizada en la parte inferior del lóbulo temporal del encéfalo, que posee capacidades plásticas (Pérez-Dominguez et al., 2017). Durante un evento isquémico existen alteraciones en las células granulares del GD, una marca común en diversas enfermedades neurodegenerativas (Carmichael, 2006). Sin embargo, estudios previos sugieren que la recuperación conductual posterior al daño cerebral tiene una relación con los cambios en los niveles de las monoaminas del GD (Ramos-Languren et al., 2016).

Los efectos licitados por monoaminas como la NA y la serotonina (5-HT)<sup>1</sup>, se han reportado distales al área directamente afectada, estos cambios toman lugar de minutos a semanas y juegan un papel importante en la recuperación post eventos isquémicos (Ramos-Languren et al., 2016), como se describe en la Figura 5, que muestra los resultados obtenidos en un modelo experimental, de caminata en barra, observando que la distancia recorrida en los grupos lesionados disminuía significativamente, aumentando 6 horas después de la cirugía y se exhibía una recuperación 24 horas después, en este procedimiento el puente fue extraído y se evaluaron los niveles de NA, para mostrar su relación con la recuperación funcional (Gonzalez-Piña et al., 2006).

- 1) La serotonina (también denominada 5-HT, o 5-hidroxitriptamina), participa en la regulación del estado de ánimo, el control de la ingesta, el sueño y arousal, y en la regulación del dolor. El precursor de la serotonina es el aminoácido triptófano. La enzima triptófano-hidroxilasa añade un grupo hidroxilo, produciendo 5-HTP (5-hidroxitriptófano) (Carlsson, 2014).



**Figura 5: Modelo experimental de caminata en barra, post lesión y recuperación.**

Parámetros medidos en las pisadas. Dado que la de la zancada no mostró diferencias significativas, no se presentan los datos. (A) Porcentaje de cambio con respecto a la línea de base en la longitud de la zancada, medida cada 6 h durante 48 h después de la cirugía. Se observó una disminución importante a las 6 h en los animales lesionados. La recuperación se observó 24 h después de la lesión y se mantuvo durante las 24 h siguientes. Los datos se expresan como media  $\pm$  E.E.M, U Mann. Whitney (\*  $P < 0.05$ , \*\*  $P \leq 0.01$ ). Recuperada de González-Piña, 2005.

De acuerdo con Kikuchi y colaboradores (2000), la NA podría poseer un efecto protector contra los daños derivados de la lesión en corteza motora, por lo que podríamos decir que la NA juega un papel clave en la recuperación funcional.

### **Mecanismos de recuperación funcional**

Los mecanismos de recuperación funcional son muy diversos y pueden abarcar desde modificaciones morfológicas extensas, como los que se observan en la regeneración de axones y la formación de nuevas sinapsis (Donnelly & Popovich, 2008), hasta sutiles cambios moleculares, como los factores *sonic hedgehog*, que regulan la capacidad de proliferar de las neuronas inmaduras.

Estas modificaciones morfológicas y cambios moleculares son procesos que influyen en las nuevas células y en su proceso de maduración en neuronas o células gliales (Gage F.H, 2003), además de otros factores de crecimiento, como el factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF) y las neurotrofinas; ambos factores que pueden alterarse en respuesta a los neurotransmisores (Donnelly & Popovich, 2008).

Existen una serie de mecanismos fundamentales para la maduración neuronal, los cambios estructurales y la recuperación funcional, que fueron descritos por Alamanos (1993) y serán explicados detalladamente a continuación:

- Regeneración axonal: Los axones del sistema nervioso periférico pueden regenerarse por crecimiento a partir del cabo proximal. Esto es un mecanismo útil, sobre todo para la regeneración de tractos de fibras largas como aquellos que actúan en la médula espinal.
- Colateralización: Ocurre a expensas de axones sanos y concluye en la regeneración de nuevas sinapsis. Normalmente la formación de nuevas sinapsis es un proceso para reemplazar a las sinapsis que se han perdido por la degeneración retrógrada de los axones destruidos, también es conocido como sinaptogénesis reactiva.
- La fosfoproteína GAP-43 (Growth Associated Protein): también llamada F-1 o B-50. Se relaciona con las terminales axónicas y podría tener alguna función en la transmisión sináptica normal, pero su expresión se incrementa dramáticamente en axones que se extienden, considerándose así un marcador específico de axones en crecimiento.
- Autofagia: Función que corresponde particularmente a la microglía; este es un mecanismo catabólico que preserva a las células de la acumulación de toxinas, moléculas y organelos dañados, además de permitir los procesos de desarrollo y diferenciación de tejidos.
- Neurogénesis: Es el proceso por el cual se generan nuevas neuronas a partir de células madre o células progenitoras, seguido de la integración funcional de las nuevas neuronas a los circuitos funcionales preexistentes.

Estos mecanismos moleculares que permiten la recuperación funcional pueden ser mejorados, ya sea de forma endógena, como el presumible incremento de BDNF posterior a un EVC, produciendo cambios plásticos (Bengzon et al., 1992), o por el papel de neurotransmisores, como la NA en la recuperación post EVC (Goldstein, 2000). La optimización de esta recuperación, también puede estar mediada por la promoción exógena a estas respuestas endógenas, como el uso de fármacos para evitar la inhibición de NA mediada por los adrenoreceptores  $\alpha$ -2 distribuidos en las neuronas del LC (Washburn & Moises, 1989).

### **Estructuras anatómicas relevantes en el proceso de recuperación funcional: hipocampo y GD**

El hipocampo es una estructura localizada al interior del lóbulo temporal, que tiene como funciones principales la formación de nuevos recuerdos, la memoria episódica, la memoria espacial y la orientación espacial. Esta estructura se encuentra en estrecha comunicación con diversas regiones de la corteza cerebral en lo que podría considerarse un sistema hipocámpico. Posee tres cortezas: la corteza perirrinal, la corteza entorrinal y la corteza parahipocámpica (Toda et al., 2019).

Dentro de esta estructura se encuentra contenido el GD, una circunvolución de la corteza cerebral localizada en la parte inferior del lóbulo temporal del encéfalo, una estructura formada por tres capas distintas:

- 1) La capa molecular (CM), que es una zona relativamente desprovista de células, dónde se encuentran las prolongaciones dendríticas de las células granulares, algunas interneuronas y las fibras axónicas que forman la vía perforante proveniente de la corteza entorrinal.
- 2) La capa granular (CG), que está formada en gran parte por los somas de las neuronas granulares, así como interneuronas piramidales.
- 3) La capa polimórfica o hilus (CP), que es la región más interna del giro dentado y dónde se encuentran las células musgosas que inervan a las dendritas de las neuronas de la CG en ambos hemisferios.

En esta última capa se encuentran los axones de las neuronas de la CG, formando las fibras musgosas que se extienden hacia el área CA3 del hipocampo.

Las proyecciones del GD hacia CA3 son esenciales para la codificación de la información (Bartesaghi & Gessi, 2004). El GD evita la interferencia en la recuperación, imponiendo patrones nuevos de actividad en las unidades postsinápticas. Si un patrón discreto nuevo proveniente de la corteza entorrinal es almacenado en CA3, necesita ser primeramente recodificado como un patrón de actividad en el GD, luego transformado por las proyecciones de las fibras musgosas para ser almacenado en CA3 (Snyder et al., 2005). El GD permite separación de patrones y discriminación de estímulos (Miller et al., 2020).

### **La NA, catecolamina necesaria para la recuperación funcional**

Las catecolaminas son un grupo de compuestos que poseen en su estructura el grupo catecol, las más importantes son la adrenalina y NA. Las catecolaminas participan en los mecanismos integrativos, tanto neurales como endocrinos. Por lo que el sistema nervioso simpático (SNS) y la médula adrenal conforman una unidad anatómica y fisiológica, conocida como sistema simpático-adrenal. Este sistema juega un papel fundamental, junto con el eje hipotálamo-hipófisis-adrenal (CRH-ACTH-Cortisol), en las respuestas al estrés o al daño fisiológico (Brandan, 2010).

La NA es una catecolamina de doble función que se degrada por dos enzimas:

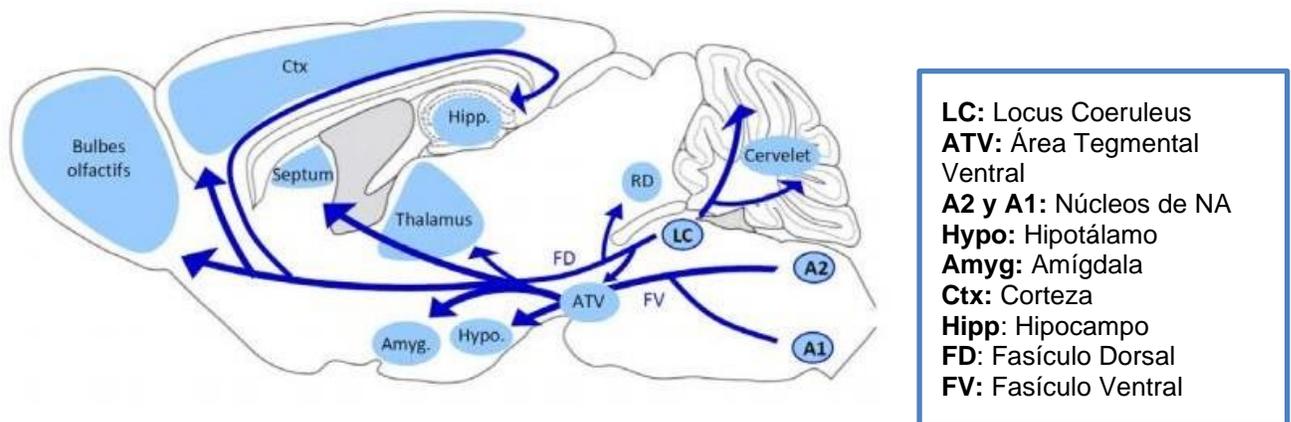
- COMT (Catecol-O-metil transferasa): Enzima que interviene en la inactivación de las catecolaminas junto con la MAO, ampliamente distribuida a lo largo del hígado.
- MAO (monoamina oxidasa): Una enzima que regula la degradación metabólica de 5-HT y NA en el sistema nervioso; se encuentra en las terminales nerviosas presimpáticas.

Derivado de las características del sistema simpático-adrenal, se ha sugerido que la NA, juega un papel importante en los procesos plásticos de la recuperación funcional, dada la distribución anatómica de esta catecolamina, ya que en el SNC,

existen siete núcleos productores de NA, que aseguran una larga distribución de este neurotransmisor en la mayoría de las estructuras cerebrales (Andén et al., 1964).

En la Figura 6, se exhiben los núcleos A1 y A2, los cuales están situados a nivel del bulbo raquídeo y proyectan hacia el hipotálamo, el tálamo, la amígdala, el septum y la corteza piriforme, formando el denominado fascículo ventral (Mason, 1979). De igual forma, se muestra el fascículo dorsal (FD), parte de las proyecciones noradrenérgicas del LC, una estructura que inerva a la corteza motora y al cerebelo de forma ipsilateral (Steindler, 1981).

El LC es la principal estructura noradrenérgica, compuesta por aproximadamente 15,000 somas de NA, acumulando un 50% de las células noradrenérgicas y ubicado en el tronco encefálico, siendo parte de la activación reticular e inervando prácticamente en su totalidad al SNC, incluyendo los núcleos del rafe, el tálamo, el hipocampo y el cerebelo, a excepción del estriado y del globo pálido; y siendo una fuente única de NA en la corteza (Jones y al. 1977; Berridge y Waterhouse 2003; Smith y Greene 2012).



**Figura 6. Proyecciones noradrenérgicas en corte sagital.**

Corte sagital de un encéfalo de ratona donde se muestra en flechas azules, las proyecciones noradrenérgicas en el SNC, recuperado de Asensio A.C.B, 2014.

La NA es liberada por las neuronas posganglionares del SNS y, pertenece a un grupo que está habilitado para modular algunas funciones sinápticas, tales como

la atención y la activación de la respuesta; además está relacionada con funciones como la motivación, el estado de alerta y vigilia, el nivel de conciencia, la percepción de los impulsos sensitivos, la regulación del sueño, del apetito y de la conducta sexual y la neuromodulación de los mecanismos de recompensa, aprendizaje y memoria (Tellez et al., 1995). Una vez que es liberada en el espacio extracelular, las acciones de la NA se llevan a cabo a través de la unión a receptores adrenérgicos, denominados así por su afinidad por la NA y la adrenalina.

### **Receptores adrenérgicos**

Los receptores adrenérgicos son estructuras proteicas que aparecen insertadas en la membrana plasmática atravesada en siete segmentos, poseen un extremo amino-extracelular y un extremo carboxilo-terminal; además transmiten su señalización a través de proteínas G, en unos casos de forma estimuladora y en otros de forma inhibidora. Cada uno de los adrenoceptores está codificado por un gen diferente y presenta un perfil farmacológico característico (Imrizaldu, 2011). Estas dos propiedades, son las que definen el reconocimiento de un receptor con una identidad propia, y por lo tanto los diferentes adrenoceptores pueden o no compartir sistemas de acoplamiento, localización anatómica, funciones dependientes, secuencias más o menos homólogas, pero habrán de tener un perfil genético y farmacológico propio para ser reconocidos como tales (Braunewell & Manahan-Vaughan, 2001).

Los adrenoceptores se clasifican inicialmente en adrenoceptores  $\alpha$  y  $\beta$ . Los adrenoceptores  $\alpha$  se subdividen nuevamente en  $\alpha$ -1A,  $\alpha$  1B,  $\alpha$ -1D. Estos últimos están acoplados a proteínas G $\gamma$  y secuencialmente a la fosolipasa C (PLC), así como a la proteína cinasa C (PKC). Presentan afinidad por la NA, adrenalina y suelen tener actividad estimuladora, además de guardar una importante relación con la movilización de las concentraciones de Ca<sup>2+</sup>.

Los  $\alpha$ -2A,  $\alpha$ -2B y  $\alpha$ -2C fundamentalmente están acoplados a proteínas Gi inhibitoras y, secuencialmente, a la inhibición en la formación del adenosín monofosfato cíclico (AMPC).

También están vinculados a la apertura de los canales de potasio ( $K^+$ ) y el bloqueo de los canales de  $Ca^{2+}$ , usualmente se localizan de forma presináptica actuando como autoreceptores en los somas y en los botones terminales de neuronas noradrenérgicas (Imirizaldu, 2011).

Por otro lado, se encuentran los adrenoceptores  $\beta$ , que se subdividen en  $\beta$ -1,  $\beta$ -2 y  $\beta$ -3. Estos se acoplan a proteínas estimuladoras Gs y estimulan la formación de AMPc (Imirizaldu, 2011), a través de la activación de receptores adrenérgicos, se pueden modificar las propiedades de las neuronas hipocampales a partir de la alteración de la excitabilidad celular o de las modificaciones a nivel sináptico, y se ha evaluado el efecto de la activación de receptores adrenérgicos sobre la potenciación a largo plazo (LTP) o la depresión a largo plazo (LTD); ambos modelos fuertemente asociados con neuroplasticidad, aprendizaje y memoria (Braunewell & Manahan-Vaughan, 2001).

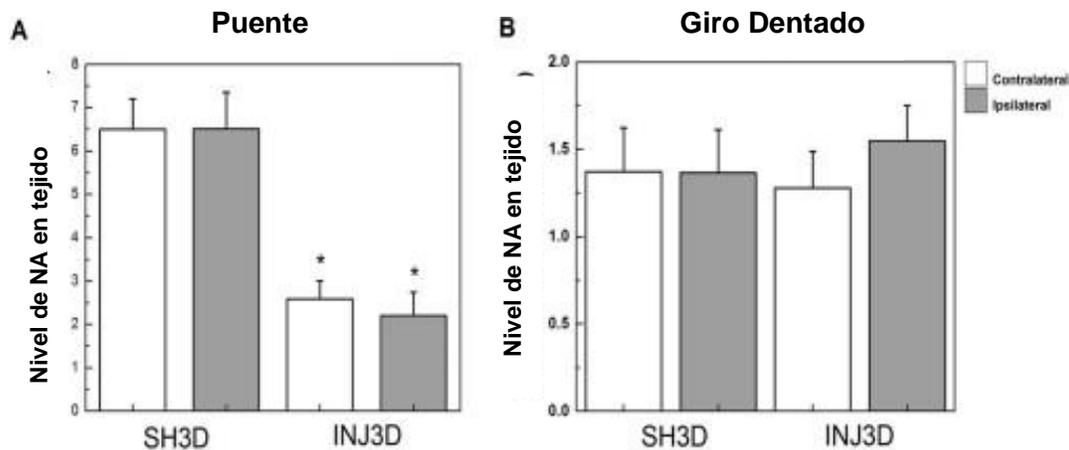
En el hipocampo, los receptores adrenérgicos están expresados de forma heterogénea (L. S. Jones et al., 1985). Por ejemplo, se ha detectado el mRNA de los receptores  $\alpha$ 1A/D en la región del CA1 al CA4, en las células granulares del GD y en el hilus (Pieribone et al., 1994). Los receptores  $\alpha$ 1 incrementan los niveles de  $Ca^{2+}$  a partir de la activación de Gg, generando un aumento de IP3 y liberación concomitante de  $Ca^{2+}$  desde el retículo (Docherty, 2010). El receptor adrenérgico  $\alpha$ 1 se localiza postsinápticamente en las neuronas CA1-CA3 del hipocampo (Scheiderer et al., 2004) y estimula la actividad de la PLC. Por el contrario, los receptores adrenérgicos  $\alpha$ 2(A) a nivel del hipocampo están presentes en algunos astrocitos que, a su vez, están localizados presinápticamente en terminales catecolaminérgicas y no catecolaminérgicas, y postsinápticamente en las espinas dendríticas de las neuronas piramidales y granulares del hipocampo (Milner et al., 2000). Particularmente, el GD posee una alta densidad de receptores de NA, recibiendo una prominente entrada noradrenérgica gracias al LC (Sara, 2009), derivado a esto, es posible observar alteraciones en el GD y en las células granulares en presencia de enfermedades neurodegenerativas (Parent, 2007).

## **Papel de la NA en la recuperación funcional**

Las proyecciones noradrenérgicas originadas del LC, son un factor crítico en la progresión de las enfermedades neurodegenerativas, además de que consecuentemente se ha propuesto que la deficiencia en el sistema noradrenérgico originado del LC es un factor decisivo en la patogénesis y progresión de los desórdenes centrales degenerativos (Colpaert, FC, 1994). Por lo tanto, es posible plantear que el sistema noradrenérgico es crítico en la operación de mecanismos compensatorios que influyen en la recuperación y/o promueven procesos neurodegenerativos (Martel et al., 1998); al ser la NA una monoamina ampliamente distribuida en el SNC, es un importante modulador de estructuras y su plasticidad, como es el caso del hipocampo, lo que hace posible la recuperación conductual por la distribución de su innervación (Ramos-Languren et al., 2016) (Figura 7).

Es por esto que los factores de inhibición de la NA, como son los adrenoreceptores  $\alpha_2$  distribuidos en las neuronas del LC, pueden modificar el proceso de recuperación funcional en las zonas inervadas, como lo es, la corteza motora, el cerebelo, el hipocampo, entre otras (Washburn & Moises, 1989). Considerando que en ratas adultas, derivado a la distribución de los receptores  $\alpha_2$ , hay una posible inhibición de un 96% de la liberación de NA (González-Piña, 2007), la ausencia de la liberación de estas monoaminas puede modificar la recuperación funcional de tipo motora posterior a una lesión cerebral (Ramos-Languren et al., 2016). En la Figura 7, se muestran los efectos provocados posteriores a una inyección de  $\text{FeCl}_2$ , la directa disminución pontina de NA, así como una disminución en los niveles de GD pareado a una pobre respuesta motora.

