



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA
PRODUCCIÓN Y LA SALUD ANIMAL

LA PARTICIPACIÓN NORADRENÉRGICA CEREBELAR Y PONTINA
EN LA RECUPERACIÓN FUNCIONAL MOTORA EN RATAS CON
LESIÓN TRAUMÁTICA CORTICAL

T E S I S

PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRO
EN CIENCIAS

P R E S E N T A

BUENO NAVA ANTONIO

TUTOR: DR. RIGOBERTO GONZÁLEZ PIÑA

COMITÉ TUTORAL:

DRA. NORMA ANGÉLICA MORENO MENDOZA
DR. SERGIO MONTES LÓPEZ

MÉXICO, DF.

2006



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.

Agradecimientos

A los Drs. Camilo Ríos Castañeda y Sergio Montes López del Departamento de Neuroquímica del Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía MVS, SSA, por la asesoría científica, tecnología y los reactivos necesarios para las pruebas bioquímicas.

A los Drs. Luis Velásquez Pérez y Gilberto Sánchez Cruz del Centro para la Investigación y Rehabilitación de las Ataxias Hereditarias, Holguín Cuba, por facilitar mi estancia académica y la capacitación en el diagnóstico molecular de la ataxia espinocerebelosa tipo 2.

Al Dr. Fructuoso Ayala Guerrero del Lab. de Neurociencias de la Fac. de Psicología-UNAM, por la asesoría y apoyo académico. Al Dr. Alfonso Alfaro Rodríguez, Lab. de Neuroquímica del INR, SSA por el apoyo general.

Al Ing. Ascención Ortiz Espinosa de Ingeniería Biomédica de la Fac. de Medicina UNAM. Al Dr. Juan Ambrosio Ortega Rangél y a Jesús Espinosa Villanueva del Lab. de Histomorfología del INR-SSA. A ellos por el apoyo técnico.

Al Mvz. Antonio Verduzco Mendoza y a la Biol. Gabriela Flores Mondragón, por el apoyo con material de cirugía. Además, a las Mvz. María Elena Contreras Figueroa y Esmeralda García Camacho por el apoyo técnico y servicios.

Al Dr. Rigoberto González Piña del Lab. de Plasticidad Cerebral y Proliferación Celular del INR-SSA, por la asesoría científica, papelería, apoyo técnico y material implementado en las pruebas conductuales.

Al Dr. Emilio Arch Tirado del INR-SSA, por todo el apoyo general, académico y administrativo otorgado durante la elaboración del presente trabajo.

Agradecimientos	I
Contenido	
1. Introducción	7
2. Resumen	9
2.1. Abstract	9
3. Planteamiento del problema	11
4. Antecedentes	
4.1. Conexión de la Corteza Cerebral al Puente y Cerebelo	12
4.1.1. Locus ceruleus	12
4.1.2. Conexión cerebro-cerebelar	13
4.1.2.1. Aferencias	13
4.1.2.2. Fibras noradrenérgicas	14
4.1.2.3. Acción de la noradrenalina	14
4.2. Señalización Noradrenérgica	16
4.2.1. Metabolismo de las catecolaminas	17
4.2.2. Captura y Almacenamiento	17
4.2.3. Receptores	18
4.2.3.1. Adrenoceptores alfa 1	19
4.2.3.2. Adrenoceptores alfa 2	20
4.2.3.3. Adrenoceptores beta	21
4.2.4. Segundos mensajeros	21
4.3. Lesión Traumática Cerebral Experimental y sus Secuelas Motoras	24
4.3.1. Función motora normal	24

4.3.2. Modelos experimentales que inducen la alteración de la función motora	24
4.3.2.1. La ligadura de la arteria cerebral media	25
4.3.2.2. Ablación cortical	26
4.3.2.3. Contusión	26
4.3.3. La participación de la noradrenalina en la función motora	26
4.4. Fisiopatología de la Lesión Cortical	27
4.4.1. Datos epidemiológicos	27
4.4.2. Mecanismos subyacentes a la lesión traumática cerebral focal	28
4.4.3. Lesión traumática axonal	29
4.4.4. Cambio microvascular	30
4.4.5. Inyección intracortical del hierro y el daño oxidativo	31
4.4.5.1. Reacción de Fenton	33
4.4.6. El papel de la NA durante la lesión traumática	34
4.4.6.1. Propiedades antioxidantes de la NA	34
4.5. Plasticidad Después de la Lesión Cerebral	35
4.5.1. Reorganización plástica cerebral <i>post</i> lesión traumática	35
4.5.2. Recuperación funcional después del daño cortical	36
4.5.2.1. Definición	36
4.5.2.2. Recuperación funcional motora	36
4.5.2.3. Diasquisis	38
4.5.2.3.1. Diasquisis cortical-cerebelar	39
4.5.2.3.2. Diasquisis cerebelar-cortical	41
5. Justificación	43
6. Objetivo general	44
6.1 Objetivos particulares	44
7. Hipótesis	45

8. Material y Métodos	46
8.1. Animales	46
8.2. Pruebas para evaluar la función motora post lesión	46
8.2.1. Impresión de la huella	46
8.2.2. Barra de equilibrio	46
8.3. Cirugía	47
8.4. Distribución de los grupos	47
8.5. Protocolo experimental	49
8.6. Análisis de la peroxidación lipídica	50
8.7. Análisis de la noradrenalina	50
8.8. Análisis estadístico	51
9. Resultados	53
9.1. Impresión de la huella	53
9.2. Barra de equilibrio	55
9.3. Análisis de la noradrenalina	55
9.4. Análisis de la peroxidación lipídica	57
9.5 Análisis de proteínas totales	59
9.6. Histología	59
10. Discusión	64
11. Conclusión	70
12. Referencias	71

Lista de Figuras y cuadros

Cuadro 1. Escala de evaluación para el déficit motriz	48
Figura 1. Fibras noradrenérgicas del locus ceruleus (LC)	15
Figura 2. Aferencias noradrenérgicas cerebelares	15
Figura 3. Parámetros de la zancada	48
Figura 4. Largo de la zancada	54
Figura 5. Ángulo de la zancada	54
Figura 6. Ancho de la zancada	56
Figura 7. Déficit motriz en la barra de equilibrio	56
Figura 8. Niveles de noradrenalina cerebelares	58
Figura 9. Niveles de noradrenalina pontinos	58
Figura 10. Productos de fluorescencia lipídica cerebelares	61
Figura 11. Productos de fluorescencia lipídica pontinos	61
Figura 12. Proteínas totales cerebelares	62
Figura 13. Proteínas totales pontinas	62
Figura 14. Sitio de la inyección	63

1. Introducción

La lesión traumática cerebral (TBI) es una de las causas más comunes de muerte y de discapacidad. En los Estados Unidos se registran anualmente 52 mil muertes asociadas con la TBI. Los pacientes que sufren la lesión de moderada a severa presentan limitaciones físicas manifestadas en inhabilidad ambulatoria, evaluada con alguna prueba como la de la marcha.^{1,2}

Los modelos experimentales que simulan la alteración de la función motora consisten básicamente en la inducción de una lesión vascular o traumática.³⁻⁵ La lesión en la corteza representativa del miembro posterior tiene como ventaja que al ser específica no produce daño mecánico en estructuras adyacentes a la lesión, permitiendo la evaluación del déficit motor mediante la barra de equilibrio.⁶⁻¹⁰ En la clínica, para evaluar el déficit neurológico que se observa en la incapacidad motora, se utiliza el análisis visual del paso que es el resultado de la actividad integrativa motora del cerebro.¹¹⁻¹⁴ Otra prueba que mide la incapacidad motora es la de la huella, que es una impresión estática que sugiere la conducta del movimiento.¹⁵

La lesión cortical se ha asociado con la reducción de la noradrenalina (NA) en el cerebro¹⁶ y a partir de esta premisa, se ha investigado cual es el papel que desempeña dentro de los mecanismos de adaptación cerebral después del daño.¹⁷ Además se ha propuesto que la NA es estimuladora de la función motora, por lo que su déficit se ha involucrado con el trastorno de la misma.^{8,10,18,19} La NA que reciben tanto el cerebelo como la corteza cerebral proviene del locus ceruleus (LC) a través de aferencias noradrenérgicas que son enviadas desde el puente.^{21,22} Se ha observado que la lesión traumática cerebral altera la función motora, la cual está asociada con la reducción de la NA por lo que para facilitar la recuperación funcional se ha intentado revertir administrando NA, anfetaminas y precursores exógenos.^{8,10,16,23}

Está comprobado que la ablación cortical produce degeneración retrograda y esta a la vez ocasiona la muerte neuronal a distancia por apoptosis asociada al estrés oxidativo.²⁴ Sin embargo, después de la lesión traumática en la rata, no se conoce cuál es el estado de la peroxidación lipídica cerebelar y pontina de la vía córtico-pontino-cerebelar, ni su relación con la recuperación funcional motora. Asimismo, los niveles de NA cerebelares y pontinos, no han sido explorados ni comparados con la recuperación funcional motora. Por lo anterior el objetivo del presente estudio fue describir el periodo crítico de la función motora y relacionarlo con la interconexión del circuito córtico-pontino-cerebelar, mediante el análisis de la NA y de la peroxidación lipídica del cerebelo y puente, después de la lesión traumática cortical unilateral.

2. Resumen

El objetivo de este estudio fue evaluar la participación noradrenérgica cerebelar y pontina en la recuperación motora después del daño cortical experimental. Los animales fueron asignados a dos grupos: Sham (n = 16) y experimental (n = 26). El primero recibió 5 μ l de líquido cefalorraquídeo artificial (LCA), mientras que los animales experimentales recibieron 5 μ l de LCA conteniendo 50 mM de FeCl₂. Las soluciones fueron inyectadas en la corteza motora derecha representativa del miembro posterior a través de una cánula y en libertad de movimientos. Para medir las secuelas del daño, se utilizaron las pruebas de la impresión de la huella y de la barra de equilibrio, con las cuales las ratas fueron registradas cada 24 horas durante 20 días. Los animales se decapitaron a los 2 y 20 días *post* inyección y los hemisferios derecho e izquierdo del puente y cerebelo se procesaron para el análisis de noradrenalina (NA), peroxidación lipídica (PL) y de proteínas totales. Los resultados mostraron en la impresión de la huella que el ángulo disminuye y el largo se incrementa entre los días 2-5 *post* lesión. Mientras el déficit motriz medido sobre la barra de equilibrio se presentó en los días 1 al 6. La recuperación funcional se observó en los días 6-7 *post* lesión. A nivel pontino la bioquímica mostró que la NA disminuyó y la PL se incrementó a los 2 días *post* lesión retornando a sus niveles normales a los 20 días. Por otro lado, la NA cerebelar se incrementó y la PL disminuyó después de 20 días *post* lesión cuando las ratas registraron recuperación. Considerando que la NA está implicada en la modulación de los movimientos y estos se encontraron afectados por la lesión, su concentración baja sugiere una correlación con la depresión de la función motora, mientras que la recuperación observada puede ser resultado de una reorganización de las vías noradrenérgicas.

Palabras Clave: Hemiplejía cortical, noradrenalina, peroxidación lipídica, recuperación funcional, cerebelo, puente.

2.1. Abstract

The aim of this work was to explore the role that cerebellar and pontine norepinephrine (NE) plays in the recovery after motor cortical injury. Animals were allocated into two groups: sham (n = 16) and experimental (n = 26). The first received 5 μ l of artificial cerebrospinal fluid (ACS) while experimental animals received 5 μ l of ACS containing 50 mM of FeCl₂. Solutions were injected in the hindlimb representation of the right motor cortex throughout a cannula in freely-moving animals. In order to measure motor impairment, foot print and beam-walking methods were used. Recordings were collected every 24 hours during 20 days. Then, the animals were decapitated at days 2 and 20 *post* injection and both, the left and right hemispheres of pons and cerebellum were processed for NE analysis, lipid peroxidation (LP) and total protein content. Results showed a decrease in the angle of the stride and an increase in the length between days 2-5 *post* injury, while an important motor deficit measured in the beam-walking was observed in the days 1 to 6. The functional recovery was observed in the days 6-7 *post* injury. The biochemical evidence showed NE decrease and LP increased in the pons at the 2 days *post* injury and returned to normal levels at the 20 days. On the other hand, after 20 days *post* injury cerebellum showed NE increased and LP decrease when rats achieved recovery. Since NE is implicated in the modulation of the movements and it was observed altered after *post* injury, lower NE concentrations suggest a correlation with the concomitant depression of motor function and recovery observed could be the result of a reorganization of the NE pathways.

Key words: cortical hemiplegia, norepinephrine, peroxidation lipidic, functional recovery, cerebellum, pons.

3. Planteamiento del problema

La lesión traumática cerebral se manifiesta en la incapacidad ambulatoria o de la movilidad en alguna extremidad¹²⁰ y después de algunos meses de rehabilitación los sujetos adquieren nuevamente la capacidad de movimiento.¹ Se ha sugerido que la lesión traumática experimental produce el déficit de la noradrenalina, neurotransmisor asociado con la estimulación del movimiento.^{19,35} Sin embargo, no se han evaluado los niveles de NA cerebelares y pontinos durante el déficit y la recuperación funcional motora, después de la lesión traumática en la corteza motora.

4. Antecedentes

4.1. Conexión de la Corteza Cerebral al Puente y Cerebelo

4.1.1. Locus ceruleus

El puente o protuberancia se localiza entre el bulbo raquídeo y el mesencéfalo, ventral al cerebelo. El puente de la rata concentra a cuatro grupos de neuronas noradrenérgicas que son denominados como A4, A5, A6 y A7. El grupo A6 o locus ceruleus (LC) es el más importante para la síntesis y la liberación de la NA.²² Este es un núcleo compacto localizado en el tegmentum pontino adyacente al cuarto ventrículo del tallo cerebral.²⁵ Se estima que el LC del humano adulto tiene entre 45 000 a 60 000 neuronas noradrenérgicas, mientras en la rata existen aproximadamente 1500 neuronas por núcleo.²⁵

El LC de los mamíferos se subdivide en las porciones dorsal (Locus ceruleus), ventral (Locus subceruleus) y lateral (parabraquial, núcleo Kolliker-Fuse).²² Además del cerebelo, el LC inerva ipsilateralmente a varias estructuras del SNC (figura 1), como los tubérculos olfatorios, la neocorteza, el hipocampo y al tálamo, a excepción de los ganglios basales.²⁵ Por otro lado, las capas corticales III y IV de la corteza cerebral son las más inervadas por el LC, mientras la capa I recibe una inervación muy dispersa.²⁵

Las neuronas noradrenérgicas son importantes para el control de una variedad de funciones incluidas las motoras, sensoriales, cognitivas, emocionales y autonómicas.²² Del mismo modo, se ha sugerido que los estímulos estresantes activan a las neuronas del LC, incrementando el metabolismo y el recambio de la NA en algunas áreas cerebrales, sugiriendo que el circuito del LC es uno de los componentes importantes que es activado dentro del circuito neuronal.²⁶ Además, se ha observado que la estimulación eléctrica del LC produce en el mono

conductas asociadas a la angustia o sufrimiento (distrés), tales como la picazón, el giro de la cabeza o el cuerpo y los movimientos de la lengua. Otro caso discutido asociado con la descarga del LC es la conducta mostrada en el gato después de ser expuesto a la presencia de un perro.²⁷ En la rata se ha observado que la infusión directa con idazoxane, un antagonista de los receptores adrenérgicos alfa 2, que induce la liberación de la NA en la corteza frontal, mientras que la infusión de algunos bloqueadores de los receptores N-metil-D-aspartato (NMDA), la inhiben.²⁶

4.1.2. Conexión cerebro-cerebelar

El cerebelo se ha involucrado no solamente en el control de la postura, los movimientos voluntarios y ciertos reflejos, sino también en el control de la conducta, las respuestas viscerales y los procesos cognitivos.^{25,28,29} Asimismo, se ha observado en ratas adultas anestesiadas que la lesión cortical traumática origina cambios en la actividad eléctrica de la corteza cerebelar, además, es posible que este cambio cerebelar pueda considerarse como un indicador del daño.³⁰

4.1.2.1. Aferencias

El cerebelo recibe aferencias a través de los pedúnculos cerebelosos y se distribuyen a lo largo de la corteza por fibras denominadas musgosas y paralelas, estas a la vez hacen sinapsis con las dendritas de las células granulosas y las células de Purkinje sobre la capa molecular.²⁹ Una parte de las aferencias cerebelares provienen de la corteza cerebral a través del haz córtico-ponto-cerebeloso, este paquete de fibras pertenece al tracto piramidal conformado por los axones que se proyectan al cerebelo por una vía indirecta, ya que hacen sinapsis con las neuronas del núcleo pontino y este último proyecta sus axones a ambos hemisferios cerebelares, predominando los hemisferios contralaterales del

cerebelo, específicamente a la corteza cerebelar, donde las células de la granulosa neocerebelares de los lóbulos VI y VII parecen ser las responsables de la modulación de las células de Purkinje y estas de la coordinación de los distintos grupos musculares que ejecutan los movimientos finos y precisos, además, estos lóbulos reciben aferencias de origen visual, espinal y auditivo.³¹

Las fibras musgosas son excitadoras y activan a las células glutamatérgicas de la granulosa que a su vez excitan a las células de Purkinje, a las estrelladas y a las células en cesto, las tres son caracterizadas por ser GABAérgicas y considerando que existen sinapsis entre estas neuronas, se producirá la modulación inhibitoria. Las células de Purkinje inhiben asimismo a los núcleos cerebelosos interpósito y dentado, ya que son únicas neuronas que comunican a la corteza cerebelar con estos núcleos.²⁹

4.1.2.2. Fibras noradrenérgicas

Las aferencias noradrenérgicas que recibe el cerebelo, se originan de las porciones dorsal y ventral del LC e inervan a todas las neuronas de la corteza cerebelar y escasamente a los núcleos cerebelosos (figura 2).^{29,32} Además se ha sugerido que la liberación de la NA cerebelar está asociada con la activación de los receptores adrenérgicos alfa o beta, donde estos parece que responden a ciertos niveles o tiempos de exposición durante los estados normales como el de sueño-vigilia o la actividad provocada por los estímulos externos.²⁹

Se ha descrito que la lesión cortical reduce en un 50 % la concentración extracelular de la NA cerebelar en la rata²³ y que la lesión del LC reduce también la NA cerebelar que simultáneamente está asociada con la alteración funcional motora y por ello los efectos de la lesión se revierten por medio de infusiones cerebelares de NA exógena.³² Esto sugiere que la aceleración de la recuperación motora es debida a los efectos específicos de la NA.^{8,33}

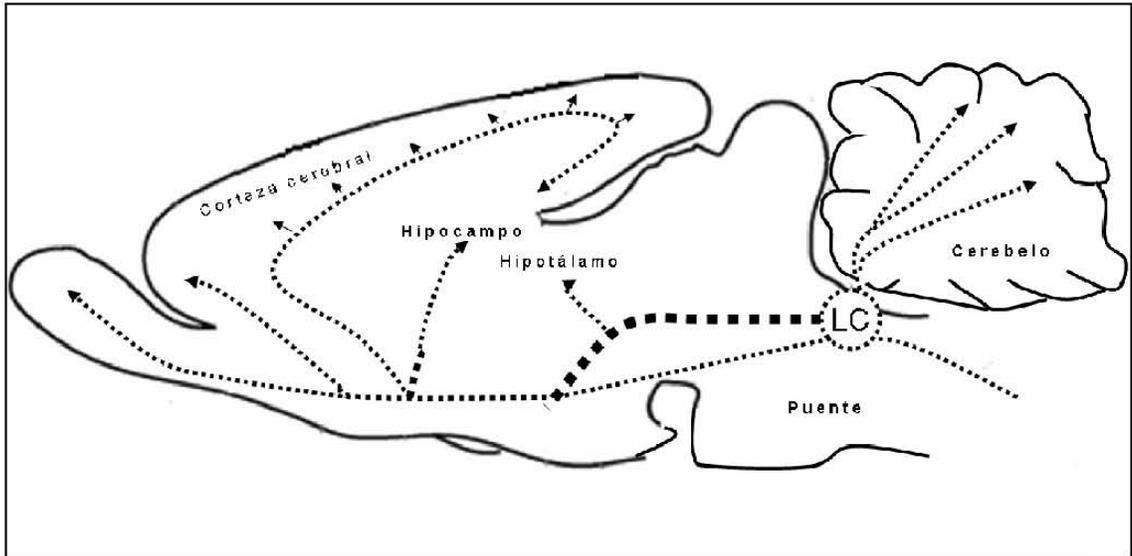


Figura 1. Fibras noradrenérgicas del locus ceruleus (LC). Plano sagital de las fibras noradrenérgicas proyectadas desde el LC a diferentes áreas del SNC.²⁵

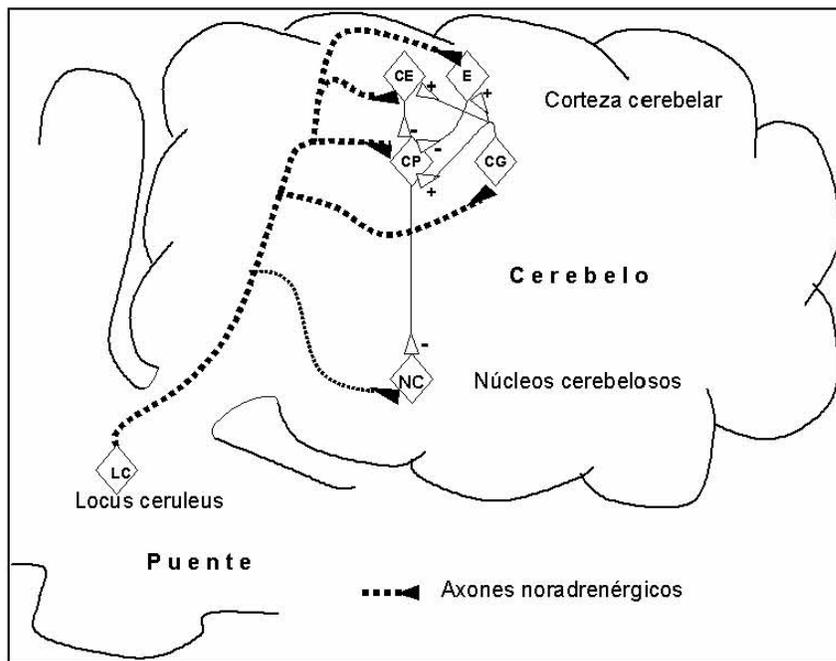


Figura 2. Aferencias noradrenérgicas cerebelares. Plano sagital de las fibras noradrenérgicas que recibe el cerebelo en el núcleo cerebelar y en la corteza con las células de la granulosa (CG), las células de Purkinje (CP), las células en cesto (CE) y las células estrelladas (E).^{29,32} El signo mas (+) representa a células excitadoras y el signo menos (-) a células inhibitorias.