Es por esto, que es necesario modificar los procesos de inhibición de la NA.



**Figura 7. Efectos provocados por la NA post lesión en puente y giro dentado.**

Niveles de NA contenida en ambos hemisferios del puente post lesión (A) y en el GD (B), ambos 3 días post-lesión. (Abreviatura SH3D, definido como grupo control e INJ3D como grupo lesionado, ambos tres días post lesión). Recuperado de Ramos-Languren et al, (2016).

### **Efaroxan**

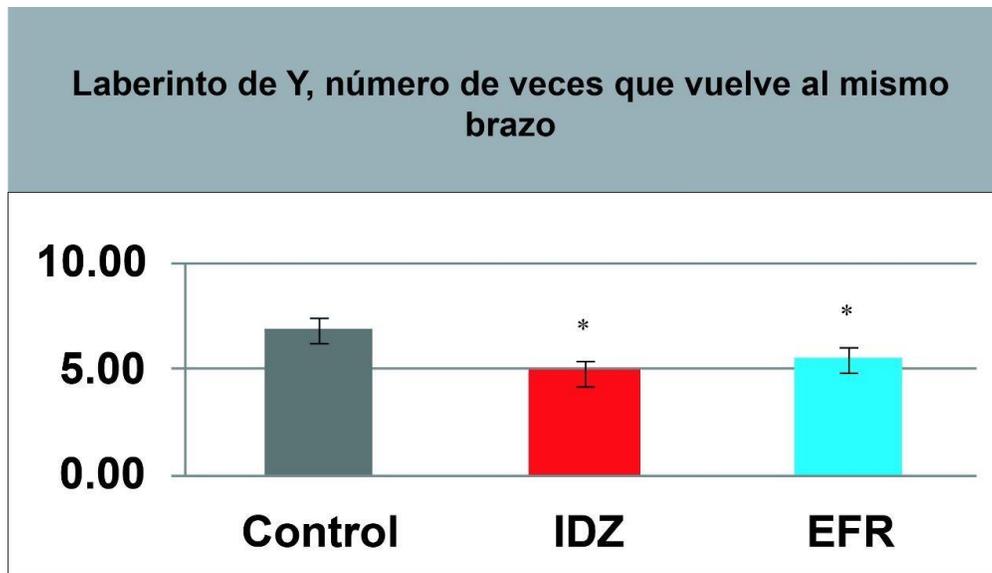
El efaroxan (EF) [2-(2-Ethyl-2,3-dihydro-1-benzofuran-2-yl)4,5-dihydro-1H-imidazol], un fármaco derivado de la imadazalina, de actividad mayoritariamente antagonista de los receptores  $\alpha_2$  adrenérgicos y de baja afinidad nano molar; Generalmente posee una concentración de 100 mL, con un pH de 7.4 con NaOH, es selectivo a los ligandos antagonistas de los adrenoreceptores  $\alpha_2$ , y posee buena biodisponibilidad seguida de una administración sistémica (Doxey et al., 1983).

Al ser parte de la familia de las imadazalina, está involucrado en funciones como la regulación de la presión sanguínea, la antiinflamación, la hiperglicemia, las actividades antitumorales y la función cognitiva, ya que los receptores de las imadazalinas están involucrados en la regulación de estas funciones (Doxey et al., 1983). Por lo tanto, es uno de los más involucrados en el funcionamiento humano (Rusu-Zota et al., 2019).

El uso de fármacos antagonistas selectivos al receptor  $\alpha_2$  adrenérgico, como el

EF, incrementan la liberación de NA al bloquear sus autoreceptores inhibitorios, desinhibiendo el sistema noradrenérgico en los cuerpos celulares de las neuronas noradrenérgicas, revirtiendo los déficits cognitivos en roedores y mejorando mecanismos de la recuperación funcional (Rizk et al., 2006). El sistema noradrenérgico del LC estimula también la formación reactiva de astrocitos en respuesta a la lesión del SNC, y es indispensable para la reparación celular por una amplificación del factor neurotrófico y la receptación del neurotransmisor por parte de la glía en su estado reactivo, lo que permite inferir que los receptores noradrenérgicos estén modulando el soporte trófico originado en las células gliales, y contribuyendo al potencial neuroprotector de los antagonistas del adrenoceptor  $\alpha$ -2 (Eddleston & Mucke, 1993).

El EF, es un fármaco que regula funciones cognitivas, como se describe en la Figura 8, donde al utilizar un modelo experimental de patrón conductual, un laberinto en Y, se busca observar los efectos de esta sustancia en funciones neurocentrales, al mostrar el número de veces que una rata en tratamiento crónico de EF o Idazoxan (IDZ), un fármaco también de la familia de las imadazalininas que es también un antagonista de los receptores  $\alpha$ -2 noradrenérgicos, y como se modifica funciones como la memoria espacial, en contraste con grupos controles, esto en cerebros sanos.



**Figura 8. Efecto del Efaroxan y el Idazoxan en la regulación de las funciones neurocentrales.** Efectos de IDZ (rojo) y EFR (azul) en la prueba de laberinto de Y en términos del número de retrocesos dentro del mismo brazo. Los valores se expresan como media  $\pm$  error estándar de la media. \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$ . Recuperado de Rusu-Zota, (2019),

Desde una perspectiva que intenta comprender los mecanismos de recuperación funcional y la relación con el EF, es necesario revisar literatura como la descrita por Stone (1993), donde se mostraba que el efaroxan exhibía un efecto neuroprotector del adrenoceptor  $\alpha$ -2 en modelos in vivo de la enfermedad Huntington e isquemia, este tipo de fármacos antagonistas son potentes y selectivos a ligandos de los adrenoceptores  $\alpha$ -2, además de tener buena biodisponibilidad central, poseer efectos protectores y óptimos para bloquear los efectos mediados por dichos receptores (Renouard et al., 1994).

Aunado a esto, estudios realizados por Martel et al (1998), apoyan la idea del uso de fármacos antagonistas como aquellos derivados del imadazalinas, tales como el IDZ y el EF, en tratamientos repetidos para observar una reducción en los indicadores conductuales y bioquímicos inducidos por la excitotoxicidad, así como, estudios realizados por Tellez (1995), que demostraron que la administración de EF es capaz de producir un incremento robusto, sostenido y dependiente de la dosis, del flujo endógeno de acetilcolina en la corteza media pre frontal, por la inervación del sistema noradrenérgico, este fármaco tiene una

relación directa en la reverberación, el aprendizaje y la conducta motora.

Por lo tanto, el EF, ha mostrado tener efectos neuroprotectores en la devascularización, neurodegeneración y aliviando cambios estructurales en el hipocampo, removimiento los déficits cognitivos inducidos por la isquemia en rata, así como las lesiones excitotóxicas producidas en la región basal magnocelular y la región central (Ano y Haya, 2019).

En resumen, considerando cada antecedente previamente descrito, existe la probabilidad que la recuperación funcional pueda estar mediada por un aumento de la neurotransmisión noradrenérgica, ya que puede reducir factores asociados al daño producido por la EVC, mejorando los mecanismos plásticos y la respuesta conductual.

### **Justificación**

La EVC es un problema de salud pública, de acuerdo con el Estudio Global de Burden (GBD, por sus siglas en inglés) (2013), en los países de ingreso medio a bajo la incidencia de EVC incrementó tres veces más, entre los años 1990 al 2013, con un total de 4.85 millones de muertes, en contraste con los países de ingreso alto. De acuerdo a la Asociación Nacional de EVC (NSA, por sus siglas en inglés) , durante los primeros 5 años post-EVC, 2 de cada 10 mujeres y 4 de cada 10 hombres experimentan un EVC recurrente (Ostwald et al., 2013), por lo que ha cobrado interés en los últimos años los estudios relacionados a los mecanismos de la EVC, ya que se incrementa la mortalidad, y tiene un impacto directo en la discapacidad, aumentando la solicitud de servicios de salud lo que genera pérdidas económicas (Ostwald et al., 2013).

Siendo así la EVC, la principal causa de discapacidad en adultos, en países desarrollados, debido a que genera secuelas físicas, cognitivas, conductuales y emocionales (Bar & Hemphill, 2011); siendo las secuelas motoras la principal causa de discapacidad, y la hemiplejía la forma más frecuente, con un 73.63% de casos reportados con complicaciones asociadas a la misma (Valdés et al., 2007). Adicionalmente, en las últimas décadas, México ha experimentado cambios epidemiológicos relevantes, los cuales se han caracterizado por un incremento en el

número de adultos mayores, así como el aumento de la prevalencia de hipertensión arterial y diabetes mellitus, los cuales podrían incrementar la incidencia de EVC en los próximos años (Manrique-Espinoza et al., 2013). Es por esto, que una de las prioridades en materia de investigación en salud pública en México debería ser el entendimiento y manejo de los mecanismos celulares que subyacen a la recuperación funcional de la EVC, con el fin de dilucidarlos mejor y brindar estrategias farmacológicas, a partir de modelos experimentales, que analicen el funcionamiento de distintos fármacos en dicha recuperación.

En esta tesis, se evaluó el papel del EF, fármaco con acción antagonista a los receptores  $\alpha_2$  noradrenérgicas, para conocer la relación que tiene la liberación de la NA en la promoción de la recuperación funcional y los procesos plásticos, esto analizando los niveles de NA pontina y en estructuras inervadas necesarias para la plasticidad como el GD y la relación con la respuesta conductual motora.

Todo esto, basado en literatura que sustenta el papel de la NA en la recuperación funcional y la posible reversión de la diasquisis, desde el trabajo realizado por Wieloch y Nikolich, (2006), que habla de la substancial recuperación motora post isquemia 2 semanas después del infarto, una vez disminuido el daño en la zona de penumbra, y en los estudios realizados por Ramos-Languren (2016), donde se observó una recuperación morfológica diez días después de una microinfusión de  $\text{FeCl}_2$ , y un aumento en los niveles de NA contenidos en el GD en ambos hemisferios y que muestra una curva de mantenimiento hasta veinte días después.

Además, considerando la información dada recientemente por Rusu-Zota (2019), que plantea al efaroxan como un posible fármaco neuroprotector en la devascularización, neurodegeneración y que mejora los cambios estructurales en el hipocampo, removiendo déficits cognitivos inducidos por la isquemia y la revisión de la literatura de Martel (1998), que promueve la idea de que la liberación del sistema noradrenérgico es un factor crítico para la progresión o reversión de las enfermedades neurodegenerativas, por lo que se espera que el bloqueo presináptico de los autoreceptores de tipo inhibitorio  $\alpha_2$  adrenérgicos, desinhiba al sistema y facilite la liberación de la NA, promoviendo así procesos de recuperación funcional.

## **Pregunta de investigación**

¿Cuáles son las diferencias en los efectos producidos por las administraciones crónica y aguda del antagonista noradrenérgico EF, en la recuperación funcional tras una lesión cortical en ratas adultas?

## **Hipótesis**

- ❖ Existe un déficit sensoriomotor inducido por la lesión y es posible evaluarlo a partir de pruebas conductuales.
- ❖ Posterior la lesión disminuyen los niveles de NA pontina y por lo tanto en área inervadas como el GD y esto será cuantificable en ambas áreas.
- ❖ Se presenta un déficit motor/sensoriomotor, que tendrá relación con los niveles de NA y podrá ser cuantificable.
- ❖ Hay diferencias en el grado de eficacia en la recuperación entre los tratamientos crónicos y agudos; y será la administración crónica la que tenga efectos significativos en la recuperación funcional, aumentando los niveles de NA pontinos y en GD, lo que favorecerá a la recuperación de la conducta motora.

## **Objetivos**

### **Objetivo general**

Evaluar el papel del fármaco antagonista de la recaptura de la NA, en la recuperación funcional ante el daño cortical motor inducido por FeCl<sub>2</sub>, en ratas adultas.

### **Objetivos específicos**

- ❖ Evaluar el déficit sensoriomotor posterior a una lesión cerebral, inducido por la administración intracortical de FeCl<sub>2</sub>.
- ❖ Cuantificar los niveles de NA en el GD y puente cerebral.
- ❖ Comparar el grado de eficacia de recuperación entre el tratamiento crónico y agudo.
- ❖ Cuantificar la relación que existe entre el déficit sensoriomotor/motor presentado por los animales y los niveles de noradrenalina en puente y GD.

## **Método**

### **Animales**

Se utilizaron 71 ratas Wistar macho de entre 250 a 300 g, alojadas en cajas de acrílico estándar para rata en una sala con ciclo invertido de luz/obscuridad con acceso a comida y agua ad libidum.

Los animales fueron tratados de acuerdo con la guía para el cuidado de animales de laboratorio (Olfert y colaboradores 1993), también según las directrices éticas del INNNMV (Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía, Departamento de Medicina Veterinaria) (Protocolo: INNN, 88/18) y de acuerdo con las especificaciones para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio (NOM-062-ZOO-1999).

La lesión cortical se realizó mediante una administración de FeCl<sub>2</sub> (Sigma-Aldrich) con un vehículo de solución líquido cefalorraquídeo (LCR), y se asignaron aleatoriamente los siguientes grupos:

- 1) Vehículo con líquido cefalorraquídeo: Veh+ aCSF (n=17)
- 2) Vehículo con Efaroxan: Veh +EF (n=18)
- 3) FeCl<sub>2</sub> con Líquido cefalorraquídeo: FeCl<sub>2</sub> +aSCF (n=18)
- 4) FeCl<sub>2</sub> con Efaroxan: FeCl<sub>2</sub> +EF (n=18)

Los animales que fueron sometidos a un tratamiento de Efaroxan (Sigma-Aldrich) utilizaron LCR artificial como vehículo. Los animales fueron distribuidos aleatoriamente por grupo para su análisis de catecolaminas o histología.

## **Cirugía Estereotáxica para implantación de cánula**

Las ratas que alcanzaron un peso entre los 280 y los 320 g (12 semanas post natales), fueron anestesiadas con ketamina y xilacina (50 mg/kg) y fueron montadas en un estereotáxico (Stoelting Corp. Wood Dale, IL, USA). Posteriormente fueron sometidas a una cirugía con el objetivo de inducir una lesión en la corteza motora con FeCl<sub>2</sub>, esto mediante un procedimiento de canulación, tomando en cuenta las medidas necesarias, considerando que este procedimiento es de dolor moderado puesto que se encuentran nociceptores en la piel, el periostio y las meninges.

La rata fue posicionada en el marco estereotáxico y más tarde fijada en el marco, se le expuso el cuero cabelludo y se le realizó una antisepsia del área utilizando fluorazín al 10 %. Una vez efectuada la incisión de la piel, se efectuó el corte de la gálea aponeurótica siguiendo la misma dirección que el corte cutáneo y, una vez seco e identificado el punto bregma, se realizó un trépano en el punto donde se tenía que introducir la cánula, allí se tomó la coordenada basal de profundidad y a partir de esta se desciende suavemente dentro del encéfalo, hasta la profundidad establecida la lesión en las coordenadas (AP:-2,ML:-2,DV:-1), correspondiente al área del miembro contralateral posterior, área que nos permitió obtener evidencia conductual sobre la lesión; pues al realizar una lesión en el miembro posterior contralateral, emula una hemiplejía propia de una EVC.

Para que las cánulas queden completamente inmóviles, fueron incluidas en un implante acrílico que se fijó en el cráneo por medio de un tornillo que queda firmemente adosado al cráneo, en una distancia no mayor a 1 cm del sitio de colocación de la cánula.

### **Cuidados pre y post quirúrgicos**

Antes de realizarles la cirugía se administró vía subcutánea 10 UI de lidocaína (Pisacaína®), anestésico local de eficacia ultra rápida, en el área en la que se les realizó la incisión, para asegurar que el animal no presentará algún reflejo de dolor.

Una vez terminada la cirugía, se administró 3 mL de solución salina isotónica vía intraperitoneal para la recuperación de líquidos y la aceleración de la metabolización de los anestésicos, así como Furacine ® tópico para prevenir infecciones. Los animales se mantuvieron a una temperatura constante de alrededor de los 37°C a través de un colchón térmico.

### **Administración crónica del fármaco**

Por veintidós días consecutivos antes del sacrificio a todos los animales se les administró una inyección intraperitoneal diaria de EF (0.63 mg/kg), dosis establecida por Rizk (2006).

### **Administración aguda del fármaco**

El tratamiento agudo consistió en una única inyección intraperitoneal de EF (0.63 mg/kg), dosis establecida por Rizk (2006), una hora después de la cirugía.

### **Evaluación motora y somato sensorial**

Esta evaluación fue descrita por García et al (1995), y consta de dos valoraciones motoras y dos somatosensoriales para estimar la simetría del movimiento de los cuatro miembros de la rata. Los dominios que toma esta prueba son cuatro, a saber: a) simetría en los movimientos de las cuatro extremidades, b) Agarre, c) propiocepción y d) respuesta al tacto de vibras (Figura 9). Los primeros dos parámetros evalúan motricidad, mientras que los dos últimos evalúan somatosensación.

Las valoraciones motoras se dividen en dos pruebas. La primera permite estimar la simetría del movimiento de los cuatro miembros, y el procedimiento consiste en

tomar de la cola a la rata y levantarla totalmente, para observar la simetría de la extensión. La segunda prueba aplicada es la de agarre, basada en que normalmente la rata se agarra con las cuatro patas cuando se le coloca sobre la tapa de su caja y esta es volteada.

Las evaluaciones somatosensoriales, por su lado, se subdividen en la evaluación de la propiocepción del cuerpo, donde la rata se toca con un lápiz en cada costado y se observa la reacción al estímulo, y la prueba de toque de vibras, donde se realiza un roce a cada lado de las vibras con un lápiz, aproximándose desde la cola hacia adelante, para evitar que entre en su campo visual.

Cada uno de los dominios se califica del 1 al 3, donde 1 significa un mayor deterioro y el 3 un menor deterioro. Al final de la evaluación, los puntajes de los dominios son sumados, teniendo por mínimo un puntaje de 3 y como máximo un puntaje de 12. Un mayor puntaje indica una menor deficiencia sensoriomotora y motora (Tabla 3).

<b>Cualidad</b>	<b>Descripción</b>	<b>Puntaje</b>
<i>Simetría</i>	Al suspender al animal, los cuatro miembros se extienden simétricamente.	<b>3</b>
	Los miembros de un lado se extienden más o menos lentamente que los del otro lado o se observa una extensión lenta de los cuatro miembros.	<b>2</b>
	Los miembros de uno u otro lado muestran una cantidad de movimientos muy limitada.	<b>1</b>
	Los miembros posteriores de uno o ambos lados no presentan movimientos.	<b>0</b>
<i>Agarre</i>	Al hacer girar la rejilla, la rata se agarra con las cuatro patas.	<b>3</b>
	Uno o los dos lados están alterados mientras el animal se agarra o bien se agarra defectuosamente.	<b>2</b>
	La rata tiende a caerse.	<b>1</b>
<i>Propiocepción</i>	La rata reacciona volviendo la cabeza hacia el lado donde recibe el estímulo y esta reacción es igual en ambos lados del cuerpo.	<b>3</b>
	La rata reacciona lentamente al estímulo en uno o ambos lados.	<b>2</b>
	La rata reacciona lentamente al estímulo en uno o ambos lados.	<b>1</b>
<i>Vibrisas</i>	La rata reacciona volviendo la cabeza hacia el lado del estímulo y esta reacción es igual en ambos lados del cuerpo.	<b>3</b>
	La rata reacciona lentamente al estímulo, independientemente del lado estimulado.	<b>2</b>
	La rata no responde al estímulo en uno o en ambos lados.	<b>1</b>

**Tabla 3. Codificación y puntaje de la prueba sensoriomotora y motora.**



**Figura 9. Evaluación motora y somatosensorial** A la izquierda superior, se muestra la prueba motora de simetría de los cuatro miembros, cuyo procedimiento consiste en tomar de la cola a la rata y levantarla totalmente para observar la simetría en el movimiento de las cuatro extremidades. A la derecha superior, se observa la prueba de agarre, basada en la norma del agarre de cuatro patas cuando se coloca sobre la tapa de alambre de la caja y esta es volteada. A la izquierda inferior, se muestra la prueba de propiocepción, la cual consiste en dar un estímulo sensorial en un costado de la rata y observar la respuesta, que debería estar dirigida hacia el lado donde recibe el estímulo. Finalmente, a la derecha inferior, la prueba de toque de vibras, esta prueba sensoria consiste en dar un toque suave en las vibras de la rata y esperar que su respuesta sea un giro de cabeza hacia el lado donde recibió el toque, esta respuesta debe ser simétrica. Basada en la evaluación descrita por García et al (1995).

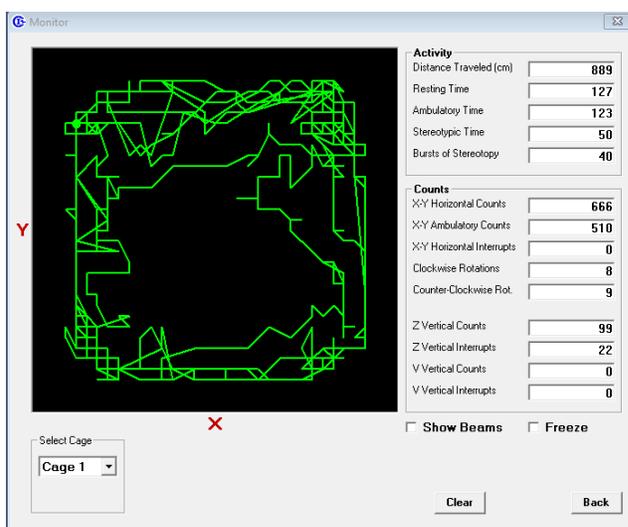
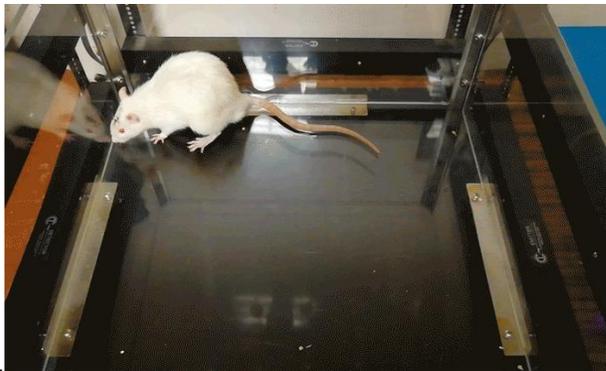
### ***Evaluación motora espontánea***

La actividad motora espontánea fue registrada utilizando el sistema automatizado de monitoreo de actividad Auto-Track Opto-Varimex (Columbus Instruments, Columbus, OH, USA), acoplado a un sistema de fotoceldas y a un software capaz de distinguir diferentes patrones de movimiento en los animales. El equipo está instalado dentro de una cámara anecoica que evita ruidos externos que puedan distraer al animal.

Las características físicas del sistema de monitoreo son de 42.2 x 42.5 x 20.5 cm. Como parte de las medidas que ofrece este sistema son:

- Distancia viajada (calculada en cm).
- Tiempo de reposo (segundos).
- Conducta estereotípica (segundos).
- Conducta ambulatoria (segundos).

Se consideró el tiempo de descanso como el tiempo total menos el tiempo ambulatorio y estereotípico. Esta evaluación se llevó a cabo en todas las sesiones de ambos tratamientos (agudo y crónico). Los resultados de la distancia recorrida se expresaron en porcentajes, considerando como un 100% al promedio en centímetros del total recorrido en la línea base, es decir, lo recorrido en la sesión 1 de ambos tratamientos (Figura 10)

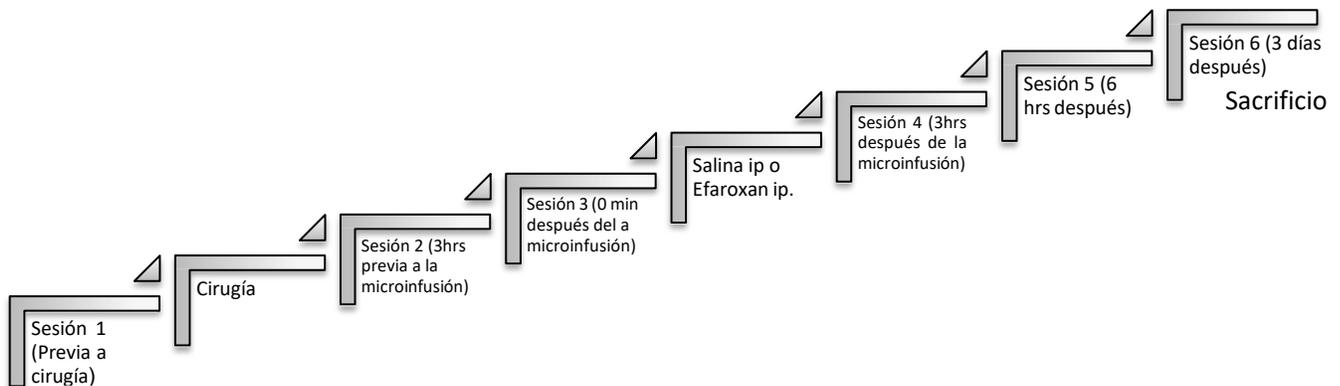


**Figura 10. Evaluación motora espontánea Sistema de rastreo para la evaluación de la actividad motora espontánea.** Nota: Arriba: Cámara de registro del Opto-Varimex; Debajo: Mapa de registro de actividad motora espontánea.

## **Modelos experimentales**

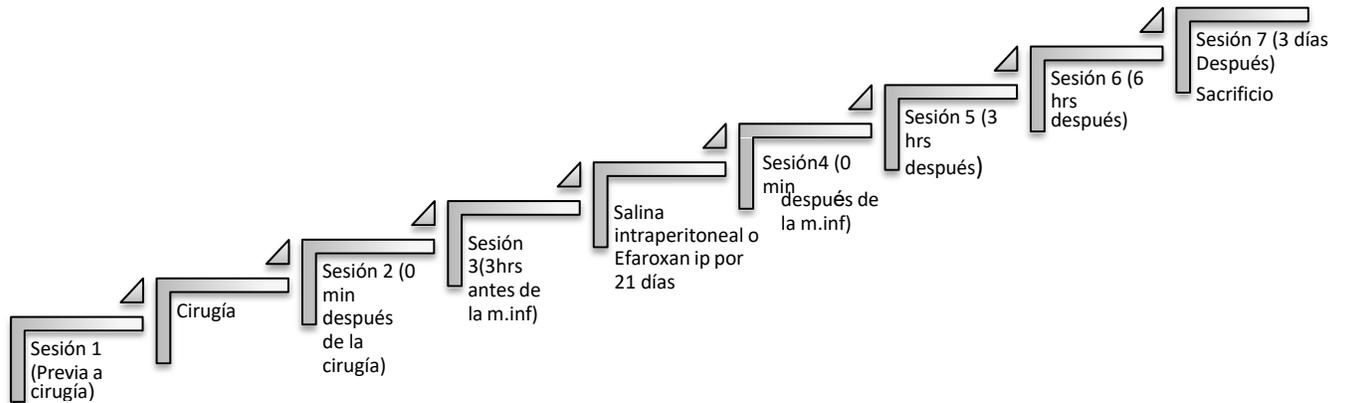
La presente tesis, realizó dos modelos experimentales, con administración del EF de tipo agudo y crónico, para hacer un análisis comparativo de las diferencias producidas por ambos modelos en la recuperación funcional tras la lesión cortical en ratas adultas, estos se desglosan en los esquemas siguientes (Esquemas 1 y 2).

### **Modelo Agudo**



**Esquema 1:** Modelo agudo de administración de EF posterior a una lesión cortical de FeCl<sub>2</sub>, en ratas adultas.

## Modelo crónico



**Esquema 2:** Modelo crónico de administración de EF posterior a una lesión cortical de FeCl<sub>2</sub>, en ratas adultas.

Al final de los experimentos, las ratas fueron anestesiadas con fenobarbital (25 ml/kg i.p.) y perfundidas transcárdialmente con buffer de salina 0.1% NaNO<sub>3</sub> y heparina (5U/ml), seguido de una perfusión al 4% de paraformaldehído (pH 7.4). Posteriormente, el cerebro fue retirado y fijado con una solución de fijación por 2 horas a 4°C, y fue protegido con criogenia en una solución al 15% de sacarosa en agua destilada durante dos días. Finalmente, el cerebro fue cortado en secciones coronales de 25 µm a lo largo del cerebro, utilizando un vibratomo.

## **Análisis histológico**

Para verificar y examinar el daño que se hizo en corteza motora primaria representativa de la extremidad posterior, dos animales extra por grupo (Sham y lesión), fueron sacrificados y procesados para la tinción de Perls.

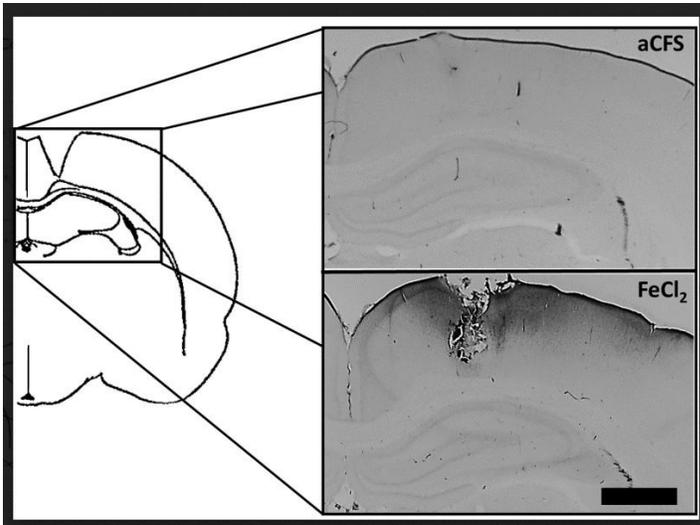
La tinción de Perls es uno de los mejores métodos para conocer las reservas de  $Fe^{+}$ , que se encuentran en forma de hemosideína y ferritina, importante para el diagnóstico de patologías hematológicas, esta técnica pone en evidencia la presencia de complejos insolubles de  $Fe^{+}$  por la formación de un precipitado coloreado (azul de Prusia). La intensidad del color es un parámetro cualitativo y su utilidad es evaluar las reservas de  $Fe^{+}$  al permitir una semicuantificación de los depósitos (Crudo et al., 2016).

Se realizaron cortes coronales de 30  $\mu m$  de espesor, a la altura de la corteza motora primaria, con la ayuda de un vibratomo; los cortes fueron colocados sobre portaobjetos bañados en solución de gelatina y sulfato de cromo.

Una vez montados los cortes en las laminillas gelatinizadas, se sumergieron durante 2 minutos en agua bidestilada para hidratar el tejido. Posteriormente, se deshidrataron al sumergir las laminillas en alcohol etílico (EtOH) al 70%, 95% y 100%, cada uno por 2 minutos, y una vez más en sentido contrario, es decir, al 100%, 95% y 70%, en ese orden.

Finalmente, fueron sumergidos por 4 minutos en tinción de Perls (0.1%), pasando una vez más por los alcoholes durante 2 minutos cada uno, y, por último, fueron lavados en Xilol durante 2 minutos. Las muestras se cubrieron con el medio de montaje del Bálsamo de Canadá y un cubreobjetos.

Una semana más tarde, se limpiaron las muestras de posibles impurezas producidas por el bálsamo con el uso de Xilol y limpia vidrios. Se realizó una observación de las muestras mediante un microscopio Carl Zeiss Pluss, mientras que para capturar las imágenes se utilizó una cámara modelo Axioskop 2, tomando capturas con los objetivos 10X y 100X (Figura 11).



**Figura 11. Tinción de Perls para verificar la administración de cloruro ferroso.** Fotografía tomada por Axioskop 2 para confirmar la administración de cloruro ferroso en la corteza motora mediante la tinción de Perls, escala 50  $\mu$ m.

### **Diseción de GD y puente**

Al finalizar la última evaluación motora, ratas de cada grupo fueron seleccionadas para su sacrificio por decapitación, los cerebros fueron removidos del cráneo y colocados en soluciones de buffer salina de fosfato (PBS, por sus siglas en inglés). Posterior a esto, y con el objetivo de obtener el GD, el cerebro, fue colocado en una placa de Petri que contenía PBS y el cerebro fue cortado a lo largo de la fisura longitudinal del cerebro utilizando un cuchillo quirúrgico, para separar ambos hemisferios, seguido a esto, se realizó un corte en las regiones posteriores a lambda (mesencéfalo, romboencéfalo y cerebelo).

El hemisferio cerebral disectado se colocó con la cara medial hacia arriba y con pinzas, se extrajo el diencéfalo, exponiendo el lado medial del hipocampo y permitiendo la visualización del GD, de fácil distinción por el espacio entre el CA. Se utilizaron agujas de calibre 27, en cada lado del límite del GD que fueron deslizadas superficialmente a lo largo del eje septo temporal para recoger el GD.

De igual forma el puente fue obtenido, particularmente en la región correspondiente al LC, primeramente la región del tronco recibió un corte y con el uso de pinzas tipo fórceps se transfirió a una placa de Petri, la muestra fue

orientada hacia la superficie dorsal para la localización aproximada del LC, teniendo como referencia el límite entre el cerebelo y el colículo anterior, un corte a partir de la médula permitió dividir el puente en izquierdo y derecho, el tejido fue recolectado en tubos que contienen 0.5 ml de ácido perclorídrico (0.4 N) con 0.1% de sodio metabisulfito. Los tejidos fueron homogenizados y centrifugados a 15,000 rpm por 10 minutos a 4 grados. El sobranate fue filtrado y almacenado a -70 grados hasta la realización del análisis cromatográfico.

### **Análisis cromatográfico de NA**

El contenido del NA fue analizado empleando cromatografía líquida de alto rendimiento y un detector electroquímico (BAS modo LC-4B, West Lafayette, IL). Los picos fueron integrados en una computadora con un programa Perkin-Elmer 1020 Plus. Finalmente, para que fueran determinadas las concentraciones de NA, el cromatógrafo de las muestras fue interpolado con las 4 muestras estándar con concentraciones ya conocidas, utilizando una columna analítica para catecolaminas (ALLTECH, adsorbosphere C18 100×4.8 mm, 3 µm de tamaño de (0.1 mM, pH 3.2) que contenía 0.2 mM de sulfato de octilo sódico, 0,1 mM de EDTA y 15% v/v de metanol. La tasa de flujo fue de 1.2 ml/minuto, mientras que el potencial fue fijado a 0.65 v contra un electrodo de referencia Ag/AgCl.

## **Análisis estadístico**

Antes de seleccionar las pruebas estadísticas para trabajar, se observó la naturaleza de los datos, su nivel de medición, la homogeneidad de varianza y su comportamiento en comparación con la curva normal.

Después de evaluar sus características descriptivas se optó por utilizar una prueba de U Mann-Whitney para datos no relacionados, para evaluar las diferencias entre grupos en las pruebas conductuales. La actividad motora espontánea fue analizada con la prueba de ANOVA de un factor con HSD de Tukey como prueba post hoc.

Las diferencias entre grupos de los receptores  $\alpha$ -2 adrenérgicos se analizaron mediante ANOVA de una vía, seguida de pruebas *post hoc* de HSD de Tukey.

Además, el análisis de las concentraciones de NA en el GD y puente según el tratamiento (agudo o crónico), y la localización de la estructura (ipsi o contralateral a la lesión) se llevó a cabo con un ANOVA de tres factores y la prueba post hoc de Tukey.

Finalmente, se realizó un análisis de correlación de Spearman entre el rendimiento sensoriomotor presentado por los animales y el cambio en los niveles de NA en puente y GD. Los datos son expresados como la media  $\pm$  E.E.M.

## **Resultados**

Al término de los protocolos experimentales agudo y crónico, se analizaron los resultados obtenidos en las evaluaciones motoras, la del tipo motor y sensoriomotor, descrita por García et al (1995), cuyos dominios motores evalúan simetría del movimiento y tonicidad del movimiento (agarre), ambos, procesos asociados a las proyecciones eferentes noradrenérgicas del LC en CM (Gaspar et al, 1989) y, su relación con el crucial papel del Fe<sup>+</sup> en enfermedades neurodegenerativas caracterizadas por síntomas extrapiramidales (Apostolakis, 2004); y las evaluaciones somatosensoriales, cuyos dominios describen la propiocepción y la reacción al estímulo, ambos procesos que se ven alterados posterior a una EVC (Arauz & Ruíz-Franco, 2012) y que probablemente estén asociados a los efectos ascendentes de las eferencias del LC, es decir a la relación que tiene el sistema noradrenérgico con la respuesta fásica al estímulo y la reorganización dinámica para la recolección y procesamiento de la información ambiental (Bouret & Sara, 2005).

Así como la prueba optovarimex, un programa conductual establecido para entregar resultados medibles y visualizados del movimiento ambulatorio en ratas, facilitando la digitalización de los resultados y la detección de cambios inmediatos. En esta tesis se utilizó el fármaco EF, en una dosis de 0.63 mg/kg administrado de manera intraperitoneal, que es un fármaco antagonista de los receptores  $\alpha_2$ , mismos que son los más afines a NA, permitiendo aumentar los niveles de dicho neurotransmisor, efecto clave para mantener la recuperación (Calderón et al, 2018). El EF, ha demostrado aumentar los niveles de AMPc un regulador hormonal, segundo mensajero y regulador intracelular, participe de los mecanismos compensatorios en la recuperación (Abe, 2020), aunado a esto, algunos estudios previos sugieren que en conjunto con drogas simpatomiméticas, pueden funcionar como protectores en contra de los efectos inducidos por el daño en corteza (Hylin et al., 2017).

### **Tratamiento Agudo**

Los resultados provenientes de esta tesis son expresados en términos de estadística paramétrica, recomendado por la naturaleza de los datos.