4.1.2.3. Acción de la noradrenalina

La liberación de la NA en la corteza cerebelar se ha asociado con la inhibición de las células de Purkinje a través de las células en cesto, además se ha relacionado con la modulación GABAérgica a corto y largo plazo. Asimismo se ha sugerido que los niveles altos de NA activan a los receptores beta adrenérgicos, elevando de este modo al adenosinmonofosfato (AMP) cíclico y activando también el incremento de la proteína kinasa, dependiente de AMP cíclico. Este incremento se ha asociado también con el aumento y el antagonismo de la potenciación de rebote, para regular los niveles intracelulares del AMP cíclico. Además, el incremento está asociado con la activación de genes inmediatos tempranos (*c-fos*, *jun-B*) en las células de Purkinje, que pueden ser indicadores del disparo y la transformación de los cambios bioquímicos a largo plazo que son requeridos para el mantenimiento de la plasticidad cerebelar a largo plazo.³²

Las células de Purkinje son las únicas neuronas de la corteza cerebelar que por medio de sus axones hacen sinapsis con los núcleos cerebelosos interpósito y dentado y estos proyectan sus axones a la corteza cerebral motora primaria por la vía de los núcleos ventrales talámicos. Los núcleos cerebelosos se caracterizan por ser excitadores de sus células blanco.²⁹

4.2. Señalización Noradrenérgica

El término “catecolamina” (CAT), se define como un compuesto orgánico que contiene un núcleo catecol (o-dihidroxibenceno, $C_6H_4(OH)_2$) y un grupo amino.^{22,34} Entre las CATs encontramos a la dopamina (DA), la NA y la adrenalina (A), que se localizan en el SNC y periférico. Asimismo, su estudio ha generado un gran interés científico debido a la relación con las enfermedades neurodegenerativas.³⁵ En las

últimas décadas, los modelos que simulan la lesión traumática cerebral han reunido evidencias que sugieren un papel importante de la NA dentro de los mecanismos de la recuperación funcional después de la lesión cerebral.^{8,10,18,23}

4.2.1. Metabolismo de las catecolaminas

Las CATs son sintetizadas en el citosol de las neuronas, las células cromafines, los nervios y los ganglios simpáticos, a partir del precursor tirosina. Este precursor es hidroxilado por la tirosina hidroxilasa (TH) más el cofactor biopterina, para dar origen a la L-DOPA (3,4-dihidroxi-L-fenilalanina). Después la L-DOPA es descarboxilada por la DOPA-decarboxilasa (dihidroxifenilalanina decarboxilasa) dependiente de piridoxina, obteniendo de esta reacción a la DA y esta después es hidroxilada en las vesículas sinápticas por la enzima DA beta-hidroxilasa (DBH) y el ascorbato para originar a la NA. La feniletanolamina N-metiltransferasa (PNMT) transfiere un grupo metilo del S-adenosilmetionina al grupo amino de la estructura de la NA, formando a la adrenalina. Cuando se libera la NA, esta interactúa con los adrenoceptores o es nuevamente capturada por las neuronas presinápticas para ser metabolizada por la monoamina oxidasa (MAO) o por la catecol-O-metiltransferasa (COMT). Estas enzimas (MAO y TH) son consideradas como las reguladoras de los niveles intraneuronales de la NA.^{22,34,36}

4.2.2. Captura y almacenamiento

Las vesículas sinápticas (VSs) son las responsables del almacenamiento y la secreción de los neurotransmisores, asimismo en este mecanismo se ha sugerido la participación de transportadores de aminas vesiculares (VMATs), considerados de dominio transmembranal y relacionados con el almacenamiento de las CATs a las VSs.^{37,38}

El almacenamiento vesicular es un mecanismo regulado por las ATPasas transportadoras tipo V que se caracterizan por el hecho de tener adaptado un gradiente H^+ , el cual es el responsable de la acidificación vesicular. Las vesículas secretorias monoaminérgicas *in situ* tienen valores de pH de 1.4 y 39 mV de potencial eléctrico transmembrana.^{34,38,39} Cabe señalar que el almacenamiento de las CATs en las VSs y también la recaptura de la NA son inhibidas por la reserpina.³⁶

El proceso de liberación de las CATs vesiculares, es activado por el potencial de acción del nervio terminal, por consiguiente, se abren los canales de Ca^{2+} , permitiendo la entrada de este ión lo que eleva los niveles intracelulares y se promueve la fusión de la vesícula sináptica con la membrana sináptica. Esta unión provoca la liberación del contenido vesicular, conteniendo la NA y otras sustancias como el ATP y proteínas solubles, sobre la hendidura sináptica mediante un proceso conocido como exocitosis. Este puede ser también inducido por fármacos como la amfetamina y la tiramina, que poseen una acción simpaticomimética que provoca la liberación de la NA vesicular. Por otra parte, se sabe que la liberación de las CATs está regulada por algunas sustancias como las prostaglandinas, las aminas vasoactivas, la angiotensina y la acetilcolina, mientras que los receptores presinápticos están involucrados con la inhibición de la liberación en las terminales adrenérgicas.^{34,36,39}

4.2.3. Receptores

Desde 1979, cuando Eccles y McGeer⁴⁰ sugirieron a los receptores ionotrópicos y a los metabotrópicos como mediadores de la neurotransmisión, se han desarrollado estudios científicos para observar la función que desempeñan sobre la respuesta bioquímica y en la modulación de la excitabilidad neuronal, sobre todo a los receptores metabotrópicos que se han involucrado con la síntesis de segundos mensajeros. Debe señalarse que los receptores ionotrópicos son

canales iónicos que permiten el paso de ciertos iones como el sodio, potasio, cloro y calcio, los cuales producen cambios eléctricos en la célula receptora y se traducen en la excitación si los iones son de carga positiva o inhibición si poseen carga negativa de la misma, siendo este un proceso denominado de transmisión sináptica rápida que el mediado por los receptores metabotrópicos, ya que ocurre en milésimas de segundo.^{35,41}

Los receptores metabotrópicos son primordiales para la síntesis de los segundos mensajeros, como el AMP cíclico y, además se han considerado como los mediadores de la respuesta neuronal o neuromodulación, también en este mecanismo participan las proteínas G subunidad alfa ($G_s\alpha$) y enzimas como la adenil ciclasa o fosfolipasa, que activan a los segundos mensajeros involucrados en la regulación de la función neuronal, la síntesis de proteínas asociadas a los canales iónicos y los autoreceptores, asimismo de los mecanismos de transducción y los mitogénicos.⁴¹

Los receptores adrenérgicos o adrenoceptores se dividen en tres familias muy bien conocidas y expresadas como alfa 1 (α_1), alfa 2 (α_2) y beta (β), ello con base en sus características farmacológicas, estructurales y sus mecanismos de señalización, asimismo cada familia tiene tres subtipos ligados a la proteína G.⁴²

4.2.3.1. Adrenoceptores alfa 1

Los adrenoceptores alfa 1 se localizan en los sitios *post* sinápticos y se dividen en tres subtipos denominados como a (α_{1a}), b (α_{1b}) y d (α_{1d}), involucrados en el control de la presión sanguínea. Asimismo, se expresan en muchos de los tejidos de los animales y humanos, abundando también en el cerebro. Los tres subtipos activan a la fosfolipasa C y de hecho son metabotrópicos. Además se ha observado que la asociación de los adrenoceptores alfa 1 con la proteína Gq/11 promueven la liberación del Ca^{2+} reticular, resultando el incremento intracelular y

la activación de la proteína kinasa C. Además se caracterizan por desencadenar la actividad mitogénica por la vía proteína kinasa, la cual desempeña un papel importante sobre la regulación de la proliferación celular y el crecimiento neuronal. El receptor α_{1d} se ha localizado en la corteza cerebral y su expresión es mayor con respecto a los subtipos α_{1a} y α_{1b} . No es así el caso de los receptores α_{1a} en la corteza piriforme, estructura donde se han hallado con mayor abundancia que otras áreas corticales.^{22,42}

En la corteza cerebelar del humano se ha observado la expresión del ARNm de los adrenoceptores α_{1a} en las células en cesto, las de Purkinje y el núcleo dentado, mientras el subtipo α_{1b} ha sido localizado en las células estrelladas y en las de Purkinje. En cambio, el subtipo α_{1d} se ha encontrado en las células de Purkinje y el núcleo dentado, mientras que en la rata se ha observado la presencia del subtipo α_{1a} en la células de Purkinje y el núcleo dentado, el subtipo α_{1b} fue localizado en las células de Purkinje y en las de la granulosa, además hay evidencias del subtipo α_{1d} en la capa molecular y en las células de Purkinje.²⁹

4.2.3.2. Adrenoceptores alfa 2

Los adrenoceptores alfa 2 (α_2) se localizan en las terminales nerviosas pre y *post* sinápticas y se dividen también en tres subtipos A (α_{2A}), B (α_{2B}) y C (α_{2C}), asimismo están ligados a la proteína G y caracterizados por reducir la actividad de la adenil ciclasa, la activación del K^+ circulante, la inhibición de los canales de Ca^{2+} y el incremento de la fosforilización de la MAPK (mitogen-activated protein kinases). Por otro lado, se ha sugerido al subtipo α_{2A} es el adrenoceptor que predomina ampliamente en el LC de los mamíferos y los estudios con ratas revelan que el 100 % de las neuronas del LC lo contienen. En cambio, el subtipo α_{2C} está presente en densidad alta sobre las estructuras de los ganglios basales y en el neocórtex de la rata, mientras en la corteza cerebelar de los humanos y de la rata predominan los subtipos α_{2A} y α_{2B} . Asimismo, dentro de las funciones más

importantes de los receptores alfa 2 se ha destacado la modulación del calcio intracelular en las neuronas piramidales, así como la liberación de NA sináptica y de las neuronas noradrenérgicas del SNC. Por otro lado, como los subtipos α_{2A} inhiben la liberación de neurotransmisores a altas frecuencias de estimulación, mientras que los subtipos α_{2C} modulan la neurotransmisión a bajos niveles de actividad nerviosa, a ambos subtipos se han asociado en el control presináptico durante la liberación de los neurotransmisores en los nervios simpáticos del corazón y en las neuronas noradrenérgicas centrales.^{22,29,34,43}

4.2.3.3. Adrenoceptores beta

Los beta adrenoceptores se localizan en los sitios *post* sinápticos y se dividen en tres subtipos conocidos como beta 1 (β_1), beta 2 (β_2) y beta 3 (β_3), ligados a la proteína G_s . Estos subtipos se caracterizan por estimular a la enzima adenil ciclasa y en el cerebro de la rata se distribuyen en una densidad baja, particularmente en el diencefalo, mientras los subtipos β_1 y β_2 se han identificado en el telencefalo, la corteza cerebral, el hipocampo y moderadamente en el tubérculo olfatorio. Por último los adrenoceptores β_2 se han encontrado en densidades altas en el cerebelo y también se han localizado en el hipocampo e hipotálamo. Otros estudios sugieren una jerarquización de la potencia de estimulación para el subtipo β_1 , de la siguiente manera: isoproterenol > NA \geq A, mientras para el subtipo β_2 es de isoproterenol > A > NA. Se ha sugerido que la exposición repetida de agonistas β adrenérgicos endógenos y exógenos, ocasiona frecuentemente una desensibilización de estos receptores. Esta desensibilización puede ser causada por el desenlace de los β -adrenoceptores de la membrana o por la disminución de los mismos.^{22,34,36}

4.2.4. Segundos mensajeros

En la literatura se describe que todos los adrenoceptores (α_1 , α_2 y β) y sus respectivos subtipos están ligados a la proteína G, estimulando o inhibiendo a la adenil ciclasa e incrementando el Ca^{2+} intracelular. Para el caso de los β -adrenoceptores, han sido sugeridos como los responsables de la estimulación de la adenil ciclasa para sintetizar al AMP cíclico y los mediadores de los cambios metabólicos del glicógeno y lípidos.⁴²

La activación de los adrenoceptores ocasiona cambios en el dominio intracelular y activan a la proteína G_s , misma que permanece inactiva cuando están unidas las tres subunidades (α , β , γ) al guanosindifosfato (GDP). En conjunto son fundamentales para la transducción de la señal y se lleva a cabo en el lado citosólico de la membrana plasmática. La proteína G_s es activada cuando el GDP es reemplazado por la guanosintrifosfato (GTP) unido a la subunidad α ($G_{s\alpha}$), separándose del resto de las subunidades (β , γ) y del propio receptor. La $G_{s\alpha}$ genera un movimiento cercano al plano de la membrana y del propio receptor, interactuando después con la adenil ciclasa y de este modo se cataliza la síntesis de AMP cíclico a partir del ATP, mientras la G_s retornará a la inactividad con sus tres subunidades correspondientes. El AMP cíclico se une a la proteína kinasa A (PKA) en una proporción 4:2 respectivamente y su activación es generada por la disociación de las subunidades regulatorias de las catalíticas (R_2C_2). La PKA, a su vez, regula a un gran número de enzimas, como la glucógeno sintasa, la fosfolipasa b kinasa, tirosina hidroxilasa y la fosfofructokinasa-2/fructosa 2,6-bifosfato. El AMP cíclico es degradado por la fosfodiesterasa nucleótido cíclico a 5'-AMP, siendo esta la forma inactiva del AMP cíclico. Algunos compuestos metilados de la xantina, como la cafeína, la teobromina y la teofilina, inhiben la fosfodiesterasa, incrementando la vida media del AMP cíclico y de esta manera se potencian a los agentes que activan a la adenil ciclasa.⁴³

Entre algunas de las sustancias que utilizan a los segundos mensajeros derivados de la fosfatidilinositoles se encuentran algunos agonistas α_1 -

adrenérgicos, el glutamato, la serotonina (5-HT-1c) y la vasopresina. Mientras el complejo hormona-receptor encargado de catalizar la conversión de GDP a GTP que está asociado a la proteína G_q y después se genera la activación de la fosfolipasa C (PLC), enzima responsable de la formación de dos segundos mensajeros: diacilglicerol e inositol 1, 4, 5-trifosfato (IP_3), a partir de la hidrólisis del fosfatidinositol 4,5-bisfosfato en la membrana plasmática. El IP_3 es un compuesto soluble al agua, por lo que se difunde de la membrana plasmática al retículo endoplásmico para unirse con un receptor específico (IP_3) ligado al canal de Ca^{2+} y de este modo se libera el Ca^{2+} reticular al citosol, para incrementar la concentración citosólica de Ca^{2+} (aproximadamente 10^{-6} M) y se ha sugerido también que el Ca^{2+} inhibe a la adenil ciclasa. Por lo anterior el diacilglicerol se asocia al Ca^{2+} , por la vía PKC (activada por el Ca^{2+}) que desencadena a la fosforilación de proteínas celulares específicas.^{42,45,46}

El Ca^{2+} es otro de los segundos mensajeros utilizados para generar señales de transducción intracelulares como respuesta, entre estas se encuentra a la excitación neuronal y la endocrina, además de la contracción muscular. La concentración normal de Ca^{2+} citosólico se mantiene baja ($< 10^{-7}$) gracias a las bombas de Ca^{2+} del retículo endoplásmico, las mitocondriales y las de la membrana plasmática. Un estímulo neuronal u hormonal desencadenante del secuestro o liberación de Ca^{2+} reticular o mitocondrial, puede alterar a la concentración de Ca^{2+} citosólico y disparar la respuesta celular. Estos cambios intracelulares de Ca^{2+} , han sido detectados por proteínas ligadoras de Ca^{2+} y una de ellas es la calmodulina (CaM) la cual posee una alta afinidad. La CaM es también una subunidad integral de la familia de enzimas que activan a la CaM kinasa (I-IV), la responsable de la fosforilación. Entre algunas de las proteínas reguladas del Ca^{2+} y la CaM se encuentran la adenil ciclasa, la AMP cíclico fosfodiesterasa, la oxido nítrico sintasa y la glutamato descarboxilasa.⁴⁵

4.3. Lesión Traumática Cerebral Experimental y sus Secuelas Motoras

4.3.1. Función motora normal

Se ha observado que durante la ejecución del movimiento y durante la estabilidad en la postura o el equilibrio del cuerpo, se integra la participación de los sistemas visual, vestibular y somatosensorial, por lo que se ha sugerido que los eventos cerebrovasculares, las enfermedades neurodegenerativas y los problemas auditivos, son algunos de los padecimientos que pueden ocasionar la inestabilidad en la postura durante el movimiento. Asimismo, se ha demostrado mediante pruebas de memoria y de tiempo de reacción que para mantener la estabilidad postural se requiere de algún grado de atención¹³ y cuando se ve comprometida por un obstáculo, es necesaria la activación de los músculos de las piernas para conservar el equilibrio del cuerpo. Esto último se ha observado comparando la locomoción del gato con respecto a la del hombre, donde la función antigraavedad es ejecutada por la acción de los músculos extensores de las piernas.¹²

En las enfermedades neurológicas, el análisis visual del paso o movimiento, es un método complementario y usado comúnmente por los neurólogos clínicos para estimar la articulación del ángulo, actividad muscular y parámetros cinéticos.¹¹ Además se ha sugerido que durante el movimiento en el hombre es característico el uso del pie derecho para ejecutar las acciones de movilización, mientras en el pie contralateral se utiliza para mantener la estabilidad postural, asimismo se ha observado que la estabilidad postural en el pie izquierdo emerge antes del control motor voluntario que ejecutará el pie derecho para la movilización y de este modo se fortalecen las interpretaciones patológicas.¹⁴

4.3.2. Modelos experimentales que inducen la alteración de la función motora

Entre los modelos animales que alteran la función motora se hace referencia a los que ocasionan la isquemia focal cortical después de la ligadura de la arteria cerebral media tanto en la rata como el ratón y el gato, asimismo los modelos de lesión cerebral por contusión y ablación, entre otros. Estos se caracterizan por afectar la coordinación, la dirección y la velocidad durante la marcha, además, estas funciones en condiciones normales son dependientes de la maduración e integración funcional de los sistemas y estructuras involucradas con el movimiento como son la corteza motora y el cerebelo. La alteración de estas estructuras causada por la lesión, ocasionará el déficit de la función motora y entre los trastornos de la marcha se puede observar la modificación de algunos de los componentes de la velocidad como la abducción, la rotación y la hiperextensión del movimiento. Sin embargo, en el humano y animales existen otras variables normales como la edad, donde los sujetos seniles se pueden acelerar las dificultades en la marcha, debido a la merma estructural por la muerte neuronal progresiva en el SNC, lo cual se expresa en la alteración funcional del sistema músculo esquelético.^{25,28,47} A continuación se describen algunos de los modelos más utilizados e involucrados con la alteración de la función motora destacando las ventajas y las desventajas más relevantes:

4.3.2.1. La ligadura de la arteria cerebral media

Un modelo que experimental que produce incapacidad motora es la ligadura de la arteria cerebral media (ACM), que produce una isquemia focal y la alteración de la función motora, que se presenta en el lado contralateral a la lesión, tanto en la rata como en el hámster.⁴⁸⁻⁵² También es un modelo, que simula la causa más frecuente de daño cerebral en el hombre, debida a la enfermedad cerebrovascular por lo que representaría un modelo natural. Sin embargo, tiene la desventaja de que la inactivación neuronal no es específica, ya que se ha observado un infarto extensivo en todo el hemisferio.⁵³ Además, la parte de la corteza dañada por este método no corresponde en su totalidad a la corteza motora.^{6,7} El tiempo de

recuperación de las secuelas producidas por la ligadura de ACM puede llegar a reflejarse en la evaluación conductual en menos de 24 horas.⁴⁸

4.3.2.2. Ablación cortical

Cuando el objetivo es producir déficit motores, lesionando directamente la corteza motora, también se logran secuelas muy semejantes a la hemiplejía del hombre³ e incluso la lesión por succión de la corteza frontal de la rata induce déficit motores asimétricos y la disminución de los niveles de NA en la corteza ipsilateral y contralateral a la lesión, así como en el locus ceruleus (LC), efectos muy parecidos a aquellos producidos por la ligadura de la ACM.⁴ La principal ventaja que tiene este modelo es que la lesión es técnicamente muy fácil de realizar y el período de recuperación funcional es corto, lo que permite estudiar de inmediato los mecanismos básicos de plasticidad cerebral involucrados en la recuperación. La recuperación de las secuelas sobreviene en la rata aproximadamente entre 2 y 5 días después de una lesión producida por la inserción de una cánula a 2 mm de profundidad en la zona de la corteza motora que representa al miembro posterior, mientras que en el gato la recuperación sobreviene a los 60 días después de la succión de la corteza sensoriomotora.^{6,54}

4.3.2.3. Contusión

En este modelo la lesión se realiza por medio de una barra de acero inoxidable de unos 3.0 mm de diámetro acoplada a un pistón neumático que hace contacto con la corteza por 5 segundos produciendo una compresión cortical de unos 2.0 mm.⁵⁵ Este modelo tiene la ventaja de generar una lesión focal hemorrágica específica en la corteza cerebral, aunque también puede generar hematomas cerebrales profundos y una alta mortalidad.⁵

4.3.3. La participación de la noradrenalina en la función motora

La NA es un neurotransmisor considerado como excitador y también como estimulador de la función motora, por lo cual se ha propuesto que su déficit produce algunos desórdenes de esta función.¹⁹ De esta manera la lesión traumática cortical se ha asociado con disminución de la NA en estructuras distantes pero relacionadas con el sitio de la lesión, entre las cuales se destaca el cerebelo, debido a la interconexión de los axones que proyecta el LC a la corteza cerebral y al cerebelo.^{23,35} Se ha reportado entonces que las infusiones de NA cerebelares e intraventriculares o la inyección intraperitoneal de la L-treo-3,4-dihidroxi-fenilserina (L-DOPS) que como precursor de la NA atraviesa la barrera hematoencefálica e incrementa los niveles de NA extracelular para la acelerar la recuperación de la función motora.^{10,18,20} Por otro lado, este efecto no se observa cuando se lesiona bilateralmente al locus ceruleus después de efectuada la lesión cortical experimental.^{56,57} Estos resultados favorables en la recuperación funcional motora experimental han sido considerados en el tratamiento de rehabilitación de humanos que han sufrido algún trastorno cerebrovascular, con el fin de contrarrestar las secuelas motoras mediante la administración de anfetaminas y complementado con la terapia física y de este modo se ha manifestado mejoría en la función motora de los pacientes tratados. Crisostomo y cols.,⁵⁸ han reportado una mejoría significativa de la función motora de los pacientes tratados empleando estos criterios. Esto sugiere que los mecanismos de recuperación funcional motora observados en animales experimentales pueden ser muy semejantes a los del humano.³³ Sin embargo, hasta la fecha es el único estudio controlado que se ha realizado en humanos.

4.4. Fisiopatología de la Lesión Cortical

4.4.1. Datos epidemiológicos

La TBI es una de las lesiones más comunes en la sociedad moderna y la de mayor atención hospitalaria, asimismo es una de las principales causas de muerte y de discapacidad. Los registros más recientes estiman que anualmente se presentan 52 mil muertes asociadas a la TBI y otros 70 mil pacientes sufren de algún déficit neurológico, entre tanto la incidencia para la TBI leve se estima en 131 casos por cada 100 mil habitantes, mientras que para los casos moderados son de 15 por cada 100 mil y para los casos severos es de aproximadamente 14 por cada 100 mil habitantes.^{2,59}

Max y cols.,⁶⁰ sugirieron que más del 90% de los casos de TBI, son sujetos menores a los 35 años de edad y el 50% de ellos son menores de 15 años, por lo que la edad infantil presenta la más alta incidencia.

4.4.2. Mecanismos subyacentes a la lesión traumática cerebral focal

Inmediatamente después de ocurrida la lesión cerebral, se genera la muerte instantánea de un gran número de neuronas en el área del trauma y otra cantidad quizás la mayor muere progresivamente en un periodo de horas o semanas por la cascada de efectos secundarios, ocasionando y prolongando el déficit neurológico específico, como la hemiparesis.^{5,24,61,62} Entre los efectos involucrados en el daño neurológico está la hemorragia subyacente al trauma y generada por la ruptura de vasos que invaden al espacio extracelular, ocasionando efectos secundarios de daño, como la depresión metabólica, vasospasmo, hipoxia, isquemia, estrés oxidativo, alteración de la permeabilidad de la membrana plasmática del axon (axolema) y edema cerebral.^{62,63}

Entre las respuestas bioquímicas se puede señalar la alteración de las catecolaminas, la expresión de genes y neurotoxicidad.⁶²⁻⁶⁶ Después de la lesión traumática cerebral la liberación de glutamato activa a los canales de calcio, induciendo incremento de Ca^{2+} intracelular y este activa a la fosfolipasa A_2

citósica, provocando la degradación de fosfolípidos de la membrana y el incremento de los ácidos grasos libres, incluido el ácido araquidónico el cual es responsable de la producción de radicales hidroxilos y este de la peroxidación lipídica.⁶⁷ Por lo anterior se ha sugerido que la inhibición de la fosfolipasa C y la fosfolipasa A2 citósica, pueden ser una alternativa en el tratamiento de la lesión traumática cerebral, debido a que las fosfolipasas contribuyen a la muerte celular después de la isquemia cerebral y el trauma, donde las neuronas son más susceptibles al daño que las células gliales. La muerte es por necrosis, ya que está asociada a la inflamación, alteración de la permeabilidad de la membrana, liberación del contenido celular e hinchazón y también puede ser por apoptosis, ya que las células presentan fragmentación de DNA y retracción.⁶⁸

4.4.3. Lesión traumática axonal

La lesión traumática axonal (TAI; traumatic axonal injury) está asociada con el déficit funcional considerado como secundario a la deafferentación o pérdida de las conexiones que llegan a la neurona. Se ha sugerido que una vez que la lesión traumática ocurre se produce la alteración focal del axón, seguido por el impedimento del transporte axonal debido a la hinchazón y por último su desconexión puede ocurrir en horas o días después del daño.⁶⁹

Durante el daño traumático axonal, se ha reportado la alteración de la permeabilidad del axolema y la pérdida de la homeostasis iónica que pueden llevar hasta la desconexión de aferentes. Por otro lado, se han sugerido tres etapas durante el daño axonal *post* lesión traumática cerebral, de las cuales la primera comprende la alteración bioquímica de Na⁺, Ca²⁺, Cl⁻ y K⁺ lo cual facilita la hiperexcitotoxicidad, mientras que en la segunda etapa se presenta daño al citoesqueleto lo que altera el transporte axoplásmico. Durante la tercera, que se considera secundaria a la axotomía, se presenta alteración bioquímica y anormalidades estructurales. En las tres etapas antes descritas no se considera a

la axotomía mecánica generada durante el daño, ya que esta presenta características de daño irreversibles.⁷⁰ La axotomía es un método comúnmente usado para producir la muerte de neuronas distantes al área lesionada que involucra al proceso apoptótico acompañado de especies reactivas, las cuales a la vez pueden ser la vía que induce la necrosis en la degeneración retrograda progresiva, asimismo, se ha observado que la lesión al neocórtex, origina la muerte de las neuronas del tálamo, mientras que la ablación de la corteza visual produce la muerte de las neuronas del núcleo geniculado.^{24,61}

4.4.4. Cambio microvascular

Se ha sugerido que los cerebros traumatizados son susceptibles a la hipoxia e isquemia,⁷¹ debida a la lesión de los vasos sanguíneos, que da origen a la interrupción del flujo sanguíneo microvascular, seguido de la cascada de eventos como la activación de factores de coagulación, alteración del líquido extracelular e incremento de la permeabilidad capilar, infiltración de las células inflamatorias, proteasa y radicales que participan en el daño celular.⁷²

La lesión cortical produce hemorragia y la sangre que se libera se distribuye en el espacio extracelular, conduciendo al vasoespasmo y a la isquemia cerebral contribuyendo a los procesos de daño asociados al estrés oxidativo.⁶³ Asimismo la lesión traumática se ha asociado a los cambios microvasculares que después de la hemorragia contribuyen en algunos de los efectos secundarios, ocasionando cambios fisiológicos como la pérdida de la autorregulación cerebrovascular, la reducción de la respuesta a los cambios de CO₂ y probablemente los cambios bioquímicos ocasionados por la liberación de catecolaminas.^{73,74} Por otro lado, la formación del edema en el sitio de la lesión se ha identificado en las primeras 2 hrs de ocurrido el daño, mientras en regiones distantes o remotas del cerebro se ha detectado después de las 24 hrs.⁷⁵

La barrera hematoencefálica (BBB) y la lámina basal, son las dos barreras anatómicas y funcionales que proporcionan la integridad al transporte de solutos y a la trasmigración de las células sanguíneas. Cuando se produce la lesión en la BBB se ha observado la adhesión de leucocitos, cambios microvasculares en las primeras horas de la isquemia, disfunción de las células endoteliales, extravasación de componentes plasmáticos y la formación de edema, mientras en la lámina basal se ven reducidos algunos de sus componentes como la fibronectina y laminina e infiltración de eritrocitos.⁷²

4.4.5. Inyección intracortical del hierro y daño oxidativo

Se ha observado que aproximadamente el 5% de los pacientes con lesión traumática cerebral desarrollan epilepsia postraumática, la cual se observa con mayor frecuencia en las lesiones penetrantes y focales, mientras en modelos experimentales el análisis morfológico después de la lesión por inyección de hierro produce cicatrices postraumáticas similares a las observadas en los humanos, mostrando gliosis y depósitos de hierro en los macrófagos y en las neuronas, así también se observan neuronas eosinófilas dispersas en el hipocampo de ambos hemisferios.⁷⁶

El sistema nervioso central (SNC) utiliza el 20% del oxígeno total del cuerpo, además de estar compuesto por altas concentraciones de ácidos grasos poliinsaturados, siendo entonces susceptible al daño oxidativo producido principalmente por aquellas sustancias generadoras de radicales libres como el hierro.⁷⁷⁻⁷⁹ Las alteraciones en el metabolismo de este metal implican un daño celular progresivo e incluso desórdenes neurodegenerativos, debidos a su acumulación.^{78,79} Además se ha implicado que el daño oxidativo en las terminaciones nerviosas puede producir cambios en el transporte de los neurotransmisores, resultando alteración de la función del SNC.⁸⁰

La inyección intracerebral del cloruro ferroso (FeCl_2) o cloruro férrico (FeCl_3), genera diferentes efectos como los cambios conductuales descritos como rotaciones contralaterales a la lesión observados después de la inyección del FeCl_2 en la sustancia nigra, pero estos cambios conductuales no son observados cuando se administra el hierro en el estado férrico a cualquier dosis. Asimismo se ha observado que la inyección de FeCl_3 en el cuerpo estriado, los efectos que induce son débiles y limitan la expresión de genes inmediatos tempranos, mientras que la inyección de FeCl_2 produce una expresión de genes prominente e incluso en áreas remotas.⁷⁷

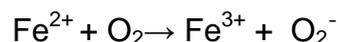
Las evidencias que sugieren que el hierro férrico puede potenciar a la peroxidación lipídica, en contraste al hierro ferroso.⁸¹ Por el contrario, ensayos *in vitro* de neuronas corticales inmaduras, señalan que los iones de hierro ferroso, pero no el férrico, previenen el incremento intracelular de Ca^{2+} libre seguido de la activación del receptores N-metil-D-aspartato (NMDA), sugiriendo que los iones ferrosos pueden inducir la muerte neuronal por la vía de los radicales libres, pero no a la cascada de calcio originada por la apertura de los canales NMDA y esto puede ser posible debido a la interferencia del hierro ferroso con los mecanismos de apertura en los canales a través de un sitio localizado en la superficie extracelular de la membrana.⁸²

La inyección de hierro produce peroxidación lipídica, iniciada por los radicales libres al extraer un átomo de hidrogeno de las cadenas de los ácidos grasos poliinsaturados de las membranas fosfolipídicas^{83,84} y donde la participación de los iones de hierro ferroso (Fe^{2+}) y férricos (Fe^{3+}) en la producción de radicales libres está documentada.^{78,85,86} Asimismo se ha mostrado en los estudios *in vivo*, que la inyección intracortical de 5 μl de FeCl_2 (100 mM), inducen peroxidación lipídica,^{87,88} al igual que a concentraciones más bajas, como 50, 25 y 16 mM.^{87,89} Por otro lado las concentraciones de 5 ó 50 mM contenidos en 1 μl de vehículo ocasionan cambios en la conducta motora.⁷⁷ No obstante, el hierro es un elemento

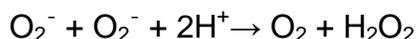
esencial y también posee acciones tóxicas relacionadas en los desórdenes neurológicos como la epilepsia, stroke o ictus, la enfermedad de Parkinson, Huntinton y Alzheimer^{77,90-92} y, además, el FeCl₂, está implicado en la expresión de genes inmediatos tempranos, edema focal, incremento de glutamato vía c- aconitasa y alteración de la actividad antioxidante.^{77,88,89,93-95}

4.4.5.1. Reacción de Fenton

Cuando la forma libre del ión Fe²⁺ supera los niveles basales, las enzimas transportadoras son insuficientes y la actividad antioxidante está disminuida, el exceso de hierro puede desencadenar procesos neurodegenerativos.^{79,96} El hierro en el estado de oxidación ferroso F (II) o Fe²⁺ tiene la capacidad de reducir al oxígeno y producir el radical superóxido (O₂⁻):



Dos moléculas de O₂⁻ pueden reaccionar espontáneamente o enzimáticamente a peróxido de hidrógeno (H₂O₂) y una molécula de oxígeno (O₂):



El Fe²⁺ puede catalizar la descomposición de peróxidos y formar el radical hidroxilo (OH[·]):



Mientras que el F (III) o Fe³⁺ puede ser restaurado a Fe²⁺, debido a varios reductores, como el ascorbato, tioles y el anión superóxido (O₂⁻).^{78,97,98} El OH[·] es considerado mucho más tóxico y reactivo que O₂⁻ y el H₂O₂, así también se ha

descrito que los radicales O_2^- pueden difundirse desde el sitio de origen de formación hacia otros lugares, originando muerte neuronal.⁹⁸⁻¹⁰⁰

4.4.6. El papel de la NA durante la lesión traumática

La corteza cerebral es una de las áreas que recibe más axones noradrenérgicos que proyecta el LC.²¹ Por lo anterior, la lesión traumática cerebral está asociada con la alteración de la NA en la corteza cerebral y en el LC¹⁰¹ y se ha observado que a los 30 min después de la lesión se produce el incremento de la NA alrededor del área lesionada,¹⁷ proseguido por la reducción gradual entre las 6-24 hrs después de ocurrida la lesión.¹⁶

Se ha sugerido que el incremento de la NA observado después de la lesión traumática, ocasiona la estimulación de los receptores β adrenérgicos localizados en los astrocitos corticales y de este modo, se estimula a la adenil ciclase seguido de la síntesis del AMP cíclico para inducir factores de transcripción que regulan los genes asociados con el metabolismo del glucógeno.^{102,103} Se ha discutido que lo anterior puede ser la razón por la cual se observan astrocitos reactivos con depósitos de gránulos de glicógeno en la periferia del área lesionada por el trauma¹⁰³ y es probable que el incremento de la NA promueva la glucógenolisis.¹⁰⁴

Entre otros efectos protectores involucrados con el incremento NA pasada la lesión traumática, se describe la participación en la estabilización de la barrera hematoencefálica en áreas adyacentes situadas debajo del área lesionada, ya que se ha observado que el bloqueo de los adrenoceptores alfa 1 produce el incremento del edema.¹⁰⁵

4.4.6.1. Propiedades antioxidantes de la NA

Se ha sugerido que las catecolaminas participan como posibles inhibidores de la peroxidación lipídica causada por radicales libres.¹⁰⁶ Esto podría explicar en parte la alteración de estas aminas a nivel cerebral después de la exposición al ozono, un generador de radicales libres.^{107,108} El incremento de las catecolaminas podría ser también una respuesta defensiva del organismo ante el ataque de los radicales libres. Esta sugerencia ya ha sido previamente manejada por Liu y Mori,¹⁰⁹ quienes concluyeron que además de ser neurotransmisores podrían tener propiedades antioxidantes.

4.5. Plasticidad Después de la Lesión Cerebral

4.5.1. Reorganización plástica cerebral *post* lesión traumática

En los últimos años se ha definido a la plasticidad cerebral, como la capacidad intrínseca de reorganización estructural y funcional del SNC, en compensación a la alteración de su ontogenia.¹¹⁰⁻¹¹³ En otras palabras es la capacidad del cerebro de adaptarse ante una situación adversa.

Johansson,¹¹⁴ señaló que existen evidencias, donde se describe alguno de los mecanismos de la plasticidad cortical en animales adultos y cita al estudio morfológico de Jones y Schallert publicado en 1992, donde observaron que la lesión cortical en la rata, produce en la corteza homotópica del hemisferio contralateral a la lesión, el incremento de ramas dendríticas de las neuronas piramidales de la capa V. Por otro lado, en el humano se han observado algunos indicios de plasticidad cerebral en diferentes etapas de la vida después de las lesiones cerebrales o alguna otra patología del SNC.^{115,116}

De este modo, también existen evidencias de plasticidad cerebral en regiones adyacentes o distantes, pero comunicadas al sitio de daño por alguna vía

neuronal, como el circuito córtico-ponto-cerebeloso y justamente en el cerebelo se ha observado reorganización metabólica después de la lesión traumática cerebral.¹¹⁷ Mientras en los modelos animales se ha observado la participación noradrenérgica después de la lesión de este circuito.^{56,118,119} Estos hallazgos han permitido proponer algunas estrategias farmacológicas para acelerar la recuperación funcional.^{8,9,33,118}

4.5.2. Recuperación funcional después del daño cortical

4.5.2.1. Definición

Brailowsky y Piña,¹¹⁰ definen a la recuperación funcional: “Como una tendencia a un estado similar al anterior a una lesión, que se manifiesta por la ejecución de las actividades realizadas por un organismo después de la lesión neural, independientemente de los mecanismos conductual, bioquímico y electrofisiológico subyacentes”.

4.5.2.2. Recuperación funcional motora

En el humano se ha observado que las lesiones traumáticas cerebrales producen limitaciones funcionales de los brazos y de tipo ambulatorias, que para algunos de los casos, estos impedimentos funcionales pueden tener efectos reversibles a corto o largo plazo dependiendo de la magnitud de la lesión.^{1,120} Además se ha observado que la recuperación funcional motora puede acelerarse o prolongarse por varios meses o años, ya que parece que la recuperación funcional es proseguida después de la activación de los mecanismos de plasticidad cerebral.^{1,120,121}

Esto ha llevado a implementar pruebas para medir a la recuperación funcional motora y una de ellas es la escala Brunnstrom, donde las calificaciones más altas

definen a la recuperación de las extremidades después de la lesión.¹²⁰ Por otro lado, se han utilizado otros métodos para medir algunos de los cambios metabólicos y funcionales después de la lesión traumática cerebral, como la tomografía computarizada por la emisión de fotón único (SPECT), la tomografía por la emisión de positrones (PET) y los potenciales motores evocados (MEPs; motor evoked potentials).¹²¹⁻¹²³

La lesión cortical experimental ha mostrado que produce la alteración de la función motora, sin embargo, no se ha estudiado detenidamente la recuperación funcional mucho menos se tiene una ventana farmacológica específica para revertir el daño postraumático, pero si existen evidencias importantes, donde se demuestra que la administración de algunas sustancias como la NA y los antioxidantes pueden producir efectos benéficos que se manifiestan en la aceleración de la recuperación funcional motriz, asimismo se ha observado que otras sustancias que bloquean a los receptores alfa 1 o la lesión adicional del LC la prolongan y por esto se ha concluido que el proceso de la recuperación motora *post* lesión, está en función al tipo de lesión y a otros factores como la edad y la susceptibilidad del sujeto, ya que son determinantes para acelerarla o prolongarla.⁶⁻¹⁰

Para medir el déficit de la función motora a nivel experimental se cuenta con la impresión de la huella en la rata adulta, que nos permite observar la alteración de la función locomotora en modelos animales con alteraciones neurológicas, dado que la locomoción en las ratas es muy consistente y cuantificable.^{15,124,125} Por otro lado esta prueba también se ha utilizado como un indicador funcional después de la pérdida axonal progresiva en el SNC.¹²⁵ Asimismo es posible que el análisis de la huella pueda mostrarnos la recuperación funcional motora después de la lesión traumática cerebral.