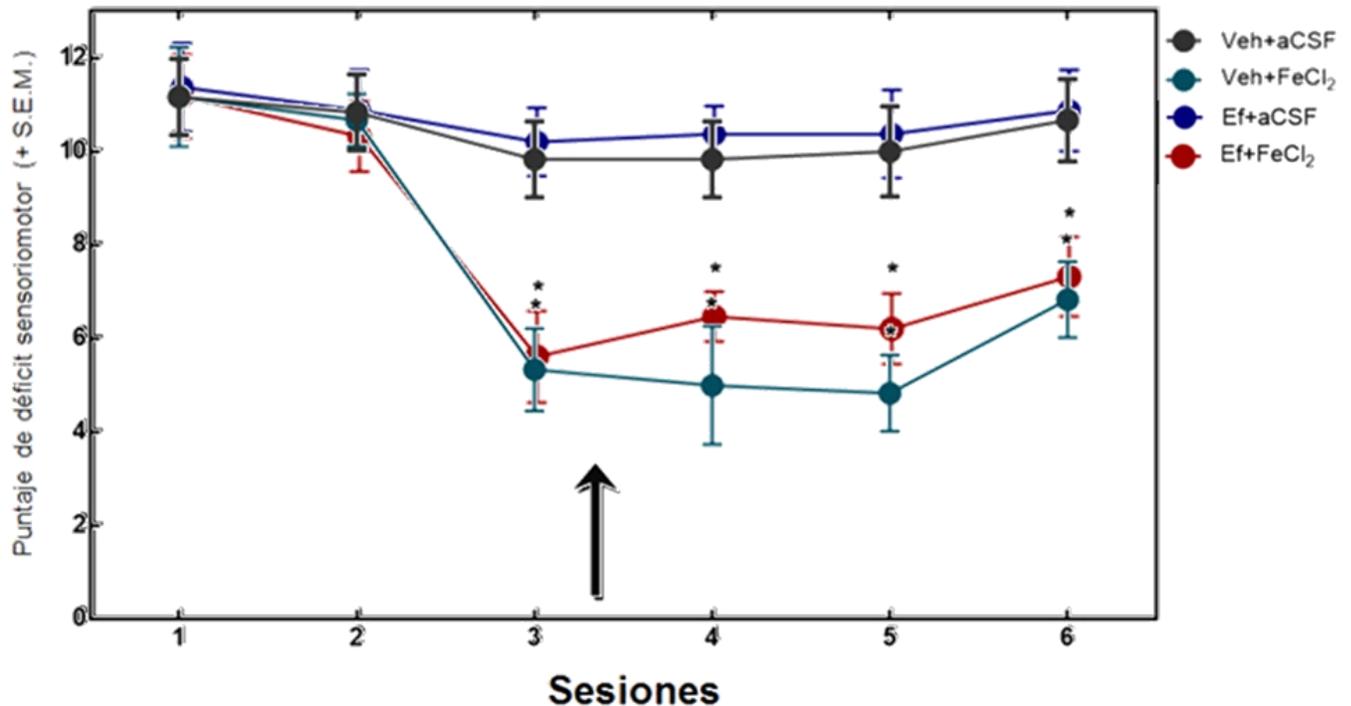
### **Actividad sensoriomotora y motora**

Posterior a la evaluación, fue posible observar una diferencia significativa en la conducta sensoriomotora y motora posterior a la sesión 3, es decir, inmediatamente después de la microinfusión de FeCl<sub>2</sub>, se observa un decremento en el desempeño a la prueba en ambos grupos, tanto el grupo que recibió una microinfusión sin tratamiento (Veh+FeCl<sub>2</sub>) (media ± EEM) (5.33±0.33), como el grupo que recibió una única dosis de EF (EF+FeCl<sub>2</sub>), (5.57±0.36), en contraste con el grupo control, que no fue lesionado (Veh+aCSF) (9.83±0.30) (Figura 12).

En los resultados referentes a la prueba motora y sensoriomotora (Figura 12), se muestran los cuatro grupos, en esta figura se observa que el grupo control (línea negra), que fueron animales que exclusivamente recibieron administración de vehículo, lo que permitió establecer una línea base conductual; se observa también el grupo que recibió una única dosis de EF y LCR (línea azul), que exhibe una conducta similar a la del grupo control, así como los grupos que recibieron una microinfusión de FeCl<sub>2</sub>, un grupo que fue lesionado y no recibió tratamiento alguno (línea turquesa), que expone un claro déficit sensoriomotor a partir de la sesión 3, como fue previamente mencionado y no se observa un esbozo de recuperación funcional y, finalmente el grupo que recibió un tratamiento agudo (línea roja), es decir, el grupo que posterior a la lesión, recibió una única dosis de EF, y no mostró diferencias significativas en comparación al grupo lesionado y sin tratamiento, en ambos se exhibe un mayor déficit sensoriomotor a partir de la tercera sesión, en contraste a los grupos no lesionados.

Por lo tanto, es posible decir que una única dosis de EF, no es suficiente para aumentar los niveles de NA y por lo tanto, fungir como un modulador para mejorar los procesos de recuperación funcional, ni para la respuesta conductual de la prueba motora y sensoriomotora, pues hacia la sesión seis, el grupo lesionado que recibió una única dosis de EF (EF+FeCl<sub>2</sub>) (media ± EEM) (7.28±0.52), no presenta diferencias significativas en el puntaje con el grupo que no recibió

tratamiento alguno (Veh+FeCl<sub>2</sub>) (6.83± 0.30).



**Figura 12. Actividad sensoriomotora y motora en ratas durante el protocolo de tratamiento agudo.** La respuesta somatosensorial y motora se ve disminuida a partir de la sesión 3, inmediatamente después de la microinfusión de FeCl<sub>2</sub> y permaneció de esta manera por lo menos las siguientes tres sesiones. Los valores obtenidos son la media ± la desviación estándar. No se encontraron diferencias significativas previas a la cirugía. \*P ≤ 0.05 estadísticamente significativa entre los grupos (Veh+aCSF y Veh+FeCl<sub>2</sub>) y (Ef+aCSF y Ef+FeCl<sub>2</sub>), no existe diferencia estadísticamente significativa entre (Veh+FeCl<sub>2</sub> y Ef+ FeCl<sub>2</sub>).

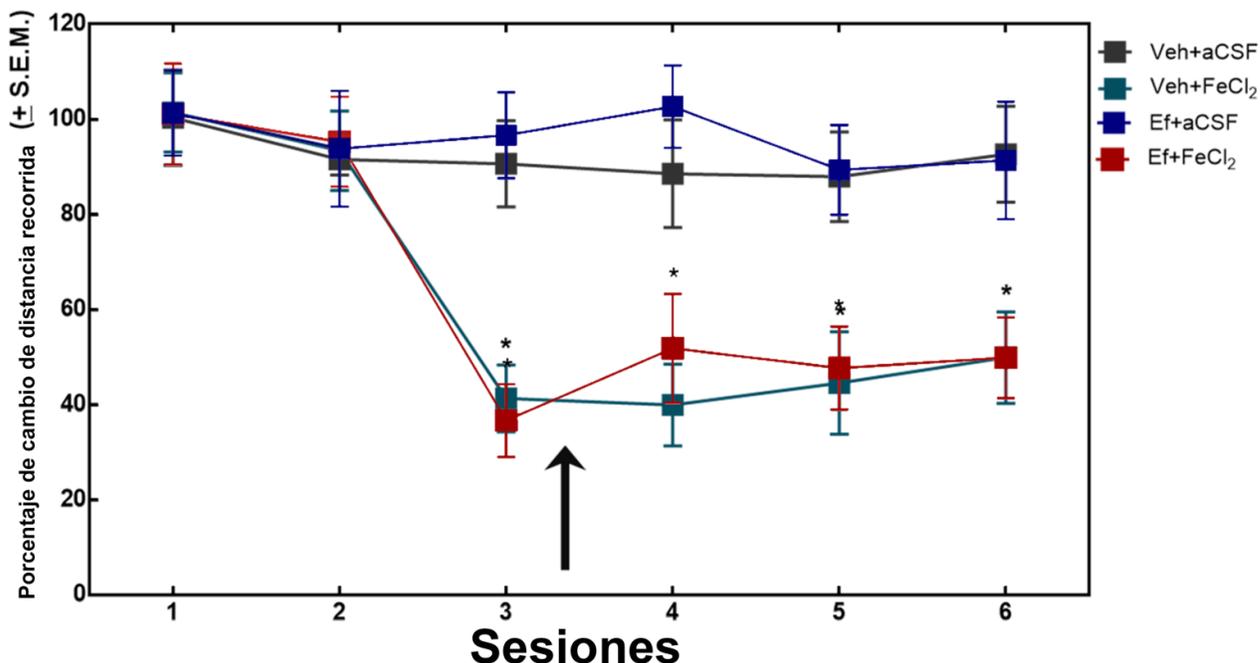
**Nota:** La flecha señala la única administración de EF en los grupos lesionados.

### Actividad motora espontánea

Un fenómeno similar se observa en la conducta motora espontánea, correspondiente a la prueba de la cámara Optovarimex, expuesta en la Figura 13; la actividad motora espontánea se ve afectada de forma significativa posterior a una lesión cortical. A partir de la tercera sesión las ratas lesionadas, a pesar de haber recibido una única dosis de EF (Ef+FeCl<sub>2</sub>) mostraron un decremento significativo en la actividad motora (36.93 ±2.88), en contraste al grupo que no fue lesionado (Veh+aCSF) (96.33±3.20).

En la Figura 13, se observan cuatro líneas, correspondientes a los grupos asignados de manera aleatoria, nuevamente el grupo control se observa en color negro y funge el papel de línea base conductual y en color azul, el grupo no lesionado que recibió una única dosis de EF, que igualmente, muestra una conducta similar al grupo control. Por otro lado, los grupos que recibieron una microinfusión de FeCl<sub>2</sub>, muestran una clara disminución del porcentaje de la distancia recorrida, como es el caso del grupo que fue lesionado y no recibió ningún tipo de tratamiento, en color turquesa, y el grupo que recibió un tratamiento agudo, en color rojo, entre estos dos últimos, no se exhiben diferencias significativas, aunado a esto la literatura sugiere, que esta disminución del porcentaje se debe al aumento de Fe<sup>+</sup> en el cerebro, ya que se ha descrito que una acumulación en áreas relacionadas al control motor como el núcleo dentado (ND) y la CM provocan desordenes de movimiento (Stankiewicz & Brass, 2009), es probable que estas zonas sean las más afectadas pues es aquí donde hay mayor vascularización alterada y una acumulación de agentes reactivos de oxígeno (Brun & Englund, 1986), además los niveles de Fe<sup>+</sup> en el LC que usualmente son elevados pues existe una asociación entre el Fe<sup>+</sup> y la metabolización de los neurotransmisores como NA, DA y 5-HT (Anderson et al., 2009), no se mantuvieron homeostáticos, lo que se asocia a los niveles anormales de NA que dan como resultado un pobre rendimiento motor, por lo que, es posible considerar que una sola administración de EF no es suficiente para observar una mejora significativa en la recuperación motora, esto se demuestra desde la sesión 4 y hasta sesión 6, pues el grupo lesionado en tratamiento agudo de EF (EF+FeCl<sub>2</sub>) (49.85 ± 3.21) mantuvo valores similares al grupo que fue lesionado sin recibir tratamiento (Veh+FeCl<sub>2</sub>) (9.94 ± 3.64).

El rendimiento sensoriomotor y el porcentaje de distancia recorrida en ambos grupos no presenta significativas, es decir con una  $P < 0.01$ ; demostrando que el tratamiento agudo no mejora la respuesta motora en los animales, lo que sugiere que el aumento de NA probablemente tampoco sea significativo, ya que no se logra esbozar un indicio de recuperación funcional.



**Figura 13. Actividad motora espontánea en ratas durante el protocolo de tratamiento agudo.**

El porcentaje de distancia recorrida en la prueba de actividad motora espontánea, se ve disminuido a partir de la microinfusión de FeCl<sub>2</sub>, es decir, a partir de la tercera sesión y se mantuvo por al menos 3 días. 3 horas después de la microinfusión de FeCl<sub>2</sub>, las ratas mostraron mayor dificultad para desplazarse dentro de la cámara. Los valores obtenidos son la media  $\pm$  la desviación estándar. \* $P \leq 0.05$  estadísticamente significativa entre los grupos (Veh+aCSF y Veh+FeCl<sub>2</sub>) y (Ef+aCSF y Ef+FeCl<sub>2</sub>), no existe diferencia estadísticamente significativa entre (Veh+FeCl<sub>2</sub> y Ef+FeCl<sub>2</sub>). La flecha señala la única administración de EF en los grupos lesionados.

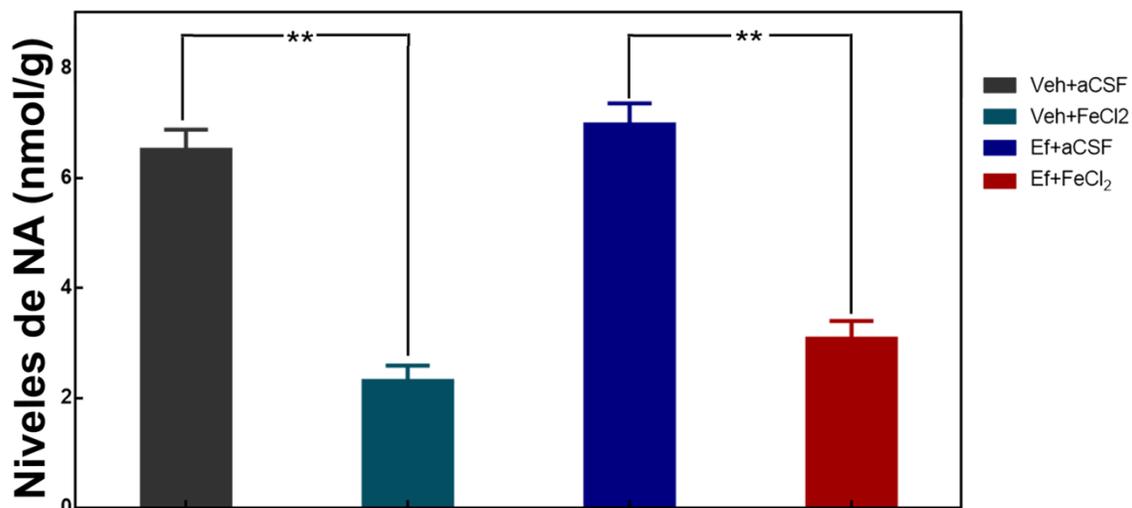
### **Niveles de noradrenalina en el puente**

La evaluación se realizó en la porción del puente que contiene al LC, en primera instancia, porque el LC posee una larga inervación, siendo la más extensa en la corteza motora y somatosensorial (Gaspar et al. 1989), así mismo en sistema con la NA se regula la expresión de citoquinas inflamatorias y óxido nítrico en astrocitos y microglía (Yao et al 2015), esencial para la recuperación funcional de manera óptima. Aunado a esto la literatura describe que existe una asociación entre el Fe<sup>+</sup> y el metabolismo de algunos neurotransmisores como la DA (Nelson, 1997), la 5-HT (Kaladhar and Narasinga Rao, 1982), la NA (Anderson et al., 2009) y el GABA (Li, 1998).

De manera interesante, es más específico en áreas del SN como el LC donde los gránulos de neuromelanina pueden ser encontrados y la cantidad de Fe<sup>+</sup> es alta, aunque más bajo que en áreas de control motor, así mismo el transporte de Fe<sup>+</sup> está altamente regulado por el feedback de otras neuronas basado en sus niveles de Fe<sup>+</sup> (Simpson et al, 2015), finalmente, la literatura describe que al bloquear los receptores  $\alpha_2$ , utilizando un fármaco antagonista como el EF, se espera contrarrestar los efectos provocados por una disminución de NA, no obstante, al realizar las evaluaciones correspondientes, es posible decir que una sola dosis de EF no es suficiente para inhibir los receptores  $\alpha_2$  y por lo tanto aumentar los niveles de NA contenidos en el puente.

En la gráfica correspondiente a la Figura 14, se desglosan estos resultados; se muestran cuatro barras correspondientes a cada grupo, el grupo control (Veh+aCSF), da una referencia de los niveles basales de NA en un cerebro sano, el grupo que únicamente recibió una dosis de EF sin lesión (EF+ aCSF), que presenta valores similares al grupo control, finalmente las dos barras restantes corresponden a los grupos que recibieron una microinfusión de FeCl<sub>2</sub>, un grupo lesionado y sin tratamiento (Veh+FeCl<sub>2</sub>) , así como un grupo de interés, es decir aquel que recibió un tratamiento agudo ( EF+FeCl<sub>2</sub>) ;estos dos últimos grupos muestran un claro decremento noradrenérgico, exhibiendo el daño inducido por la microinfusión, sin embargo no se muestran diferencias significativas en presencia del fármaco en una única dosis, dando como referencia que una sola dosis intraperitoneal, no es suficiente para que exista un incremento de NA que se vea expresado en los niveles pontinos.

## Puente

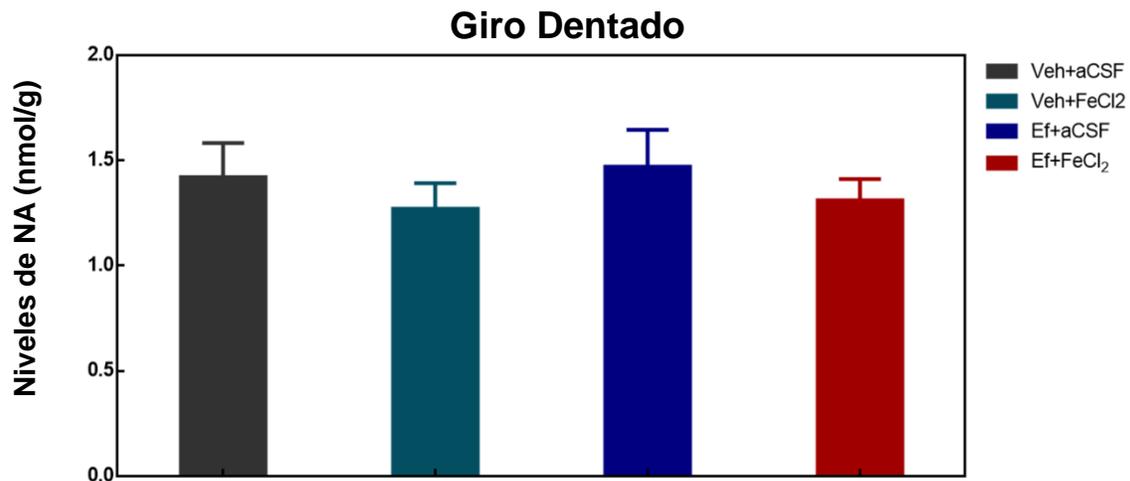


**Figura 14. Niveles de noradrenalina contenidos en la porción del puente que contiene al LC posterior al protocolo de tratamiento agudo.** Niveles de NA contenidos en el LC 3 días posterior a la lesión, el puente muestra un decremento en los niveles de NA en ambos hemisferios en ratas lesionadas. Las barras representan la media y el error estándar. \*\*P < 0.01 estadísticamente significativa entre los grupos (Veh+aCSF y Veh+FeCl<sub>2</sub>) y (Ef+aCSF y Ef+FeCl<sub>2</sub>).

### **Niveles de noradrenalina en el giro dentado**

El GD, es una estructura relevante para los procesos plásticos y de reorganización funcional que recibe proyecciones adrenérgicas, y, de acuerdo a la literatura la NA facilita la plasticidad incluyendo la potenciación a largo plazo (LTP) en zonas como la neocorteza, el cerebelo, la amígdala y el hipocampo, estructura que contiene al GD (Radley et al, 2008), aunado a esto, son las neuronas del LC de tipo fásicas las que permiten mejorar la respuesta de atención al estímulo (Benarroch, 2018), ejercicio necesario para pruebas conductuales como la descrita por García (1995) y realizada en este proyecto de tesis, es por esto que se realizó un análisis para observar el posible aumento de los niveles de NA derivado de las proyecciones del LC posterior al tratamiento agudo, sin embargo al finalizar las pruebas cromatográficas no se observó un aumento significativo en esta estructura, reiterando así que una única dosis de EF, no permite bloquear a los receptores  $\alpha_2$  y, por lo tanto, no hay un aumento relevante los niveles noradrenérgicos, no solo en puente sino en estructuras inervadas por el LC.