La prueba de la barra de equilibrio es un método muy recurrido en la investigación para mostrar la alteración de la función motora después de la lesión traumática cerebral, además contiene criterios sencillos que permiten evaluar las secuelas motoras en la rata adulta.⁶⁻¹⁰ Se ha observado con esta prueba que la inyección de algunas sustancias como las anfetaminas o la inyección sistémica de la L-DOPS, se acelera la recuperación funcional.^{8,54} En cambio con la inyección de sustancias depresoras de la excitabilidad cortical como la fenitoína la prolongan.⁷

Como ya hemos mencionado, la recuperación de la función motora puede ser prolongada o acelerada por factores asociados a la lesión, sin embargo, la intervención farmacológica para acelerarla aún no es muy convincente.^{10,33}

4.5.2.3. Diasquisis

Dentro de las teorías más aceptadas sobre la recuperación funcional, tenemos a la teoría de la diasquisis (del griego “hendirse”), que fue propuesta por el neurólogo alemán Constantin von Monakow en 1914 y describe los efectos funcionales transitorios o permanentes de una lesión que aparecen en regiones lejanas o adyacentes, pero conectadas al sitio primario de daño y es sustentada por los hallazgos provenientes de una variedad de modelos de daño cerebral.^{110,118,126-130} Sin embargo, fue Kempinsky en 1966, quien propuso los criterios para la diasquisis, que describen: 1) la presencia de una lesión cerebral circunscrita, 2) bases neuronales para los efectos depresivos o depresión de funciones, 3) la participación de una estructura del sitio de daño original y que como mínimo debe existir una sinapsis entre la estructura dañada y la afectada por la diasquisis, 4) la identificación de fibras que intervienen y 5) el proceso debe ser reversible.^{110,130,131}

Se han descrito a tres subtipos de diasquisis: (1) diasquisis córtico-espinal, observada en el trauma de la corteza motora que produce la pérdida de la función

dentro del cordón espinal por la progresión a lo largo del tracto piramidal; (2) diasquisis comisural, descrita en las lesiones traumáticas unilaterales de la corteza cerebral resultando la pérdida de la función en la región contralateral del cerebro por la progresión a lo largo de las conexiones axonales del cuerpo caloso; y (3) diasquisis asociativa, observada en las lesiones traumáticas de un área cortical resultando la pérdida de la función en áreas corticales cercanas o intactas pero conectadas por las fibras intracorticales.¹³²

4.5.2.3.1. Diasquisis cortical-cerebelar

Entre los tipos de diasquisis antes mencionados y que von Monakow hacia referencia hace ya casi un siglo y fue en las últimas décadas del siglo XX, cuando se logró incluir a la diasquisis del cerebelo contralateral (DCC) después de las lesiones cerebrales traumáticas o vasculares, siendo esta la más documentada y aceptada. Se ha definido para los casos reportados en los humanos como la reducción del flujo sanguíneo y/o del metabolismo del cerebelo contralateral.^{117,130,133} Asimismo, se ha sugerido para los humanos y los modelos experimentales, que la diasquisis cortical-cerebelar es causada por la depresión funcional del circuito córtico-ponto-cerebeloso, asumiendo que existe una interconexión entre las proyecciones que se originan en las neuronas noradrenérgicas a nivel del puente y de las estructuras que las reciben, como la corteza y el cerebelo. Por esto, es posible que la depresión funcional observada en este circuito sea debida a la desaferentación de los axones la corteza cerebral durante el daño y por los efectos secundarios.^{25,117,130,133}

En los modelos experimentales de lesión traumática cerebral que manifiestan la alteración de la función motora, también han aportado evidencias bioquímicas que involucran la participación de la NA dentro de los mecanismos que describen a la diasquisis cortical-cerebelar, registrando en los resultados el incremento inmediato de este neurotransmisor seguido por la reducción gradual a horas *post* lesión. Esta

depresión noradrenérgica se ha correlacionado con el déficit motor y contrarrestada con la inyección de NA (150 µg/5 µl de vehículo) en el cerebelo contralateral al hemisferio lesionado, facilitando la recuperación de la función motora.⁸ Para comprobar los cambios de los niveles de la NA intracerebelares se ha empleado la técnica in vivo denominada como microdiálisis que consiste en el implante de una sonda intracerebelar, mediante el uso de coordenadas estereotáxicas. Esta sonda se caracteriza por poseer una membrana de diálisis semipermeable para ciertas sustancias, que pasan al interior de la sonda por el principio de difusión, mientras en el interior de la misma hay un flujo constante de líquido cefalorraquídeo artificial el cual es extraído y analizado. Con esta técnica se ha observado que la inyección del sulfato de anfetamina (2 mg/kg) incrementa la liberación de la NA cerebelar, observando el retorno a niveles similares a los observados antes de la inyección entre las 22-24 horas post inyección.²³

Otra evidencia bioquímica que hace referencia a algunos de los mecanismos de la diasquisis cortical-cerebelar es el trabajo descrito por Serteser y cols.,¹²² donde demostraron con el modelo de isquemia focal, a través de la oclusión de la arteria cerebral media en la rata, que se producen cambios corticales y cerebelares en los hemisferios ipsilaterales y contralaterales a la oclusión, mediante la determinación de indicadores de la peroxidación lipídica y de óxido nítrico en la primera hora *post* oclusión. Entre los resultados más importantes fue descrito el incremento del malondialdehído (MDA) como producto de la peroxidación lipídica en la corteza cerebral en ambos hemisferios, pero con un incremento mayor y significativo en el hemisferio ipsilateral. Este incremento fue descrito a nivel del cerebelo, pero con niveles mayores y significativos en el hemisferio contralateral. Estos resultados de MDA sugieren una correlación con los resultados que mostraron las concentraciones de dieno (producto del radical lipídico) conjugados, otro indicador de peroxidación lipídica. Mientras tanto, los niveles de nitritos como indicadores del óxido nítrico (ON) se hallaron aumentados en ambos hemisferios de la corteza cerebral, con un incremento mayor y significativo en el lado ipsilateral, en el

cerebelo no fueron encontrados cambios significativos. El ON es uno de los mensajeros retrógrados, es decir, es una de las sustancias pequeñas que viajan en sentido inverso al de la transmisión nerviosa clásica y se ha asociado con la activación de la enzima guanilato ciclasa vía receptores NMDA, enzima precursora del guanosin-monofosfato cíclico (GMPc) y este es uno de los mensajeros que influirá en la función de membranal, metabólica y genética de las células gliales y las neuronas. Los resultados de Serteser y cols.,¹²² mostraron la presencia de GMPc en la corteza cerebral y en el cerebelo. Por estos hallazgos se apoya a la hipótesis de la diasquisis bioquímica cortical-cerebelar y estos autores concluyeron que los mecanismos de la DCC pueden ser debidos a la interrupción del circuito córtico-pontino-cerebelar.

La DCC en los humanos ha sido observada a través del uso de métodos no invasivos como la tomografía computada de emisión de fotones únicos (SPECT; Single Photon Emisión Computed Tomography) y por la tomografía por emisión de positrones (TEP).¹²² La TEP es una técnica cara y poco difundida que permite medir el consumo cerebral de glucosa, grado de acidez (pH), la síntesis de proteínas cerebrales y la distribución de receptores. Consiste en un aparato de detección de partículas gamma, en donde el paciente es colocado y una vez fijada la cabeza se le inyecta al paciente por vía sistémica una sustancia radiactiva emisora de positrones (e+) que colisionan con un electrón (e-), generando dos rayos gamma en un ángulo de 180° que salen del tejido cerebral para ser detectados y reconstruidos por el equipo de computo para la elaboración del mapa metabólico del cerebro. Por otro lado la SPECT, es una técnica que permite medir el flujo sanguíneo cerebral y mediante algunas adaptaciones permite también conocer la distribución de neuroreceptores y consiste en la inyección de sustancias gamma.

4.5.2.3.2. Diasquisis cerebelar-cortical

Como se ha mencionado, existen una variedad de reportes de la diasquisis cortical-cerebelar seguida de las lesiones traumáticas o de origen vascular. Sin embargo, los reportes de casos diasquisis cerebelar-cortical son muy escasos, pero existen las evidencias de ellos.^{134,135} El trabajo más reciente que muestra a la diasquisis cerebelar-cortical es el de Hausen y cols.,¹³² describen un caso de una paciente de 36 años de edad que sufrió una hemorragia cerebelar y mostraba signos de ataxia, disimetría y nistagmus. Días después la paciente desarrolló impulsividad profunda, nistagmus, desinhibición y agitación psicomotora. Con la imagen de la resonancia magnética axial se logró observar que el hemisferio cerebelar tenía características hemorrágicas, debido a la ruptura de una malformación arteriovenosa cerebelar del hemisferio derecho, mientras con la SPECT, se mostró la disminución de la perfusión de ambos lóbulos temporales y frontales con la consistente pérdida regional de la actividad neural. Los autores explicaron que este evento puede ser debido a las interconexiones existentes entre el cerebelo y los lóbulos temporales y frontales.

5. Justificación

La investigación sobre cuales son los mecanismos plásticos cerebrales que participan en la recuperación funcional durante el déficit neurológico que manifiestan los sujetos con daño cerebral, ha llevado a proponer al déficit de la noradrenalina cerebelar como la desencadenante del déficit motor.^{8,10} Así que, determinar el comportamiento de los niveles de la noradrenalina cerebelar y pontina en la recuperación funcional motora después de la lesión traumática cortical, se deriva de la necesidad de desarrollar alguna estrategia farmacológica para favorecer la recuperación en pacientes con daño cerebral.

La mayoría de las lesiones traumáticas experimentales son extensas y escasamente específicas, lo que dificulta obtener cerebros traumatizados similares, asimismo los modelos de paretis contralateral de recuperación espontánea²³ no permiten el estudio de los mecanismos plásticos cerebrales, como lo sucedido en el humano que comprende largos periodos de recuperación¹²⁰ por lo que es necesario desarrollar modelos que la retarden. Esta progresión contribuiría a establecer el periodo crítico de la lesión y el periodo de recuperación para desarrollar métodos de tratamiento farmacológico en sujetos con daño cerebral mediante el uso de dosis adecuadas. Se debe de considerar que las experiencias clínicas más recientes parecen indicar que los resultados de experimentos con animales son muy semejantes a los resultados logrados en humanos.³³

6. Objetivo general

Estudiar la participación noradrenérgica pontina y cerebelar después de la lesión traumática en la corteza motora y su participación en la recuperación funcional motriz, mediante la cuantificación de NA por cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC) y la medición de las secuelas conductuales por medio de la barra de equilibrio y la impresión de la huella.

6.1. Objetivos particulares

- 1) Proponer un nuevo modelo hemiparético de recuperación funcional motora.
- 2) Validar la prueba de la impresión de la huella por medio de la comparación de estos registros con las calificaciones obtenidas en la barra de equilibrio.

7. Hipótesis

Si la lesión cortical produce un cuadro hemiparético transitorio, además del déficit de la noradrenalina cerebelar, la cual es suministrada por el locus ceruleus pontino y si el hierro produce radicales libres que matan progresivamente a las células, entonces la inyección del hierro en la corteza motora ocasionará la lesión cortical y esta a la vez producirá la alteración de la función motriz y de los niveles de noradrenalina cerebelares y pontinos.

8. Material y Métodos

8.1. Animales

Se utilizaron 42 ratas machos de la estirpe Wistar de 300 a 350 g de peso corporal, que fueron mantenidas en cajas de acrílico individuales y recibieron una dieta comercial de Harlan 2018S y agua purificada *ad libitum*. Además, tuvieron ciclos de luz/oscuridad de 12 hrs, temperatura en el rango de 18 a 22 °C y una humedad relativa entre el 40 y 70%. Los animales se manejaron de acuerdo a las especificaciones para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio (NOM-062-ZOO-1999).¹³⁶

8.2. Prueba para evaluar la función motora post lesión

8.2.1. Impresión de la huella

Para el análisis de la función motora se utilizaron 32 ratas que previamente fueron entrenadas para pasar con las patas entintadas a través de un corredor de 1 metro de largo, donde se colocó una tira de papel para obtener la impresión de la huella y medir el largo (L), ancho (A) y ángulo (An) de la zancada (figura 3), de acuerdo al procedimiento descrito por González-Piña y cols.¹³⁷

Este método permite cuantificar la actividad motriz de manera precisa en los modelos animales que presentan alguna enfermedad neurológica.¹⁵

8.2.2. Barra de equilibrio

De modo similar a la impresión de la huella las ratas fueron entrenadas para pasar sobre una barra de madera de 2.5 cm de ancho por 2 m de largo, con una

altura de 50 cm y dividida en cuatro regiones. Este método permite el desplazamiento de las ratas en una sola dirección a partir de un extremo a otro, utilizando su caja de dormir para evitar alguna distracción, permitiendo la evaluación de la función motora utilizando los siguientes criterios de la figura 4, sugeridos por Brailowsky y cols.⁶

8.3. Cirugía

Después del entrenamiento las ratas fueron anestesiadas con ketamina-xilacina (100mg/kg-5mg/kg) por la vía intraperitoneal y una vez anestesiadas se montaron en un aparato estereotáxico. Aplicando una incisión cráneo caudal del hueso frontal al hueso occipital y una vez expuesto el cráneo, se realizó un trépano sobre la corteza motora representativa del miembro posterior izquierdo utilizando las coordenadas 2 mm posterior a bregma y 2 mm lateral a la línea media.¹³⁸ Después fue colocada una aguja metálica de calibre 18 sin bisel como guía y con la punta anclada sobre la duramadre sin perforarla, después fue fijada al cráneo con acrílico dental y asegurada con un tornillo de fijación. Posteriormente los animales fueron suturados con hilo quirúrgico de calibre 00 y se les administró un cicatrizante tópico (furazolidona) y un antibiótico general (tilosina 10 mg/kg intramuscular) durante 3 días.

8.4. Distribución de los grupos

Después de la cirugía las ratas fueron divididas en dos grupos de manera aleatoria: control (n = 16) y experimental (n = 16), ambos grupos fueron a la vez divididos en dos subgrupos para la determinación de NA (control, n = 8 y experimental, n = 8) y de peroxidación lipídica (control, n = 8 y experimental, n =

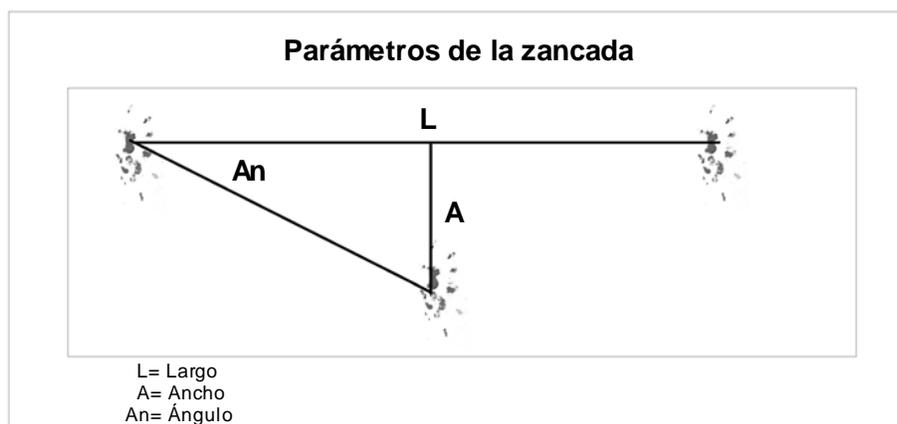


Figura 3. Muestra los parámetros de la zancada de la rata, obtenida a partir de la impresión de la huella.

Escala de evaluación para el déficit motriz*

Descripción	Escala	Porcentaje dividido en barra	Suma total (rango)
Sin déficit aparente	0		0
Base de apoyo amplia (4 dedos por fuera de la tabla a manera bilateral)	1		1 - 4
Hipotonía (cojera)	2	(1= 25%	2 - 8
Menos de 3 resbalos y/o 4 dedos por fuera de la tabla a manera unilateralmente	3	2 = 50 %	3 - 12
		3 = 75 %	
Caída o más de 3 resbalos	4	4 = 100 %)	4 - 16
Arrastre de los miembros	5		5 - 20
Incapacidad de la marcha	6		6 - 24

Cuadro 1. Muestra los criterios de evaluación utilizados para evaluar el déficit motor, usando la escala (0 a 6) que describe el grado de déficit, por ejemplo; la rata que pasó por las cuatro regiones dejó cuatro calificaciones que pueden ser como las siguientes: 2, 1, 3 y 0, donde cada una de estas representarán el 25% del porcentaje dividido en la barra y el resultado final será la suma de las cuatro calificaciones. * Modificado de Brailowsky y cols.⁶

8). Cabe mencionar que a los 20 días después de la obtención de los registros conductuales fueron requeridos otras 10 ratas con condiciones similares a los antes descritos que fueron sacrificados a los 2 días post lesión, para la determinación de noradrenalina (n = 5) y peroxidación lipídica (n = 5).

8.5. Protocolo experimental.

Un día después de la cirugía se realizaron todos los registros basales de la conducta motora e inmediatamente después se procedió con la inyección de las soluciones. Las ratas del grupo experimental recibieron la inyección intracortical de 5 μ l de la solución de líquido cefalorraquídeo artificial (LCA) compuesto de NaCl (125 mM), KCl (3 mM), CaCl_2 (1.3 mM), MgCl_2 (1 mM) y NaHCO_3 (2.3 mM), ajustado a un pH 7.2 y que contenía el cloruro ferroso ($\text{LCA}+\text{FeCl}_2$) a 50 mM. Mientras al grupo control solo se le administraron 5 μ l de LCA. Para la inyección se introdujo en la guía una aguja de calibre 23G biselada, la cual ya estaba conectada a la bomba de inyección y esta estaba calibrada para inyectar 10 μ l por cada 5 minutos. Para la conexión de la aguja a la bomba se requirió de micro mangueras de teflón de calibre menor a 1 mm. Además, la longitud de esta aguja fue ajustada de tal modo que al momento de la inyección se introdujera en la corteza un diámetro no mayor de 1.5 mm, con el propósito de que la inyección de las soluciones se realizara a un 1 mm de profundidad de la corteza motora. La inyección de las soluciones se realizó con los animales fuera de efectos anestésicos, para simular las condiciones naturales que ocurren con mayor frecuencia en el hombre durante la lesión traumática cerebral.

Después de 24 horas *post* inyección de las soluciones, se procedió con los registros conductuales cada 24 horas, durante 20 días. Finalizada la sesión los animales fueron sacrificados por decapitación para la extracción del cerebelo y el puente, usando un corte sagital por la línea media para obtener los respectivos

hemisferios y estos fueron procesados para la determinación de la NA y la peroxidación lipídica. La porción restante del cerebro de los animales lesionados se colocó en formol buffer (10%), para su posterior caracterización histológica de la lesión por medio de la técnica Nissl, que fue necesaria para el análisis de la lesión traumática ocasionada por la inyección de las soluciones.

8.6. Análisis de la peroxidación lipídica

Una vez seccionados el puente y cerebelo en sus respectivos hemisferios derecho e izquierdo, se procedió con la determinación de los productos fluorescentes lípidos solubles (LFP) usando el índice de peroxidación lipídica acorde con la técnica descrita por Triggs y Willmore,¹³⁹ modificada por Santamaría y Ríos.¹⁴⁰ Las muestras fueron pesadas y homogenizadas en 3 ml de NaCl al 0.9%. Una alícuota de 1 ml del sobrenadante se añadió a 4 ml de cloroformo metanol diluido 2:1. Después de agitarlo, la mezcla fue colocada a hielo seco durante 30 minutos para permitir la separación y la fluorescencia de la fase de cloroformo fue medida en un espectrofotómetro de luminiscencia Perkin-Elmer LS50B a 370 nm de excitación y 430 nm emisión de longitud de onda. La sensibilidad del espectrofotómetro fue ajustada a 150 unidades de fluorescencia con una solución estándar de quinina (0.1 µg/ml). Los resultados fueron expresados en unidades de fluorescencia/mg de tejido fresco.

8.7. Análisis de la noradrenalina

Para la determinación de la NA, el puente y cerebelo fueron divididos en sus respectivos hemisferios y se colocaron en tubos para centrifuga (10 ml), que previamente habían sido etiquetados y pesados en una balanza analítica (SARTORIUS mod. BAI10S). Los tubos se volvieron a pesar y el peso del tejido se

calculó mediante la diferencia de ambos pesos. Inmediatamente después se agregaron 0.5 ml de solución antioxidante que contenía en 500 ml de agua 2.7 ml de ácido perclórico (HClO_4) al 70% y 0.5g de metabisulfito de sodio. El tejido fue homogeneizado y centrifugado a 15, 000 rpm durante 10 minutos. El sobrenadante fue inyectado a un cromatógrafo de líquidos de alta resolución (Perkin-Elmer Isocratic LC Pump 250) acoplado con un detector electroquímico amperométrico (Metrohm 256), mediante una válvula de inyección (Reodyne) y un loop de 20 μl . La separación de la noradrenalina se hizo mediante una columna específica (ALLTECH, Adsorbosphere catecholamine C18 100 X 4.8 mm, 3 μm of particle size), utilizando una fase móvil que contuvo en 2000 ml de agua 0.32 g de EDTA, 1.2 g de octil sulfato de sodio y 8 g de fosfato de sodio monobásico, que antes de la solución de agua metanol 83.5:16.5 fue ajustada a un pH de 3.1. Los picos se integraron mediante un sistema de computo (PE NELSON 900 Series Interfase), con un programa (Turbochrom Method File) al que previamente fue calibrado mediante soluciones de concentración conocida del neurotransmisor a analizar. La concentración de las muestras problema se calculó mediante la interpolación de la regresión construida con el estándar utilizado en la calibración y se expresaron en nM/mg de tejido fresco. Otra cantidad del sobrenadante se utilizó para medir el contenido de proteínas por el método de Lowry.¹⁴¹

8.8. Análisis estadístico

Los resultados son expresados con la media \pm error estándar y se utilizó un nivel de probabilidad menor al 5 %. En las leyendas de las figuras se usó las abreviaturas LCA que describe al líquido cefalorraquídeo artificial y mientras que la FeCl_2 describe al cloruro ferroso.

Para estimar la distribución normal de la media (m), se aplicó la prueba de normalidad por el procedimiento Anderson-Darling del sistema SAS para Windows

(versión 8).¹⁴²

El cálculo del porcentaje de cambio de los parámetros de la impresión de la huella (ángulo, largo y ancho), consistió en multiplicar por 100 a cada uno de los datos obtenidos por día del periodo *post* lesión y después fue dividido entre el registro basal, para que finalmente se le restara 100. Este procedimiento fue aplicado en cada dato por rata, hasta obtener la estadística descriptiva y después los resultados fueron integrados a sus respectivos grupos. Para la comparación de las medias de los dos grupos, se usó la prueba t para grupos independientes del paquete estadístico SAS.¹⁴²

Los resultados de la barra de equilibrio fueron obtenidos a partir de variables ordinales y fue necesaria una alternativa no paramétrica para la prueba t y se aplicó la prueba de la suma de rangos de Wilcoxon del paquete estadístico SAS para muestras independientes.^{142,143}

Para el análisis de los resultados de NA, peroxidación lipídica y proteínas totales, se empleó el procedimiento GLM del paquete estadístico SAS para el análisis de varianza y después de obtener una prueba *F* significativa en el análisis de varianza se utilizó la prueba de Tukey para comparaciones pareadas múltiples entre medias.¹⁴²

9. Resultados

Los resultados obtenidos mostraron en, términos generales, alteraciones importantes en la función motora después de la lesión cortical mediante la inyección intraparenquimal de FeCl₂. Se observó una aparente correlación entre las secuelas conductuales de daño y los efectos sobre los niveles de la NA y de peroxidación lipídica, tanto en puente como en cerebelo.

9.1. Impresión de la huella

La figura 4 muestra el porcentaje de cambio del largo de la zancada de las ratas que fueron evaluadas durante 20 días después de provocar la lesión cortical, donde se observó que el grupo lesionado con FeCl₂, mostró la tendencia de incremento en el largo de la zancada a partir del segundo día post lesión y se conservó hasta el quinto día y solo fueron encontradas diferencias significativas al contrastar el día 3 ($17.8 \% \pm 2.22$; $P = 0.0086$) del grupo experimental, con el grupo control. Además se observó la tendencia de recuperación a partir del sexto día, donde no se observaron diferencias significativas, por lo tanto, esta tendencia se conservó hasta el día 20 post lesión. Esto permite señalar que los registros representados en los días 12 y 16, mostraron una tendencia sobre la línea que representó al registro basal (0 % de cambio), donde los animales aún no padecían la lesión traumática, sin embargo, estos mismos retornaron al siguiente día.

La figura 5 indica el porcentaje de cambio del ángulo de la zancada de las ratas evaluadas durante 20 días después de lesión cortical, donde se muestra la reducción del ángulo de la zancada de las ratas lesionadas con hierro y, además, mostraron diferencias significativamente en los días 2 ($-5.24 \% \pm 3.08$; $P = 0.013$), 3 ($-8.00 \% \pm 3.13$; $P = 0.021$), 4 ($-5.5 \% \pm 2.87$; $P < 0.014$) y 5 ($-3.33 \% \pm 1.19$; $P = 0.007$), después de realizar las comparaciones respectivas con el grupo control.

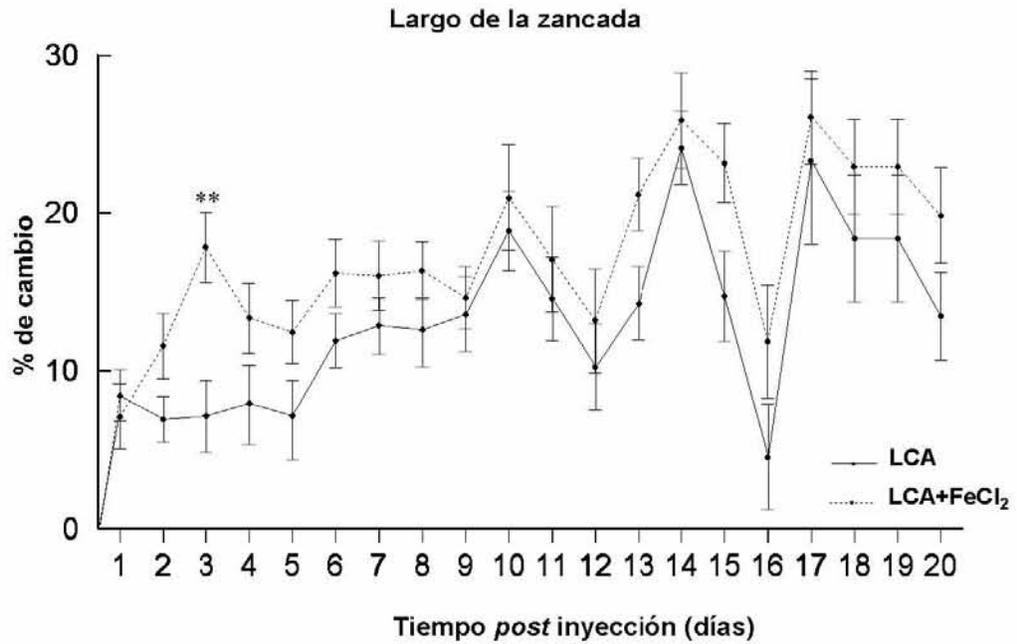


Figura 4. Porcentaje de cambio del largo de la zancada de las ratas experimentales (LCA+FeCl₂) y controles (LCA) evaluadas durante 20 días. Los valores son expresados como promedios ± error estándar ** $P < 0.01$ vs el grupo control.

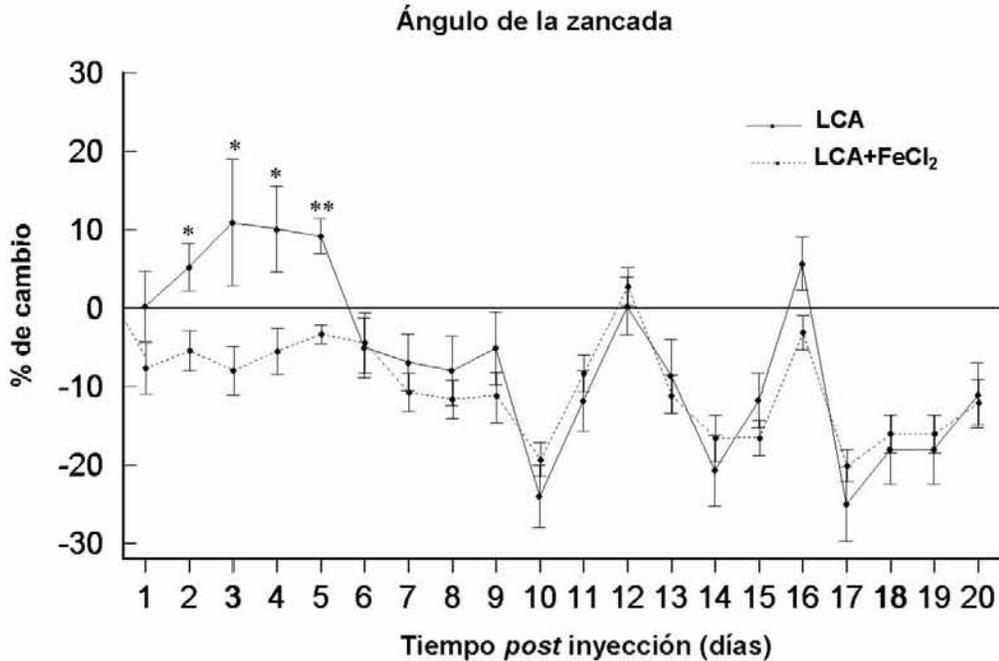


Figura 5. Porcentaje de cambio del ángulo de la zancada de las ratas experimentales (LCA+FeCl₂) y controles (LCA) evaluadas durante 20 días. Los valores son expresados como promedios ± error estándar * $P < 0.05$ y ** $P < 0.01$ vs el grupo lesionado.

Asimismo, se observó la recuperación del ángulo de la zancada a partir del sexto días *post* lesión y se conservó esta tendencia hasta el día 20. Como dato adicional se observó en los días 12 y 16 la tendencia de incremento del ángulo de la zancada sobre la línea basal para ambos grupos sin observarse diferencias significativas, sin embargo, ambos picos retornaron al siguiente día de registro.

La figura 6 indica el porcentaje de cambio del ancho de la zancada de las ratas evaluadas durante 20 días *post* lesión y la comparación de ambos grupos por día no mostraron cambios significativos.

9.2. Barra de equilibrio

La figura 7 muestra el déficit motor obtenido a partir de la evaluación sobre la barra de equilibrio durante 20 días, donde el grupo experimental mostró un incremento significativo del déficit motor en los días 1 (19 % de déficit motor; $P = 0.0023$), 2 (29 %; $P = 0.0001$), 3 (32 %; $P = 0.0009$), 4 (28 %; $P = 0.001$), 5 (24 %; $P = 0.0001$), 6 (13 %; $P = 0.0126$), 8 (12.9 %; $P = 0.0014$) y 9 (8 %; $P = 0.0019$), con respecto al grupo control que mostró un promedio no mayor del 3.9 % de déficit motor. Asimismo, en el día 7 se observó recuperación parcial, sin embargo, los 2 días siguientes (día 8 y 9) mostraron nuevamente el incremento significativo del déficit motor hasta el día 10, donde el grupo experimental mostró recuperación y se conservó la tendencia de restablecimiento motor hasta los 20 días *post* lesión.

9.3. Análisis de la noradrenalina

La figura 8 muestra el contenido de la noradrenalina cerebelar después de la lesión cortical, donde el grupo control no mostró niveles detectables en sus respectivos hemisferios, asimismo el grupo experimental a los 2 días *post* lesión,

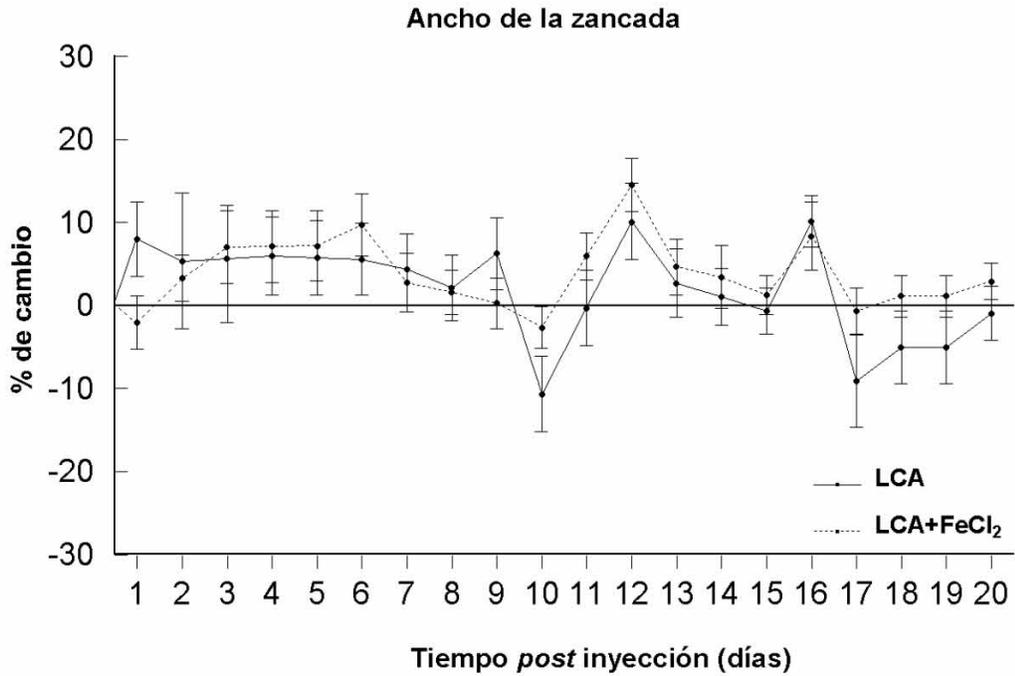


Figura 6. Porcentaje de cambio del ancho de la zancada de las ratas experimentales (LCA+FeCl₂) y controles (LCA) evaluadas durante 20 días. Los valores son expresados como promedios ± error estándar.

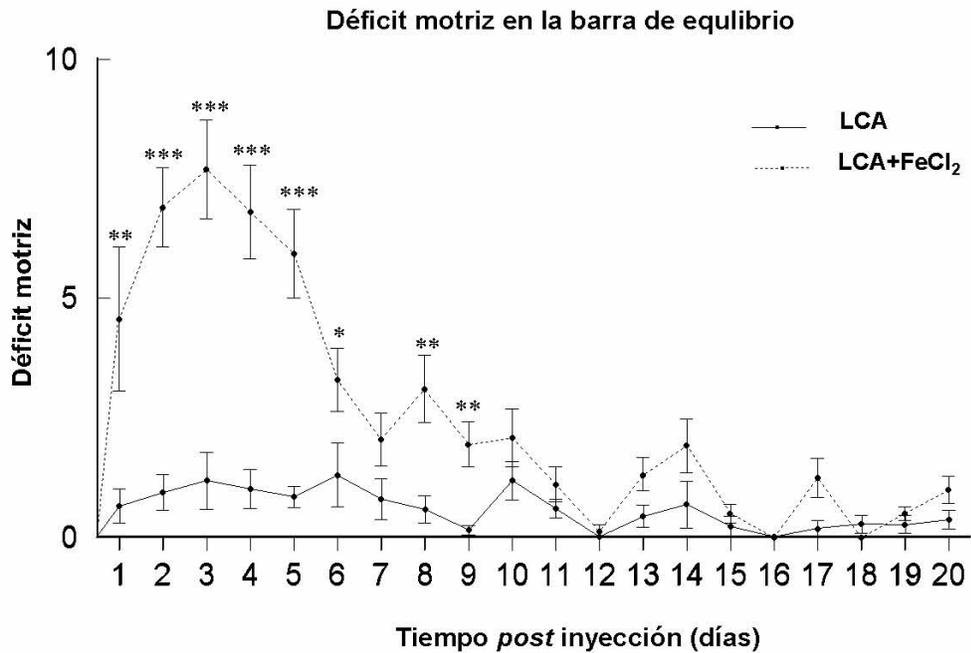


Figura 7. Déficit motor de las ratas experimentales (LCA+FeCl₂) y controles (LCA) evaluadas durante 20 días. Los valores son expresados como promedios ± error estándar * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ y *** $P < 0.001$ vs sus respectivos grupos controles.

no mostró diferencias significativas en ambos hemisferios después de realizar las comparaciones respectivas con los grupos controles.

En cambio el grupo experimental a los 20 días *post* lesión, mostró elevados los niveles de la NA cerebelar en sus respectivos hemisferios, derecho ($F_{2, 18} = 3.81$; 3.78 ± 1.88 nM/mg; $P = 0.0416$) e izquierdo ($F_{2, 18} = 8.68$; 11.06 ± 4.87 nM/mg; $P = 0.0023$), después de realizar las comparaciones respectivas con los grupos controles, esto permite mencionar también la diferencia significativa que mostraron los grupos experimentales contrastados en el hemisferio izquierdo, sin embargo, el contraste en el hemisferio derecho de los grupos lesionados con hierro no mostraron diferencias significativas. Como dato adicional, se observa en el hemisferio izquierdo que el contenido de la NA a los 20 días después de la lesión con hierro mostró un incremento con respecto al hemisferio derecho de aproximadamente un 200 %, sin embargo, este incremento no mostró diferencias significativas.

La figura 9 indica el contenido de NA del puente en sus respectivos hemisferios, donde se muestra a los 2 días después de la lesión con hierro, la reducción de la NA pontina a niveles no detectables en los hemisferios, derecho ($F_{2, 18} = 11.21$; $P = 0.0007$) e izquierdo ($F_{2, 18} = 5.24$; $P = 0.0161$), así mismo se observó el restablecimiento del contenido de la NA a los 20 días después de la lesión con hierro y estos niveles no mostraron diferencias significativas cuando se realizó la comparación con el grupo control en sus respectivos hemisferios. Como dato adicional estos resultados pontinos fueron semejantes en ambos hemisferios.

9.4. Análisis de la peroxidación lipídica

La figura 10 muestra la peroxidación lipídica del cerebelo, donde ambos hemisferios no mostraron diferencias significativas ($P > 0.05$) en los días 2 y 20

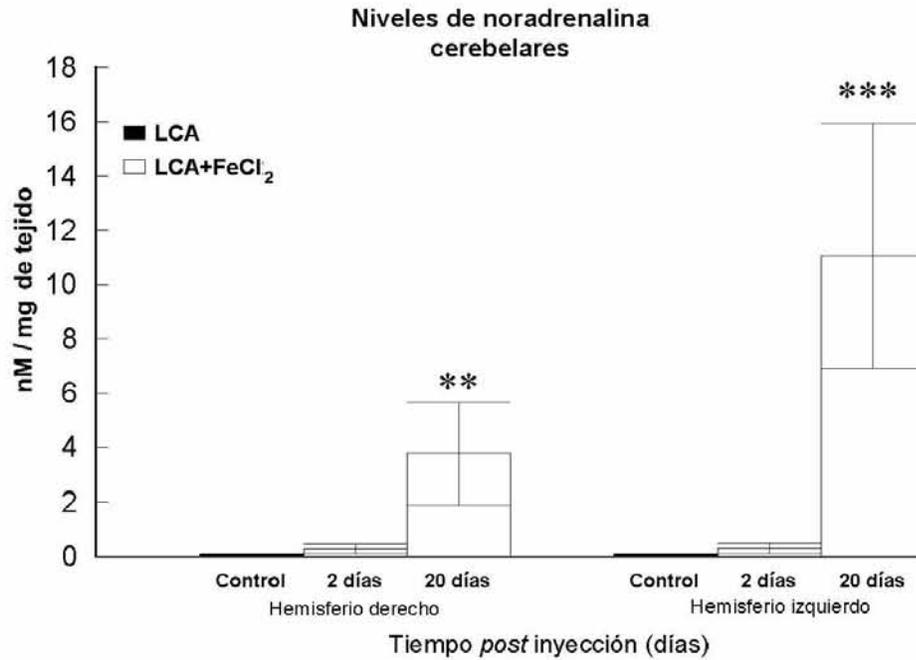


Fig. 8. Contenido de la NA cerebelar (nM/mg de tejido fresco) de las ratas experimentales (LCA+FeCl₂) y controles (LCA), evaluados a los 2 y 20 días *post* lesión. Los valores son expresados como promedios \pm error estándar ** $P < 0.05$ vs su respectivo grupo control. *** $P < 0.01$ vs sus respectivos grupos, lesión y control.