Esto se desglosa de mejor manera en la Figura 15, una gráfica de barras dividida en nuevamente en cuatro grupos, el grupo control (Veh+aCSF), que muestra los valores basales de NA en un GD sano, un grupo que recibió una única dosis de EF sin lesión (EF+aCSF), mostrando valores similares al grupo control y, finalmente dos barras correspondientes a los grupos lesionados por una microinfusión de FeCl<sub>2</sub>, en ambos se observa un decremento noradrenérgico, y en el caso del grupo que recibió un tratamiento agudo (Ef+FeCl<sub>2</sub>), no se muestran aumentos significativos en los valores de NA, en contraste con el grupo que fue únicamente lesionado (EF+ FeCl<sub>2</sub>), por lo que es posible decir que no hubo un bloqueo de los receptores  $\alpha_2$  y por lo tanto tampoco un aumento noradrenérgico, derivado de una sola administración.



**Figura 15. Niveles de noradrenalina contenidos en el giro dentado posterior al protocolo de tratamiento agudo.** Niveles de NA contenidos en el LC 3 días posterior a la lesión, el GD muestra un ligero decremento en los niveles de NA en ambos hemisferios en ratas lesionadas. Este decremento no es estadísticamente significativo.

### **Tratamiento Crónico**

La rehabilitación requiere un profundo entendimiento de los mecanismos que subyacen en los déficits neurológicos para así proponer tratamientos adecuados y diseñar nuevas intervenciones. Generalmente esta recuperación se ha revisado desde un enfoque localizacionista, predominante desde el descubrimiento de Broca, que proponía que los déficits específicos son el resultado de una lesión focal (Broca, 1861). No obstante, no es solamente el daño localizado, sino que impacta a las redes cerebrales que están remotas a la lesión (Carrera and Tononi, 2014). Si bien, la primera definición de diasquisis, fue elaborada por Monakov (1914), definiéndolo como una pérdida de las áreas distales a la lesión, esta explicación burda, luego a grados de especialización como el de Alstott y colaboradores (2009), que lo define como los cambios masivos en las redes celulares y la actividad neural proveniente de las modificaciones químicas y celulares de la lesión, y es bajo esta premisa que se revisa la recuperación funcional desde una conexión estructural, (Karnath et al., 2018) y es por esto, que es necesario evaluar el papel de la NA en la recuperación funcional, pues se ha descrito como una molécula que facilita la plasticidad e inclusive la LTP (Hagena et al. 2016).

Los resultados obtenidos posteriores a una administración crónica de EF buscan revisar los principios de la plasticidad y la recuperación de la red posterior a un EVC descritos por Guggisberg y colaboradores (2019), observando que tras dicha administración se exhibe una mejora en la conducta motora, sensoriomotora y motora espontánea, tras el daño inducido por la lesión cortical de FeCl<sub>2</sub>.

## **Actividad sensoriomotora y motora**

Las proyecciones noradrenérgicas de la LC son particularmente densas en las cortezas parietales y prefrontales, cortezas que están involucradas en mecanismos de atención (Aston-Jones and Cohen 2005) y el arousal conductual (Berridge et al, 1997). Uno de los procesos más interesantes del sistema de inervación del LC es el poder de cambiar la respuesta neuronal de tónica a fásica, lo que permite al individuo concentrarse en el estímulo y entregar una mejor respuesta (Vazey & Aston-Jones, 2012), sugiriendo así, que la actividad del LC podría facilitar la reorganización dinámica de las redes neuronales para una rápida adaptación conductual a un ambiente cambiante, recolectando y procesando información sensorial saliente (Bouret & Sara, 2005), por lo que se espera que el aumento de NA provocado por la crónica administración de EF, permita un mejor reconocimiento somatosensorial (Figura 16). La evidencia obtenida en esta tesis, sugiere que para que suceda dicha mejora sensoriomotora y motora para obtener adaptación conductual, están implicado un cambio fehaciente en los niveles de NA en la CM, corteza que recibe varias proyecciones de dicha catecolamina y, que al inhibir los receptores  $\alpha_2$  adrenérgicos obtendremos una apertura de los canales de  $Ca^{+}$  y una activación de los canales de  $K^{+}$ , lo que da como resultado un aumento de la excitabilidad neuronal y un aumento de la liberación de NA.

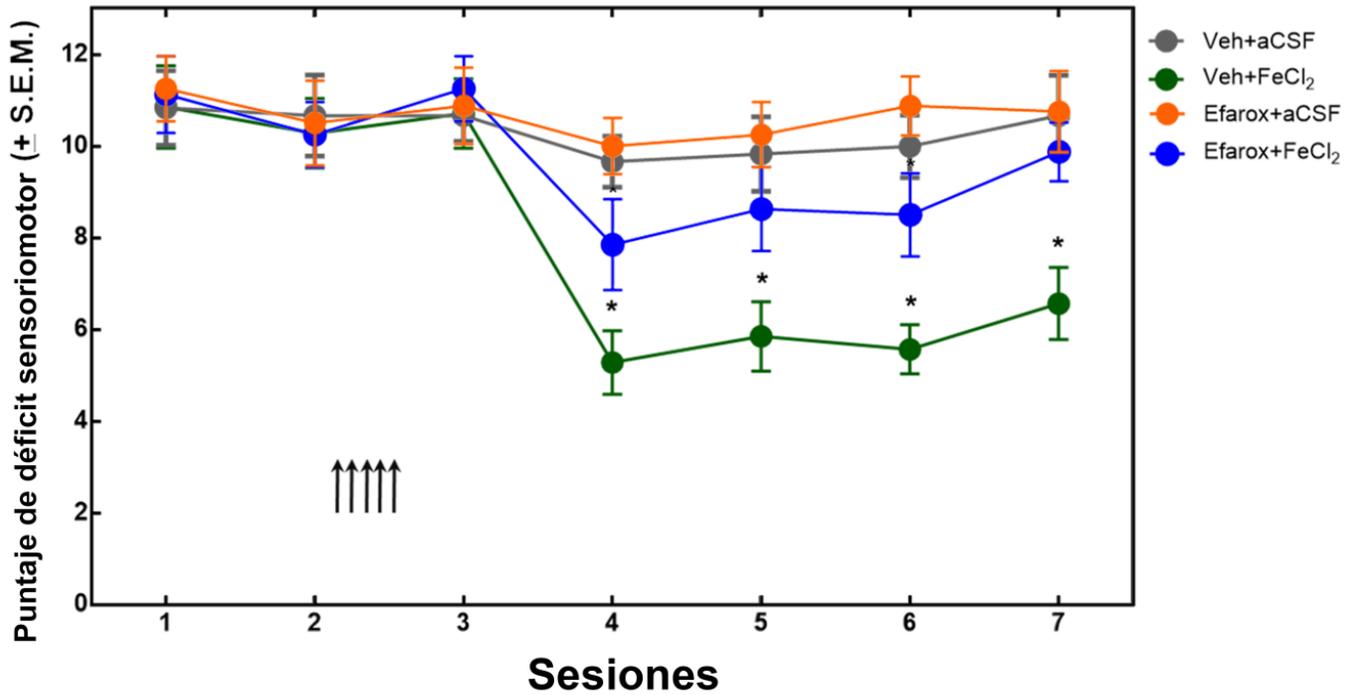
En primer lugar observamos los resultados obtenidos en las evaluaciones de las pruebas motoras y sensoriomotoras, estos se presentan en la Figura 16, aquí observamos nuevamente cuatro líneas, en primer lugar la línea correspondiente al grupo control (color gris) que nos permitió establecer una base conductual como referente, aunado a esto se muestra un grupo de animales no lesionados que recibieron tratamiento crónico y sin lesión (color naranja), en el cual se exhiben resultados similares al control, sin diferencias significativas. Finalmente, en esta figura se describen dos líneas más, referentes a los grupos que recibieron una microinfusión de  $FeCl_2$ , en ambos grupos observamos un decremento de la respuesta somatosensorial y motora a partir de la sesión cuatro, es decir 0 minutos después de la microinfusión, pues observamos que tanto el grupo que recibió un tratamiento crónico, dibujado en la línea de color verde ( $Veh+ FeCl_2 5.85 \pm 0.26$ ), y el

grupo lesionado con tratamiento crónico (línea azul) (EF +FeCl<sub>2</sub> 7.87±0.39), disminuyen su puntaje en referencia a la línea base establecida por el grupo control (Veh+aCSF 9.66±0.21).

No obstante, en pro de la hipótesis establecida para esta tesis, los resultados muestran que la administración crónica el EF, permite mejora significativa en los valores de los puntajes sensoriomotores pues, hacia la sexta sesión, es decir, 6 horas después de la microinfusión, el grupo de interés, ósea el grupo crónico muestra un aumento en su puntaje (8.5±0.32), en contraste al grupo lesionado, en contraste al grupo que únicamente fue lesionado (6.87±0.22), y al llegar a la sesión siete, es decir, tres días después de la lesión el grupo lesionado con tratamiento crónico (Efarox+FeCl<sub>2</sub> 9.87±0.22); muestra una supuesta reducción del daño, pues los puntajes, son similares al grupo control (Veh+aCSF) (10.66 ±0.33), exhibiendo una recuperación funcional.

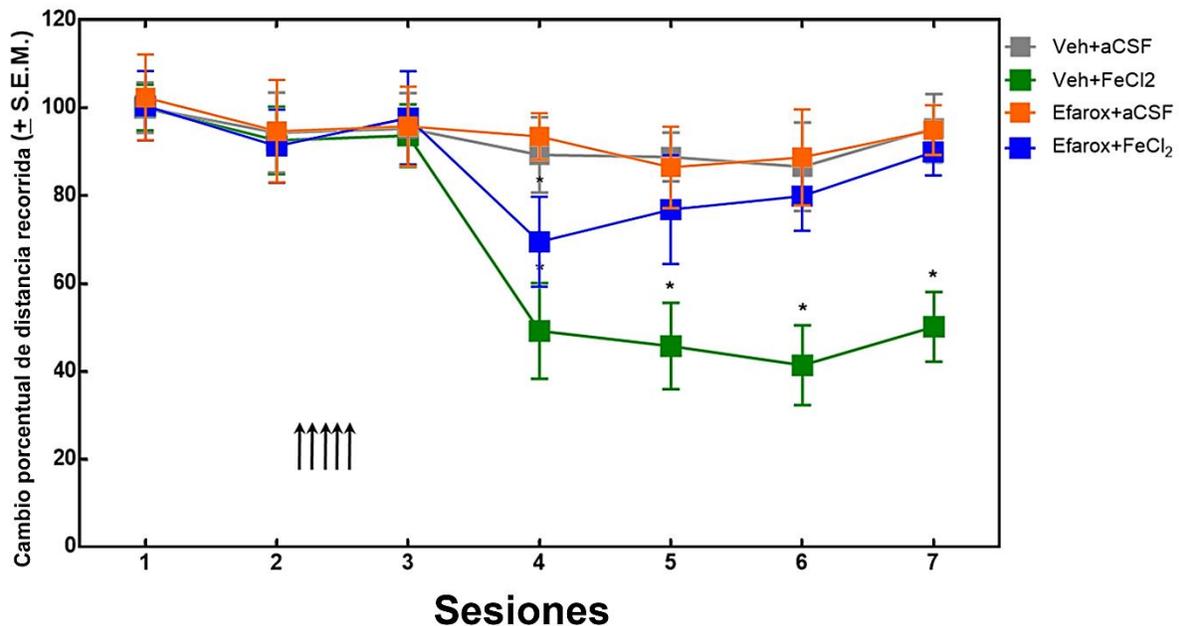
En estudios realizados con humanos, se ha descrito que la evolución de la función motora posterior a la EVC puede seguir dos posibles vertientes, no existe una mejora, o hay una recuperación promediada de un 70 % (Winters et al, 2015)

Al bloquear los receptores  $\alpha_2$  adrenérgicos, se reduce el daño en la zona de penumbra, lo que permite suponer que existe una reducción en el daño motor, con relación al aumento de los niveles de NA, fungiendo, así como una molécula clave para la recuperación del SNC., mostrando que la administración crónica permite una mejora conductual en pruebas motoras y sensoriomotoras.



**Figura 16. Actividad sensoriomotora y motora en ratas durante el protocolo de tratamiento crónico** La respuesta somatosensorial y motora se ve disminuida a partir de la sesión 4, inmediatamente después de la microinfusión de FeCl<sub>2</sub>, no obstante, se observan diferencias entre los grupos con tratamiento crónico (EF+ FeCl<sub>2</sub>) y el grupo lesionado (Veh+FeCl<sub>2</sub>) a partir de la quinta sesión y, es el grupo crónico (EF+ FeCl<sub>2</sub>), el que muestra valores similares al control hacia la sesión 7. Los valores obtenidos son la media ± la desviación estándar. \*P≤0.05 estadísticamente significativa entre los grupos (Veh+FeCl<sub>2</sub> y Ef+ FeCl<sub>2</sub>) a partir de la 4 sesión. No se encontraron diferencias significativas previas a la cirugía. Las flechas señalan el momento de administración crónica al grupo de interés y el grupo que recibió tratamiento sin lesión.

Por otro lado, la Figura 17, despliega los resultados obtenidos en la prueba motora espontánea realizada en una cámara Optovarimex, esto bajo la premisa que el déficit motor causado es proveniente de un mecanismo inhibitorio remoto, que es producido por la restricción de áreas distantes e intactas, pero anatómicamente relacionadas con la lesión (Benarroch, 2018), así como la interconexión entre el LC y la CM a partir de neuronas adrenérgicas (Alcántara-Hernández & Hernández-Méndez, 2018). La literatura describe que los autoreceptores presinápticos  $\alpha_2$  adrenérgicos juegan un papel clave en la modulación de la NA liberada en el LC de la rata (Abe et al 2020). Es en este contexto que podemos decir que un incremento de NA, promueve una recuperación funcional tras una lesión cortical (Ramos-Languren, 2016). Además, la literatura describe que la interacción del EF con otras drogas como la efedrina, está asociado con un incremento motor y una mayor actividad antioxidante (Rusu-Zota et al, 2021), apoyando esta premisa, en estos resultados se muestran nuevamente cuatro líneas dos asociadas a animales que no fueron lesionados; el grupo control (Veh+aCSF), en color gris que fueron animales administrados exclusivamente con vehículo siendo la línea base conductual; y en color naranja los animales que recibieron dosificación crónica en un cerebro no lesionado (EF+aCSF), exhibiendo una conducta similar al grupo control. Mientras que, en los grupos que recibieron una microinfusión de  $\text{FeCl}_2$ , se muestran en las dos líneas restantes, el grupo que recibió una microinfusión y ningún tipo de tratamiento (Veh+  $\text{FeCl}_2$ ), en color verde, que muestra una clara disminución de la distancia recorrida a partir del minuto cero post microinfusión, es decir la sesión 4, y que lo mantiene hasta tres días después, es decir hacia la sesión 7, en contraste al grupo de interés, es decir aquel que recibió un tratamiento crónico (EF+  $\text{FeCl}_2$ ), y se muestra en la línea de color azul, este grupo muestra una mejora significativa a partir de la quinta sesión, es decir tres horas después de la microinfusión ( $76.77 \pm 4.79$ ), en contraste a la sesión 4 ( $69.45 \pm 3.86$ ), es decir inmediatamente después de ser lesionado. Además, se observa que el grupo que recibió un tratamiento crónico (Efarox+ $\text{FeCl}_2$   $89.97 \pm 1.88$ ), mostró un puntaje similar al grupo control (Veh+aCSF  $95.32 \pm 2.74$ ); demostrando que la administración crónica de EF mejora la recuperación funcional motora espontánea.



**Figura 17. Actividad motora espontánea en ratas durante el protocolo de tratamiento crónico.**

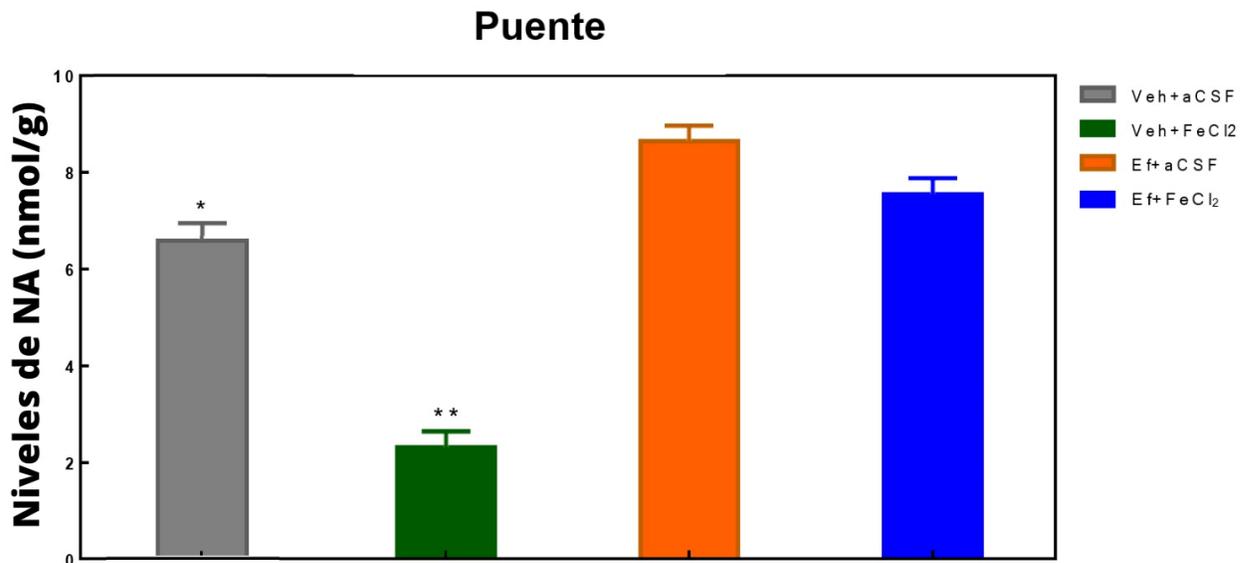
El porcentaje de distancia recorrida en la prueba de actividad motora espontánea, se ve disminuido a partir de la microinfusión de FeCl<sub>2</sub>, es decir, a partir de la cuarta sesión y se mantuvo por al menos 3 días, en el grupo que fue únicamente lesionado (Veh+FeCl<sub>2</sub>), no obstante, el grupo crónico, despliega mejores resultados a partir de la quinta sesión y acerca sus valores al grupo control hacia la séptima. Los valores son la media ± el error estándar \*P<0.05 estadísticamente significativa entre los grupos (Veh+FeCl<sub>2</sub> y Ef+ FeCl<sub>2</sub>) a partir de la 4 sesión. Las flechas señalan el momento de administración crónica al grupo de interés.