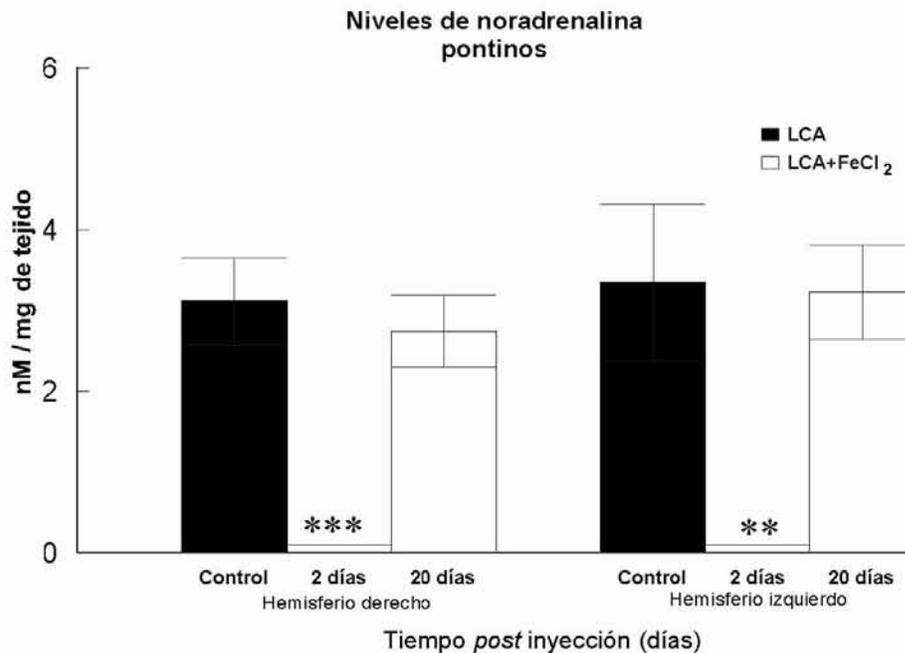


Fig. 9. Contenido de NA pontina (nM/mg de tejido fresco) de las ratas experimentales (LCA+FeCl₂) y controles (LCA), evaluados a los 2 y 20 días *post* lesión. Los valores son expresados como promedios \pm error estándar *** $P < 0.01$ vs sus respectivos grupos, lesión y control. ** $P < 0.05$ vs sus respectivos grupos, lesión y control.

post lesión, después de realizar las comparaciones con sus respectivos grupos controles. En cambio a los 20 *post* lesión, el grupo experimental mostró disminuida la peroxidación lipídica en los hemisferios, derecho ($F_{2, 14} = 4.36$; 0.056 ± 0.038 UF/mg; $P = 0.0337$) e izquierdo ($F_{2, 14} = 4.14$; 0.057 ± 0.045 , $P = 0.0407$), después de contrastarlos con sus respectivos grupos experimentales con escasos 2 días *post* lesión.

La figura 11 indica la peroxidación lipídica del puente, donde se mostró el incremento significativo de la peroxidación lipídica al segundo día *post* lesión para ambos hemisferios, derecho ($F_{2, 14} = 5.18$; 197.4 ± 11.58 UF/mg; $P = 0.0207$) e izquierdo ($F_{2, 14} = 5.47$; 207.60 ± 7.97 UF/mg; $P = 0.0176$), después de compararlos con sus respectivos grupos controles. Asimismo, ambos hemisferios del puente mostraron a los 20 días *post* lesión, el retorno de la peroxidación lipídica a niveles similares al grupo control.

9.5. Análisis de proteínas totales

La figura 12 y 13 muestran el contenido de proteínas totales cerebelares y pontinos, donde en ambos hemisferios no se encontraron diferencias significativas.

9.6. Histología

La figura 14 indica las muestras representativas del sitio de la inyección a los 2 y 20 días *post* lesión en dos cortes coronales de la corteza cerebral. Con aumento X 3.2 se logra observar con más detalle el sitio de lesión en el hemisferio derecho, para esto se utilizó la técnica histológica de Nissl, donde se muestra que la lesión solo afectó a la corteza motora y no a otra estructura adyacente, además se

observó la trayectoria intracortical y la profundidad de la aguja, que fue de aproximadamente 1.0 mm. Asimismo, se utilizó como referencia la sección coronal correspondiente del atlas estereotáxico del cerebro de la rata de Paxinos y Watson,¹⁴⁴ donde se muestra el sitio de la lesión y la profundidad aproximada. La observación de la trayectoria de la aguja en el sitio de inyección fue utilizada como criterio para descartar del estudio aquellos animales que mostraran la lesión mecánica sobre estructuras adyacentes a la corteza cerebral.

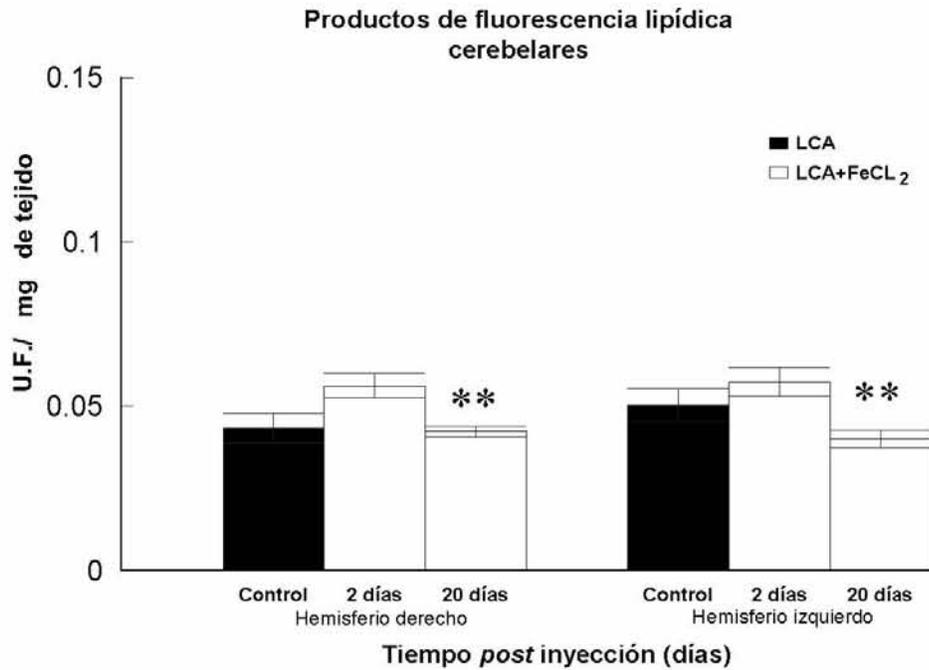


Fig. 10. Peroxidación Lipídica cerebelar (U.F./mg de tejido) de las ratas experimentales (LCA+FeCl₂) y controles (LCA), determinada a los 2 y 20 días *post* lesión. Los valores son expresados como promedios ± error estándar ** $P < 0.05$ vs sus respectivos grupos lesionados.

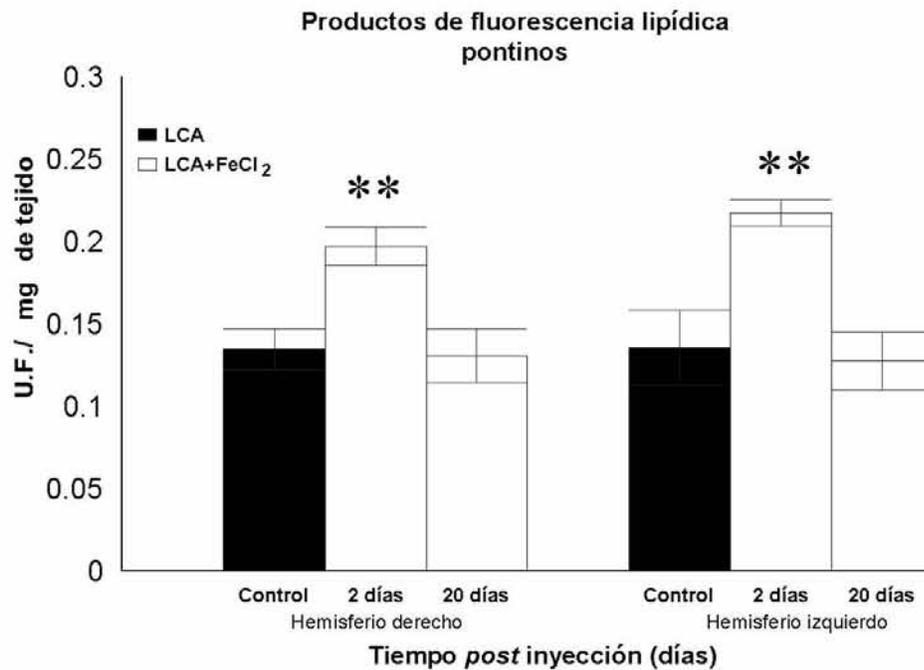


Figura 11. Peroxidación lipídica del puente (U.F./mg de tejido) de las ratas experimentales (LCA+FeCl₂) y controles (LCA), determinada a los 2 y 20 días *post* lesión. Los valores son expresados como promedios ± error estándar ** $P < 0.05$ vs sus respectivos grupos, lesión y control.

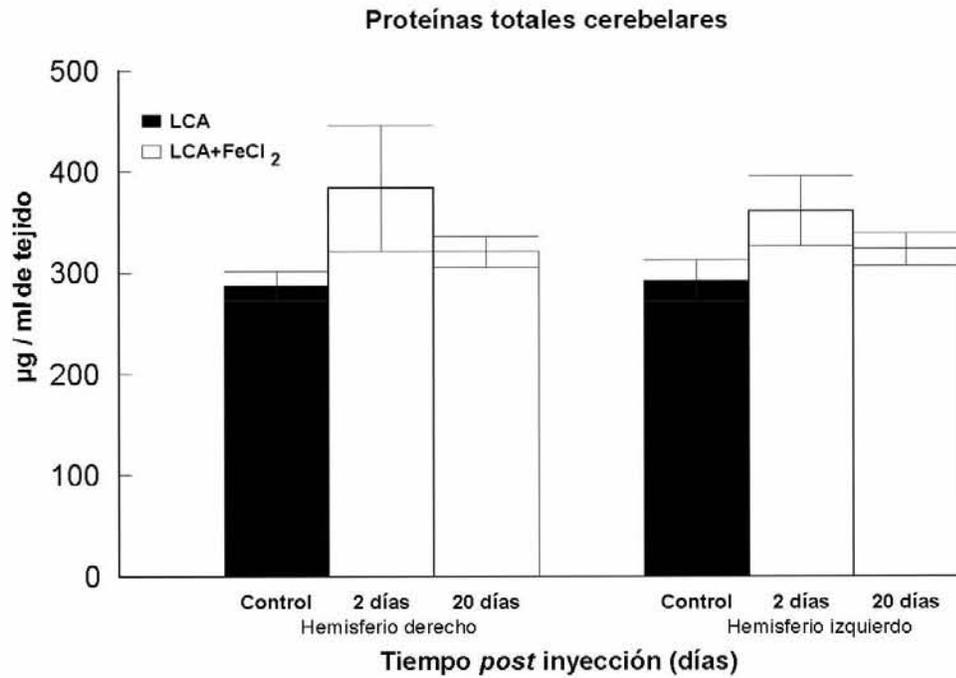


Fig. 12. Proteínas totales cerebelares ($\mu\text{g/ml}$ de tejido) de las ratas experimentales (LCA+FeCl₂) y controles (LCA), determinada a los 2 y 20 días *post* lesión. Los valores son expresados como promedios \pm error estándar.

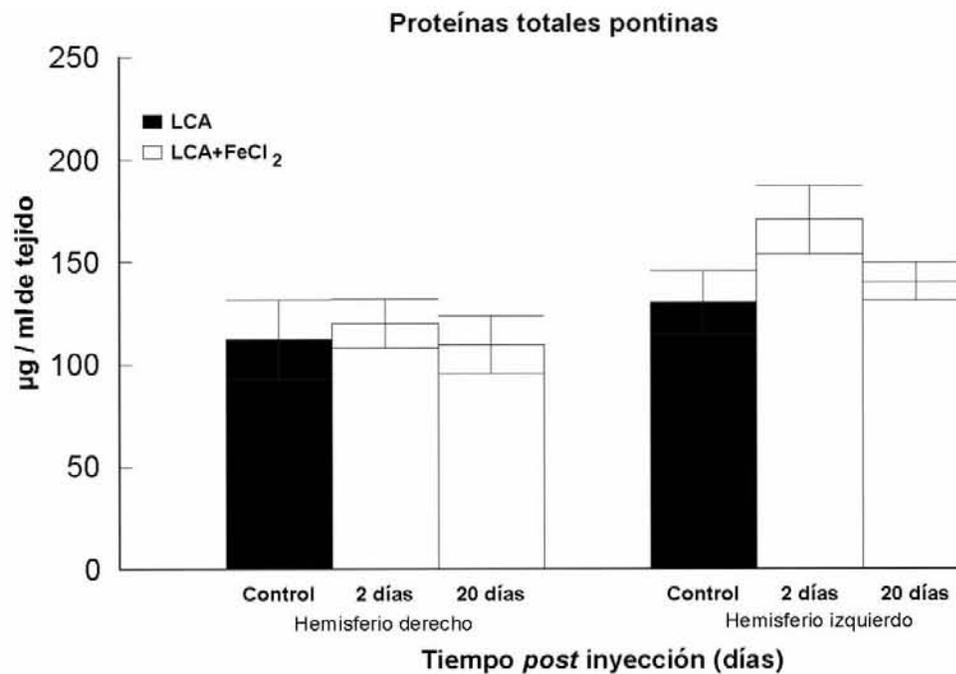


Fig. 13. Proteínas totales pontinas ($\mu\text{g/ml}$ de tejido) de las ratas experimentales (LCA+FeCl₂) y controles (LCA), determinada a los 2 y 20 días *post* lesión. Los valores son expresados como promedios \pm error estándar.

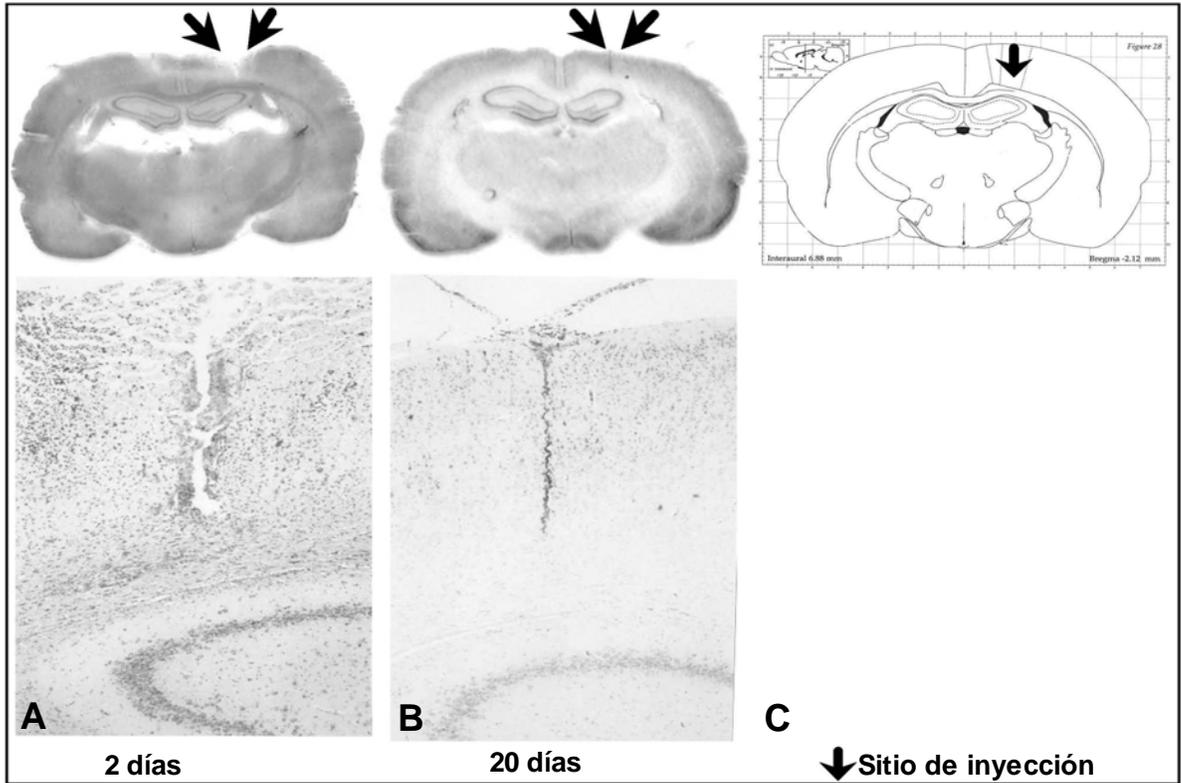


Figura 14. Secciones coronales del sitio de inyección fueron localizadas y aumentadas (X 3.2) para mostrar la trayectoria y la profundidad del sitio de inyección, producido con una aguja del calibre 23G a los 2 (A) y 20 (B) días post inyección correspondiente al atlas estereotáxico de rata que se tomó como referencia del atlas de Paxinos y Watson,¹⁴⁴ donde se muestra el sitio aproximado de la lesión (C).

10. Discusión

El presente estudio mostró que la inyección intracortical del FeCl_2 , originó la alteración de la función motora, observada a través del análisis de la impresión de la huella y por la barra de equilibrio, lo que demuestra que este tipo de lesión es capaz de inducir los mismos cambios reportados por otros autores utilizando otros modelos.^{6,7,9} Además estos resultados sugieren una correlación con el periodo crítico de la lesión, donde el inicio de este periodo solo difirió un día, asimismo ambas pruebas confirman que el día 3 post lesión fue el más crítico, mientras los días 6 y 7 sugieren la recuperación de la función motora. Esto permite mencionar que la similitud más evidente fue entre el ángulo de la zancada y el déficit motor obtenido por la barra de equilibrio, mientras el largo de la zancada solo mostró esta tendencia, con la excepción del día 3 que fue la única diferencia significativa encontrada. Estos resultados permiten proponer al análisis de la impresión de la huella y en particular al ángulo de la zancada como un indicador para evaluar a la alteración motora después de la lesión específica sobre la corteza representativa del miembro posterior izquierdo.¹³⁷

Por otro lado se ha sugerido que después de la lesión cortical o vascular, se genera un incremento en la glucólisis, seguido de la depresión o diasquisis metabólica.^{122,145} Asimismo, se ha sugerido que antes de ocurrir la depresión noradrenérgica se produce el incremento de la NA extracelular a los 30 minutos después de la TBI, estos cambios se han localizado alrededor del sitio de daño y entre otras posibles estructuras se ha citado al cerebelo^{17,23} y al puente.¹³⁷ En los estudios *in vitro* se ha demostrado en las células corticales el incremento de la concentración extracelular de AMP cíclico vía adenil ciclasa, durante la administración de agonistas β -adrenérgicos y se consideró que este mensajero parece estar involucrado con la respuesta glucogenolítica de los astrocitos en las condiciones anóxicas e isquémicas *post* TBI.^{102,146-148} Además se ha sugerido que la NA facilita la liberación del glutamato en las terminales presinápticas de las

células piramidales de la capa V de la corteza prefrontal media y esta acción puede ser contrarestanda con el bloqueo de los receptores alfa 1.¹⁴⁹ También se ha involucrado la participación de la NA en la estabilización de la barrera hematoencefálica y la activación mitogénica en las áreas adyacentes al sitio de daño.^{35,105}

No obstante, seguido al incremento de la NA en las áreas adyacentes y distantes al daño, ocurre la reducción gradual del neurotransmisor entre las 6 y 24 horas *post* lesión cortical, mientras en el cerebelo puede prolongarse hasta las 48 horas.^{16,150} Los resultados obtenidos en este trabajo mostraron la reducción de la NA a las 48 horas *post* lesión en el puente. Considerando las relaciones anatómicas que existen entre la corteza, el puente y el cerebelo y que se ha sugerido que las lesiones corticales producen el fenómeno de la diasquisis cortical-cerebelar y las lesiones cerebelares a la diasquisis cerebelar-cortical, es de esperar que cualquiera de estos mecanismos se encuentren involucrados en la expresión de los efectos observados en el presente estudio. También se ha reportado que la lesión cortical produce el déficit de la noradrenalina^{8,10,18,23,35} y que esta depresión noradrenérgica puede ser considerada como una posible diasquisis bioquímica.¹²² Estos estudios mantienen concordancia con nuestros resultados, ya que se mostró que la lesión específica con hierro en el área representativa del miembro posterior izquierdo ocasionó en ambos hemisferios del puente el déficit de la NA a los 2 días *post* lesión y esta depresión noradrenérgica sugiere una correlación con la alteración de la función motora, lo cual sugiere que la depresión noradrenérgica posiblemente se pudo mantener durante los días críticos *post* lesión observados mediante los efectos conductuales. Además se mostró que durante la recuperación se observó simultáneamente el restablecimiento de los niveles de la NA, lo que demuestra que nuestro modelo es capaz de mostrar los efectos transitorios conductuales y bioquímicos que apoyan a la diasquisis. Por otro lado existen evidencias que describen que la recuperación de las secuelas motoras puede prolongarse por la denervación de las vías

noradrenérgicas y/o por el bloqueo de los adrenoceptores alfa 1 después de la TBI cortical unilateral,^{56,119,151-153} o acelerada por la inyección de agonistas y/o precursores noradrenérgicos, además de sustancias neuroprotectoras como *Ginkgo Biloba*.^{8,9,10,18,23,154} Esto permite señalar que los estudios que describen tanto el incremento como la reducción gradual de la NA, utilizan técnicas *in vivo* o tejido de áreas específicas para el análisis de la NA extracelular, mientras nuestros resultados expresan el contenido del hemisferio total y mostramos con el déficit de la NA pontina a la diasquisis cortical-pontina, pero no descartamos la posibilidad de la diasquisis cortical-cerebelar después de la lesión por hierro.

Después de la lesión traumática experimental en las áreas corticales adyacentes a la lesión se ha descrito la expresión de genes,⁶⁴ mientras en áreas remotas como el cerebelo se ha mostrado que esta estructura es susceptible por lo que se ha observado cambios en la actividad eléctrica.³⁰ Asimismo, el presente estudio mostró el incremento de la NA cerebelar a los 20 días post lesión. También se ha sugerido que el incremento de la NA observado a los 30 minutos después de la lesión, puede ser que por su efecto postsináptico, la NA sea la activadora de los mecanismos que mantienen la plasticidad a largo plazo, además de otras respuestas como la estabilización de la barrera hematoencefálica, regulación de energía y efectos antioxidantes, que minimizan las consecuencias funcionales y se ha sugerido que más de este tipo de respuestas ocurren entre los días 7-10 *post* lesión,³² además se ha concluido que la conservación o el estímulo farmacológico de la función del LC aceleran la recuperación funcional post lesión, mientras que las lesiones del LC la retrasan.³⁵ Esto puede sugerir que durante la lesión crónica como la que simula nuestro estudio, la recuperación puede prolongarse, además el incremento de la NA a los 20 días *post* lesión sugiere ser una evidencia del estado crónico que compensa la depresión sufrida,^{25,35} también este incremento observado puede estar regulando adrenoceptores específicos, como los receptores beta 1 y beta 2, donde estos parece que responden a niveles mayores de NA con respecto a los adrenoceptores alfa.²⁹ Hay que considerar que a los 20

días *post* lesión se realizó el último registro sobre la barra de equilibrio y por el corredor, actividades que, aunque se utilizan para medir la alteración motora, también pueden constituirse como sesiones de ejercicio que facilitan el disparo de los mecanismos plásticos después del daño cerebral.¹⁵⁵ Por otro lado se ha observado que la administración de las anfetaminas después de la lesión cortical provoca la liberación de la NA en el cerebelo,²³ mientras que la exposición crónica puede inhibir la afinidad de NA y obviamente su función.¹⁵⁶ Esto es importante debido a que los últimos estudios donde se administra noradrenalina al cerebelo⁸ o algún precursor¹⁰ facilitan la recuperación motora después de la lesión cortical y se ha concluido que la modulación de la actividad de las neuronas cerebelares esta regulada por subtipos de adrenoceptores específicos que responden a ciertos niveles o tiempo de exposición de la NA.²⁹

Como se ha mencionado, la corteza cerebral recibe numerosas proyecciones de las neuronas noradrenérgicas provenientes del puente,¹⁵⁷ asimismo se ha reportado que la lesión cortical traumática produce además de la axotomía, la alteración de la permeabilidad del axolema y transporte axónico, por lo que las neuronas denervadas presentarán vulnerabilidad al daño excitotóxico y al estrés oxidativo.^{22,69} Mientras tanto las que permanecen intactas alrededor del sitio de daño, serán la vulnerables al daño oxidativo ejercido por la presencia del hierro, como generador de radicales libres por la vía de Fenton y otros los efectos secundarios seguidos a la lesión. Los hallazgos anteriores, proporcionan elementos que apoyan a nuestros resultados que describen el incremento de la peroxidación lipídica pontina a los 2 días después de la lesión cortical y es posible que a nivel del LC las defensas antioxidantes no sean suficientes para contener la peroxidación lipídica a limites basales como se observa en algunas de las enfermedades neurodegenerativas,¹⁵⁸ mientras en los modelos de isquemia cerebral se ha reportado en el cerebelo la presencia productos de peroxidación lipídica como evidencia bioquímica de la diasquisis que involucra a la interconexión córtico-pontino-cerebelar.¹²² Otro trabajo que muestra como la

interconexión ocasiona efectos a distancia es el trabajo de Agarwala y Kalil,⁶¹ adonde se observó que la axotomía por ablación de la corteza visual induce la muerte de las neuronas del núcleo geniculado. Asimismo se ha señalado que la muerte de estas neuronas es ocasionada por mecanismos apoptóticos de neurodegeneración retrograda, asociada al daño oxidativo e involucrando al radical OH[·] catalizado por alguna vía como la de Fenton.²⁴

En contraste nuestro trabajo, no mostró peroxidación lipídica cerebelar. En cambio, estos mismos niveles se mostraron reducidos significativamente a los 20 días *post* lesión cortical, al contrastarlo con el grupo FeCl₂ que corresponde a los 2 días *post* lesión. Este hallazgo puede indicarnos, que después del TBI por la inyección de hierro, activó a las defensas antioxidante del cerebelo por alguna vía del circuito córtico-ponto-cerebelar, involucrando posiblemente a la vía noradrenérgica, dado a que mostramos también en el puente la peroxidación lipídica, además es posible que el incremento de NA observado 20 días *post* lesión, participe en parte como antioxidante para contrarrestar la peroxidación lipídica en nuestro estudio,¹⁰⁹ además este incremento se involucre con los mecanismos de recuperación de la función motora, como sugieren nuestros resultados. Como se ha descrito, el cerebelo opera asociado con la corteza motora y se ha sugerido como organizador y/o reforzador del movimiento, por consiguiente, su lesión total o parcial altera la función motora, reflejados en los trastornos de la postura y del movimiento²⁸ y de esta manera la alteración de la NA y la peroxidación lipídica son la evidencia bioquímica que muestran para este trabajo los efectos a distancia, mientras el trastorno neurológico fue observado con la conducta motora. Por lo anterior Morton y Bredt,¹⁵⁹ sugieren que la NA está involucrada en la producción de importantes mensajeros intracelulares de plasticidad neural y otros autores destacan los mecanismos observados *in vitro* donde describen a la hiperpolarización de canales iónicos y la liberación de neurotransmisores en las terminales nerviosas de las células de cesta cerebelares.^{160,161} Mientras en los estudios en humanos que sufrieron la lesión

traumática, muestran una reorganización de los mecanismos mediados por GABA y del metabolismo de la glucosa.¹¹⁷ Por otro lado se ha señalado, que el incremento de la NA cerebelar pueden estar involucrada en los mecanismos de plasticidad a largo plazo.³²

Para los humanos traumatizados aún no existe una estrategia farmacológica convincente que revierta las secuelas motoras, sin embargo, es posible que los efectos benéficos de la NA sugeridos en el cerebro de la rata puedan también ocurrir en el cerebro del humano y estos se reflejen en la recuperación funcional motora. Además, otro inconveniente es la selección adecuada de los fármacos que con aparentes efectos benéficos como el haloperidol (tranquilizante), diazepam (ansiolítico) y la fenitoína (anticonvulsivo), en la práctica puedan conducir a un tratamiento que agrave las secuelas motoras de los sujetos con daño cerebral y prolonguen la recuperación funcional como se ha demostrado en la rata.^{7,33} Es necesario abordar nuevos estudios experimentales y enfocarlos en el manejo adecuado de la dosis y los tiempos de administración de los fármacos que se pretendan emplear después de suscitarse la lesión traumática cerebral.

11. Conclusión

Nuestros resultados mostraron que el modelo de lesión traumática cortical con la inyección de cloruro ferroso ocasionó la alteración de la función motora, donde esta sugiere una correlación entre la prueba de la barra de equilibrio y la impresión de la huella. Así la impresión de la huella ofrece las ventajas necesarias para su uso en modelos donde se pretenda evaluar el déficit motor.

Asimismo, se comprobó con este modelo propuesto que la lesión cortical ocasionó la reducción de la NA pontina durante el déficit motor y se muestra la vulnerabilidad del puente al daño oxidativo después de la lesión cortical, además se propone al sistema noradrenérgico que proyecta aferencias a la corteza como el blanco específico después del daño, sin descartar la vulnerabilidad de algún otro sistema.

También se observó la participación del cerebelo durante el periodo de recuperación de la función motora, donde se mostró con el incremento de la noradrenalina y la actividad antioxidante, la participación cerebelar en algunos mecanismos que inducen la recuperación funcional, además es posible que estas evidencias permitan mostrar la vulnerabilidad funcional del cerebelo después de las lesiones corticales.

Estos resultados mostraron en los primeros cinco días el periodo crítico de la lesión motora, una posible ventana farmacológica como estrategia para revertir las secuelas motoras, con el uso específico de análogos o precursores de NA y antioxidantes, que faciliten la recuperación funcional. Manteniendo la premisa que las observaciones obtenidas en los modelos animales, han presentado una similitud con los resultados obtenidos en el humano.

12. Referencias

1. Katz DI, White DK, Alexander MP, Klein RB. Recovery of ambulation after traumatic brain injury. *Arch Phys Med Rehabil* 2004; 85: 865-869.
2. Franckeviciute E, Krisciunas A. Peculiarities of physical therapy for patients after traumatic brain injury. *Medicina (Kaunas)* 2005; 41: 1-6. <http://medicina.kmu.lt>.
3. Gentile AM, Green S, Nieburgs A, Schmelzer W, Stein DG. Disruption and recovery of locomotor and manipulatory behavior following cortical lesions in rats. *Behav Biol* 1978; 22: 417-455.
4. Coyle P. Middle cerebral artery occlusion in the young rat. *Stroke* 1982; 13: 855-859.
5. Fujimoto ST, Longhi L, Saatman KE, Conte V, Stocchetti, McIntosh TK. Motor and cognitive function evaluation following experimental traumatic brain injury. *Neurosci Biobehav Rev* 2004; 28: 365-378.
6. Brailowsky S, Knight RT, Blood K, Scabini D. Gamma-aminobutyric acid-induced potentiation of cortical hemiplegia. *Brain Res* 1986; 362: 322-330.
7. Brailowsky S, Knight RT, Efron R. Phenytoin increases the severity of cortical hemiplegia in rats. *Brain Res* 1986; 376: 71-77.
8. Boyeson MG, Krobert KA. Cerebellar norepinephrine infusions facilitate recovery after sensorimotor cortex injury. *Brain Res Bull* 1992; 29: 435-439.
9. Brailowsky S, Montiel T. Motor function in young and aged hemiplegic rats: effects of a Ginkgo biloba extract. *Neurobiol Aging* 1997; 18: 219-227.
10. Kikuchi K, Nishino K, Ohyu H. Increasing CNS norepinephrine levels by the precursor L-DOPS facilitates beam-walking recovery after sensorimotor cortex ablation in rats. *Brain Res* 2000; 860: 130-135.
11. Cutlip RG, Mancinelli C, Huber F, DiPasquale J. Evaluation of an instrumented walkway for measurement of the kinematic parameters of gait. *Gait Posture* 2000; 12: 134-138.
12. Dietz V, Duysens J. Significance of load receptor input during locomotion: a review. *Gait Posture* 2000; 11: 102-110.
13. Hunter MC, Hoffman MA. Postural control: visual and cognitive manipulations. *Gait and Posture* 2001; 13: 41-48.

14. Sadeghi H, Allard P, Prince F, Labelle H. Symmetry and limb dominance in able-bodied gait: a review. *Gait Posture* 2000; 12: 34-45.
15. Hruska RE, Kennedy S, Silbergeld EK. Quantitative aspects of normal locomotion in rats. *Life Sci* 1979; 25: 171-179.
16. Dunn-Meynell A, Pan S, Levin BE. Focal traumatic brain injury causes widespread reductions in rat brain norepinephrine turnover from 6 to 24 h. *Brain Res* 1994; 660: 88-95.
17. Levin BE, Brown KL, Pawar G, Dunn-Meynell A. Widespread and lateralization effects of acute traumatic brain injury on norepinephrine turnover in the rat brain. *Brain Res* 1995; 674: 307-313.
18. Boyeson MG, Feeney DM. Intraventricular norepinephrine facilitates motor recovery following sensorimotor cortex injury. *Pharmacol Biochem Behav* 1990; 35: 3497-501.
19. McCoy MA, Young PB, Hudson AJ, Davison G, Kennedy DG. Regional brain monoamine concentrations and their alterations in bovine hypomagnesaemic tetany experimentally induced by a magnesium-deficient diet. *Res Vet Sci* 2000; 69: 301-7.
20. Boyeson MG, Krobert KA. Cerebellar norepinephrine infusions facilitate recovery after sensorimotor cortex injury. *Brain Res Bull* 1992; 29: 435-439.
21. Jones BE, Moore RY. Ascending projections of the locus coeruleus in the rat. II. Autoradiographic study. *Brain Res* 1977; 127: 25-53.
22. Smeets WJ, González A. Catecholamine systems in the brain of vertebrates: new perspectives through a comparative approach. *Brain Res Brain Res Rev* 2000; 33: 308-379.
23. Krobert KA, Sutton RL, Feeney DM. Spontaneous and amphetamine-evoked release of cerebellar noradrenaline after sensorimotor cortex contusion: an *in vivo* microdialysis study in the awake rat. *J Neurochem* 1994; 62: 2233-2240.
24. Al-Abdulla N.A., Martín L.J. Apoptosis of retrogradely degenerating neurons occurs in association with the accumulation of perikaryal mitochondria and oxidative damage to the nucleus. *Am J Pathol* 1998; 153: 447-456.
25. Berridge CW, Waterhouse WD. The locus coeruleus-noradrenergic system: modulation of behavioral state and state-dependent cognitive processes. *Brain Res Brain Res Rev* 2003; 42: 33-84.

26. Kawahara H, Kawahara Y, Westerink BH. The role of afferents to the locus coeruleus in the handling stress-induced increase in the release of noradrenaline in the medial prefrontal cortex: a dual-probe microdialysis study in the rat brain. *Eur J of Pharmacol* 2000; 387: 279-286.
27. Passerin AM, Cano G, Rabin BS, Delano BA, Napier JL, Sved AF. Role of locus coeruleus in foot shock-evoked Fos expression in rat brain. *Neuroscience* 2000; 101: 1071-1082.
28. Johnson MT, Ebner TJ. Processing of multiple kinematic signals in the cerebellum and motor cortices. *Brain Res Brain Res Rev* 2000; 33: 155-168.
29. Schambra UB, Mackensen GB, Stafford-Smith M, Haines DE, Schwinn DA. Neuron specific alfa-adrenergic receptor expression in human cerebellum: implication for emerging cerebellar roles in neurologic disease. *Neuroscience* 2005; 135: 507-523.
30. Culic M, Blanusa LM, Grbic G, Spasic S, Jankovic B, Kalauzi A. Spectral analysis of cerebellar activity after acute brain injury in anesthetized rats. *Acta Neurobiol Exp* 2005, 65: 11-17.
31. Bukowska D, Zguczynski L, Mierzejewska-Krzyzowska B. Pontocerebellar projection to the rabbit paramedian lobule by means of axonal collaterals: evidence for intralobular connections. *Acta Neurobiol Exp* 2003; 63: 295-308.
32. Schweighofer N, Doya K, Kuroda S. Cerebellar aminergic neuromodulation: towards a functional understanding. *Brain Res Brain Res Rev* 2004; 44: 103-116.
33. Goldstein LB. Effects of amphetamines and small related molecules on recovery after stroke in animals and man. *Neuropharmacology* 2000; 39: 852-859.
34. Cooper JR, Bloom FE, Roth RH. *The biochemical basis of neuropharmacology*. 7 ed. New York: Oxford University Press, 1996.
35. Marien MR, Colpaert FC, Rosenquist AC. Noradrenergic mechanisms in neurodegenerative disease: a theory. *Brain Res Brain Res Rev* 2004; 45: 38-78.
36. Weiner N, Molinoff PB. Catecholamines. In: Siegel G.J. Agranoff B.W., Albers R.W., Molinoff PB, editors. *Basic Neurochemistry: molecular, cellular, and medical aspects*. New York: Raven Press, 1989: 233-251.
37. Weihe E, Eiden LE. Chemical neuroanatomy of the vesicular amine transporters. *FASEB J* 2000; 14: 2435-2449.

38. Parsons SM. Transport mechanisms in acetylcholine and monoamine storage. *FASEB J* 2000; 14: 2423-2434.
39. Yao J, Erickson JD, Hersh LB. Protein kinase a affects trafficking of the vesicular monoamine transporters in PC12 cells. *Traffic* 2004; 5: 1006-1016.
40. Eccles JC, McGeer PL. Ionotropic and metabotropic neurotransmission. *Trends Neurosci* 1979; 2: 39-40.
41. Heuss C, Gerber U. G-protein-independent signaling by G-protein-coupled receptors. *Trends Neurosci* 2000; 23: 469-475.
42. Zhong H, Minneman KP. Alfa1-adrenoceptor subtypes. *Eur J Pharmacol* 1999; 375: 261-276.
43. Jordan BA, Gomes I, Rios C, Filipovska J, Devi LA. Functional interactions between mu opioid and alfa 2A-adrenergic receptors. *Mol Pharmacol* 2003; 64: 1317-1324.
44. Insel PA, Ostrom RS. Forskolin as a tool for examining adenylyl cyclase expression, regulation, and G protein signaling. *Cellular and Mol Neurobiol* 2003; 23: 305-314.
45. Cooper DM. Regulation and organization of adenylyl cyclases and cAMP. *Biochem J* 2003; 375: 517-529.
46. Ho AK, Cheng J, Girard M. Differential effects of intracellular calcium elevating agents on adrenergic-stimulated cyclic nucleotide and melatonin synthesis in rat pinealocytes. *Can J Physiol Pharmacol* 1992; 70: 1254-1260.
47. Westerga J, Gramsbergen A. The development of locomotion in the rat. *Brain Res Dev Brain Res* 1990; 57: 163-174.
48. Robinson RG. A model for the study of stroke using the rat. Surgical ligation of the middle cerebral artery in the rat. *Am J Phathol* 1981; 104: 103-105.
49. Mileson BE, Schwartz RD. The use of locomotor activity as a behavioral screen for neuronal damage following transient forebrain ischemia in gerbils. *Neurosci Lett* 1991; 128: 71-76.
50. Johansson BB. Environmental influence on outcome after experiment brain infarction. *Acta Neurochir Suppl* 1996; 66: 63-67.
51. Johansson BB. Functional outcome in rats transferred to an enriched environment 15 days after focal brain ischemia. *Stroke* 1996; 27: 324-326.

52. Hayashi H, Sato K, Kuruhara Y, Takeo S. Microsphere embolism-induced changes in noradrenaline release in the cerebral cortex in rats. *Brain Res* 1998; 783: 241-248.
53. Levine S, Payan H. Effects of ischemia and other procedures on the brain and retina of the gerbil (*Meriones unguiculatus*). *Exp Neurol* 1966; 16: 255-262.
54. Hovda DA, Fenney DM. Amphetamine with experience promotes recovery of locomotor function after unilateral frontal cortex injury in the cat. *Brain Res* 1984; 298: 358-361.
55. Hoane MR, Becerra GD, Shank JE, Tatko L, Pak LE, Smith M, Murashov AK. Transplantation of neuronal and glial precursors dramatically improves sensorimotor function but not cognitive function in the traumatically injured brain. *J Neurotrauma* 2004; 21: 163-174.
56. Boyeson MG, Krobert KA, Grade CM, Scherer PJ. Unilateral, but not bilateral, locus coeruleus lesions facilitate recovery from sensorimotor cortex injury. *Pharmacol Biochem Behav* 1992; 43: 3771-3777.
57. Boyeson MG, Scherer PJ, Grade CM, Krobert KA. Unilateral locus coeruleus lesions facilitate motor recovery from cortical injury through supersensitivity mechanisms. *Pharmacol Biochem Behav* 1993; 44: 2297-305.
58. Crisostomo EA, Duncan PW, Propst M, Dawson DV, Davis JN. Evidence that amphetamine with physical therapy promotes recovery of motor function in stroke patients. *Ann Neurol* 1988; 23: 94-97.
59. Lee B, Newberg A. Neuroimaging in traumatic brain injury. *NeuroRx* 2005; 2: 372-383.
60. Max W, Rice DP, MacKenzie EJ. The lifetime cost of injury. *Inquiry* 1990; 27: 332-343.
61. Agarwala S., Kalil R.E. Axotomy-induced neuronal death and reactive astrogliosis in the lateral geniculate nucleus following a lesion of the visual cortex in the rat. *J Comp Neurol* 1998; 392: 252-263.
62. Massucci JL, Kline AE, Ma X, Zafonte RD, Dixon CE. Time dependent alterations in dopamine tissue levels and metabolism after experimental traumatic brain injury in rats. *Neurosci Lett* 2004; 372: 127-131.