### **Niveles de noradrenalina contenidos en el puente posterior a la administración crónica de efaroxan**

Retomando la revisión de los principios de plasticidad y recuperación de la red posterior a una EVC, esta medición cromatográfica da paso al tercer principio; que propone que la recuperación post EVC depende de la conectividad estructural con las redes distribuidas y, por lo tanto se pueden formar nuevas o alternativas vías para compensar la pérdida de las vías actuales (Guggisberg et al, 2019), es por esto, que se evalúa la importancia de la inervación noradrenérgica en las cortezas, particularmente el papel de los receptores  $\alpha_2$ , que fortalecen la actividad sináptica e incrementan el dinamismo de la conexión entre las redes (Arnsten et al, 2012); es por eso que se utilizó un fármaco antagonista de estos receptores, que permite aumentar los niveles de NA y de AMPc, acciones claves para mantener la

recuperación (García-Díaz et al, 2022). Si bien, una sola administración del fármaco EF no demostró diferencias relevantes, fue tras la administración consecutiva durante 21 días, si se observa un aumento significativo en los niveles de NA contenidos en el puente a pesar de una lesión intracortical por FeCl<sub>2</sub>. Este aumento es mediado por el bloqueo de los receptores α<sub>2</sub> adrenérgicos, permitiendo que exista una mayor cantidad de NA en la porción pontina que contiene al LC (Figura 18).

En la gráfica se muestran cuatro barras correspondientes a cada grupo, encontrando al grupo control (Veh+aCSF) que nos permite observar una línea base de los niveles de NA. También se observa al grupo que recibió un tratamiento crónico sin ser lesionado (EF+aCSF), que muestra un aumento claro en los niveles de NA en contraste al grupo control. Mientras que, en el grupo que recibió una microinfusión de FeCl<sub>2</sub> (Veh+ FeCl<sub>2</sub>) se observa disminución de los niveles de NA, en comparación con el grupo de interés, es decir el grupo que recibió un tratamiento crónico (EF+ FeCl<sub>2</sub>), donde se representa un claro aumento de los niveles de NA con una P < 0.05.



**Figura 18. Niveles de NA contenidos en la porción del puente que contiene al LC posterior al protocolo de tratamiento crónico.** El doble asterisco (\*\*) refleja que los resultados son significativos a un nivel de  $**P < 0.01$ . Se compara Veh+ FeCl<sub>2</sub> contra el grupo EF+FeCl<sub>2</sub>, mientras que el asterisco (\*) refleja que los resultados son significativos a un nivel de  $*P < 0.05$ . Se compara Veh+aCSF contra el grupo Ef+FeCl<sub>2</sub>.

### **Niveles de NA contenidos en el GD tras una administración crónica de EF**

Por su parte, al medir los niveles de NA contenidos en el GD podemos comprender el quinto principio, que propone que las áreas ipsilaterales preservadas pueden mejorar la interacción con el resto del cerebro, lo que puede contribuir a una futura recuperación (Guggisberg et al, 2019), pues, la reorganización ipsilateral, juega un papel importante en la recuperación motora post EVC, y esto es un objetivo primario en la terapia de rehabilitación (Zimmerman et al., 2012). Posterior a un daño motor, se ha observado que el GD tiene una clara pérdida en la densidad de las células granulares y noradrenérgicas (Viale et al., 2018), es por esto que se proponía que un tratamiento crónico, estimularía el GD lo que haría una reducción del daño celular (Bueno-Nava et al., 2008). Descriptivamente el grupo que mostró menores niveles de NA fue el de Veh+FeCl<sub>2</sub> seguido del grupo control, es decir Veh+aCSF y finalmente, tras tres días posterior al daño, los grupos crónico (EF+ FeCl<sub>2</sub>) y el grupo que recibió el tratamiento a pesar de ser un cerebro sano, obtuvieron valores bastante similares. (Figura 19). Nuevamente observamos que es esta administración la que permite un bloqueo sistemático de los receptores  $\alpha_2$  adrenérgicos, dicho bloqueo parece jugar un importante papel en la recuperación motora post EVC, ya que como ha sido previamente mencionada esta estructura una vez inervada con NA, es necesaria para los procesos plásticos y de reorganización funcional, lo que nos permite mantener la recuperación. Dicho aumento fue concomitante y es relacional con el mantenimiento de la recuperación funcional.

Esto, acompañado de la literatura nos da una pauta para observar que el LC busca restaurar las fibras eferentes enviando proyecciones de NA para disuadir el daño estructural, y al aumentar los niveles pontinos, se espera que sea así en las estructuras noradrenérgicamente inervadas, contra e ipsilateralmente hablando.

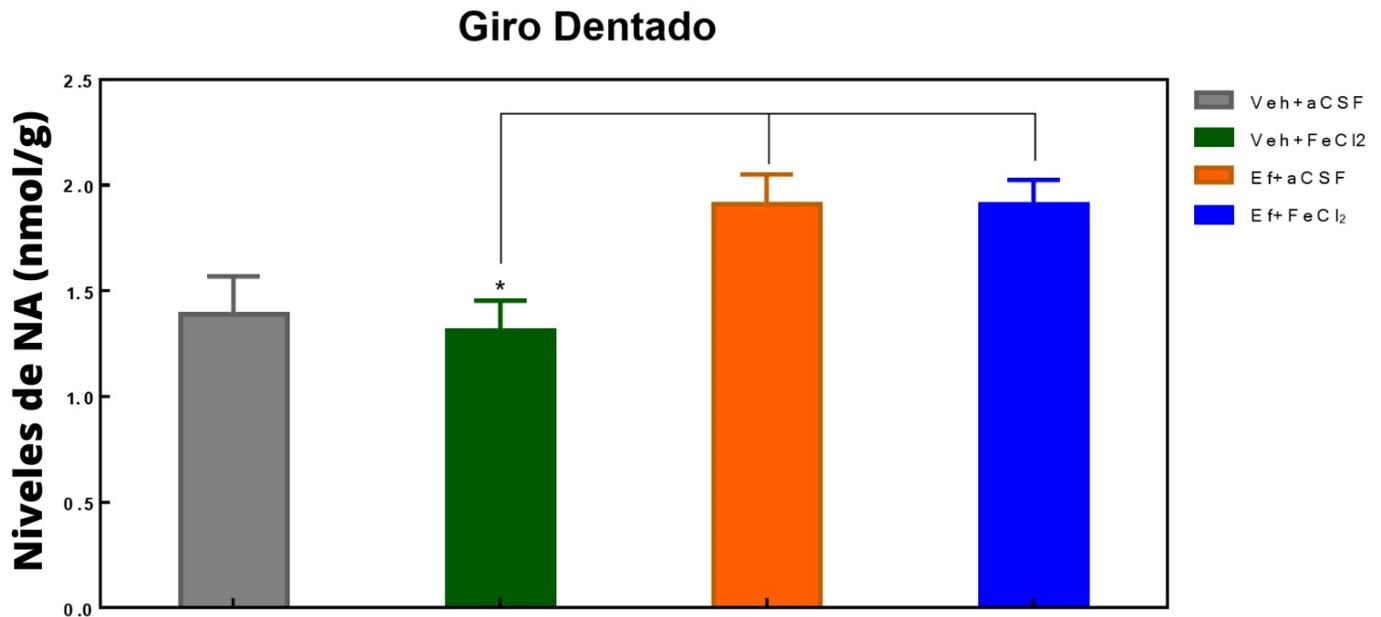


Figura 19. Niveles de NA contenidos en el GD, posterior al protocolo del tratamiento crónico. NA contenida en el GD 3 días después de la microinfusión de FeCl<sub>2</sub>.

El GD muestra recuperación en los niveles de NA en ambos hemisferios, representados de manera conjunta en la gráfica, Las barras representan la media  $\pm$  el error estándar. \*P <0,01 estadísticamente diferente del grupo Veh+FeCl<sub>2</sub> (post hoc Tukey).

## **Discusión**

La EVC, es una patología que afecta de manera económica, social y estructural a los países en vías de desarrollo de manera anual, derivado de las afecciones asociadas, como la depresión, los déficits neurológicos y sobre todo la discapacidad; que al ser predominantemente motora, no se adapta a los espacios físicos no modificados para la inclusión, así como a procesos de correcta integración profesional, pues las relaciones laborales demandan empleados que permanezcan en movilidad y a los estilos de vida cada vez más acelerados, dejando de lado a millones de habitantes. Esto se traduce en costos cada vez más altos para el estado, así como un sector salud mucho más saturado, pues la EVC es posicionada en tercer lugar de necesidad de cuidados paliativos, sólo detrás de los cánceres y el VIH (Organización Mundial de la Salud, 2017). Es por

esto, que es necesario reconocer los mecanismos que subyacen a la favorable potencialidad del SNC de modificarse de manera plástica en respuesta al daño, así como su capacidad de regresión a condiciones basales posterior a una lesión como la EVC, es decir la recuperación funcional.

Este proceso, necesita ser comprendido desde los mecanismos celulares y moleculares que están detrás, ya que de ellos se derivan las bases fundamentales de estrategias experimentales de neurorehabilitación (Cramer, 2008) y técnicas farmacológicas, para reducir el daño, las cuales tienen como objetivo agilizar los tiempos de recuperación, encontrando mejoras económicas y psicosociales para los pacientes. Las investigaciones orientadas a este tema permiten sustentar buenas praxis que aminoren los daños producidos por esta enfermedad.

Se ha demostrado que el sistema noradrenérgico se encuentra en estrecha relación con la recuperación funcional y la conducta motora (Bueno-Nava, 2008; González-Piña et al, 2013; Ramos Languren et al, 2016); de hecho se han diseñado intervenciones que demuestran la mejoría conductual tras la estimulación de la acción noradrenérgica sobre sus receptores, en modelos animales (Fuentes, 2017; Sternberg & Schaller, 2020) e intervenciones con humanos (Zittel et al., 2007). Un agente farmacológico inhibidor de la recaptura de NA, detiene este proceso natural y aumenta el tiempo de interacción de la NA con otros receptores, es por esto, que el EF resulta ser una gran alternativa farmacológica por su actividad mayoritariamente antagonista de los receptores  $\alpha_2$  y su buena biodisponibilidad posterior a una buena administración sistémica (Doxey et al., 1983).

Para estar en concordancia a estudios previos, esta tesis evaluó cuatro puntos; 1) el papel directo de la lesión, 2) la administración aguda de EF, 3) la administración crónica del EF y finalmente, 4) el papel de la NA como modulador de la recuperación funcional en estructuras que contienen esta catecolamina y que son inervadas por proyecciones noradrenérgicas.

Referente al punto uno, se observó que los animales que recibieron una lesión intracortical de FeCl<sub>2</sub>, en corteza motora primaria, presentaron un deterioro motor inmediatamente después de la microinfusión y hasta tres días después (Figuras

12, 13, 16 y 17), siendo este periodo el de máximo deterioro. Es dentro de esta ventana temporal, que se buscó evaluar los efectos del EF, para comprobar su eficacia en la disminución de los niveles de deficiencia motora en relación a los grupos lesionados, con relación a esto, en primer lugar, los resultados obtenidos sobre los grupos que recibieron un tratamiento agudo mostraron que una única dosis de EF no es suficiente para disminuir el déficit sensoriomotor/motor del grupo EF+ FeCl<sub>2</sub> en comparación al grupo de lesión Veh+FeCl<sub>2</sub> (Figura 12), ni mejorar la respuesta en la conducta motora espontánea en el grupo EF+ FeCl<sub>2</sub> en comparación al grupo de lesión Veh+FeCl<sub>2</sub> (Figura 13).

Para desglosar el punto dos, se analizaron los datos obtenidos en la evaluación motora y sensoriomotora, que fueron los parcialmente esperados para el tratamiento agudo, pues no se observan diferencias estadísticamente significativas hacia la sesión 6, ni un esbozo de recuperación funcional, es decir el grupo que posterior a la lesión recibió una única dosis de EF, no mostró diferencias significativas en comparación al grupo lesionado y sin tratamiento, ya que en ambos se exhibe un mayor déficit sensoriomotor, en contraste a los grupos no lesionados.

Un fenómeno similar es observable en la prueba motora espontánea, misma que nos permitió ampliar la comprensión hacia el punto dos, pues los resultados exhiben una disminución en la distancia total recorrida (cm), en los grupos lesionados a pesar de su tratamiento agudo de EF, esto es observable a partir de la sesión 3 y hasta la sesión 6 (Figura 13), nuevamente con valores estadísticamente no significativos en el grupo que recibió un tratamiento agudo EF+ FeCl<sub>2</sub> en contraste con el grupo de lesión Veh+ FeCl<sub>2</sub>.

Los datos obtenidos fueron correlacionados con los niveles NA, en primer lugar de manera pontina, donde en grupos lesionados se observa una disminución bilateral de los niveles noradrenérgicos, ya que el rango de los niveles de NA en los grupos control fue de 6.3 con un máximo de 7.2 (nmol/g de tejido fresco), mientras que en el grupo lesionado fue de 2.7 (nmol/g de tejido fresco) y en el grupo que recibió tratamiento agudo fue de 3.1 (nmol/g de tejido fresco) (Figura 14), por lo tanto no se observan diferencias estadísticamente significativas, con una  $P < 0.001$ , al

comparar los grupos Veh+FeCl<sub>2</sub> contra el grupo EF+FeCl<sub>2</sub> y ambos contra el grupo control Veh+aCSF.

Los niveles de NA reportados en GD, tampoco mostraron diferencias significativas (Figura 15), esta estructura fue evaluada por su relevancia para la reorganización funcional y su recepción de proyecciones noradrenérgicas, en grupos lesionados se observa nuevamente una disminución de los niveles noradrenérgicos en los grupos de lesión a comparación al grupo control.

El grupo de lesión (Veh+FeCl<sub>2</sub>) mantuvo un valor promedio de 1.21 (nmol/g), mientras que el grupo en tratamiento agudo (EF+FeCl<sub>2</sub>) mantuvo un valor promedio de 1.23 (nmol/g), lo que no muestra diferencias significativas entre ambos grupos, reiterando así que una única dosis de EF no permite bloquear a los receptores  $\alpha_2$  y, por lo tanto, no hay un aumento relevante los niveles noradrenérgicos, no solo en puente sino en estructuras inervadas por el LC.

La disminución de la NA posterior a un daño cerebral es descrito en la literatura como un fenómeno mediado por el estrés oxidativo (Song et al., 2019), por la formación de  $\bullet\text{OH}$ , y su reacción al romper los ácidos grasos polisaturados en la membrana, derivado del aumento de Fe en la corteza (Triggs & Wilmore, 1984). Esto es reportado cuando los centros del LC son afectados, desencadenando una neurodegeneración caudo-rostral, lo que reduce la cantidad de NA en la vía, siendo el hipocampo el lugar donde se reporta una mayor depleción de NA (Song et al., 2019).

Aunado a esto, la inhibición de la NA podría estar mediada por los adrenoreceptores  $\alpha_2$  distribuidos en las neuronas del LC, inhibiendo así la corteza motora, el cerebelo, el hipocampo y la corteza, estructuras afectadas por las proyecciones de inervación (Washburn & Moises, 1989), sin embargo el EF, además de ser un fármaco selectivo para la inhibición de la recaptura de la NA, ha demostrado exhibir previamente efectos neuroprotectores en neurodegeneraciones inducidas por la devascularización, así como una reducción en los cambios estructurales en el hipocampo, disminuyendo déficits cognitivos inducidos por la isquemia cerebral en la rata (Moreno et al., 2012).

Para realizar un modelo crónico, esta tesis se basó en la premisa descrita en la literatura, sobre las propiedades del EF, que es selectivo a los ligandos antagonistas de los adrenoreceptores  $\alpha_2$ , y que posee buena biodisponibilidad seguida de una administración sistémica (Doxey et al., 1983). Esto, nos lleva al punto tres; los resultados obtenidos para las pruebas motoras y sensoriomotoras, fueron lo parcialmente esperados de acuerdo a lo descrito a la hipótesis (Figura 16), si bien se observa un claro decremento en los puntajes obtenidos en los grupos de lesión (Veh+FeCl<sub>2</sub>) (EF+FeCl<sub>2</sub>), a partir de la sesión 4, es decir inmediatamente después de la microinfusión, ambos grupos exhiben resultados diferentes desde la sesión 6, pues el grupo que recibió un tratamiento crónico exhibe una mejora conductual y muestra una recuperación funcional hacia la sesión 7, es decir 3 días después de la lesión, alcanzando puntajes similares al del grupo control, mostrando resultados estadísticamente significativos, con una  $P < 0.05$ , en contraste al grupo de lesión.

Un fenómeno igualmente favorable, se exhibe en la prueba motora espontánea (Figura 17), ya que si bien los grupos de lesión despliegan una menor distancia recorrida hacia la sesión 4, ambos grupos, el lesionado (Veh+FeCl<sub>2</sub>) y el grupo que recibió un tratamiento crónico (EF+FeCl<sub>2</sub>), muestran claras diferencias a partir de esta sesión, pues, no solo el grupo que recibió un tratamiento crónico mostró menor deterioro durante la prueba al recorrer una mayor distancia, sino que los resultados a partir de la sesión 5, es decir tres horas después de la microinfusión, indican una mejora conductual sustancial, mostrando así una posible reducción del daño, con valores estadísticamente significativos, con un valor de  $P < 0.05$ .

Los resultados sugieren que los receptores  $\alpha_2$  adrenérgicos están involucrados en la regulación de la recuperación funcional, derivado de su distribución en el SNC y su relación con los mecanismos plásticos, aunado a esto, la literatura describe que estos receptores tienen un efecto antinocioceptivo y están asociados a la reverberación, el aprendizaje y la actividad locomotora (Rusu-Zota et al., 2019), al inhibirse de manera crónica, se observa una mejora en la conducta motora y sensoriomotora tras el daño inducido por la lesión cortical de FeCl<sub>2</sub>, esto al dar cuenta de los valores obtenidos en las pruebas conductuales.

Finalmente, para explicar el punto cuatro, los resultados obtenidos en las pruebas conductuales fueron correlacionados con los resultados obtenidos en las evaluaciones cromatográficas, primeramente, se observa que de manera pontina, el grupo de lesión (Veh+FeCl<sub>2</sub>) tuvo una clara disminución noradrenérgica (2.3 nmol/g), en contraste al grupo control (Veh+aCSF) que tenía niveles de 6.4 (nmol/g de tejido fresco). Sin embargo, el grupo que recibió un tratamiento crónico (EF+FeCl<sub>2</sub>), muestra un claro aumento en los niveles de NA en contraste al grupo de lesión y al grupo control, con un aumento de 1.2 de nmol/g comparado al grupo control, exhibiendo resultados de 7.4 nmol/g.

Aunado a esto, se evaluó la modificación en los niveles de NA en el GD, una estructura descrita como relevante para procesos de recuperación funcional y que ha demostrado tener una mayor depleción de NA cuando hay una disfunción noradrenérgica en la vía rostral caudal (Song et al., 2019); los resultados obtenidos posterior a una administración sistémica, refieren diferencias significativas entre el grupo de lesión (Veh+FeCl<sub>2</sub>), que presentó un aproximado de 1.28 nmol/g, en contraste con el grupo que recibió un tratamiento crónico y exhibe un aumento significativo de 1.93 nmol/g. Por lo tanto, es posible decir que un aumento de NA, en el LC y áreas inervadas como el GD, mejora la conducta motora y agiliza la recuperación funcional, presumiblemente, en relación con que el aumento de NA en GD esté asociado a una mejor percepción sensorial, esencial para codificar información. Los efectos de esta monoamina son distales de la zona afectada, y dichos cambios pueden iniciar desde los primeros minutos hasta varias semanas, desempeñando este rol importante en la recuperación funcional, entonces la inhibición sistémica de los receptores  $\alpha_2$ , permite un aumento en los niveles de NA en el espacio, lo que no solo agiliza los procesos de recuperación funcional, sino que aminora el daño inducido por la lesión, demostrado no solo en los niveles noradrenérgicos, sino en la mejora substancial de la conducta motora.