63. Yi JH, Hazell AS. N-acetylcysteine attenuates early induction of heme oxygenase-1 following traumatic brain injury. *Brain Res* 2005; 1033: 13-19.
64. Rao VLR, Dhodda KV, Song G, Bowen KK, Dempsey RJ. Traumatic brain injury-induced acute gene expression changes in rat cerebral cortex identified by GeneChip analysis. *J Neurosci Res* 2003; 71: 208-219.
65. Larner SF, Hayes RL, McKinsey DM, Pike BR, Wang KK. Increased expression and processing of caspase-12 after traumatic brain injury in rats. *J Neurochem* 2004; 88: 78-90.
66. Armstead WM. NMDA and age dependent cerebral hemodynamics after traumatic brain injury. *Exp Toxicol Pathol* 2004; 56: 75-81.
67. Lee LL, Galo E, Lyeth BG, Muizelaar JP, Berman RF. Neuroprotection in the rat lateral fluid percussion model of traumatic brain injury by SNX-185, an N-type voltage-gated calcium channel blocker. *Exp Neurol* 2004; 190: 70-78.
68. Phillis JW, O'Regan MH. A potentially critical role of phospholipases in central nervous system ischemic, traumatic, and neurodegenerative disorders. *Brain Res Brain Res Rev* 2004; 44: 13-47.
69. Stone JR, Okonkwo DO, Dialo AO, Rubin DG, Mutlu LK, Povlishock JT, Helm GA. Impaired axonal transport and altered axolemmal permeability occur in distinct populations of damaged axons following traumatic brain injury. *Exp Neurol* 2004; 190: 59- 69.
70. Gennarelli TA, Thibault LE, Graham DI. Diffuse axonal injury: An important form of traumatic brain damage. *The Neuroscientist* 1998; 4: 202-215.
71. Ishige N, Pitts LH, Hashimoto T, Nishimura BS, Bartkowski HM. Effect of hypoxia on traumatic brain injury in rats: Part 1. Changes in neurological function, electroencephalograms, and histopathology. *Neurosurgery* 1987; 20: 848-853.
72. Petty MA, Wettstein JG. Elements of cerebral microvascular ischaemia. *Brain Res Brain Res Rev* 2001; 36: 23-34.
73. Kontos HA, Wei EP. Superoxide production in experimental brain injury. *J Neurosurg* 1986; 64: 803-807.
74. Proctor HJ, Palladino GW, Fillipo D. Failure of autoregulation after closed head injury: an experimental model. *J Trauma* 1988; 28: 347-352.

75. Baskaya MK, Rao AM, Dogan A, Donaldson D, Dempsey RJ. The biphasic opening of the blood–brain barrier in the cortex and hippocampus after traumatic brain injury in rats. *Neurosci Lett* 1997; 226: 33-36.
76. Engstrom ER, Hillered L, Flink R, Kihlstrom L, Lindquist C, Nie JX, Olsson Y, Silander HC. Extracellular amino acid levels measured with intracerebral microdialysis in the model of posttraumatic epilepsy induced by intracortical iron injection. *Epilepsy Res* 2001; 43: 135-144.
77. Hironishi M, Ueyama E, Senba E. Systematic expression of immediate early genes and intensive astrocyte activation induced by intrastriatal ferrous iron injection. *Brain Res* 1999; 828: 145-153.
78. Demougeot C, Marie C y Beley A. Importance of iron location in iron-induced hydroxyl radical production by brain slices. *Life Sci* 2000; 67: 399-410.
79. Thompson KJ, Shoham S, Connor JR. Iron and neurodegenerative disorders. *Brain Res Bull* 2001; 55: 155-164.
80. Rafalowska U, Liu GJ, Floyd RA. Peroxidation induced changes in synaptosomal transport of dopamine and gamma-aminobutyric acid. *Free Radic Biol Med* 1989; 6: 485-492.
81. Maharaj DS, Limson JL, Daya S. 6-Hydroxymelatonin converts Fe (III) to Fe (II) and reduces iron-induced lipid peroxidation. *Life Sci* 2003; 72: 1367-1375.
82. Nakamichi N, Ohno H, Nakamura Y, Hirai T, Kuramoto N, Yoneda Y. Blockade by ferrous iron of Ca²⁺ influx through N-methyl-D-aspartate receptor channels in immature cultured rat cortical neurons. *J Neurochem* 2002; 83: 1-11.
83. Halliwell B. Oxidants and the central nervous system: some fundamental question: Is oxidant damage relevant to Parkinson's disease, Alzheimer's disease, traumatic injury or stroke? *Acta Neurol Scand* 1989; 126; 23-33.
84. Tenenbein M. Toxicokinetics and toxicodynamics of iron poisoning. *Toxicol Lett* 1998; 102-103: 653-653.
85. Roth JA, Garrick MD. Iron interaction and other biological reactions mediating the physiological and toxic actions of manganese. *Biochem Pharmacol* 2003; 66: 1-13.
86. Lucesoli F, Fraga CG. Oxidative stress in testes of rats subjected to chronic iron intoxication and alfa-tocopherol supplementation. *Toxicology* 1999; 132: 179-186.

87. Willmore LJ, Rubin JJ. Formation of malonaldehyde and focal brain edema induced by subpial injection of FeCL₂ into rat isocortex. *Brain Res* 1982; 246: 113-9.
88. Willmore LJ, Rubin JJ. The effect of tocopherol and dimethyl sulfoxide on focal edema and lipid peroxidation induced by isocortical injection of ferrous chloride. *Brain Res* 1984; 296: 389-92.
89. Cini M, Fariello RG, Bianchetti A, Moretti A. Studies on lipid peroxidation in the rat brain. *Neurochem Res* 1994; 19: 283-288.
90. Sipe JC, Lee P, Beutler E. Brain iron metabolism and neurodegenerative disorders. *Dev Neurosci* 2002; 24: 188-196.
91. Kabuto H, Yokoi I, Habu H, Willmore LJ, Mori A, Ogawa N. Reduction in nitric oxide synthase activity with development of an epileptogenic focus induced by ferric chloride in the rat brain. *Epilepsy Res* 1996; 25: 65-68.
92. Hattori Y. Regional difference in responsiveness of adenosine-sensitive cyclic AMP-generating systems in chronic epileptic cerebral cortex of the rat. *J Neurochem* 1990; 55: 1294-303.
93. Subbarao KV, Richardson JS. Iron-dependent peroxidation of rat brain: a regional study. *J Neurosci Res* 1990; 26: 224-232.
94. McGahan MC, Harned J, Mukunnenkeril M, Goralska M, Fleisher L, Ferrell JB. Iron alters glutamate secretion by regulating cytosolic aconitase activity. *Am J Physiol Cell Physiol* 2005; 288: C1117-24.
95. Floyd RA, Carney JM. Age influence on oxidative events during brain ischemia/reperfusion. *Arch Gerontol Geriatr* 1991; 12: 155-77.
96. Qian ZM, Shen X. Brain iron transport and neurodegeneration. *Trends Mol Med* 2001; 7: 103-8.
97. Fraga GC, Oteiza IP. Iron toxicity and antioxidant nutrients. *Toxicology* 2002; 180: 23-32.
98. Obata T. Role of hydroxyl radical formation in neurotoxicity as revealed by *in vivo* free radical trapping. *Toxicol Lett* 2002; 132: 83-93.
99. Halliwell B, Gutteridge JMC. Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. *Biochem J* 1984; 219: 1-14.

100. Yamasoba T, Schacht J, Shoji F, Miller JM. Attenuation of cochlear damage from noise trauma by an iron chelator, free radical scavenger and glial cell line-derived neurotrophic factor in vivo. *Brain Res* 1999; 815: 317-325.
101. Pearlson GD, Robinson RG. Suction lesions of the frontal cerebral cortex in the rat induce asymmetrical behavioral and catecholaminergic responses. *Brain Res* 1981; 218: 233-242.
102. Rosenberg PA, Dichter MA. Extracellular cAMP accumulation and degradation in rat cerebral cortex in dissociated cell culture. *J Neurosci* 1989; 9: 2654-2663.
103. Cardinaux J-R, Magistretti PJ. Vasoactive intestinal peptide, pituitary adenylate cyclase-activating peptide, and noradrenaline induce the transcription factors CCAAT/enhancer binding protein (C/EBP)-beta and C/EBP delta in mouse cortical astrocytes: involvement in cAMP-regulated glycogen metabolism. *J Neurosci* 1996; 16: 919-929.
104. Lee K, Makino S, Imagawa T, Kim M, Uehara M. Effects of adrenergic agonists on glycogenolysis in primary cultures of glycogen body cells and telencephalon astrocytes of the chick. *Poult Sci* 2001; 80: 1736-1742.
105. Dunn-Meynell AA, Hassanain M, Levin BE. Norepinephrine and traumatic brain injury: a possible role in post-traumatic edema. *Brain Res* 1998; 800:245–252.
106. Miura T, Muraoka S, Ogiso T. Lipid peroxidation inhibited by monoamines. *Res. Commun Mol Pathol Pharmacol* 1996; 93: 57-67.
107. González-Piña R, Paz C. Brain monoamine Changes in rats after short periods of ozone exposure. *Neurochem Res* 1997; 22: 63-66.
108. González-Piña R, Alfaro-Rodríguez A. Ozone exposure alters 5-Hydroxy-indole-acetic acid contents in dialysates from dorsal raphe and medial preoptic area in freely moving rats. Relationships with simultaneous sleep disturbances. *Chem Biol Interact* 2003; 146: 147-156.
109. Liu J, Mori A. Monoamine metabolism provides an antioxidant defense in the brain against oxidant- and free radical-induced damage. *Arch Biochem Biophys* 1993; 302: 118-127.
110. Brailowsky S, Piña AL. La plasticidad cerebral. *Ciencia* 1991; 42: 355-366.
111. Gómez-Fernández L. Plasticidad cortical y restauración de funciones neurológicas: una actualización sobre el tema. *Rev Neurol* 2000; 31: 749-756.

112. Rossini PM, Calautti C, Pauri F, Baron JC. Post-stroke plastic reorganisation in the adult brain. *Lancet Neurol* 2003; 2: 493-502.
113. Castaño J. Plasticidad neuronal y bases científicas de la neurohabilitación. *Rev Neurol* 2002; 34 (Supl 1): S130-S135.
114. Johansson BB. Brain Plasticity and stroke rehabilitation the willis lecture. *Stroke* 2000; 31: 223-230.
115. Krageloh-Mann I. Imaging of early brain injury and cortical plasticity. *Exp Neurol* 2004; 190 (Suppl) 1: S84-90.
116. Pascual-Leone A, Amedi A, Fregni F, Merabet LB. The plastic human brain cortex. *Annu Rev Neurosci* 2005; 28: 377-401.
117. Niimura K, Chugani DC, Muzik O, Chugani HT. Cerebellar reorganization following cortical injury in humans: effects of lesion size and age. *Neurology* 1999; 52: 792-797.
118. Feeney DM, Sutton RL, Boyeson MG, Hovda DA, Dail WG. The locus-coeruleus and cerebral metabolism: recovery of function after cortical injury. *Physiol Psych* 1985; 13: 197-203.
119. Goldstein LB. Effects of bilateral and unilateral locus coeruleus lesions on beam-walking recovery after subsequent unilateral sensorimotor cortex suction–ablation in the rat. *Restor Neurol Neurosci* 1997; 11: 55–63.
120. Katz DI, Alexander MP, Klein RB. Recovery of arm function in patients with paresis after traumatic brain injury. *Arch Phys Med Rehabil* 1998; 79: 488-93.
121. Gass A, Hennerici MG, Gaa J, Schwartz A. Rapid recovery from left hemiplegia. *Lancet* 1997; 349: 772.
122. Serteser M, Ozben T, Gumuslu S, Balkan S, Balkan E. Biochemical evidence of crossed cerebellar diaschisis in terms of nitric oxide indicators and lipid peroxidation products in rats during focal cerebral ischemia. *Acta Neurol Scand* 2001; 103: 43-48.
123. Maegaki Y, Maeoka Y, Ishii S, Shiota M, Takeuchi A, Yoshino K, Takeshita K. Mechanisms of central motor reorganization in pediatric hemiplegic patients. *Neuropediatrics* 1997; 28: 168-174.
124. Cheng H, Almstrom S, Gimenez-Llort L, Chang R, Ove OS, Hoffer B, Olson L. Gait analysis of adult paraplegic rats after spinal cord repair. *Exp Neurol* 1997; 148: 544-557.

125. McGavern DB, Zoecklein L, Sathornsumetee S, Rodriguez M. Assessment of hindlimb gait as a powerful indicator of axonal loss in a murine model of progressive CNS demyelination. *Brain Res* 2000; 877: 396-400.
126. Jaspers RM, Berkelbach van der Sprenkel JWB, Tulleken CA, Cools AR. Local as well as remote functional and metabolic changes after focal ischemia in cats. *Brain Res Bull* 1990; 24: 23-32.
127. Theodore DR, Meier-Ruge W, Abraham J. Microvascular morphometry in primate diaschisis. *Microvasc Res* 1992; 43: 147-155.
128. Ginsberg MD, Castella Y, Dietrich WD, Watson BD, Busto R. Acute thrombotic infarction suppresses metabolic activation of ipsilateral somatosensory cortex: evidence for functional diaschisis. *J Cereb Blood Flow Metab* 1989; 9: 329-341.
129. Feeney DM. Pharmacologic modulation of recovery after brain injury: a reconsideration of diaschisis. *J Neuro Rehab* 1991; 5: 113-128.
130. González-Aguado E, Martí-Fábregas J, Martí-Vilalta. El fenómeno de diaschisis en la enfermedad vascular cerebral. *Rev Neurol* 2000; 30: 941-945.
131. Feeney DM, Baron JC. Diaschisis. *Stroke* 1986; 17: 817-830.
132. Hausen HS, Lachmann EA, Nagler W. Cerebral diaschisis following Cerebellar hemorrhage. *Arch Phys Med Rehabil* 1997; 78:546-9.
133. Ogasawara K, Kobayashi M, Komoribayashi N, Fukuda T, Inoue T, Terasaki K, Ogawa A. Transient crossed cerebellar diaschisis secondary to cerebral hyperperfusion following carotid endarterectomy. *Ann Nuclr Med* 2005; 19: 321-324.
134. Botez MI, Leveille J, Lambert R, Botez T. Single photon emission computed tomography (SPECT) in cerebellar disease: cerebello-cerebral diaschisis. *Eur Neurol* 1991; 31: 405-12.
135. Rousseaux M, Steinling M. Crossed hemispheric diaschisis in unilateral cerebellar lesions. *Stroke* 1992; 23: 511-4.
136. NOM-062-ZOO-1999. Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio. Diario Oficial de la Federación, 22 de agosto del 2001.
137. González-Piña R, Bueno-Nava A, Montes S, Alfaro-Rodríguez A, González-Maciél A, Reynoso-Robles R, Ayala-Guerrero F. Pontine norepinephrine content alter motor cortical ablation in rats. *Proc West Pharmacol Soc* 2005; 48: 73-76.

138. Hall RD, Lindholm EP. Organization of motor and somatosensory neocortex in the albino rat. *Brain Res* 1974; 66: 23-38.
139. Triggs WJ, Willmore LJ. *In vivo* lipid peroxidation in rat brain following intracortical Fe²⁺ injection. *J Neurochem*, 1984; 42: 976-978.
140. Santamaría A, Ríos C. MK-801, an N-methyl-D-aspartate receptor antagonist, blocks quinolinic acid-induced lipid peroxidation in rat corpus striatum. *Neurosci Lett*, 1993; 159: 51-54.
141. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951; 193: 265-275.
142. Evans MJ. SAS manual for Moore and McCabe's: introduction to the practice of statistics. 3rd ed. New York: W.H. Freeman and Company.
143. Dawson-Saunders B, Trapp RG. *Bioestadística Médica*. Segunda ed. México: Editorial Manual Moderno, 1999.
144. Paxinos G, Watson C. *The rat brain in stereotaxic coordinates*. Australia: Academic Press, 1982.
145. Thomas S, Prins ML, Samii M, Hovda DA. Cerebral metabolic response to traumatic brain injury sustained early in development: a 2-deoxy-D-glucose autoradiographic study. *J Neurotrauma* 2000; 17: 649-65.
146. Cambray-Deakin M, Pearce B, Morrow C, Murphy S. Effects of neurotransmitters on astrocyte glycogen stores *in vitro*. *J Neurochem* 1988; 51:1852-7.
147. Fillenz M, Lowry JP, Boutelle MG, Fray AE. The role of astrocytes and noradrenaline in neuronal glucose metabolism. *Acta Physiologica Scand* 1999; 167: 275-284.
148. Castejon OJ, Díaz M, Castejon HV, Castellano A. Glycogen-rich and glycogen-depleted astrocytes in the oedematous human cerebral cortex associated with brain trauma, tumours and congenital malformations: an electron microscopy study. *Brain Inj* 2002; 16: 109-32.
149. Marek GJ, Aghajanian GK. 5-HT_{2A} receptor or α_1 -adrenoceptor activation induces excitatory postsynaptic currents in layer V pyramidal cells of the medial prefrontal cortex. *Eur J Pharmacol* 1999; 367: 197-206.
150. Krobert K, Feeney DM. Effects of amphetamine on biogenic amine levels following right sensorimotor cortex ablation in rat. *Soc Neurosci Abstr* 1990; 16:43.

151. Boyeson MG, Callister TR, Cavazos JE. Biochemical and behavioral effects of a sensorimotor cortex injury in rats pretreated with the noradrenergic neurotoxin DSP-4. *Behav Neurosci* 1992; 106: 964-973.
152. Goldstein LB, Bullman S. Effects of dorsal noradrenergic bundle lesions on recovery after sensorimotor cortex injury. *Pharmacol Biochem Behav* 1997; 58: 1151–1157.
153. Dunn-Meynell AA, Yarlagadda Y, Levin BE. Alpha 1-adrenoceptor blockade increases behavioral deficits in traumatic brain injury. *J Neurotrauma* 1997; 14: 43-52.
154. Feeney DM, González A, Law AW. Amphetamine, haloperidol, and experience interact to affect rate of recovery after motor cortex injury. *Science* 1982; 217: 855-857.
155. Kleim JA, Jones TA, Schallert T. Motor enrichment and the Induction of plasticity before or after brain injury. *Neurochem Res* 2003; 28: 1757-1769.
156. Wang Y, Chou J, Jeng C-H, Morales M, Wang JY. Chronic methamphetamine exposure decreases high affinity uptake function in norepinephrine afferents in the cerebellar cortex: an electrophysiological and electrochemical study. *Neuropharmacology* 2000; 39: 2112-2123.
157. Ishida Y, Shirokawa T, Komatsu Y, Isobe K. Changes in cortical noradrenergic axon terminals of locus coeruleus neurons in aged rats. *Neurosci Lett* 2001; 307: 197-199.
158. Yoshikawa T. Free radicals and their scavengers in Parkinson's disease. *Eur Neurol* 1993; 33(suppl 1): 60-68.
159. Morton DB, Bredt DS. Norepinephrine increases cyclic GMP levels in cerebellar cells from neuronal nitric oxide synthase knockout mice. *J Neurochem* 1998; 71: 440-3.
160. Saitow F, Konishi S. Excitability increase induced by beta-adrenergic receptor-mediated activation of hyperpolarization-activated cation channels in rat cerebellar basket cells. *J Neurophysiol* 2000; 84: 2026-34.
161. Saitow F, Satake S, Yamada J, Konishi S. Beta-adrenergic receptor-mediated presynaptic facilitation of inhibitory GABAergic transmission at cerebellar interneuron-Purkinje cell synapses. *J Neurophysiol* 2000; 84: 2016-2025.