## **Conclusiones:**

- Los tratamientos farmacológicos con EF parecen ser eficientes en la recuperación motora
- El tratamiento agudo no modifica la actividad motora ni los niveles de NA.
- El tratamiento crónico no solo acelera la recuperación funcional, sino que la mantiene hasta tres días después.
- Los efectos de la NA son distales de la zona afectada, y dichos cambios pueden iniciar desde los primeros minutos hasta varias semanas, desempeñando este rol importante en la recuperación funcional.
- Es necesario dilucidar todos los mecanismos que subyacen a la recuperación funcional.
- El realizar investigaciones con fármacos usualmente asociados para el tratamiento de trastornos del ánimo, nos permite plantear el uso de este tipo de fármacos como posibles tratamientos en la recuperación funcional posterior a una lesión, y, de igual forma, mejorar el estado anímico depresivo que está asociado a la EVC.
- El uso de pruebas motoras y sensoriomotoras nos permitió entender el papel de la NA en la recuperación de la conducta motora, ya que esta se ve principalmente afectada posterior a una EVC, particularmente por hemiplejía, que es la forma más frecuente de discapacidad posterior a una EVC, misma que está sujeta a cambios influenciados por las complicaciones que surgen durante la evolución del paciente.
- Los experimentos permitieron evaluar in vivo los efectos del fármaco en la recuperación funcional y podrían ser planteados en un futuro hacia el tratamiento humano.
- No se descarta que el bloqueo de los receptores  $\alpha_2$  adrenérgicos sea un mecanismo neuroprotector, pues el aumento de NA en el espacio parece disminuir los daños asociados a eventos vasculares.

### **Perspectivas:**

- El proyecto permite generar nuevas preguntas, tales como la realización exploraciones posteriores a otros receptores de NA, generar propuestas como marcaje de neuronas adrenérgicas o el análisis de la expresión de los receptores  $\alpha 2$  adrenérgicos, marcajes basofílicos para reconocer la presencia de estos receptores en células granulares del GD o somas del LC, marcadores DAPI para identificar la presencia de NA en las estructuras, trazadores para reconocer la reorganización en la conectividad del SNC o histoquímica enzimática para observar los agregados proteicos post lesión, sensores de  $Ca^{+}$ , para observar el papel de los receptores  $\alpha 2$  en la inhibición de dichos canales, PCR para receptores adrenérgicos, así como cultivos celulares hipocampales para conocer los mecanismos que subyacen a la recuperación funcional.
- El trabajo hecho en esta investigación abre la posibilidad de continuar los estudios sobre este fármaco en la recuperación funcional, posiblemente de forma comparativa con otros fármacos de la familia de las imadozinas y, así, establecer bases neurológicas sobre los complejos efectos centrales farmacológicos provocados por la actividad noradrenérgica y su alta afinidad a los sitios de acción.
- Será importante darle continuidad al proyecto comprendiendo los mecanismos celulares y moleculares que subyacen a la diátesis y a la reversión de esta, revisando el papel de la NA en dicho proceso.

## **Bibliografía**

- Abe N, Toyama H, Ejima Y, Saito K, Tamada T, Yamauchi M, Kazama I (2020)  $\alpha$ 1- Adrenergic receptor blockade by prazosin synergistically stabilizes rat peritoneal mast cells. *Biomed Res Int* 2020:3214186
- Adams, H. P., Bendixen, B. H., Kappelle, L. J., Biller, J., Love, B. B., Gordon, D. L., & Marsh, E. E. (1993). Classification of subtype of acute ischemic stroke. Definitions for use in a multicenter clinical trial. TOAST. Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment. *Stroke*, 24(1), 35-41.  
<https://doi.org/10.1161/01.STR.24.1.35>
- Alcántara-Hernández R, Hernández-Méndez A (2018) Adrenergic signaling molecular complexes. *Gac Med Mex* 154:223-235.
- Alstott J, Breakspear M, Hagmann P, Cammoun L, Sporns O. Modeling the impact of lesions in the human brain. *PLoS Comput Biol* 2009;5. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1000408> e1000408.
- Andén, N.-E., Carlsson, A., Dahlström, A., Fuxe, K., Hillarp, N.-Å., & Larsson, K. (1964). Demonstration and mapping out of nigro-neostriatal dopamine neurons. *Life Sciences*, 3(6), 523-530.  
[https://doi.org/10.1016/0024-3205\(64\)90161-4](https://doi.org/10.1016/0024-3205(64)90161-4)
- Andersen, H. H., Johnsen, K. B., & Moos, T. (2014). Iron deposits in the chronically inflamed central nervous system and contributes to neurodegeneration. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 71(9), 1607-1622. <https://doi.org/10.1007/s00018-013-1509-8>
- Anderson, C. S., Taylor, B. V., Hankey, G. J., Stewart-Wynne, E. G., & Jamrozik, K. D. (1994). Validation of a clinical classification for subtypes of acute cerebral infarction. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*, 57(10), 1173-1179. <https://doi.org/10.1136/jnnp.57.10.1173>
- Anderson, J. G., Fordahl, S. C., Cooney, P. T., Weaver, T. L., Colyer, C. L., & Erikson, K. M. (2009). Extracellular norepinephrine, norepinephrine receptor and transporter protein and mRNA levels are differentially altered in the developing rat brain due to dietary iron deficiency and manganese exposure. *Brain research*, 1281, 1-14.

- Ano, Y., Hoshi, A., Ayabe, T., Ohya, R., Uchida, S., Yamada, K., Kondo, K., Kitaoka, S., & Furuyashiki, T. (2019). Iso- $\alpha$ -acids, the bitter components of beer, improve hippocampus-dependent memory through vagus nerve activation. *The FASEB Journal*, *33*(4), 4987-4995. <https://doi.org/10.1096/fj.201801868RR>
- Apostolakis, S., & Kypraiou, A. M. (2017). Iron in neurodegenerative disorders: being in the wrong place at the wrong time? *Reviews in the Neurosciences*, *28*(8), 893-911.
- Arauz, A., & Ruíz-Franco, A. (2012). *Enfermedad vascular cerebral*. *Revista de la Facultad de Medicina UNAM*, *55*(3), 11-21.
- Arendash, G. W., Olanow, C. W., & Sengstock, G. J. (1993). Intranigral iron infusion in rats: A progressive model for excess nigral iron levels in Parkinson's disease? En P. Riederer & M. B. H. Youdim (Eds.), *Iron in Central Nervous System Disorders* (pp. 87-101). Springer. [https://doi.org/10.1007/978-3-7091-9322-8\\_8](https://doi.org/10.1007/978-3-7091-9322-8_8)
- Arnsten AF, Wang MJ, Paspalas CD (2012) Neuromodulation of thought: flexibilities and vulnerabilities in prefrontal cortical network synapses. *Neuron* 76:223-239
- Aston-Jones G, Cohen JD (2005) An integrative theory of locus coeruleus-norepinephrine function: adaptive gain and optimal performance. *Annu Rev Neurosci* 28:403-450
- Bamford, J., Sandercock, P., Dennis, M., Warlow, C., & Burn, J. (1991). Classification and natural history of clinically identifiable subtypes of cerebral infarction. *The Lancet*, *337*(8756), 1521-1526. [https://doi.org/10.1016/0140-6736\(91\)93206-O](https://doi.org/10.1016/0140-6736(91)93206-O)
- Bar, B., & Hemphill, J. C. (2011). Charlson Comorbidity Index Adjustment in Intracerebral Hemorrhage. *Stroke*, *42*(10), 2944-2946. <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.111.617639>
- Bartesaghi, R., & Gessi, T. (2004). Parallel activation of field CA2 and dentate gyrus by synaptically elicited perforant path volleys. *Hippocampus*, *14*(8), 948-963. <https://doi.org/10.1002/hipo.20011>
- Bengzon, J., Söderström, S., Kokaia, Z., Kokaia, M., Ernfors, P., Persson, H., Ebendal, T., & Lindvall, O. (1992). Widespread increase of nerve growth factor protein in the rat forebrain after kindling-induced seizures. *Brain Research*, *587*(2), 338-342. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(92\)91016-8](https://doi.org/10.1016/0006-8993(92)91016-8)

- Berridge CW, Waterhouse BD (2003) The locus coeruleus-noradrenergic system: modulation of behavioral state and state-dependent cognitive processes. *Brain Res Brain Res Rev* 42:33-84.
- Bergmann, O., Spalding, K. L., & Frisén, J. (2015). Adult Neurogenesis in Humans. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 7(7), a018994. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a018994>
- Bladdin, C. F., & Chambers, B. R. (1993). *Clinical features, pathogenesis, and computed tomographic characteristics of internal watershed infarction.* | *Stroke*.  
<https://www.ahajournals.org/doi/abs/10.1161/01.STR.24.12.1925>
- Bouret S, Sara SJ (2005) Network reset: a simplified overarching theory of locus coeruleus noradrenaline function. *Trends Neurosci* 28:574-582
- Braunewell, K.-H., & Manahan-Vaughan, D. (2001). Long-Term Depression: A Cellular Basis for Learning? *Reviews in the Neurosciences*, 12(2), 121-140. <https://doi.org/10.1515/REVNEURO.2001.12.2.121>
- Briley, M., & Chantal, M. (2011). The importance of norepinephrine in depression. *Neuropsychiatric Disease and Treatment*, 9. <https://doi.org/10.2147/NDT.S19619>
- Broca, P. (1861). Remarks on the seat of the faculty of articulated language, following an observation of aphemia (loss of speech). *Bulletin de la Société Anatomique*, 6, 330-57.
- Brun, A., & Englund, E. (1986). A white matter disorder in dementia of the Alzheimer type: a pathoanatomical study. *Annals of neurology*, 19(3), 253-262.
- Bueno-Nava A, Montes S, DelaGarza-Montano P, Alfaro-Rodriguez A, Ortiz A, Gonzalez-Pina R (2008) Reversal of noradrenergic depletion and lipid peroxidation in the pons after brain injury correlates with motor function recovery in rats. *Neurosci Lett* 443:32-36.
- Bueno, A., Gonzalez-Pina, R., Alfaro, A., Nekrassov-Protasova, V., Durand-Rivera, A., Montes, S., & Ayala-Guerrero, F. (2010). Recovery of Motor Deficit, Cerebellar Serotonin and Lipid Peroxidation Levels in the Cortex of Injured Rats. *Neurochemical Research*, 35, 1538-1545.  
<https://doi.org/10.1007/s11064-010-0213-4>
- Calderón P, Deltenre P, Stany I, Kaleeta Maalu J-P, Stevens M, Lamoureux J, Bellemans M, Dujardin S, Van der Linden P, Dachy B (2018) Clonidine administration during intraoperative monitoring for

- pediatric scoliosis surgery: Effects on central and peripheral motor responses. *Neurophysiol Clin* 48:93-102.
- Carlsson, G. E., Möller, A., Blomstrand, C., Ueda, T., Mizushige, K., Yukiiri, K., Takahashi, T., Kohno, M., Kuo, T. B. J., Chern, C.-M., Yang, C. C. H., Hsu, H.-Y., Wong, W.-J., Sheng, W.-Y., Hu, H.-H., Carlo, A. D., Inzitari, D., Galati, F., Baldereschi, M., ... Carolei, A. (2003). European Stroke Initiative Recommendations for Stroke Management - Update 2003. *Cerebrovascular Diseases*, 16(4), 311-337. <https://doi.org/10.1159/000072554>
- Carmichael, S. T. (2006). Cellular and molecular mechanisms of neural repair after stroke: Making waves. *Annals of Neurology*, 59(5), 735-742. <https://doi.org/10.1002/ana.20845>
- Carrera, E., & Tononi, G. (2014). Diaschisis: past, present, future. *Brain*, 137(9), 2408-2422.
- Castro Alamancos, M. A. (1993). *Recuperación funcional tras lesiones de la corteza cerebral: Mecanismos de reorganización cortical* [Http://purl.org/dc/dcmitype/Text, Universidad Complutense de Madrid]. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=201175>
- Celedón, J. F. de A., & Avendaño, G. M. L. G. (2011). Evento vascular cerebral isquémico: Hallazgos tomográficos en el Hospital General de México. *Anales de Radiología, México*, 10(3), 161-166.
- Chen, S., Zeng, L., & Hu, Z. (2014). Progressing haemorrhagic stroke: Categories, causes, mechanisms and managements. *Journal of Neurology*, 261(11), 2061-2078. <https://doi.org/10.1007/s00415-014-7291-1>
- Chiquete, E., Ruiz-Sandoval, L., Murillo-Bonilla, M., Arauz, A., Careaga Jorge, Barinagarrementeria, F., & Cantú-Brito, C. (2011). *Mortalidad por enfermedad vascular cerebral en México, 2000-2008: Una exhortación a la acción. Rev Mex Neuroci*, 12(5), 235-241.
- Colpaert, FC. (1994). *Noradrenergic mechanisms in Parkinson's disease: A theory. Noradrenergic mechanisms in Parkinson's disease*. p. 225-254.
- Cramer, S. C. (2008). Repairing the human brain after stroke: I. Mechanisms of spontaneous recovery. *Annals of Neurology*, 63(3), 272-287. <https://doi.org/10.1002/ana.21393>
- Crudo, C., Erramouspe, B., Sueldo, E., & Arias, M. (2016). *Hematología: Perls Iron Stain. Volumen 20 -*

Nº2 (Vol. 20). Sociedad Argentina de Hematología.

- Cruz, K. C. (2015). La enfermedad vascular cerebral en México: Un problema de salud en incremento. *Anales de Radiología, México*, 14(3), 243-244.
- Docherty, J. R. (2010). Subtypes of functional  $\alpha$ 1-adrenoceptor. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 67(3), 405-417. <https://doi.org/10.1007/s00018-009-0174-4>
- Donnelly, D. J., & Popovich, P. G. (2008). Inflammation and its role in neuroprotection, axonal regeneration, and functional recovery after spinal cord injury. *Experimental Neurology*, 209(2), 378-388. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2007.06.009>
- Doxey, J. C., Roach, A. G., & Smith, C. F. (1983). Studies on RX 781094: A selective, potent, and specific antagonist of alpha 2-adrenoceptors. *British Journal of Pharmacology*, 78(3), 489-505.
- Duffau, H. (2006). Brain plasticity: From pathophysiological mechanisms to therapeutic applications. *Journal of Clinical Neuroscience*, 13(9), 885-897. <https://doi.org/10.1016/j.jocn.2005.11.045>
- Eddleston, M., & Mucke, L. (1993). Molecular profile of reactive astrocytes—Implications for their role in neurologic disease. *Neuroscience*, 54(1), 15-36. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(93\)90380-X](https://doi.org/10.1016/0306-4522(93)90380-X)
- Fanselow, M. S., & Dong, H.-W. (2010). Are the Dorsal and Ventral Hippocampus Functionally Distinct Structures? *Neuron*, 65(1), 7-19. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2009.11.031>
- Feeney, D. M., & Baron, J. C. (1986). Diaschisis. *Stroke*, 17(5), 817-830. <https://doi.org/10.1161/01.STR.17.5.817>
- Feeney, D. M., Weisend, M. P., & Kline, A. E. (1993). Noradrenergic Pharmacotherapy, Intracerebral Infusion and Adrenal Transplantation Promote Functional Recovery After Cortical Damage. *Neural Plasticity*, 4, 199-213. <https://doi.org/10.1155/NP.1993.199>
- Gage F.H. (2003). *Regeneración cerebral. Manipulación cerebral. Investigación y ciencia*.
- Garcés-Vieira, M. V., & Suárez-Escudero, J. C. (2014). Neuroplasticidad: Aspectos bioquímicos y neurofisiológicos. *CES Medicina*, 28(1), 119-132.
- García-Díaz, G., Ramos-Languren, L. E., Parra-Cid, C., Lomelí, J., Montes, S., Ríos, C. & González-Piña, R. (2023). Alpha2-adrenergic receptor activation reinstates motor deficits in rats recovering from cortical injury. *Neural Regeneration Research*, 18(4), 875-88

- Gaspar P, Berger B, Febvret A, Vigny A, Henry JP (1989) Catecholamine innervation of the human cerebral cortex as revealed by comparative immunohistochemistry of tyrosine hydroxylase and dopamine-beta-hydroxylase. *J Comp Neurol* 279:249-271
- Goldstein, L. B. (2000). Effects of amphetamines and small related molecules on recovery after stroke in animals and man. *Neuropharmacology*, 39(5), 852-859. [https://doi.org/10.1016/S0028-3908\(99\)00249-X](https://doi.org/10.1016/S0028-3908(99)00249-X)
- González Aguado, E., Martí Fábregas, J., & Martí Vilalta, J. L. (2000). El fenómeno de diasquisis en la enfermedad vascular cerebral. *Rev. neurol. (Ed. impr.)*, 941-945.
- Gonzalez-Pina, R., Bueno-Nava, A., Montes, S., Alfaro-Rodriguez, A., Gonzalez-Maciel, A., Reynoso-Robles, R., & Ayala-Guerrero, F. (2006). Pontine and Cerebellar Norepinephrine Content in Adult Rats Recovering from Focal Cortical Injury. *Neurochemical Research*, 31(12), 1443-1449. <https://doi.org/10.1007/s11064-006-9196-6>
- Guerra, J. L. (2018). *Manual de fisioterapia (2a. Ed.)*. Editorial El Manual Moderno.
- Gutierrez Velásquez, U. O., Benavidez, M. A., & Florez, W. F. (2005). *Características clínicas y epidemiológicas de la hemorragia subaracnoidea aneurismática* [Thesis, UNIVERSIDAD SURCOLOMBIANA]. <http://repositoriousco.co:8080/jspui/handle/123456789/1076>
- Guggisberg, A. G., Koch, P. J., Hummel, F. C., & Buetefisch, C. M. (2019). Brain networks and their relevance for stroke rehabilitation. *Clinical Neurophysiology*, 130(7), 1098-1124.
- Guyton, A., C., & Hall, J. E. (2001). *Flujo sanguíneo cerebral, líquido cefalorraquídeo y metabolismo cerebral. Tratado de fisiología médica* (10.ª ed.). McGraw-Hill. Interamericana de España, 855-64.
- Guzmán Mellado, A., Rojas, J., Camacho, M., Fajardo, G., & Spinel, C. (2003). *Fisiología animal*. <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/53384>
- Hakon, J., Quattromani, M. J., Sjölund, C., Tomasevic, G., Carey, L., Lee, J.-M., Ruscher, K., Wieloch, T., & Bauer, A. Q. (2018). Multisensory stimulation improves functional recovery and resting-state functional connectivity in the mouse brain after stroke. *NeuroImage: Clinical*, 17, 717-730. <https://doi.org/10.1016/j.nicl.2017.11.022>
- Hardu Hagen, Hansen Niels, & Manahan-Vaughan, D. (2016). *β-Adrenergic Control of Hippocampal*

*Function: Subserving the Choreography of Synaptic Information Storage and Memory | Cerebral Cortex | Oxford Academic.* <https://academic.oup.com/cercor/article/26/4/1349/2367404>

Hartley, A., Cooper, J. M., & Schapira, A. H. V. (1993). Iron induced oxidative stress and mitochondrial dysfunction: Relevance to Parkinson's disease. *Brain Research*, 627(2), 349-353.

[https://doi.org/10.1016/0006-8993\(93\)90341-J](https://doi.org/10.1016/0006-8993(93)90341-J)

Hernández, J. D. O., Aguilar, E. J., & García, F. G. (2015). Hippocampus: Neurogenesis and learning. *Revista Médica de la Universidad Veracruzana*, 15(1), 20-28.

Hernández-Ruiz, Guarán-Navas, Lora-Acuña, & Beltrán-Carrascal. (2017). *Trombólisis intravenosa en pacientes con accidente cerebrovascular isquémico: Experiencia de un Hospital del Caribe Colombiano.* [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0120-](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-87482017000100003)

[87482017000100003](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-87482017000100003)

Hyllin MJ, Brenneman MM, Corwin JV (2017) Noradrenergic antagonists mitigate amphetamine-induced recovery. *Behav Brain Res* 334:61-71.

Iglesias, M. C., Iglesias, D. C., Piedra, J. de las M. S., Pérez, L. T., & Castro, C. A. (2022). Enfermedad cerebrovascular y aterosclerosis en pacientes angolanos. *Revista Finlay*, 12(1), Art. 1.

Imirizaldu, J. (2011). *Neurofarmacología contemporánea* -. HealthSciences.

<https://tienda.elsevier.es/neurofarmacologia-contemporanea-9788480865609.html>

Instituto Mexicano del Seguro Social. (2015). *Enfermedad Vascular Cerebral* [Médica]. Instituto Mexicano del Seguro Social. <http://www.imss.gob.mx/salud-en-linea/enfermedad-vascular-cerebral>

Johnston, S. C., Rothwell, P. M., Nguyen-Huynh, M. N., Giles, M. F., Elkins, J. S., Bernstein, A. L., & Sidney, S. (2007). Validation and refinement of scores to predict very early stroke risk after transient ischaemic attack. *The Lancet*, 369(9558), 283-292. [https://doi.org/10.1016/S0140-](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(07)60150-0)

[6736\(07\)60150-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(07)60150-0)

Jones, L. S., Gauger, L. L., & Davis, J. N. (1985). Anatomy of brain alpha1-adrenergic receptors: In vitro autoradiography with [125I]-heat. *Journal of Comparative Neurology*, 231(2), 190-208.

<https://doi.org/10.1002/cne.902310207>

Jones, T., & Schallert, T. (1994). Use-dependent growth of pyramidal neurons after neocortical damage.

- The Journal of Neuroscience*, 14(4), 2140-2152. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.14-04-02140.1994>
- Kaladhar, M., & Rao, B. N. (1982). Effects of iron deficiency on serotonin uptake in vitro by rat brain synaptic vesicles. *Journal of neurochemistry*, 38(6), 1576-1581.
- Karnath HO, Sperber C, Rorden C. Mapping human brain lesions and their functional consequences. *NeuroImage* 2018; 165:180-9. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2017.10.028>.
- Katsman, D., Zheng, J., Spinelli, K., & Carmichael, S. T. (2003). Tissue Microenvironments within Functional Cortical Subdivisions Adjacent to Focal Stroke. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 23(9), 997-1009. <https://doi.org/10.1097/01.WCB.0000084252.20114.BE>
- Khoshnam, S. E., Winlow, W., Farzaneh, M., Farbood, Y., & Fathi Moghaddam, H. (2017). Pathogenic mechanisms following ischemic stroke. *Neurological Sciences*, 38. <https://doi.org/10.1007/s10072-017-2938-1>
- Koh, S.-H., & Park, H.-H. (2017). Neurogenesis in Stroke Recovery. *Translational Stroke Research*, 8(1), 3-13. <https://doi.org/10.1007/s12975-016-0460-z>
- Komitova, M., Johansson, B. B., & Eriksson, P. S. (2006). On neural plasticity, new neurons and the postischemic milieu: An integrated view on experimental rehabilitation. *Experimental Neurology*, 199(1), 42-55. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2006.03.010>
- Küppers-Tiedt, Manaenko, Michalski, Guenther, & Hobohn. (2011). *Combined Systemic Thrombolysis with Alteplase and Early Hyperbaric Oxygen Therapy in Experimental Embolic Stroke in Rats: Relationship to Functional Outcome and Reduction of Structural Damage | SpringerLink*. [https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-7091-0693-8\\_28](https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-7091-0693-8_28)
- Lee, T. W., Tsang, V. W. K., & Birch, N. P. (2008). Synaptic plasticity-associated proteases and protease inhibitors in the brain linked to the processing of extracellular matrix and cell adhesion molecules. *Neuron Glia Biology*, 4(3), 223-234. <https://doi.org/10.1017/S1740925X09990172>
- Leifer, D., & Kowall, N. W. (1993). Immunohistochemical patterns of selective cellular vulnerability in human cerebral ischemia. *Journal of the Neurological Sciences*, 119(2), 217-228. [https://doi.org/10.1016/0022-510X\(93\)90137-N](https://doi.org/10.1016/0022-510X(93)90137-N)

- Li, D. (1998). Effects of iron deficiency on iron distribution and g-aminobutyric acid (GABA) metabolism in young rat brain tissues. *Hokkaido Igaku Zasshi* 73, 215-225
- Magistretti, P. J., & Pellerin, L. (1999). Cellular mechanisms of brain energy metabolism and their relevance to functional brain imaging. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 354(1387), 1155-1163.
- Manrique-Espinoza, B., Salinas-Rodríguez, A., & Margarita Moreno-Tamayo, K. (2013). Condiciones de salud y estado funcional de los adultos mayores en México. *Salud Pública de México*, 55(Supl.2), 323. <https://doi.org/10.21149/spm.v55s2.5131>
- Martel, J.-C., Chopin, P., Colpaert, F., & Marien, M. (1998). Neuroprotective Effects of the  $\alpha$ 2-Adrenoceptor Antagonists, (+)-Efaroxan and ( $\pm$ )-Idazoxan, against Quinolinic Acid-Induced Lesions of the Rat Striatum. *Experimental Neurology*, 154(2), 595-601. <https://doi.org/10.1006/exnr.1998.6942>
- Mason. (1979). *Regional topography within noradrenergic locus coeruleus as revealed by retrograde transport of horseradish peroxidase*.  
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/cne.901870405>
- Miller, T. D., Chong, T. T.-J., Aimola Davies, A. M., Johnson, M. R., Irani, S. R., Husain, M., Ng, T. W., Jacob, S., Maddison, P., Kennard, C., Gowland, P. A., & Rosenthal, C. R. (2020). Human hippocampal CA3 damage disrupts both recent and remote episodic memories. *eLife*, 9, e41836. <https://doi.org/10.7554/eLife.41836>
- Milner, T. A., Shah, P., & Pierce, J. P. (2000).  $\beta$ -Adrenergic receptors primarily are located on the dendrites of granule cells and interneurons but also are found on astrocytes and a few presynaptic profiles in the rat dentate gyrus. *Synapse*, 36(3), 178-193. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1098-2396\(20000601\)36:3<178:AID-SYN3>3.0.CO;2-6](https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-2396(20000601)36:3<178:AID-SYN3>3.0.CO;2-6)
- Moreno Fernández, R. D., Pedraza, C., & Gallo, M. (2013). Neurogénesis hipocampal adulta y envejecimiento cognitivo. *Escritos de Psicología / Psychological Writings*, 6(3), 14-24. <https://doi.org/10.5231/psy.writ.2013.2510>
- Moreno, M. M., Bath, K., Kuczewski, N., Sacquet, J., Didier, A., & Mandairon, N. (2012). Action of the Noradrenergic System on Adult-Born Cells Is Required for Olfactory Learning in Mice. *Journal of*

- Neuroscience*, 32(11), 3748-3758. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.6335-11.2012>
- Nelson, C. (1997). In vivo dopamine metabolism is altered in irondeficient anemic rats. *J. Nutr.* 127, 2282-2288.
- Nudo, R. J. (2007). Postinfarct Cortical Plasticity and Behavioral Recovery. *Stroke*, 38(2), 840-845. <https://doi.org/10.1161/01.STR.0000247943.12887.d2>
- Organización Mundial de la Salud. (2017). *Enfermedades cardiovasculares*. Organización mundial de la salud. [https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-\(cvds\)](https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-(cvds))
- Ostwald, S. K., Godwin, K. M., Ye, F., & Cron, S. G. (2013). Serious Adverse Events Experienced by Survivors of Stroke in the First Year Following Discharge from Inpatient Rehabilitation. *Rehabilitation nursing: the official journal of the Association of Rehabilitation Nurses*, 38(5), 254-263. <https://doi.org/10.1002/rnj.87>
- Parent, J. M. (2007). Adult neurogenesis in the intact and epileptic dentate gyrus. En H. E. Scharfman (Ed.), *Progress in Brain Research* (Vol. 163, pp. 529-817). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/S0079->
- Pérez-Domínguez, M., Tovar-y-Romo, L. B., & Zepeda, A. (2017). Neuroinflammation and physical exercise as modulators of adult hippocampal neural precursor cell behavior. *Reviews in the Neurosciences*, 29(1), 1-20.6123(07)63028-3
- Pieribone, A., Nicholas, P., & Dagerlind, A. (1994). *Distribution of alpha1 Adrenoceptors in Rat Brain Revealed by in situ Hybridization Experiments Utilizing Subtype-Specific Probes*. *Journal of Neuroscience*, 14(7), 4252-4268.
- Quillinan, N., Herson, P. S., & Traystman, R. J. (2016). Neuropathophysiology of Brain Injury. *Anesthesiology Clinics*, 34(3), 453-464. <https://doi.org/10.1016/j.anclin.2016.04.011>
- Radley JJ, Williams B, Sawchenko PE (2008) Noradrenergic innervation of the dorsal medial prefrontal cortex modulates hypothalamopituitary-adrenal responses to acute emotional stress. *J Neurosci*28:5806-5816
- Ramos-Languren, L. E., González-Piña, R., Montes, S., Chávez-García, N., Ávila-Luna, A., Barón-Flores,

- V., & Ríos, C. (2016). Sensorimotor recovery from cortical injury is accompanied by changes on norepinephrine and serotonin levels in the dentate gyrus and pons. *Behavioural Brain Research SreeTestContent1*, 297, 297-306. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2015.10.009>
- Renouard, A., Widdowson, P. S., & Millan, M. J. (1994). Multiple alpha 2 adrenergic receptor subtypes. I. Comparison of [3H]RX821002-labeled rat R alpha-2A adrenergic receptors in cerebral cortex to human H alpha2A adrenergic receptor and other populations of alpha-2 adrenergic subtypes. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 270(3), 946-957.
- Rizk, P., Salazar, J., Raisman-Vozari, R., Marien, M., Ruberg, M., Colpaert, F., & Debeir, T. (2006). The Alpha2-Adrenoceptor Antagonist Dexefaroxan Enhances Hippocampal Neurogenesis by Increasing the Survival and Differentiation of New Granule Cells. *Neuropsychopharmacology*, 31(6), Art. 6. <https://doi.org/10.1038/sj.npp.1300954>
- Rosas-Peralta, M., & Attie, F. (2007). Enfermedad cardiovascular: Primera causa de muerte en adultos de México y el mundo. *Archivos de cardiología de México*, 77(2), 91-93.
- Ruiz, J. L., Colorado, H., Loy, M. del C., Millán, R., Talamás, O., Torres, B., Vargas, R., Cantú, C., Araúz, A., & Barinagarrementeria, F. (2002). [Diagnosis and treatment of intracerebral hemorrhage]. *Revista de investigación clínica; organo del Hospital de Enfermedades de la Nutricion*, 54(3), 275-280.
- Ruiz-Sandoval, J. L., Chiquete, E., Gárate-Carrillo, A., Ochoa-Guzmán, A., Arauz, A., León-Jiménez, C., Carrillo-Loza, K., Murillo-Bonilla, L. M., Villarreal-Careaga, J., Barinagarrementeria, F., & Cantú-Brito, C. (2011). *Spontaneous intracerebral hemorrhage in Mexico: Results from a Multicenter Nationwide Hospital-based Registry on Cerebrovascular Disease (RENAMEVASC)*.
- Rusu-Zota, G., Timofte, D. V., Albu, E., Nechita, P., & Sorodoc, V. (2019). The Effects of Idazoxan and Efaroxan Improves Memory and Cognitive Functions in Rats Experimental research. *Revista de Chimie*, 70(4), 1411-1415. <https://doi.org/10.37358/RC.19.4.7139>
- Rusu-Zota G, Burlui A, Rezus E, Paduraru L, Sorodoc V (2021) Idazoxan and efaroxan potentiate the endurance performances and the antioxidant activity of ephedrine in rats. *Medicina (Kaunas)* 57:194.

- Sara, S. (2009). *The locus coeruleus and noradrenergic modulation of cognition* | *Nature Reviews Neuroscience*. <https://www.nature.com/articles/nrn2573>
- Scheiderer, C. L., Dobrunz, L. E., & McMahon, L. L. (2004). Novel Form of Long-Term Synaptic Depression in Rat Hippocampus Induced by Activation of  $\alpha$ 1 Adrenergic Receptors. *Journal of Neurophysiology*, *91*(2), 1071-1077. <https://doi.org/10.1152/jn.00420.2003>
- Simpson, I.A., Ponnuru, P., Klinger, M.E., Myers, R.L., Devraj, K., Coe, C.L., Lubach, G.R., Carruthers, A., and Connor, J.R. (2015). A novel model for brain iron uptake: Introducing the concept of regulation. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* *35*, 48-57.
- Snyder, J. S., Hong, N. S., McDonald, R. J., & Wojtowicz, J. M. (2005). A role for adult neurogenesis in spatial long-term memory. *Neuroscience*, *130*(4), 843-852. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2004.10.009>
- Sokoloff, L. (1999). Energetics of Functional Activation in Neural Tissues. *Neurochemical Research*, *24*(2), 321-329. <https://doi.org/10.1023/A:1022534709672>
- Song, S., Jiang, L., Oyarzabal, E. A., Wilson, B., Li, Z., Shih, Y.-Y. I., Wang, Q., & Hong, J.-S. (2019). Loss of brain norepinephrine elicits neuroinflammation-mediated oxidative injury and selective caudo-rostral neurodegeneration. *Molecular Neurobiology*, *56*(4), 2653-2669. <https://doi.org/10.1007/s12035-018-1235-1>
- Stam, J. (2005). Thrombosis of the Cerebral Veins and Sinuses. *New England Journal of Medicine*, *352*(17), 1791-1798. <https://doi.org/10.1056/NEJMra042354>
- Stankiewicz, J. M., & Brass, S. D. (2009). Role of iron in neurotoxicity: a cause for concern in the elderly? *Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care*, *12*(1), 22-29.
- Steindler, D. A. (1981). Locus coeruleus neurons have axons that branch to the forebrain and cerebellum. *Brain Research*, *223*(2), 367-373. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(81\)91149-5](https://doi.org/10.1016/0006-8993(81)91149-5)
- Sternberg, Z., & Schaller, B. (2020). Central Noradrenergic Agonists in the Treatment of Ischemic Stroke—An Overview. *Translational Stroke Research*, *11*. <https://doi.org/10.1007/s12975-019-00718-7>
- Strong, K., Mathers, C., & Bonita, R. (2007). Preventing stroke: Saving lives around the world. *The Lancet*

- Neurology*, 6(2), 182-187. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(07\)70031-5](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(07)70031-5)
- Tellez, S., Colpaert, F., & Marien, M. (1995). The  $\alpha_2$ -adrenoceptor antagonist, (+)-efaroxan, enhances acetylcholine release in the rat cortex in vivo. *European Journal of Pharmacology*, 277(1), 113-116. [https://doi.org/10.1016/0014-2999\(95\)00110-7](https://doi.org/10.1016/0014-2999(95)00110-7)
- Toda, T., Parylak, S., Linker, S. B., & Gage, F. H. (2019). The role of adult hippocampal neurogenesis in brain health and disease. *Molecular Psychiatry*, 24(1), 67-87. <https://doi.org/10.1038/s41380-018-0036-2>
- Triggs & Wilmore. (1984). *In Vivo Lipid Peroxidation in Rat Brain Following Intracortical Fe<sup>2+</sup> Injection*. *Neurochemistry*. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1471-4159.1984.tb12699.x>
- Tsai, C.-F., Thomas, B., & Sudlow, C. L. M. (2013). Epidemiology of stroke and its subtypes in Chinese vs white populations. *Neurology*, 81(3), 264-272. <https://doi.org/10.1212/WNL.0b013e31829bfde3>
- Valdés, Y. S., Segón, S. M., Mutuberría, L. R., & Pérez, M. L. (2007). Complicaciones en pacientes hemipléjicos por Enfermedad Cerebrovascular Crónica. Relación con la topografía lesional. *Revista Mexicana de Neurociencia*, 8(3), 222-227.
- Van derWop. (2007). *Acute Ischemic Stroke / NEJM*. <https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/nejmcp072057>
- Vazey EM, Aston-Jones G (2012) The emerging role of norepinephrine incognitive dysfunctions of Parkinson's disease. *Front Behav Neurosci* 6:48
- Viale L, Catoira NP, Di Girolamo G, González CD (2018) Pharmacotherapy and motor recovery after stroke. *Expert Rev Neurother* 18:65-82.
- Von Bieberstein, L., van Niftrik, C. H. B., Sebök, M., El Amki, M., Piccirelli, M., Stippich, C., ... & Wegener, S. (2021). Crossed cerebellar diaschisis indicates hemodynamic compromise in ischemic stroke patients. *Translational stroke research*, 12, 39-48.
- Washburn, M., & Moises, H. C. (1989). Electrophysiological correlates of presynaptic alpha 2-receptor-mediated inhibition of norepinephrine release at locus coeruleus synapses in dentate gyrus. *Journal of Neuroscience*, 9(6), 2131-2140. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.09-06-02131.1989>
- Wieloch, T., & Nikolich, K. (2006). Mechanisms of neural plasticity following brain injury. *Current opinion in neurobiology*, 16, 258-264. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2006.05.011>

- Winters, C., van Wegen, E. E., Daffertshofer, A., & Kwakkel, G. (2015). Generalizability of the proportional recovery model for the upper extremity after an ischemic stroke. *Neurorehabilitation and neural repair*, 29(7), 614-622.
- Yao N, Wu Y, Zhou Y, Ju L, Liu Y, Ju R, Duan D, Xu Q (2015) Lesion of the locus coeruleus aggravates dopaminergic neuron degeneration by modulating microglial function in mouse models of Parkinsons disease. *Brain Res* 1625:255-274
- Yukihiro, H. (2015). *Brain Plasticity and Rehabilitation in Stroke Patients*.  
[https://www.jstage.jst.go.jp/article/jnms/82/1/82\\_4/\\_article/-char/ja/](https://www.jstage.jst.go.jp/article/jnms/82/1/82_4/_article/-char/ja/)
- Zimmerman, M., Heise, K. F., Hoppe, J., Cohen, L. G., Gerloff, C., & Hummel, F. C. (2012). Modulation of training by single-session transcranial direct current stimulation to the intact motor cortex enhances motor skill acquisition of the paretic hand. *Stroke*, 43(8), 2185-2191.
- Zittel, S., Weiller, C., & Liepert, J. (2007). Reboxetine improves motor function in chronic stroke. *Journal of Neurology*, 254(2), 197-201. <https://doi.org/10.1007/s00415-006-0326-5>